

Agnieszka Rustecka, Anna Jung, Katarzyna Jobs, Bolesław Kalicki

Ocena stężeń witaminy D w surowicy dzieci z alergią

An assessment of vitamin D serum levels in allergic children

Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa, Polska. Kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Bolesław Kalicki

Adres do korespondencji: Agnieszka Rustecka, Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej, CSK MON WIM, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa, tel.: +48 261 817 236, e-mail: arustecka@wim.mil.pl

Department of Paediatrics, Paediatric Nephrology and Allergology, Military Institute of Medicine, Warsaw, Poland. Head of the Department: Associate Professor Bolesław Kalicki, MD, PhD

Correspondence: Agnieszka Rustecka, Department of Paediatrics, Paediatric Nephrology and Allergology, Central Clinical Hospital of the Ministry of Defence, Military Institute of Medicine,

Szaserów 128, 04-141 Warsaw, Poland, tel.: +48 261 817 236, e-mail: arustecka@wim.mil.pl

Streszczenie

W ostatnich latach obserwowany jest wzrost częstości występowania alergii na świecie, najbardziej zaznaczony w populacji dziecięcej. Do najczęstszych chorób alergicznych należą: astma, alergiczny nieżyt nosa, alergiczny nieżyt spojówek, atopowe zapalenie skóry, alergie pokarmowe oraz pokrzywki. Istnieje wiele publikacji wskazujących na znaczenie stężenia witaminy D w surowicy krwi w chorobach atopowych. Podkreśla się wpływ witaminy D na zachowanie równowagi pomiędzy odpowiedzią immunologiczną generowaną przez limfocyty Th1 i Th2, a także działanie przeciwzapalne poprzez ograniczenie nadmiernej produkcji TNF- α . Znany jest również udział witaminy D w tworzeniu endogennych naturalnych antybiotyków i czynników antydrobnoustrojowych, do których należą defensyny i katelicydyny. **Cel pracy:** Celem pracy była ocena stężeń witaminy D w surowicy krwi u dzieci z alergią. **Materiał i metody:** Badaniem objęto dzieci z rozpoznaną chorobą alergiczną i/lub obserwowane w kierunku choroby o podłożu atopowym oraz dzieci z nawracającymi infekcjami układu oddechowego. Dzieci były diagnozowane i leczone w Klinice Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie w okresie od września 2011 do sierpnia 2013 roku. Sześćdziesięcioro dzieci zakwalifikowano do grupy z rozpoznaną alergią (grupa I), natomiast 49 dzieci do grupy z nawracającymi zakażeniami układu oddechowego (grupa II). Witaminę D oznaczono u 109 dzieci w wieku od 2 miesięcy do 18 lat. **Wyniki:** Niskie stężenia witaminy D, poniżej granicy normy, wykazano w obu badanych grupach dzieci. Nie stwierdzono istotnego statystycznie ($p = 0,25$) wpływu pory roku na wartości stężeń witaminy D w całej analizowanej grupie dzieci. Wykazano natomiast istotną statystycznie ($p < 0,0001$) odwrotną korelację pomiędzy stężeniem witaminy D w surowicy a wiekiem badanych dzieci (im starsze dziecko, tym niższe stężenie witaminy D).

Słowa kluczowe: witamina D, alergia, choroby atopowe, dzieci

Abstract

In recent years, there has been a worldwide increase in the incidence of allergy, particularly in the paediatric population. The most common allergic conditions include asthma, allergic rhinitis, allergic conjunctivitis, atopic dermatitis, food allergies and urticaria. There are a number of publications showing the importance of serum vitamin D levels in atopic diseases. The effects of vitamin D on the balance between Th1 and Th2 lymphocyte-mediated immune response as well as the anti-inflammatory effects by limiting TNF- α overproduction are emphasised. The role of vitamin D in the formation of natural endogenous antibiotics and antimicrobials, such as defensins and cathelicidins, is also known. **Aim of the study:** The aim of the study was to assess serum vitamin D levels in allergic children. **Material and methods:** Children diagnosed with allergy and/or monitored for atopic disease as well as children with recurrent respiratory infections were included in the study. The children were diagnosed and treated at the Department of Paediatrics, Paediatric Nephrology and Allergology of the Military Institute of Medicine in the period from September 2011 to August 2013. A total of 60 children were qualified to a group with allergy diagnosis (group I), and 49 children formed a group with recurrent respiratory infections (group II). Vitamin D levels were measured in 109 children aged from 2 months to 18 years. **Results:** Low levels of vitamin D (below the normal limit) were shown in both paediatric groups. No statistically significant ($p = 0.25$) effects of the season on vitamin D levels were found in the whole evaluated population of children. A statistically significant ($p < 0.0001$) negative correlation was shown between vitamin D serum levels and the age of the assessed children (vitamin D levels decreased with age).

Key words: vitamin D, allergy, atopic diseases, children

W ostatnich latach obserwuje się wzrost częstości występowania alergii w populacji światowej, w Europie cechy atopii ma około 25–35% populacji. W największym stopniu wzrost ten dotyczy dzieci. Do najczęstszych chorób alergicznych, występujących w wieku rozwojowym i nie tylko, zalicza się: astmę, alergiczny nieżyt nosa (ANN), alergiczny nieżyt spojówek (ANS), atopowe zapalenie skóry (AZS), alergie pokarmowe i niektóre rodzaje pokrzywek.

Wiele doniesień mówi także o związku stężenia witaminy D w surowicy krwi z występowaniem chorób atopowych^(1,2). Zwiększone ryzyko choroby alergicznej u dzieci może wynikać z niedoboru witaminy D w okresie prenatalnym⁽³⁾. Bener i wsp. w badaniu dużej grupy dzieci ($n = 966$) wykazali, że niedobór witaminy D jest silnym predyktorem astmy (OR = 4,82)⁽⁴⁾.

Witamina D moduluje funkcje makrofagów i komórek dendrytycznych, sprzyja tolerancji własnych antygenów, indukuje regulatorowe limfocyty T CD4+ i CD25+. Aktywacja receptora witaminy D (*vitamin D receptor*, VDR) wpływa hamująco na limfocyty Th1, pobudza rozwój linii limfocytów Th2, tym samym witamina D może być uznana za czynnik kontrolujący równowagę pomiędzy odpowiedzią immunologiczną generowaną przez limfocyty Th1 i Th2. Zaburzenie tej równowagi ma istotne znaczenie w patogenezie chorób atopowych, w tym astmy. Witamina D wpływa na dojrzewanie komórek T, zmniejszając populację nastawionych prozapalnie komórek o fenotypie Th17, co ogranicza produkcję prozapalnych cytokin IL-17, IL-21, IL-12, czemu z kolei towarzyszy zwiększenie wytwarzania cytokin działających przeciwzapalnie IL-10. Ponadto witamina D działa przeciwzapalnie poprzez ograniczenie nadmiernej produkcji TNF- α ^(2,5).

Poza rolą przeciwzapalną witaminy D aktywne ligandy receptora witaminy D indukują ekspresję TSLP (*thymic stromal lymphopoietin*) – proteiny odgrywającej istotną rolę w inicjacji fenotypu *atopic dermatitis-like*. Wykazano wpływ witaminy D na zwiększenie liczby limfocytów Treg, które mogą hamować skórne reakcje alergiczne⁽⁶⁾.

Wiele prac wskazuje na udział witaminy D w patogenezie różnych chorób układu oddechowego, poprzez wpływ na funkcje wrodzonego układu odpornościowego i odpowiedź organizmu na drobnoustroje. Aktualnie wiadomo, że witamina D ma znaczenie w procesie leczenia zakażeń układu oddechowego o etiologii bakteryjnej i wirusowej, uczestniczy w produkcji naturalnych antybiotyków, czynników antydnoboustrojowych (PAD), do których należą defensyny i katelicyny. Do ich uwalniania dochodzi dzięki obecności specjalnych receptorów szlaku Toll (*Toll-like receptors*, TLR) na makrofagach i monocytach oraz stymulacji tych reakcji za pomocą witaminy D⁽⁷⁾.

Witamina D jest wytwarzana w skórze z 7-dehydrocholesterolu pod wpływem promieniowania ultrafioletowego (UV) o długości fali 290–320 nm (UVB), jest prohormonem nieaktywnym biologicznie. Metabolizowana w wątrobie przez enzymy cytochromu P450 (CYP 450), podlega

In recent years, there has been a worldwide increase in the incidence of allergy, with about 25–35% of the European population affected by atopic symptoms. This growth is particularly high among children. The most common allergic conditions occurring at the developmental age include asthma, allergic rhinitis (AR), allergic conjunctivitis (AC), atopic dermatitis (AD), food allergies and certain types of urticaria.

There are also numerous reports showing the relationship between serum vitamin D levels and atopic diseases^(1,2). The increased risk of allergy in children may be due to prenatal vitamin D deficiency⁽³⁾. Bener *et al.* in their study in a large paediatric population ($n = 966$) showed that vitamin D deficiency is a strong predictor of asthma (OR = 4.82)⁽⁴⁾. Vitamin D modulates macrophage and dendritic cell function, promotes the tolerance of own antigens and induces CD4+ and CD25+ lymphocytes. Activation of vitamin D receptor (VDR) has inhibitory effects on Th1 cells, stimulates the development of Th2 cells, thus vitamin D may be considered a factor controlling the balance between Th1 and Th2-mediated immune response. Disruption of this balance is crucial for the pathogenesis of atopic diseases, including asthma. Vitamin D has effects on T cell maturation by reducing the population of proinflammatory Th17 cells, thus limiting the production of proinflammatory IL-17, IL-21, IL-12 cytokines, which in turn increases the production of anti-inflammatory IL-10 cytokines. Furthermore, vitamin D has anti-inflammatory effects by limiting TNF- α overproduction^(2,5).

In addition to the anti-inflammatory effects of vitamin D, the active ligands of vitamin D receptor induce the expression of TSLP (thymic stromal lymphopoietin), a protein essential for the initiation of the atopic dermatitis-like phenotype. It was shown that vitamin D increases the number of Treg lymphocytes able to inhibit allergic skin reactions⁽⁶⁾. There are a number of studies indicating the role of vitamin D in the pathogenesis of respiratory tract infections, by influencing the innate immune system and the body's response to microorganisms. Currently, it is known that vitamin D is essential for the treatment of bacterial and viral respiratory infections, and that it is involved in the production of natural antibiotics and antimicrobials (AMPs), such as defensins and cathelicidins. Their release occurs due to the presence of special Toll-like receptors (TLR) on macrophages and monocytes as well as vitamin D-mediated stimulation of these reactions⁽⁷⁾.

Vitamin D is produced in the skin from 7-dehydrocholesterol upon exposure to ultraviolet (UV) radiation in the 290–320 nm waveband (UVB); it is a biologically inactive prohormone. Metabolised in the liver by cytochrome P450 (CYP 450), it undergoes a hydroxylation to form 25-hydroxyvitamin [calcidiol, 25(OH)D₃]. Although skin synthesis is the main source of vitamin D, its efficiency may be reduced by up to 90% due to the widespread use of sunscreens^(2,5,8). Exposure of 18% of body surface to UVB radiation, resulting in minor skin erythema, is defined

enzymatycznej hydroksylacji do 25-hydroksycholekalcyferolu [kalcydioł, 25(OH)₂D₃]. Synteza skórna jest głównym źródłem witaminy D, jednakże jej wydajność może być zmniejszona nawet o 90% poprzez powszechne stosowanie kremów z filtrami przeciwsłonecznymi^(2,5,8). Ekspozycja 18% powierzchni ciała na promieniowanie UVB, doprowadzająca do powstania minimalnego rumienia skórno, jest określana jako jedna dawka rumieniowa (1 MED). Prowadzi ona do syntezy skórnej od 3000 do 10 000 IU witaminy D, a przy ekspozycji całego ciała nawet do 30 000 IU^(9,10). Efektywność syntezy skórnej u osób po 70. roku życia jest 4-krotnie mniejsza niż u osób młodych przy takiej samej ekspozycji na słońce⁽⁸⁾.

Drugim źródłem zaopatrzenia organizmu w witaminę D jest jej podaż doustna, istotna między innymi w europejskiej strefie klimatycznej. Witamina D należy do grupy witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, dlatego ich spożywanie ułatwia jej przyswajanie.

W przewodzie pokarmowym witamina D jest wchłaniana w jelicie czczym i krętym, następnie uwalniana z enterocytów przez tworzenie chylomikronów i przez układ chłonny przechodzi do krążenia dużego, gdzie przenoszona jest przez białko wiążące (DBP-L-globulinę) do wątroby, a następnie ulega wyżej przedstawionej dwuetapowej przemianie do najbardziej aktywnej biologicznie postaci – kalcitriolu^(5,9).

Do głównych przyczyn niedoborów witaminy D zalicza się: obniżoną syntezę skórna, niedostateczną podaż w diecie i suplementach żywieniowych, otyłość. Rzadziej przyczyną niedoboru witaminy D, pomimo dostatecznej syntezy skórnej i podaży doustnej, może być defekt receptora, co skutkuje upośledzoną wrażliwością tkanek docelowych na 1,25(OH)₂D^(8,10,11).

Według środkowoeuropejskich rekomendacji z 2013 roku profilaktyczna dawka witaminy D dla dzieci w pierwszym półroczu życia wynosi 400 IU/dobę, niemowląt w wieku 6–12 miesięcy – 400–600 IU/dobę, dzieci powyżej 1. roku życia – 600–1000 IU/dobę od września do kwietnia lub przez cały rok, jeżeli brakuje dostatecznej syntezy skórnej. Dawka profilaktyczna dla dzieci urodzonych przedwcześnie powinna wynosić 400–800 IU/dobę do 40. tygodnia wieku korygowanego. U dzieci otyłych stosuje się zwiększoną dawkę witaminy D w suplementacji profilaktycznej⁽¹²⁾.

CEL PRACY

Celem pracy była ocena stężeń witaminy D w surowicy krwi u dzieci z alergią.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto dzieci z rozpoznaną chorobą alergiczną i/lub obserwowane w kierunku choroby o podłożu atopowym oraz dzieci z nawracającymi infekcjami układu oddechowego. Dzieci były diagnozowane i leczone w Klinice Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie w okresie od

as a minimal erythematous dose (1 MED), which leads to a skin synthesis of 3,000 up to 10,000 IU of vitamin D and up to 30,000 IU for whole body exposure^(9,10). The effectiveness of skin synthesis at the same sun exposure is 4 times lower in people over 70 years compared to young individuals⁽⁸⁾. Dietary intake, which is of particular importance in the European climate zone, is the second source of vitamin D. Vitamin D belongs to a group of fat-soluble vitamins, therefore dietary fat expedites its absorption.

In the gastrointestinal tract, vitamin D is absorbed in the jejunum and ileum, followed by its release from enterocytes via formation of chylomicrons. Then it passes through the lymphatic system into the systemic circulation, where it is transferred by a binding protein (DBP-L-globulin) to the liver, where it undergoes the above described transformation into the most biologically active form, i.e. calcitriol^(5,9).

The main causes of vitamin D deficiency include reduced skin syntheses, insufficient dietary or supplement intake and obesity. Defective receptor, causing an impaired target-tissue sensitivity to 1.25(OH)₂D, is a less common cause of vitamin D deficiency occurring despite sufficient skin synthesis and oral intake^(8,10,11).

According to the 2013 Central European recommendations, the prophylactic vitamin D dosage is 400 IU/day for children up to 6 months old, 400–600 IU/day for children aged 6–12 months, 600–1,000 IU/day from September to April or throughout the year (if skin synthesis is insufficient) for children over 1 year of age. Prophylactic dosing for premature infants should be 400–800 IU/day up to 40 weeks of the corrected age. Obese children receive prophylactic supplementation with higher vitamin D doses⁽¹²⁾.

AIM OF THE STUDY

The aim of this study was to assess serum vitamin D levels in allergic children.

MATERIAL AND METHODS

Children diagnosed with allergy and/or monitored for atopic disease as well as children with recurrent respiratory infections were included in the study. The children were diagnosed and treated at the Department of Paediatrics, Paediatric Nephrology and Allergology of the Military Institute of Medicine in the period from September 2011 to August 2013. A total of 109 children aged from 2 months to 18 years (mean age 4.7 years), including 60 children qualified to the group with allergy diagnosis (group I), and 49 children in the group with recurrent respiratory infections (group II), participated in the study. Group I included 39 boys and 21 girls. The age of boys in this group ranged from 6 months to 14.6 years (mean age 5.4 years), while the age of girls ranged from 3 to 17.25 years (mean age 6.37 years). Allergy was diagnosed based on medical history, physical examination and additional testing, such as blood cell count with peripheral

września 2011 do sierpnia 2013 roku. W badaniu wzięło udział 109 dzieci w wieku od 2 miesięcy do 18 lat (średnio 4,7 roku), w tym 60 dzieci zakwalifikowano do grupy z rozpoznaną alergią (grupa I), a 49 dzieci do grupy z nawracającymi zakażeniami układu oddechowego (grupa II). W grupie I było 39 chłopców i 21 dziewczynek. Wiek chłopców w tej grupie wynosił od 6 miesięcy do 14,6 roku (średnio 5,4 roku), natomiast wiek dziewczynek od 3 do 17,25 roku (średnio 6,37 roku). Alergię rozpoznano na podstawie wywiadu, badania przedmiotowego i badań dodatkowych, takich jak morfologia krwi obwodowej z rozmazem, stężenie IgE całkowitych, swoistych oraz punktowych testów skórnych. W grupie II przebadano 24 chłopców i 25 dziewczynek. Wiek chłopców w tej grupie wynosił od 2 miesięcy do 10,6 roku (średnio 3,5 roku), natomiast wiek dziewczynek od 5 miesięcy do 12,9 roku (średnio 3,6 roku).

Wyłączono z badania dzieci z zaburzeniami metabolicznymi dotyczącymi witaminy D.

Witaminę D u badanych dzieci oznaczono w różnych porach roku, w tym 11 oznaczeń dokonano zimą, 45 wiosną, 24 latem, a 29 jesienią.

Do oznaczenia stężenia całkowitej 25-hydroksywitaminy D wykorzystywano analizator DiaSorin LIAISON[®]. Aparat ten mierzy stężenia w zakresie od 4,0 do 150 ng/ml. W przeliczeniu wyników na jednostki układu SI: ng/ml \times 2,5 = nmol/l. Wartości poniżej 4,0 ng/ml rejestrowano jako <4 ng/ml. Najwyższa rejestrowana wartość bez rozcieńczenia to 150 ng/ml. Powyższy test jest bezpośrednim, kompetywnym testem wykorzystującym technologię chemiluminescencyjnych testów immunologicznych (*chemiluminescent immunoassay*, CLIA) w celu ilościowego określenia poziomu 25-hydroksywitaminy D w ludzkiej surowicy i osoczu.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej.

WYNIKI

Niskie stężenia witaminy D, poniżej granicy normy, wykazano w obu badanych grupach dzieci.

W grupie I prawidłowe stężenie witaminy D stwierdzono u 17 z 61 (28%), a jej niedobór u 44 z 61 (72%) badanych dzieci. Z kolei w grupie II prawidłowe stężenie witaminy D stwierdzono u 12 z 59 (24%), a jej niedobór u 37 z 59 (76%) dzieci (tab. 1, ryc. 1).

blood smear, total IgE levels, specific skin test and skin prick tests. A total of 24 boys and 25 girls in group II were assessed. The age of boys in this group ranged from 2 months to 10.6 years (mean age 3.5 years), while the age of girls ranged from 5 months to 12.9 years (mean age 3.6 years).

Children with metabolic disorders related to vitamin D were excluded from the study. Vitamin D levels were assessed in different seasons, including 11 winter assays, 45 spring assays, 24 summer assays and 29 autumn assays. LIAISON[®] analyser (DiaSorin) was used for the measurement of total 25-hydroxyvitamin D levels. The measuring range of the device is 4.0–150 ng/mL; in SI units: ng/mL \times 2.5 = nmol/L. Values below 4.0 ng/mL were recorded as <4 ng/mL. The highest recorded value without dilution was 150 ng/mL. This assay is a direct, competitive chemiluminescence immunoassay (CLIA) for a quantitative assessment of human serum and plasma 25-hydroxyvitamin D levels.

The study was approved by the Bioethics Committee.

RESULTS

Low levels of vitamin D (below the limit of normal) were shown in both paediatric groups.

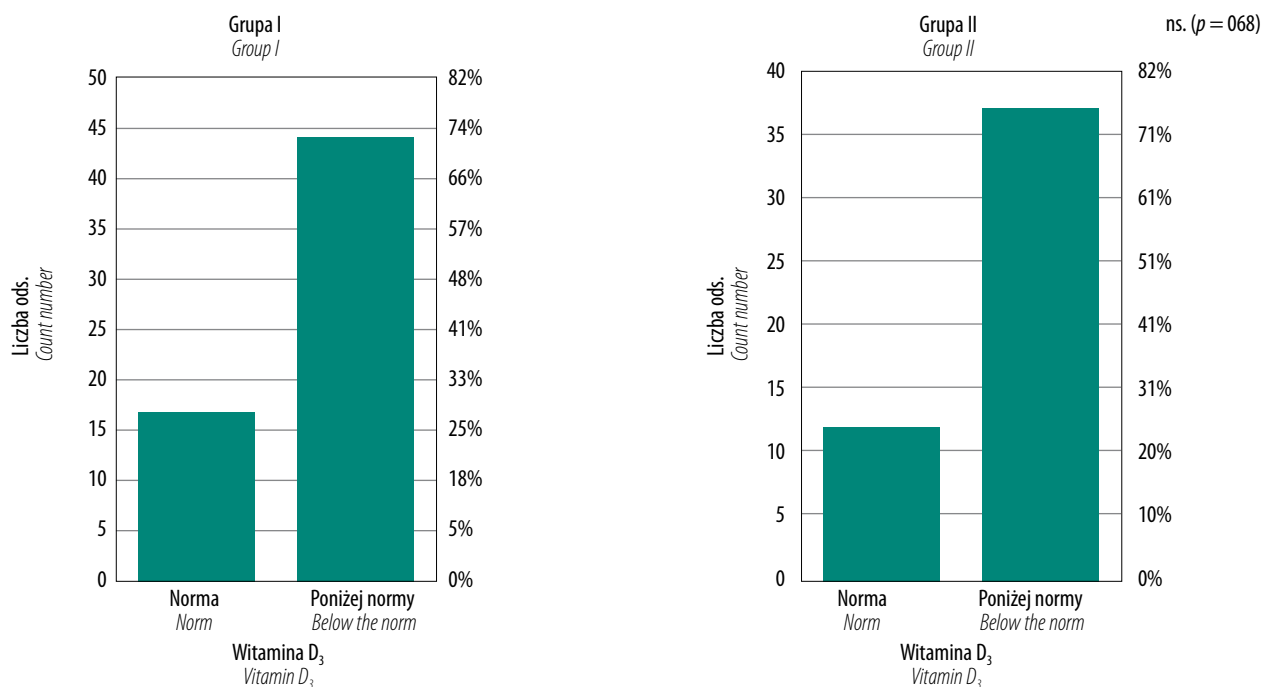
In group I, normal vitamin D levels were found in 17 of 61 (28%) children, while vitamin D deficiency was observed in 44 of 61 (72%) children. In group II, normal vitamin D levels were found in 12 of 59 (24%) children, whereas vitamin D deficiency was observed in 37 of 59 (76%) children (Tab. 1, Fig. 1). The relationship between vitamin D findings and the season in which the measurements were taken was analysed. There were 11 winter assays with a mean level of 24.5 ng/dL, 45 spring assays with a mean level of 23.2 ng/dL, 24 summer assays with a mean level of 27.05 ng/dL and 29 autumn assays with a mean level of 22.6 ng/dL. The study found no statistically significant effects ($p = 0.25$) of the season on vitamin D levels in the analysed group of children (Tab. 2).

In group I, winter vitamin D levels were assessed in 4 (6.67%) children, spring levels were assessed in 31 (51.67%) children, summer levels were checked in 11 (18.33%) children and autumn levels were measured in 14 (23.33%) children. In group II, winter vitamin D levels were measured in 7 (14.29%), spring levels were assessed in 14 (28.57%), summer levels were checked in 13 (26.53%) and autumn levels were assessed in 15 (30.61%)

| | Grupa I <i>Group I</i> | Grupa II <i>Group II</i> | <i>p</i> |
|---|---------------------------|-----------------------------|--------------------|
| Stężenia witaminy D w granicach normy <i>Vitamin D levels within the normal range</i> | 17 (28%) | 12 (24%) | ns. ($p = 0,68$) |
| Stężenia witaminy D poniżej normy <i>Vitamin D levels below the normal range</i> | 44 (72%) | 37 (76%) | |
| Razem <i>In total</i> | 61 | 49 | |

Tab. 1. Analiza rozkładu liczby dzieci ze stwierdzonym niedoborem witaminy D w obu grupach

Tab. 1. An analysis of the distribution of the number of children with vitamin D deficiency in both study groups



Ryc. 1. Liczebność i odsetek dzieci z niedoborem witaminy D w obu grupach
 Fig. 1. The number and proportion of children with vitamin D deficiency in both groups

Analizowano zależność uzyskanych wyników stężeń witaminy D od pory roku, w której przeprowadzono badanie. U 11 dzieci dokonano oznaczenia zimą i średnie stężenie wyniosło 24,5 ng/dl, 45 oznaczeń wykonano wiosną i średnie stężenie wyniosło 23,2 ng/dl, kolejne 24 oznaczenia uzyskano latem i średnie stężenie wyniosło 27,05 ng/dl, a 29 oznaczeń przeprowadzono jesienią i średnie stężenie wyniosło 22,6 ng/dl. Nie stwierdzono istotnego statystycznie ($p = 0,25$) wpływu pory roku na wartości stężeń witaminy D w całej analizowanej grupie dzieci (tab. 2).

W grupie I u 4 (6,67%) dzieci dokonano oznaczenia witaminy D w porze zimowej, u 31 (51,67%) w porze wiosennej, u 11 (18,33%) latem, a u 14 (23,33%) jesienią. W grupie II u 7 (14,29%) dzieci oznaczono stężenie witaminy D w porze zimowej, u 14 (28,57%) wiosną, u 13 (26,53%) latem, a u 15 (30,61%) jesienią (tab. 3). Podobnie przy analizie wartości stężeń witaminy D w poszczególnych grupach

children (Tab. 3). Similarly, no correlations between vitamin D levels and the season were found in these groups of children (Fig. 2).

A statistically significant negative correlation ($p < 0.0001$) was found between serum vitamin D levels and the age of the assessed children (vitamin D levels decreased with age). The correlation between vitamin D levels and age was nearly linear ($p < 0.05$) throughout the group of children (Fig. 3).

DISCUSSION

Serum assays for vitamin D are difficult to perform due to high hydrophobicity of vitamin D, which leads to the possible interference of numerous serum components, the presence of vitamin D₂ and D₃ derivatives in blood as well as the presence of a stereoisomer 3-epi-25(OH)D₃ – a new metabolite^(13,14).

| | <i>n</i> | Witamina D Mediana (I–III kwartył) Vitamin D Median (quartiles I–III) | <i>p</i> |
|------------------|----------|--|--------------------|
| Zima Winter | 11 | 24,5 (16,8–28,0) | ns. ($p = 0,25$) |
| Wiosna Spring | 45 | 23,2 (16,7–30,6) | |
| Lato Summer | 24 | 27,05 (21,15–33,7) | |
| Jesień Autumn | 29 | 22,6 (16,6–29,4) | |

Tab. 2. Analiza wpływu pory roku, w jakiej wykonywano badanie, na stężenie witaminy D w całej badanej grupie
 Tab. 2. An analysis of the impact of the measurement season on vitamin D levels in the evaluated group

| | Grupa I Group I | Grupa II Group II |
|-------------------------|--------------------|----------------------|
| | n (%) | n (%) |
| Zima Winter | 4 (6,67%) | 7 (14,29%) |
| Wiosna Spring | 31 (51,67%) | 14 (28,57%) |
| Lato Summer | 11 (18,33%) | 13 (26,53%) |
| Jesień Autumn | 14 (23,33%) | 15 (30,61%) |

Tab. 3. Liczba oznaczeń witaminy D w grupach badanych pacjentów w zależności od pory roku
Tab. 3. The number of vitamin D assays in the study populations in different seasons

nie znajdowano zależności w wartości stężeń od pory roku (ryc. 2).

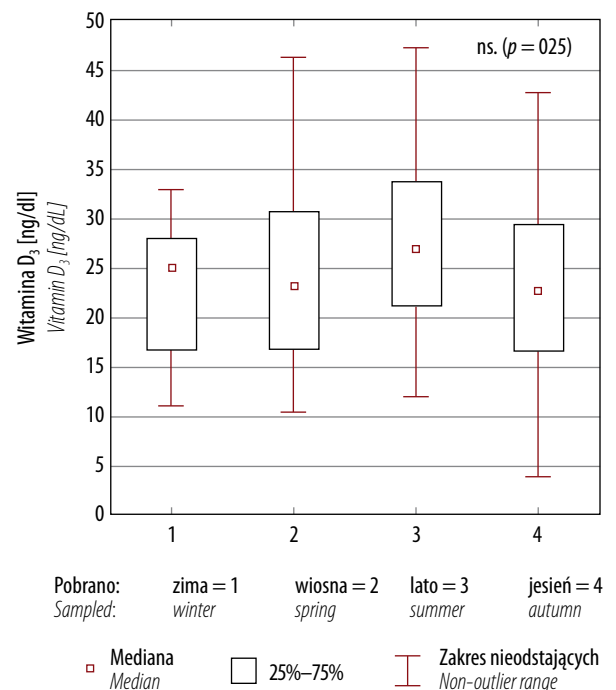
Wykazano natomiast istotną statystycznie ($p < 0,0001$) odwrotną korelację pomiędzy stężeniem witaminy D w surowicy a wiekiem badanych dzieci (im starsze dziecko, tym niższe stężenie witaminy D). Zależność pomiędzy stężeniem witaminy D a wiekiem była istotna i niemal liniowa ($p < 0,05$) w całej grupie badanych dzieci (ryc. 3).

OMÓWIENIE

Oznaczenie witaminy D w surowicy jest procedurą trudną, wpływa na to duża hydrofobowość witaminy D, co oznacza możliwość interferencji licznych składników surowicy, występowanie we krwi pochodnych witaminy D₂ i D₃ oraz obecność stereoisomeru 3-epi-25(OH)D₃ – nowego metabolitu^(13,14).

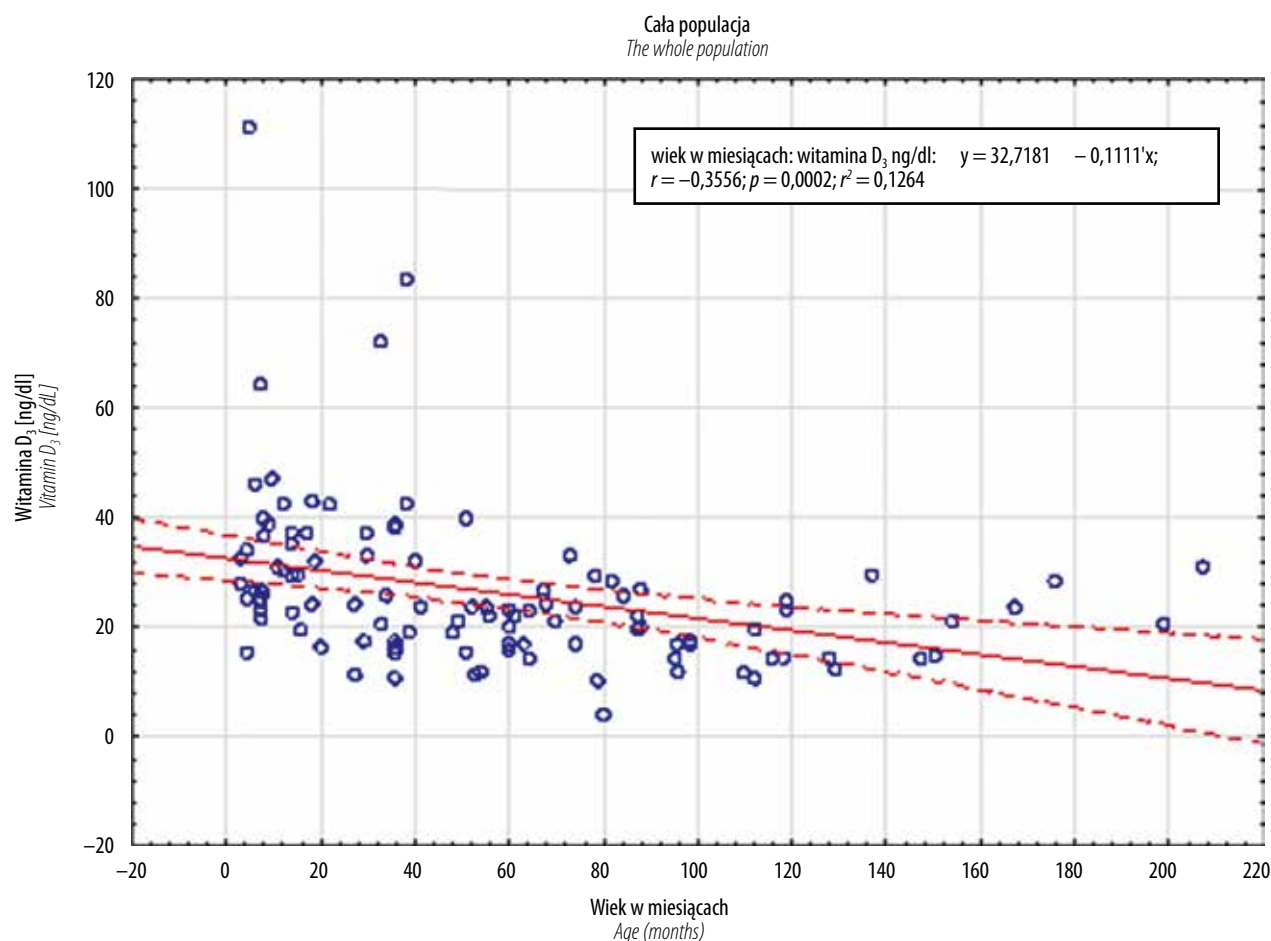
W badaniu przeprowadzonym przez zespół Płudowskiego wykazano, że metoda oznaczania witaminy D w surowicy krwi na analizatorze LIAISON[®], czyli na aparacie, którego użyto do niniejszego badania, charakteryzuje się wysoką precyzją i powtarzalnością w materiale pediatrycznym⁽¹⁵⁾. Powyższa metoda spełnia wymogi dokładności systemu DEQAS – The International External Quality Assessment Scheme for Vitamin D Metabolites (międzynarodowy system oceny jakości oznaczeń metabolitów witaminy D) i jest zalecana do badań pediatrycznych^(16–18). Od kwietnia 2013 roku system DEQAS stanowi optymalną kontrolę dokładności oznaczeń metabolitów witaminy D, z udziałem próbek odniesienia do procedur pomiaru Narodowego Instytutu Standaryzacji i Technologii (NIST, USA). Dzięki temu uczestnicy DEQAS mogą sprawdzić dokładność swoich oznaczeń z oznaczeniami metody referencyjnej, uznanej międzynarodowo⁽¹⁹⁾. Metoda oznaczenia witaminy D na analizatorze LIAISON[®] wykazuje wysoką, porównywalną powtarzalność i odtwarzalność w materiale pediatrycznym, charakteryzuje się niskim błędem oznaczeń – <8%⁽¹⁵⁾. W opublikowanym w 2014 roku przez Płudowskiego i wsp. badaniu losowo wybranej populacji polskich dorosłych stwierdzono znaczny niedobór lub niedostateczne zaopatrzenie w witaminę D (stężenie witaminy D <30 ng/ml) u 90,3% badanych⁽²⁰⁾. Podobnie w przeprowadzonym w Polsce

Płudowski *et al.* showed that the method of serum vitamin D measurement using LIAISON[®] analyser, i.e. a device used in our study, is characterised by high accuracy and repeatability in paediatric population⁽¹⁵⁾. This method meets DEQAS (The International External Quality Assessment Scheme for Vitamin D Metabolites) accuracy requirements and is recommended for use in paediatric populations^(16–18). Since April 2013, the DEQAS system represents an optimal control of the accuracy of vitamin D metabolite measurements using reference samples for the measurement procedures of the National Institute of Standards and Technology (USA). This allows the DEQAS participants to check the accuracy of their measurements against an internationally recognised reference method⁽¹⁹⁾. The method of vitamin D assay using the LIAISON[®] analyser shows high, comparable repeatability and reproducibility in a paediatric population and is characterised by low error rates – <8%⁽¹⁵⁾.



Ryc. 2. Wartości stężeń witaminy D w surowicy w zależności od pory roku, w jakiej pobierano krew

Fig. 2. Serum vitamin D levels in different sampling seasons



Ryc. 3. Dopasowanie liniowe opisujące zależność stężenia witaminy D od wieku pacjenta w miesiącach w całej grupie badanych dzieci
 Fig. 3. Linear adjustment for the relationship between vitamin D levels and patient's age in the whole group of patients

wieloośrodkowym badaniu oceniającym niedobór witaminy D w populacji dziecięcej wykazano znaczne niedobory witaminy D u 75–80% dzieci w okresie około- i pokwitaniowym⁽²¹⁾. W przedstawionym badaniu własnym potwierdzono występowanie niedoboru witaminy D w surowicy krwi – w grupach I i II niedobór witaminy D odnotowano odpowiednio u 72% i 76% badanych. Nie znajdowano wyraźniej niższych stężeń witaminy D w surowicy dzieci z alergią. We własnych obserwacjach nie stwierdzono związku pomiędzy stężeniem witaminy D w surowicy krwi a porą roku, w której dokonywano pomiarów. Oznaczono witaminę D u 109 dzieci, z czego 45 oznaczeń dokonano wiosną, 24 latem, 29 jesienią, a 11 zimą. Brak wyraźnych różnic w stężeniach witaminy D może wynikać z powszechności stosowania kremów z filtrem latem, co z kolei spowodowane jest uzasadnioną obawą wzrostu ryzyka rozwoju nowotworów skóry pod wpływem promieniowania ultrafioletowego słońca. W prowadzonym w latach 2000–2004 badaniu NHANES wykazano istotną zależność pomiędzy zwiększonym używaniem filtrów przeciwsłonecznych a obniżonym stężeniem witaminy D w porównaniu z obserwacją w latach 1988–1994⁽²²⁾. W badaniu własnym odnotowano silną korelację pomiędzy stężeniem witaminy D w surowicy a wiekiem dziecka – im starsze

Płudowski *et al.* showed a significant deficiency or an insufficient supplementation of vitamin D (vitamin D levels <30 ng/mL) in 90.3% of subjects in their study (2014) conducted in a randomly selected adult Polish population⁽²⁰⁾. Similarly, a Polish multicenter study assessing vitamin D deficiency in a paediatric population showed significant vitamin D deficiencies in 75–80% of children at peripubertal and pubertal age⁽²¹⁾. The findings of our study showed serum vitamin D deficiency in 72% and 76% of children in groups I and II, respectively. We have not observed significantly lower serum vitamin D levels in allergic children.

In our observations there was no relationship between serum vitamin D levels and the season in which the measurements were performed. Vitamin D levels were assessed in 109 children, including 45 spring assays, 24 summer assays, 29 autumn assays and 11 winter assays. The lack of clear differences in vitamin D levels may result from the widespread use of sunscreens due to a justified concern over the increased risk of ultraviolet-induced skin cancer. NHANES (2000–2004) demonstrated a significant correlation between the increased use of sunscreens and decreased vitamin D levels compared to years 1988–1994⁽²²⁾.

dziecko, tym niższe stężenie witaminy D. Ta istotna statystycznie zależność występuje w grupach I i II i może mieć związek z regularnie prowadzoną suplementacją witaminy D u najmłodszych dzieci, w przeciwieństwie do dzieci starszych.

Szereg badań potwierdza protekcyjną funkcję witaminy D w rozwoju zakażeń układu oddechowego⁽²³⁾. W badaniu własnym witaminę D oznaczono u 49 dzieci z nawracającymi zakażeniami układu oddechowego, średnie stężenie w tej grupie wyniosło 24,1 ng/dl. Prawidłowe stężenie witaminy D stwierdzono jedynie u 12 (24%) badanych z tej grupy.

Zwraca się uwagę na związek pomiędzy niedoborem witaminy D a częstością infekcji układu oddechowego, które są najczęstszą (zwłaszcza w populacji dziecięcej) przyczyną zaostrzeń astmy⁽²⁴⁾. Beigelman i wsp. w wielośrodkowym badaniu wykazali, że niedobór witaminy D w surowicy zwiększa o ponad 50% ryzyko zaostrzenia astmy, które wymaga leczenia systemowymi kortykosteroidami⁽²⁵⁾.

Ze względu na udowodniony szeroki wpływ witaminy D na układ immunologiczny uzasadnione wydają się liczne badania dotyczące wpływu witaminy D na rozwój i przebieg astmy. Od wielu lat pojawiają się w piśmiennictwie prace podkreślające związek pomiędzy niskim stężeniem witaminy D a zwiększonym ryzykiem zachorowania na astmę, z gorszą kontrolą oraz zwiększoną częstością zaostrzeń astmy. W badaniu własnym stwierdzono niedobór witaminy D u 72% badanych dzieci z grupy I (z alergią, w tym także z rozpoznaną astmą). Być może na średnie stężenia witaminy D u dzieci w grupie I miał wpływ fakt, że większość oznaczeń w tej grupie była wykonana po okresie zimowym.

W swojej metaanalizie Cassim i wsp., na podstawie systematycznego przeglądu piśmiennictwa, jednoznacznie stwierdzili, że niedobór witaminy D w surowicy zwiększa ryzyko zaostrzenia astmy⁽²⁶⁾.

Sutherland i wsp. udowodnili, że suplementacja witaminą D zmniejsza liczbę zaostrzeń u chorych na astmę, zmniejsza nadreaktywność oskrzeli oraz poprawia wskaźniki spirometryczne⁽²⁷⁾.

Do grupy chorób, których podłożem są także zaburzenia odpowiedzi immunologicznej, należy AZS, dotycząca około 15–30% dzieci i 2% dorosłych. Do rozwoju choroby przyczyniają się czynniki genetyczne i środowiskowe, takie jak alergeny powietrzno-pochodne, pokarmowe, infekcje, czynniki psychogenne. Zaburzenia dotyczą zarówno bariery skórno-naskórkowej, jak i układu immunologicznego⁽⁶⁾. Witamina D pobudza syntezę transglutaminaz, lorykryny, filagryny, czyli elementów bariery naskórkowej, jak również moduluje reakcje immunologiczne. Witamina D, indukując syntezę peptydów antybakteryjnych, wpływa także korzystnie na ograniczenie nadkażeń bakteryjnych w AZS^(28,29).

WNIOSKI

1. Niedobory witaminy D pod postacią niskich stężeń 25(OH)D₃ w surowicy dotyczą większości badanych, niezależnie od obciążenia chorobą atopową czy nawracającymi infekcjami dróg oddechowych.

We have observed a strong correlation between serum vitamin D levels and the age of children – vitamin D levels decreased with age. This statistically significant relationship was reported in groups I and II, and may be related to a regular vitamin D supplementation in the youngest children, as opposed to older children.

The protective function of vitamin D in the development of respiratory infections has been confirmed in a number of studies⁽²³⁾. We have assessed vitamin D levels in 49 children with recurrent respiratory infections, with a mean level of 24.1 ng/dL. Normal vitamin D levels were found only in 12 (24%) subjects in this group. It has been noted that there is a relationship between vitamin D deficiency and the incidence of respiratory infections, which are the most common cause of asthma exacerbations, particularly in the paediatric population⁽²⁴⁾. Beigelman *et al.* showed in their multicenter study that serum vitamin D deficiency causes an over 50% increase in the risk of asthma exacerbation requiring systemic corticosteroid therapy⁽²⁵⁾.

Due to the demonstrated broad impact of vitamin D on the immune system, the numerous studies on the effects of this vitamin on the development and course of asthma seem justified. Studies highlighting the relationship between low vitamin D levels and an increased risk of asthma, with poorer control and an increased incidence of asthma exacerbations, have appeared in the literature for many years. We have found vitamin D deficiency in 72% of children in group I (allergic children, including those with asthma). Perhaps the mean vitamin D levels in group I resulted from the fact that most of the measurements were taken in this group after winter.

Cassim *et al.*, in their meta-analysis based on a systematic review of the literature, clearly concluded that serum vitamin D deficiency increases the risk of asthma⁽²⁶⁾.

Sutherland *et al.* demonstrated that vitamin D supplementation reduced the number of asthma exacerbations, reduces bronchial hyperreactivity and improves spirometric indices⁽²⁷⁾.

Atopic dermatitis, affecting about 15–30% of children and 2% of adults, belongs to a group of diseases also caused by immune response impairment. Genetic and environmental factors, such as airborne and food allergens, infections and psychogenic factors, contribute to the development of the disease. The disorders affect both the dermal-epidermal barrier and the immune system⁽⁶⁾. Vitamin D stimulates the synthesis of transglutaminases, loricrin and filaggrin, i.e. the elements of the dermal-epidermal barrier, as well as it modulates the immune responses. By inducing the synthesis of antibacterial peptides, vitamin D limits bacterial superinfection in AD^(28,29).

CONCLUSIONS

1. Vitamin D deficiency in the form of low serum 25(OH)D₃ levels affects most of the subjects, regardless of atopic diseases and recurrent respiratory infections.

2. Niskie stężenia witaminy D pozostawały w odwrotnej korelacji z wiekiem badanych dzieci – im starsze dzieci, tym niższe wartości stężeń witaminy D w oznaczeniach.
3. Brak zależności stężeń witaminy D od pory roku, w której wykonano oznaczenie, może świadczyć zarówno o niewystarczającej syntezie skórnej w okresie wiosenno-letnim, jak i braku odpowiedniej suplementacji witaminą D.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych innych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Piśmiennictwo / References

1. Dobrzańska A, Ryzko J (eds.): *Pediatrics. Podręcznik do Państwowego Egzaminu Lekarskiego i egzaminu specjalizacyjnego*. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2004: 290.
2. Rustecka A, Jung A, Kalicki B: Znaczenie witaminy D w chorobach atopowych u dzieci. *Pediatr Med Rodz* 2013; 9: 41–45.
3. Czech-Kowalska J, Dobrzańska A: Suplementacja witaminy D u kobiet ciężarnych i karmiących oraz ich potomstwa. *Standardy Medyczne – Pediatrya* 2012; 9: 689–698.
4. Bener A, Ehlayel MS, Tulic MK *et al.*: Vitamin D deficiency as a strong predictor of asthma in children. *Int Arch Allergy Immunol* 2012; 157: 168–175.
5. Perzanowska-Brzeszkiewicz K, Marcinowska-Suchowierska E: Witamina D a choroby przewodu pokarmowego. *Postępy Nauk Medycznych* 2012; (3): 247–251.
6. Samochocki Z: Czy witamina D ma wpływ na rozwój i przebieg atopowego zapalenia skóry? *Standardy Medyczne – Pediatrya* 2012; 9: 623–625.
7. Kuźmińska MP: Witamina D a układ oddechowy. *Postępy Nauk Medycznych* 2012; (3): 241–246.
8. Marcinowska-Suchowierska E, Wąlicka M: Niedobór witaminy D – narastający problem społeczny. *Fam Med Prim Care Rev* 2009; 11: 691–698.
9. Heaney RP, Armas LA, Shary JR *et al.*: 25-Hydroxylation of vitamin D₃: relation to circulating vitamin D₃ under various input conditions. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 1738–1742.
10. Thieden E, Philipsen PA, Wulf HC: Ultraviolet radiation exposure pattern in winter compared with summer based on time-stamped personal dosimeter reading. *Br J Dermatol* 2006; 154: 133–138.
11. Raimondi S, Johansson H, Maisonneuve P *et al.*: Review and meta-analysis on Vitamin D Receptor polymorphisms and cancer risk. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1170–1180.
12. Dobrzańska A, Ryzko J (eds.): *Pediatrics. Podręcznik do Państwowego Egzaminu Końcowego i Państwowego Egzaminu Specjalizacyjnego*. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2014: 1056.
13. Lorenc RS, Karczmarewicz E, Kryskiewicz E *et al.*: Zasady suplementacji i standardy oceny zaopatrzenia organizmu w witaminę D w świetle jej działania plejotropowego. *Standardy Medyczne – Pediatrya* 2012; 9: 595–604.
14. Odrowąż-Sypniewska G, Karczmarewicz E, Paprotny Ł *et al.*: 3-epi-25(OH)D – nowy metabolit, potencjalne działanie biologiczne, problematyka interferencji w oznaczeniach. *Standardy Medyczne – Pediatrya* 2012; 9: 680–686.
15. Karczmarewicz E, Kryskiewicz E, Skorupa E *et al.*: Porównanie automatycznych metod oznaczania 25(OH)D – doświadczenia laboratorium szpitala pediatrycznego uczestniczącego w międzynarodowym systemie kontroli jakości DEQAS. *Postępy Nauk Medycznych* 2012; (3): 194–200.
16. Carter GD, Carter R, Jones J *et al.*: How accurate are assays for 25-hydroxyvitamin D? Data from the international vitamin D external quality assessment scheme. *Clin Chem* 2004; 50: 2195–2197.
17. Carter GD, Berry JL, Gunter E *et al.*: Proficiency testing of 25-hydroxyvitamin D (25-OHD) assays. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121: 176–179.
18. Carter GD, Jones JC: Use of a common standard improves the performance of liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods for serum 25-hydroxyvitamin-D. *Ann Clin Biochem* 2009; 46: 79–81.
19. Carter G, Jones J, Walker E: Assays for vitamin D metabolites: performance in the real world. *Standardy Medyczne – Pediatrya* 2015; 12: 810–815.
20. Pludowski P, Konstantynowicz J, Jaworski M *et al.*: Ocena stanu zaopatrzenia w witaminę D w populacji osób dorosłych w Polsce. *Standardy Medyczne – Pediatrya* 2014; 11: 609–617.
21. Chlebna-Sokół D, Golec J, Karalus J: Suplementacja witaminy D u dzieci i młodzieży w Polsce. *Standardy Medyczne – Pediatrya* 2012; 9: 701–704.
22. Looker AC, Pfeiffer CM, Lacher DA *et al.*: Serum 25-hydroxyvitamin D status of the US population: 1988–1994 compared with 2000–2004. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 1519–1527.
23. Wayse V, Yousafzai A, Mogale K *et al.*: Association of subclinical vitamin D deficiency with severe acute lower respiratory infection in Indian children under 5 y. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58: 563–567.
24. Finklea JD, Grossman RE, Tangpricha V: Vitamin D and chronic lung disease: a review of molecular mechanisms and clinical studies. *Adv Nutr* 2011; 2: 244–253.
25. Beigelman A, Zeiger RS, Mauger D *et al.*: Childhood Asthma Research and Education (CARE) Network of the National Heart, Lung, and Blood Institute: The association between vitamin D status and the rate of exacerbations requiring oral corticosteroids in preschool children with recurrent wheezing. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133: 1489–1492.
26. Cassim R, Russell MA, Lodge CJ *et al.*: The role of circulating 25 hydroxyvitamin D in asthma: a systematic review. *Allergy* 2015; 70: 339–354.
27. Sutherland ER, Goleva E, Jackson LP *et al.*: Vitamin D levels, lung function, and steroid response in adult asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181: 699–704.
28. Slominski A, Zbytek B, Nikolakis G *et al.*: Steroidogenesis in the skin: implications for local immune functions. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013; 137: 107–123.
29. Holick MF: Sunlight, ultraviolet radiation, vitamin D and skin cancer: How much sunlight do we need? *Adv Exp Med Biol* 2014; 810: 1–16.

Conflict of interest

The authors do not report any financial or personal links with other persons or organizations, which might affect negatively the content of this publication or claim authorship rights to this publication.