

Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Wydział Lekarski



Anna Stochel-Gaudyn

Ocena stężenia wybranych pierwiastków śladowych i metali ciężkich
u dzieci z nowo rozpoznaną nieswoistą zapalną chorobą jelit

Praca doktorska

Promotorzy: prof. dr hab. Krzysztof Fyderek
prof. dr hab. Paweł Kościelniak

Pracę wykonano w **Klinice Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia**, Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, której kierownikiem jest prof. dr hab. Krzysztof Fyderek oraz w **Zakładzie Chemii Analitycznej** Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, którego kierownikiem jest prof. dr hab. Paweł Kościelniak.

Kraków, 2015 rok



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Niniejsza rozprawa doktorska została wykonana w ramach projektu pt. Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego - Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007-2013

This PhD thesis was completed thanks to the financial support from the project Interdisciplinary PhD Studies "Molecular sciences for medicine" (co-financed by the European Social Fund within the Human Capital Operational Programme)

Mamie

Prof. dr hab. Grażynie Stochel
za wsparcie i nieustanną inspirację

SPIS TREŚCI

1. WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW.....	7
2. STRESZCZENIE	9
3. ABSTRACT	12
4. WSTĘP.....	15
4.1 Nieswoiste zapalenia jelit (NZJ)	15
4.1.1 Definicja	15
4.1.2 Epidemiologia	16
4.1.3 Etiologia	17
4.1.4 Objawy	18
4.1.5 Klasyfikacja i kryteria diagnostyczne	24
4.1.6 Leczenie NZJ.....	30
4.2 Niedożywienie i specyficzne niedobory pokarmowe w NZJ	33
4.2.1 Niedożywienie w NZJ	33
4.2.2 Pierwiastki śladowe.....	34
4.3 Metale ciężkie a NZJ	43
4.4 Włosy jako alternatywny materiał biologiczny.....	44
5. CELE PRACY.....	45
6. MATERIAŁY I METODY	46
6.1 Charakterystyka badania	46
6.2 Kwalifikacja do badania.....	47
6.3 Populacja badana.....	48
6.4 Materiał badany	49
6.5 Metody badawcze.....	50
6.5.1 Metody kliniczne.....	50
6.5.2 Metody chemiczne	51
6.5.3 Metody statystyczne	52
7. WYNIKI.....	53
7.1 Lokalizacja, fenotyp i aktywność NZJ	53
7.2 Wywiad żywieniowy i środowiskowy	59
7.3 Ocena stanu odżywienia.....	69
7.4 Badania laboratoryjne.....	72
7.5 Wyniki oznaczania badanych pierwiastków w surowicy krwi	77

7.5.1 Wyniki otrzymane w surowicy krwi w momencie rozpoznania NZJ	77
7.5.2 Wyniki otrzymane w surowicy krwi po rocznej obserwacji	81
7.5.3 Zbiorcze zestawienie wyników otrzymanych w surowicy krwi	84
7.5.4 Korelacje stężeń badanych pierwiastków w surowicy krwi z wybranymi parametrami.....	88
7.6 Wyniki oznaczania badanych pierwiastków we włosach.....	96
7.6.1 Wyniki otrzymane we włosach w momencie rozpoznania NZJ	96
7.6.2 Wyniki otrzymane we włosach po rocznej obserwacji	99
7.6.3 Zbiorcze zestawienie wyników otrzymanych we włosach	103
7.6.4 Korelacje stężeń badanych pierwiastków we włosach z wybranymi parametrami	107
7.7 Korelacja stężeń badanych pierwiastków w surowicy i we włosach	109
7.8 Podsumowanie wyników.....	111
8. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA	115
9. WNIOSKI.....	126
10. ANEKS.....	128
10.1 Świadoma zgoda rodzica / opiekuna prawnego na udział dziecka w badaniu klinicznym	128
10.2 Świadoma zgoda uczestnika który ukończył 16 lat na udział w badaniu klinicznym	129
10.3 Świadoma zgoda rodzica / opiekuna prawnego na udział dziecka w badaniu klinicznym- grupa kontrolna	130
10.4 Świadoma zgoda uczestnika który ukończył 16 lat na udział w badaniu klinicznym- grupa kontrolna.....	131
10.5 Zgoda rodzica / opiekuna prawnego uczestnika badania na przetwarzanie danych osobowych.....	132
10.6 Zgoda uczestnika badania który ukończył 16 lat na przetwarzanie danych osobowych	133
10.7 Zgoda rodzica / opiekuna prawnego uczestnika badania na przetwarzanie danych osobowych- grupa kontrolna	134
10.8 Zgoda uczestnika badania który ukończył 16 lat na przetwarzanie danych osobowych- grupa kontrolna.....	135
10.9 Informacja dotycząca udziału w badaniu dla rodziców / opiekunów prawnych uczestnika badania / uczestnika który ukończył 16 lat.....	136

10.10 Informacja dotycząca udziału w badaniu dla rodziców / opiekunów prawnych uczestnika badania / uczestnika który ukończył 16 lat- grupa kontrolna.....	139
10.11 Ankieta żywieniowo-środowiskowa	142
11. PIŚMIENNICTWO	145

1. WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

5-ASA- 5-aminosalicylany

ASCA przeciwciała przeciwko *Saccharomyces cerevisiae*

BMI współczynnik masy ciała (body mass index)

CD choroba Leśniowskiego-Crohna (Crohn's disease)

CI Coles' index

ChLC choroba Leśniowskiego-Crohna

CRP białko C-reaktywne

ESPGHAN Europejskie Towarzystwo Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci

(European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition)

GALT układ limfatyczny przewodu pokarmowego (gut associated lymphoid system),

GKS glikokortykosteroidy

GWAS analiza markerów pokrywających cały genom (genome wide association study)

HC hydrokortyzon

HG AFS atomowa spektrometria fluorescencyjna z generacją wodorków

IBD nieswoiste zapalenia jelit (inflammatory bowel disease)

IBD-U nieswoiste zapalenie jelit- typ niesklasyfikowany (inflammatory bowel disease-
unclassified)

IC nieokreślone zapalenie jelita grubego (indeterminate colitis)

ICP MS spektrometria mas z plazmą wzbudzoną indukcyjnie

MCV wskaźnik średniej objętości krwinki czerwonej

NZJ nieswoiste zapalenia jelit

NZJG nieokreślone zapalenie jelita grubego

OB odczyn Biernackiego

OUN ośrodkowy układ nerwowy

PAIP Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii

P-ANCA przeciwciała przeciwko okołojądrowemu antygenowi granulocytów

PCDAI pediatryczny współczynnik aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna

(Pediatric Crohn's Disease Activity Index)

PUCAI pediatryczny współczynnik aktywności wrzodziejącego zapalenia jelita grubego

(Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index)

UC wrzodziejące zapalenie jelita grubego (ulcerative colitis)

UJCM Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

USA Stany Zjednoczone Ameryki Północnej

2. STRESZCZENIE

Wprowadzenie: Nieswoiste zapalenia jelit (ang. Inflammatory bowel disease: IBD) to grupa przewlekłych schorzeń zapalnych przewodu pokarmowego najczęściej zajmujących jelito cienkie oraz grube, cechujących się okresami remisji i zaostrzeń. Obraz kliniczny NZJ jest zróżnicowany, a wspólną ich cechą jest nieznana wywołująca je pierwotna przyczyna oraz wieloczynnikowa etiopatogeneza. W około 70-80% przypadków na pewnym etapie choroby dochodzi do znacznej utraty wagi pacjenta, a w efekcie u wielu (nawet u 40%) pacjentów dochodzi do znacznego niedożywienia i różnego rodzaju powikłań co przekłada się na dłuższy czas hospitalizacji i zwiększoną umieralność. Niedobory żywieniowe mają szczególnie znaczenie w okresie rozwojowym człowieka i mogą dotyczyć zarówno makro jak i mikroelementów. Znaczenie biologiczne tych ostatnich polega m.in. na pełnieniu funkcji katalizatorów i kofaktorów rozlicznych enzymów. Status pierwiastkowy w surowicy krwi pacjentów z NZJ był przedmiotem wielu badań, które jednak w znacznej mierze dotyczyły pacjentów dorosłych, podczas gdy dane dotyczące dzieci są ograniczone i wybiórcze. Włosy, jako materiał biologiczny poddawany analizie, mają wiele zalet, m.in. są materiałem pobieranym nieinwazyjnie, a z uwagi na swoje tempo wzrostu (ok. 1 cm/ miesiąc) pokazują wartość uśrednioną stężeń pierwiastków ważnych dla metabolizmu. Z tego powodu mogą być alternatywą w monitorowaniu stanu odżywienia pacjentów z NZJ.

Cel pracy: Analiza stężenia wybranych pierwiastków (Fe, Mn, Se, Zn, Cu, Pb) w surowicy krwi oraz we włosach dzieci z NZJ w momencie rozpoznania oraz po roku obserwacji, jak również porównanie otrzymanych wyników z wynikami otrzymanymi dla grupy kontrolnej.

Materiały i Metody: Do prospektywnego badania mieszanego kwalifikowano pacjentów Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia Dzieci PAIP UJ CM w Krakowie, u których w latach 2011-2014 postawiono rozpoznanie NZJ. Badaną grupę stanowiło 41 dzieci chorych oraz 20 dzieci zdrowych z grupy kontrolnej. Wśród wszystkich pacjentów przeprowadzono autorski kwestionariusz oceniający ekspozycję na zanieczyszczenia środowiskowe i nawyki żywieniowe dzieci. Od każdego z pacjentów z NZJ dwukrotnie pobrano próbkę krwi oraz włosów, w momencie rozpoznania choroby oraz po rocznym okresie obserwacji, celem oznaczenia badanych pierwiastków. Wśród dzieci z grupy kontrolnej pobranie było jednorazowe. W pobranym materiale oznaczeń dokonano za pomocą spektrometrii mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS) oraz spektrometrii fluorescencji

atomowej z generacją wodorków (HG-AFS). Wiarygodność oraz dokładność metody sprawdzono przy użyciu certyfikowanych materiałów odniesienia (CRMs). Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu pakietu statystycznego R.

Wyniki: Badaną grupę stanowiło 41 dzieci z NZJ (17 chłopców i 24 dziewczynki), z których u 27 postawiono rozpoznanie ChLC, a u 14 WZJG. Grupę kontrolną stanowiło 20 dzieci zdrowych (9 chłopców i 11 dziewczynek). Średnia wieku zarówno dla grupy dzieci chorych na NZJ jak i grupy kontrolnej wynosiła 11 lat (chore: $11,5 \pm 4,63$; zdrowe: $11,3 \pm 4,18$), przy czym starsze dzieci występowały w grupie z ChLC ($12,1 \pm 4,1$) niż w grupie z WZJG ($10,4 \pm 5,5$).

Niedożywienie występowało aż u 48,7% dzieci z NZJ w momencie rozpoznania (CI<90%). Wśród dzieci z ChLC niedożywienie występowało u 60% dzieci, podczas gdy u dzieci z WZJG było to 33,3%. Różnica ta nie była istotna statystycznie ($p=0,65$). Częściej niedożywione były dziewczynki w porównaniu z chłopcami (65% vs 35%). Ekspozycja środowiskowa na zanieczyszczania była większa wśród dzieci z NZJ niż w grupie kontrolnej, więcej dzieci mieszkało w obszarach zurbanizowanych (70% vs 45%) oraz w pobliżu hut (19,5% vs 10%) i elektrociepłowni (34,1% vs 10%). Dieta pacjentów pediatrycznych z NZJ odbiegała od zalecanych norm żywieniowych, zwłaszcza w odniesieniu do warzyw, produktów bogatych w błonnik oraz przetworów mlecznych, a spożycie produktów typu fast food było częstsze w porównaniu z grupą kontrolną.

Średnie stężenie hemoglobiny w grupie dzieci z NZJ było w dolnych granicach zakresów referencyjnych i wynosiło 11 g/dl. Wartość MCV również oscylowała w dolnych zakresach normy i była istotnie statystycznie niższa w podgrupie z ChLC niż z WZJG (77,3 fl vs 82,6 fl) ($p=0,32$). Niedobór żelaza, na podstawie stężenia ferrytyny skorygowanego do CRP, stwierdzono u 70,4% pacjentów z ChLC oraz 64,3% pacjentów z WZJG. Wysycenie transferryiny żelazem poniżej wartości referencyjnych stwierdzono aż u 74,1% dzieci z ChLC oraz 78,6% dzieci z WZJG.

U dzieci chorych w momencie postawienia rozpoznania NZJ stwierdzono istotnie statystycznie mniejsze stężenie w surowicy krwi żelaza (mediana: 1,09 mg/L vs 1,52 mg/L) ($p=0,011$) oraz cynku (mediana: 0,78 mg/L vs 0,88 mg/L) ($p=0,049$). Stężenie selenu również było mniejsze wśród dzieci z NZJ jednak różnica ta nie była istotna statystycznie

(mediana: 42 ug/L vs 47,4 ug/L) ($p=0,307$). W momencie rozpoznania choroby stężenie miedzi w surowicy krwi było istotnie statystycznie większe u dzieci chorych niż u dzieci z grupy kontrolnej (mediana: 1,38 mg/L vs 1,06 mg/L) ($p<0001$). Również stężenie manganu było większe w grupie dzieci chorych, jednak różnica ta nie była istotna statystycznie (mediana: 9 ug/L vs 6,65 ug/L) ($p=0,160$). Po rocznym okresie obserwacji w surowicy dzieci z NZJ stwierdzono wzrost stężenia cynku oraz seleny, natomiast spadek stężenia manganu i miedzi w stosunku do wartości w momencie postawienia diagnozy. W przypadku miedzi różnica ta była istotna statystycznie ($p=0,02$). Stężenia żelaza utrzymywały się na podobnym poziomie. Stężenie ołowiu było na zbliżonym poziomie w każdej z grup zarówno w momencie rozpoznania choroby, jak i po rocznej obserwacji. U dzieci z NZJ w momencie rozpoznania stężenie cynku we włosach było mniejsze niż we włosach dzieci z grupy kontrolnej, natomiast stężenie żelaza było większe we włosach dzieci chorych niż wśród dzieci zdrowych. Różnice te nie były istotne statystycznie. Stężenia manganu, miedzi, ołowiu i seleny były na porównywalnym poziomie w obu grupach. Stężenia badanych pierwiastków w surowicy krwi i we włosach dzieci z NZJ nie korelowały ze sobą, z wyjątkiem miedzi w podgrupie dzieci z WZJG w momencie rozpoznania ($r=0,53$, $p=0,049$).

Wnioski: Niedożywienie jest powszechnie występującym problemem wśród dzieci z NZJ już w momencie rozpoznania choroby, częściej dotyczy pacjentów z ChLC niż z WZJG. Anemia z niedoboru żelaza dotyczy znacznej części dzieci z NZJ, a niedobór żelaza jest dużo bardziej rozpowszechniony niż sama anemia. Stężenia żelaza i cynku w surowicy krwi dzieci z NZJ w momencie rozpoznania choroby jest mniejsze, podczas gdy stężenie miedzi jest większe, niż w surowicy krwi dzieci z grupy kontrolnej. Opanowanie procesu zapalnego powoduje stopniową normalizację stężeń tych pierwiastków. Brak jest różnic pomiędzy stężeniami ołowiu w surowicy krwi w badanych grupach zarówno w momencie rozpoznania choroby, jak i po rocznej obserwacji. Brak jest również istotnych różnic pomiędzy stężeniami badanych pierwiastków we włosach dzieci chorych z NZJ a we włosach dzieci z grupy kontrolnej, a stężenia badanych pierwiastków w surowicy krwi i we włosach dzieci z NZJ nie korelują ze sobą, a więc włosy nie są dobrym materiałem biologicznym do monitorowania niedoborów żywieniowych w NZJ.

3. ABSTRACT

Introduction: Inflammatory bowel disease (IBD) is a group of chronic inflammatory conditions of the colon and small intestine, characterized by periods of remission and exacerbation. The clinical symptoms are mixed, unknown initial cause and multifactorial etiology being the common feature. In up to 70-80% of cases at same point of the disease patients lose weight, as a result a lot of them (up to 40%) develop malnutrition which can lead to many complications, like prolonged hospitalization or higher mortality rate. Nutritional deficiencies may have a particular impact in developmental period and can concern both macro and microelements. The biological significance of microelements includes their role as cofactors and catalysts of crucial enzymes. The status of trace elements in IBD patients has been a subject of several studies, which mainly concentrated on adult patients, while data referring to pediatric population are limited and selective. Hair, as a biologic material used for analysis, present many benefits among others they are a not invasive material, and concerning their growing ratio (about 1 cm/month) present a mean concentration of examined elements. For this reason they can present an alternative way to monitor nutritional status of IBD patients.

Aim: To assess the serum and hair concentration of selected elements: iron (Fe), zinc (Zn), copper (Cu), manganese (Mn), selenium (Se) and lead (Pb) in children with IBD at diagnosis and after one year of observation, as well as comparing received results with those in healthy control group.

Materials and Methods: In a prospective cohort study a total of 41 children with newly diagnosed IBD, patients of the Clinic of Pediatrics, Gastroenterology and Nutrition UJ CM, were recruited in the years 2011-2014. The control group consisted of 20 healthy children. Every study participant completed authorial questionnaire estimating their exposure to environmental pollution and their eating habits. From every IBD patient a serum and hair sample was collected twice, at the moment of diagnosis and after one year of observation. In control group the samples were taken only once. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS) were used to determine examined elements concentrations. The credibility of the method was

checked using certified reference materials (CRMs). Data collected underwent statistical analysis using R software.

Results: In the group studied of 41 children with IBD (17 boys and 27 girls) the diagnosis of Crohn's disease (CD) was made in 27 patients whereas ulcerative colitis (UC) was diagnosed in 14 of them. The control group consisted of 20 health children (9 boys and 11 girls). The mean age for both groups was 11 years (IBD: $11,5 \pm 4,63$; controls: $11,3 \pm 4,18$), older children were observed in the CD subgroup ($12,1 \pm 4,1$) compared to UC subgroup ($10,4 \pm 5,5$).

Malnutrition occurred in up to 48,7% of children with IBD at the moment of diagnosis (CI<90%). Among children with CD malnutrition was present in 60% of them, while among UC children the percentage was lower-around 33,3%. The difference wasn't statistically significant ($p=0,65$). Malnutrition occurred more often in girls than boys (65% vs 35%). The exposition to environmental pollution was greater among IBD children than among those from control group, more of them lived on urbanized territory (70% vs 10%) and near ironworks (19,5% vs 10%) and electrical power and heating stations (34,1% vs 10%). The diet of pediatric patients with IBD didn't cover the daily nutritional recommendations, especially in reference to vegetables, fiber and dairy products. Consumption of fast food was higher in IBD group compared with controls.

Mean hemoglobin levels in the IBD group was in the lower limit of the reference range (11 g/dl). MCV values as well oscillated in the lower limit of norm and were statistically lower in the CD subgroup compared to UC subgroup (77,3 fl vs 82,6 fl) ($p=0,32$). Iron deficiency, corrected to CRP values, was present in 70,4% CD and 64,3% UC patients. Transferrin saturation below reference values was found in 74,1% children with CD and 78,6% children with UC.

In newly diagnosed children with IBD significantly less concentration in serum of iron (median: 1,09 mg/L vs 1,52 mg/L) and zinc (median: 0,78 mg/L vs 0,88 mg/L) were found ($p=0,049$). Selenium concentration was less in IBD patients compared to controls as well but the difference wasn't significant (median: 42 ug/L vs 47,4 ug/L) ($p=0,307$). At the moment of diagnosis the concentration of copper in serum was significantly greater in IBD patients compared to controls (median: 1,38 mg/L vs 1,06 mg/L) ($p<0.001$). Manganese

concentrations were as well greater in the serum of IBD patients but the difference wasn't significant (median: 9 ug/L vs 6,65 ug/L) ($p=0,160$). After one year of observation the mean concentrations in IBD patients' serum of zinc and selenium grew and of manganese and copper fell comparing to values at the diagnosis. In case of copper the difference was statistically significant ($p=0,02$). Iron concentration staid at a similar level. Lead concentration was similar in both IBD and control group at the moment of diagnosis and after one year. In newly diagnosed children with IBD mean concentration in hair of zinc was less and of iron was greater compared to healthy controls. The differences weren't statistically significant. Mean concentration in hair of manganese, copper, lead and selenium were similar in both groups. There was no correlation between concentration of examined elements in hair and serum in studied group of IBD, with the exception of copper concentration in CU patients at the moment of diagnosis ($r=0,53$, $p=0,049$).

Conclusion: Malnutrition is a common problem among children with IBD, even as early on as the time of diagnosis. More often it is found in CD then UC patients. Iron deficiency anemia affects a vast percentage of IBD children nevertheless iron deficiency is more common than anemia itself. The concentration of iron and zinc in serum of IBD children at the moment of diagnosis is less, whereas copper concentration is greater compared to the results in healthy controls. Managing the inflammation process in the intestine leads to normalization of trace elements concentration. Lead concentration is similar both in IBD and control group. No significant difference was found between concentrations of examined elements in hair of both groups and no correlation was found between their concentration in hair and serum leading to the conclusion that hair as analytic material is of poor use in IBD children

4. WSTĘP

4.1 Nieswoiste zapalenia jelit (NZJ)

4.1.1 Definicja

Nieswoiste zapalenia jelit (*ang. Inflammatory bowel disease: IBD*) to grupa przewlekłych schorzeń zapalnych przewodu pokarmowego najczęściej zajmujących jelito cienkie oraz grube, cechujących się okresami remisji i zaostrzeń. Obraz kliniczny NZJ jest zróżnicowany, a wspólną ich cechą jest nieznana wywołująca je pierwotna przyczyna oraz wieloczynnikowa etiopatogeneza. Wyróżnić można trzy główne jednostki chorobowe: wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG), chorobą Leśniowskiego-Crohna (ChLC) oraz nieswoistą zapalną chorobę jelit- typ niesklasyfikowany.

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego (*ang. Ulcerative colitis: UC*) jest rozlanym, przewlekłym procesem zapalnym błony śluzowej jelita grubego. Najczęściej zajmuje jego końcowe odcinki, prawie zawsze zajmuje odbytnicę i typowo może rozszerzać się w sposób ciągły proksymalnie na całe jelito grube. Zmiany zapalne w części przypadków mogą prowadzić do powstawania owrzodzeń.

Choroba Leśniowskiego-Crohna (*ang. Crohn's disease: CD*) jest pełnościennym, ogniskowym, przeważnie ziarniniakowym przewlekłym procesem zapalnym mogącym dotyczyć każdego odcinka przewodu pokarmowego od jamy ustnej aż po odbyt. Najczęściej zajmuje końcowy odcinek jelita krętego i proksymalny odcinek jelita grubego (okolica krętniczo-kątnicza). Pełnościenny naciek zapalny może prowadzić do zwłóknień, zwężeń oraz klinicznych objawów niedrożności.

Nieswoista zapalna choroba jelit- typ niesklasyfikowany (*ang. Inflammatory bowel disease-unclassified: IBD-U*) to postać NZJ, w której nie ma cech typowych, charakterystycznych dla ChLC ani WZJG w momencie stawiania diagnozy. Dotyczy około 10 % chorych, często jest rozpoznaniem wstępnym, tymczasowym, które z biegiem czasu oraz po wdrożeniu dokładniejszej diagnostyki może ewoluować albo w kierunku ChLC albo WZJG (1).

4.1.2 Epidemiologia

Największą zachorowalność na NZJ na świecie obserwuje się w krajach skandynawskich, Europie Zachodniej oraz Ameryce Północnej. Wskaźnik zachorowalności w Ameryce Północnej waha się od 2,2 do 19,2 na 100 000 ludności na rok dla WZJG oraz od 3,1 do 20,2 na 100 000 ludności na rok dla ChLC. Częstość występowania choroby wśród mieszkańców Stanów Zjednoczonych Ameryki (USA) wynosi odpowiednio 201 na 100 000 dla WZJG oraz 238 na 100 000 dla ChLC. Łącznie w USA choruje ok. 1,4 mln osób, natomiast w Europie nawet ok. 2,2 mln osób (2; 3; 4). W Azji i na Bliskim Wschodzie zarówno zapadalność jak i chorobowość jest mniejsza tj. od 1,4 do 6,3 na 100 000 ludności na rok. (5) W Polsce brak jest dokładnych aktualnych badań epidemiologicznych. Na podstawie ogólnokrajowych rejestrów szpitalnych zachorowalność na NZJ oszacowano na 12,0 przypadki dla WZJG oraz 4,2 przypadki dla ChLC na 100 000 ludności (6).

Zachorowalność na NZJ ulegała zmianie w czasie. W pierwszej połowie XX wieku zarówno w Północnej Ameryce jak i Europie częściej rozpoznawano WZJG. Zapadalność na tę postać choroby pozostawała na podobnym poziomie od lat 50-tych do 80-tych XX wieku. Pod koniec XX wieku obserwowano wyraźny wzrost zapadalności na NZJ, dotyczył on głównie ChLC. W chwili obecnej zachorowalność na obie postaci choroby jest na podobnym poziomie (7; 8; 9).

Szczyt zapadalności na NZJ przypada na drugą i trzecią dekadę życia. Około 25-30 % przypadków ChLC oraz 20% przypadków WZJG rozpoznawanych jest przed 20 rokiem życia (10). Zachorowalność w okresie pokwitania wynosi ok. 7 na 100 000 dzieci na rok i wzrasta do 12 na 100 000 ludności na rok w trzeciej dekadzie życia (11). W Polsce wskaźnik zachorowalności na NZJ oszacowano na podstawie badań przeprowadzonych w latach 2002-2004 przez Karolewską-Bochenek i wsp., wynosi on ogółem 2,7 na 100 000 dzieci na rok, a w okresie pokwitania 3,7 na 100 000 dzieci na rok (12). Zarówno na świecie jak i w Polsce obserwuje się w ostatnich latach wzrost zachorowalności na NZJ u dzieci, a w szczególności na ChLC, jak również obniżenie wieku zachorowania w populacji pediatrycznej (13; 14; 15; 16; 17; 18). Według niektórych badań wskaźnik ten wzrósł nawet dwukrotnie w ciągu ostatnich 15 lat (19).

Wyniki badań nad umieralnością chorych na NZJ są niejednoznaczne i w głównej mierze dotyczą pacjentów z ChLC. Szacowany wskaźnik umieralności, a więc porównanie wymierania tej populacji do wymierania populacji zdrowej, waha się pomiędzy brakiem wzrostu a pięciokrotnym wzrostem ryzyka przedwczesnego zgonu. Obserwowane różnice najprawdopodobniej odzwierciedlają heterogenność prezentacji klinicznych choroby, badanych populacji oraz różną długość obserwacji w poszczególnych badaniach. Sumarycznie można stwierdzić, iż zachorowanie na ChLC wiąże się z nieznacznie skróconym czasem przeżycia, a wskaźnik umieralności dla tej grupy pacjentów wynosi 1,37 (95% CI:1,3-1,49) (20; 21).

4.1.3 Etiologia

W chwili obecnej przyjmuje się, że główną rolę w rozwoju NZJ odgrywają złożone interakcje między czynnikami genetycznymi, środowiskowymi i immunologicznymi (22). O udziale genetycznego podłoża w etiopatogenezie NZJ świadczy rodzinne występowanie zachorowań. Około 10-25% pacjentów ma krewnego pierwszego stopnia cierpiącego na WZJG albo ChLC (23). Obecnie zidentyfikowano ponad 100 miejsc (*loci*) w genomie ludzkim, głównie przy pomocy analizy markerów pokrywających cały genom (GWAS), warunkujących podatność na NZJ (24; 25). Jednym z najdokładniej poznanych jest gen IBD1, wiążący się z wystąpieniem ChLC, a zlokalizowany w pericentromerycznym regionie chromosomu 16, kodującego białko NOD2(CARD15). Gen ten należy do rodziny NOD1/APAF1 i odgrywa rolę w odpowiedzi ustroju na działanie antygenów bakteryjnych (26; 27). Mutacje w obrębie tego genu warunkują krętniczą lokalizację choroby, jej wcześniejszy początek oraz tendencję do tworzenia zwężeń jelita (28). Inne geny odgrywające rolę w patogenezie NZJ to m.in.: ATG16L1, IRGM oraz geny szlaku interleukin 17 i 23 (29; 30).

Wśród czynników środowiskowych mogących mieć wpływ na rozwój NZJ należy wymienić: palenie papierosów, zanieczyszczenie środowiska, dietę, aktywność fizyczną, otyłość, czynniki infekcyjne, leki, stres. W ostatnich latach zwraca się szczególną uwagę na rolę bakterii wchodzących w skład flory bakteryjnej jelit. Udowodniono, iż flora bakteryjna u osób z NZJ różni się zarówno ilościowo jak i jakościowo od tej spotykanej u osób zdrowych (31; 32).

Zaburzenia immunoregulacji są trzecim ważnym czynnikiem mającym wpływ na rozwój NZJ. Wiele badań sugeruje, iż choroby zapalne jelit są wynikiem dysfunkcji układu limfatycznego jelit- GALT (*ang. gut associated lymphoid system*), który zawiera ponad 70% limfocytów całego organizmu. U chorych obserwuje się nadmierną odpowiedź immunologiczną skierowaną przeciwko bakteriom bytującym w świetle jelit lub ich fragmentom, co może być wynikiem zaburzeń funkcjonowania bariery jelitowej. Dodatkowo występuje wzmożona aktywność komórek T-pomocniczych o fenotypie CD4+. Tak pobudzone komórki wytwarzają zwiększoną ilość cytokin, które napędzają toczący się proces zapalny (33; 34). Subpopulacja komórek Th2, dominująca w WZJG i produkująca IL-4, IL-5, IL-6 oraz IL-10, odpowiedzialna jest za zwiększoną produkcję przeciwciał m.in. przeciwko okołojądrowemu antygenowi granulocytów (P-ANCA), które obecne są u około 30-80% chorych z WZJG (35). W ChLC dominująca jest subpopulacja komórek Th1, produkująca takie cytokiny jak IL-2, TNF- α czy INF- γ , odpowiedzialna za odpowiedź typu komórkowego, a przeciwciałami charakterystycznymi dla tej postaci choroby są przeciwciała przeciwko *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA). Oznaczanie tych przeciwciał może być pomocne w różnicowaniu ChLC od WZJG (36).

4.1.4 Objawy

Symptomatologia NZJ, szczególnie w populacji pediatrycznej jest szeroka i różnorodna, odzwierciedlając ogólnoustrojowy charakter choroby. Objawy kliniczne można podzielić na trzy zasadnicze grupy tj.: dolegliwości dotyczące przewodu pokarmowego, objawy ogólnoustrojowe, jak również manifestacje pozajelitowe. Do objawów typowych NZJ ze strony przewodu pokarmowego zaliczamy: bóle brzucha, biegunkę, często z domieszką krwi lub śluzu oraz krwawienie z dolnego odcinka przewodu pokarmowego. Wśród objawów ogólnoustrojowych należy wymienić: nawracające gorączki, anemię, męczliwość oraz brak przyrostu masy ciała, a nawet jej ubytek (16; 37; 38). Manifestacja pozajelitowa NZJ wyprzedza rozpoznanie u ok. 10 % chorych, a u do 30 % pacjentów pojawia się do kilku lat od rozpoznania (39; 40). Niektóre z objawów takie jak afty jamy ustnej, rumień guzowaty czy zapalenie stawów częściej występują u pacjentów z ChLC niż z WZJG. Manifestacją pozajelitową jest między innymi niedożywienie, które może dotyczyć nawet do 40% pacjentów na różnych etapach choroby (41). Różnorodność objawów pozajelitowych przedstawiono w Tabeli I, a ich częstość występowania w populacji pediatrycznej w Tabeli II (42; 40).

Tabela I Manifestacja pozajelitowa NZJ

Częste	układ mięśniowo-szkieletowy	zapalenie dużych stawów, zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa, artropatia obwodowa, izolowane zajęcie stawów krzyżowo-biodrowych, zmniejszona gęstość mineralna kości, osteoporoza, osteomalcja, martwica aseptyczna
	skóra i błony śluzowe	rumień guzowaty, piodermia zgorzelinowa, afty, owrzodzenia, martwicze zapalenie naczyń, przetoki i szczeliny,
	wątroba i drogi żółciowe	pierwotne stwardniające zapalenie dróg żółciowych, rak dróg żółciowych, autoimmunologiczne zapalenie wątroby, stłuszczenie wątroby
	oczy	zapalenie tęczówki, zapalenie twardówki, owrzodzenie rogówki, choroby naczyniowe siatkówki,
	objawy metaboliczne	zahamowanie wzrastania, niedożywienie, opóźnienie dojrzewania płciowego
Rzadsze	krew i układ naczyniowy	anemia z niedoboru żelaza, kwasu foliowego, witaminy B12, autoimmunologiczna anemia hemolityczna, anemia chorób przewlekłych, leukocytoza, trombocytoza, zakrzepica żylna i tętnicza, zwężenie

Rzadsze		naczyń, guzkowate zapalenie tętnic, zapalenie naczyń skórnych,
	układ moczowy	kłębuszkowe zapalenie nerek, śródmiąższowe zapalenie nerek, kamienie moczowe
	układ neurologiczny	neuropatia obwodowa, zmiany demielinizacyjne, miastenia, objawy pseudoguza,
	układ oddechowy	zwłóknienie płuc, zapalenie oskrzeli, ostre zapalenie tchawicy, sarkoidoza, śródmiążzowa choroba płuc
	serce	zapalenie osierdzia, zapalenie wsierdzia, zapalenie mięśnia sercowego,
	trzustka	ostre zapalenie trzustki

Tabela II**Częstość występowania manifestacji pozajelitowych w populacji pediatrycznej z NZJ**

	Łącznie (%)	ChLC (%)	CU (%)
Jakakolwiek manifestacja pozajelitowa NZJ	28,2	29,9	23,8
Bóle stawów	16,5	17	14,9
Aftowe zapalenie jamy ustnej	8	9,9	3,2
Zapalenie stawów	3,7	4,4	1,8
Rumień guzowaty	28	3,6	0,71
Pierwotne stwardniające zapalenie dróg żółciowych	15	1	2,8
Zapalenie trzustki	9	0,7	1,4
Przewlekłe zapalenie wątroby	6	0,3	1,4
Zapalenie tęczówki, zapalenie błony naczyniowej oka	7	0,8	0,4
Zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa	4	0,5	0
Piodermia zgorzelinowa	3	0,4	0

We WZJG pierwszym objawem najczęściej jest biegunka oraz obecność krwi w stolcu. Początek choroby może być podstępny lub nagły, a w zależności od aktywności choroby liczba wypróżnień może wahać się od kilku do kilkunastu na dobę. Dodatkowo u pacjentów często występują napadowe, skurczowe bóle brzucha, naglące, bolesne parcie na stolec oraz nietrzymanie stolca, a u tych pacjentów, u których zmiany ograniczone są do odbytnicy rytm wypróżnień może być prawidłowy lub wręcz mogą występować zaparcia (43).

W przypadku ChLC objawy kliniczne są bardziej różnorodne i mogą wyprzedzać rozpoznanie nawet o kilka lat, a zależą od lokalizacji, rozległości i stopnia zaawansowania zmian w przewodzie pokarmowym (44; 45). Najczęściej obserwuje się męczliwość, długotrwałą biegunkę z krwią lub bez, towarzyszące bóle brzucha, utratę masy ciała czy nawracające gorączki (46). Napadowe, skurczowe bóle brzucha występują u większości pacjentów niezależnie od lokalizacji choroby. Z uwagi na pełnościenny naciek w ChLC często dochodzi do zmian zwłóknieniowych, które mogą prowadzić do nawracających epizodów niedrożności jelit, głównie jelita cienkiego, jak również dochodzi do tworzenia się przetok charakterystycznych dla tej postaci NZJ. W badaniach Schwartz'a i wsp. oceniono skumulowane ryzyko rozwinięcia przetoki po 10-20 latach choroby, które wynosi od 33 % aż do 50 % (47), natomiast według Lichtensteina i wsp. nawet u 45% pacjentów z ChLC przetoki rozwijają się jeszcze przed rozpoznaniem choroby (48). Diagnostykę różnicową pomiędzy klasycznymi WZJG i ChLC w populacji pediatrycznej przedstawiono w Tabeli III (49).

NZJ to schorzenia przewlekłe, w których obserwuje się naprzemiennie okresy zaostrzeń i remisji. Zdarza się, iż u niektórych chorych objawy występują przewlekłe, znacząco wpływając na jakość życia oraz prowadząc do licznych powikłań a nawet inwalidztwa. Powikłania NZJ wynikają zarówno z naturalnego przebiegu choroby (zwiężenia, owrzodzenia, przetoki, perforacje jelit, rak), jak również ze stosowanego leczenia farmakologicznego i chirurgicznego.

Tabela III

Diagnostyka różnicowa WZJG i ChLC w populacji pediatrycznej

	WZJG	ChLC
Objawy kliniczne: - krwawienie, - ból brzucha, - <i>megacolon toxicum</i> , - wydalanie śluzu, ropy, - „pseudo” guz brzucha, - upośledzenie stanu odżywienia, - manifestacje pozajelitowe - zwężenia jelit, - przetoki - zmiany okołoodbytnicze, - niedobór wzrostu	bardzo częste mniej nasilony częściej częściej rzadziej rzadziej rzadziej rzadziej bardzo rzadko rzadziej rzadziej	rzadziej silny, częsty rzadziej rzadziej częściej częściej częste częściej częściej
Charakterystyka zmian: - lokalizacja - charakter zmian - charakter nacieku - polipy rzekome	jelito grube ciągły ograniczony do błony śluzowej i podśluzowej często	cały przewód pokarmowy odcinkowe- liniowe owrzodzenia poprzeczne i podłużne (efekt brukowania) pełnościenny rzadko
Zmiany histologiczne: - architektura krypt - krypty i mikroropnie - ziarniniaki - szczeliny - typy komórek	zniekształcona tak nie rzadko zmniejszenie liczby komórek śluzotwórczych	zniekształcona tak tak często kom. nabłonkowe, olbrzymie wielojądrowe typu Langhansa i limfocyty
Autoprzeciwciała	pANCA	ASCA

4.1.5 Klasyfikacja i kryteria diagnostyczne

W 2005 roku na Światowym Kongresie Gastroenterologii w Montrealu zaproponowano klasyfikację WZJG oraz zmodyfikowano klasyfikację ChLC opracowaną w 1998r. w Wiedniu. Klasyfikacje te opierają się na następujących kryteriach: rozległości i umiejscowieniu zmian (WZJG i ChLC), ciężkości rzutu (zaostrenia) choroby (WZJG i ChLC) oraz wieku rozpoznania (ChLC) (50). W tym samym roku na Kongresie Europejskim Gastroenterologów Dziecięcych w Porto ustalono kryteria diagnostyczne NZJ u dzieci, opierające diagnostykę choroby na obrazie klinicznym, wynikach badań endoskopowych, histopatologicznych, radiologicznych i biochemicznych (51).

W populacji pediatrycznej fenotyp choroby jest często atypowy, podczas gdy do 2010 r. zarówno lokalizacja zmian jak i fenotyp NZJ były klasyfikowane zgodnie z obowiązującą zarówno dla populacji dzieci jak i dorosłych klasyfikacją montrealską. W efekcie często dochodziło do stawiania błędnego rozpoznania u dzieci. W odpowiedzi na zapotrzebowanie w 2010 r. powstała modyfikacja pediatryczna klasyfikacji montrealskiej zwana klasyfikacją paryską (52) (Tabela IV; Tabela V), a w 2014 r. Europejskie Towarzystwo Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci (ESPGHAN) opublikowało zmodyfikowane kryteria diagnostyczne NZJ z Porto (53).

Zgodnie z tymi kryteriami diagnostyka NZJ u dzieci powinna opierać się na kombinacji następujących danych: dokładnym wywiadzie, badaniu fizykalnym, badaniach laboratoryjnych, badaniach endoskopowych z badaniem histologicznym oraz badaniach obrazowych. Konieczne jest wykluczenie podłoża infekcyjnego. Badania obrazowe mają szczególne znaczenie w ocenie jelita cienkiego, zwłaszcza u dzieci z podejrzeniem ChLC, u których nie udało się zaintubować jelita krętego, u dzieci z WZJG o nietypowej prezentacji klinicznej oraz u pacjentów z niesklasyfikowanym NZJ. W tych przypadkach powinny zostać wykonane już momencie stawiania diagnozy.

Tabela IV**Klasyfikacja paryska wrzodziejącego zapalenia jelita grubego**

	Kryterium	Symbol	Opis
1.	Lokalizacja: rozległość zmian	E1	zapalenie wrzodziejące odbytnicy
		E2	WZJG lewostronne (dystalnie do więzadła śledzionowego)
		E3	rozległe zmiany (dystalnie do więzadła wątrobowego)
		E4	pancolitis (proksymalnie do więzadła wątrobowego)
2.	Ciężkość rzutu (zaostżenia)	S0	Nigdy nie występowała postać ciężka
		S1	Występowała kiedykolwiek postać ciężka

Tabela V**Klasyfikacja paryska Choroby Leśniowskiego-Crohna**

	Kryterium	Symbol	Opis
1.	Wiek rozpoznania NZJ	A1a	0-9 lat
		A1b	10-16 lat
		A2	16-40 lat
		A3	>40 lat
2.	Lokalizacja	L1	1/3 dystalny odcinek jelita krętego +/- ograniczone zapalenie kątnicy
		L2	okrężnica
		L3	jelito kręte i okrężnica
		L4a	górny odcinek przewodu pokarmowego do węzła Trietza
		L4b	Górny odcinek przewodu pokarmowego od węzła Trietza do 1/3 dystalnego odcinka jelita krętego
3.	Przebieg	B1	postać bez zwężeń i przetok
		B2	postać przebiegająca ze zwężeniami
		B3	postać przebiegająca z przetokami
		B2B3	postać przebiegająca zarówno ze zwężeniami jak i przetokami
		p	dodatkowo występują zmiany około odbytowe

4.	Wzrost	G0	bez zaburzeń wzrastania
		G1	niedobór wzrostu

Do oceny aktywności NZJ u dzieci wykorzystuje się pediatryczne wskaźniki aktywności choroby. Dla WZJG w 2007 r. został wprowadzony przez Turner'a i wsp. tzw. pediatryczny wskaźnik aktywności wrzodziejącego zapalenia jelita grubego PUCAI (*ang. Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index*) (54). Jest to nieinwazyjna skala oceny aktywności choroby opierająca się na takich objawach jak: ból brzucha, krwawienie z odbytnicy, liczba i konsystencja stolców, stolce oddawane w nocy oraz poziom aktywności pacjenta (Tabela VI).

Tabela VI

Pediatryczny wskaźnik aktywności wrzodziejącego zapalenia jelita grubego PUCAI

Lp.	Objawy	Punkty
1.	Bóle brzucha: a. brak bólu b. ból, który może być ignorowany c. ból, który nie może być ignorowany	0 5 10
2.	Krwawienie z odbytnicy: a. brak b. niewielka ilość, mniej niż w 50% stolców c. niewielka ilość, w więcej niż 50% stolców d. duża ilość krwi w ponad 50% stolców	0 10 20 30
3.	Konsystencja stolców: a. uformowany b. częściowo uformowany c. całkowicie nieuformowany	0 5 10
4.	Liczba stolców na dobę: a. 0-2 b. 3-5	0 5

	c. 6-8	10
	d. >8	15
5.	Oddawanie stolca w nocy (jakikolwiek epizod będący przyczyną przebudzenia)	
	a. nie	0
	b. tak	10
6.	Poziom aktywności:	
	a. nieograniczona aktywność	0
	b. sporadyczne ograniczenie aktywności	5
	c. poważne ograniczenie aktywności	10

O ciężkim rzucie choroby mówimy gdy uzyskana przez pacjenta liczba punktów wynosi więcej niż 65. Rzut umiarkowany stwierdzamy, gdy aktywność choroby mieści się w zakresie punktowym 35-64, a łagodny w zakresie 10-34 pkt. Gdy pacjent uzyska mniej niż 10 pkt rozpoznajemy nieaktywną postać choroby.

Analogicznie do PUCAI w celu oceny aktywności ChLC oraz monitorowania efektów terapii u dzieci stosuje się wskaźnik aktywności PCDAI (*ang. Paediatric Crohn's Disease Activity Index*). Ocenie podlegają objawy kliniczne (ból brzucha, ilość oddawanych stolców, obecność krwi w stolcu, samopoczucie), wyniki badań laboratoryjnych (stężenie hemoglobiny, albumin, odczyn Biernackiego), obecność zmian pozajelitowych oraz okołodbytniczych, jak również fizykalne badanie brzucha i ocena stanu odżywienia.

W Tabeli VII przedstawiono arkusz obliczania PCDAI wg. Hyamsa, w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego (55).

Tabela VII**Pediatryczny wskaźnik aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna PCDAI**

Lp.	Objawy	Punkty
1.	Ból brzucha: a. brak b. słaby c. silny	0 5 10
2.	Stolce / dziennie: a. < 2 bez krwi b. 2-5 luźnych stolców z śladem krwi c. > 5 stolców lub znaczne krwawienie	0 5 10
3.	Samopoczucie: a. dobre, pełna aktywność b. średnie, mniejsza aktywność c. złe, znaczne ograniczenie aktywności	0 5 10
4.	Stężenie hemoglobiny (g/dl): a. > 12 b. 10-12 c. < 10	0 2,5 5
5.	OB. (mm/h): a. < 20 b. 20-50 c. > 50	0 2,5 5
6.	Stężenie albumin (g/dl): a. > 35 b. 31-35 c. < 31	0 5 10
7.	Wskaźnik Cole'a: a. > 85 b. 80-85 c. < 85	0 10 20

8.	Badanie palpacyjne brzucha: a. brak tkliwości i wyczuwalnych oporów b. nieznaczna tkliwość lub wyczuwalny guz c. wyraźna tkliwość i guz	0 5 10
9.	Zmiany okołodbytowe: a. brak b. niewielkie, bez bolesności c. przetoki, bolesność lub ropień	0 5 10
10.	Objawy pozajelitowe: a. brak b. 1 c. 2 lub więcej	0 5 10

Postać ciężką ChLC rozpoznajemy gdy wynik PCDAI wynosi powyżej 50 pkt. Postać umiarkowaną nasiloną stwierdzamy przy zakresie punktów 30-50, a łagodną w przedziale 10-27,5 pkt. O postaci nieaktywnej choroby mówimy gdy pacjent uzyska mniej niż 10 pkt.

4.1.6 Leczenie NZJ

Z uwagi na nieznaną etiologię NZJ ich przyczynowe leczenie jest niemożliwe. Z tego powodu za najważniejszy cel stosowanych terapii uważa się uzyskanie i jak najdłuższe utrzymanie remisji histologicznej, co zmniejsza ryzyko nawrotu choroby, wystąpienia jej powikłań oraz zachorowania na raka jelita grubego, jak również znacząco poprawia jakość życia pacjentów. U dzieci dodatkowo leczenie powinno umożliwić normalizację rozwoju fizycznego. Leczenie możemy podzielić na zachowawcze i chirurgiczne, a jego wybór zależy od aktywności choroby i rozległości procesu zapalnego (56).

W skład leczenia zachowawczego wchodzi: leczenie dietetyczne, leczenie żywieniowe, farmakologiczne oraz psychoterapia. Celem optymalnego leczenia dietetycznego jest zapobieganie i uzupełnianie niedoborów makro i mikroelementów, osiągnięcie i utrzymanie prawidłowej masy ciała oraz zapewnienie prawidłowego i harmonijnego rozwoju fizycznego dziecka.

Leczenie żywieniowe u dzieci z aktywną postacią NZJ, zwłaszcza ChLC jest leczeniem pierwszego rzutu, w przeciwieństwie do pacjentów dorosłych gdzie wdrażane jest w przypadku wystąpienia objawów niepożądanych leczenia glikokortykosteroidami. W skład leczenia żywieniowego zaliczamy żywienie drogą doustną oraz dojelitową przez zgłębnik dietami przemysłowymi (57). Ta droga jest najbardziej fizjologiczna drogą podaży pokarmu i stymuluje regenerację nabłonka jelitowego. W porównaniu z konwencjonalną glikokortykosteroidoterapią ten sposób leczenia wykazuje podobną skuteczność w indukcji remisji u pacjentów pediatrycznych z NZJ, dodatkowo zapobiegając niedożywieniu i jego powikłaniom (58; 59; 60).

Farmakoterapia standardowa NZJ opiera się na następujących grupach leków:

5-aminosalicylany (5-ASA) tj., sulfasalazyna i mesalazyna, glikokortykosteroidy (GKS), leki immunosupresyjne (azatiopryna, 6-merkaptopuryna, cyklosporyna, metotreksat) oraz przeciwciała monoklonalne tzw. leki biologiczne (infliksimab, adalimumab). W wybranych przypadkach, zwłaszcza przy powikłaniach infekcyjnych stosuje się antybiotyki. W grupie leków przeciwzapalnych GKS stosowane są jako leki pierwszego rzutu, zwłaszcza u pacjentów dorosłych z NZJ. Ich dawka jest stopniowo zmniejszana po opanowaniu ostrego rzutu choroby, a ze względu na ich działania niepożądane optymalnym jest ich całkowite odstawienie w ciągu kilku miesięcy. Niestety nawet do 25% pacjentów wymaga stałej ich podaży w celu kontrolowania choroby (tzw. steroidozależność).

Dotychczas najczęściej stosowaną strategią terapeutyczną, była tzw. terapia „*step up*”, polegająca na włączaniu stopniowym coraz silniej działających leków w miarę nasilania się procesu zapalnego. W myśl tej strategii leki biologiczne włączane były dopiero po niepowodzeniu lub pojawieniu się działań niepożądanych leczenia przeciwzapalnego i immunosupresyjnego (61; 62). W efekcie u części pacjentów dochodziło do progresji choroby z powodu braku remisji śluzówkowej i pojawienia się zmian strukturalnych w przewodzie pokarmowym tj. zwężeń czy przetok oraz innych licznych powikłań. W ostatnich latach coraz częściej kładzie się nacisk na bardziej agresywną terapię tzw. terapię „*top-down*”, której celem jest szybsze uzyskania remisji klinicznej i wygojenia śluzówkowego. Zakłada ona wczesne włączenie leków biologicznych, zwłaszcza antagonistów TNF- α , już na etapie indukcji remisji i wydaje się mieć szczególne znaczenie w leczeniu ChLC (63; 64).

W przypadku gdy leczenie żywieniowe i farmakoterapia są nieskuteczne lub gdy występują powikłania NZJ konieczne jest wdrożenie leczenia chirurgicznego.

W WZJG choroba ograniczona jest do jelita grubego, z tego powodu usunięcie tej części jelit powoduje całkowite wyleczenie choroby, jednak wiąże się z licznymi powikłaniami oraz znaczącym obniżeniem jakości życia pacjentów. Z tego powodu leczenie zachowawcze jest leczeniem z wyboru i zależy od aktywności choroby i lokalizacji zmian zapalnych. Przykładowy schemat terapii u dzieci w zależności od aktywności WZJG przedstawiono w Tabeli VIII.

Tabela VIII Przykładowe schematy leczenia dzieci z WZJG

Rzut WZJG	Terapia
łagodny	- 5-ASA doustnie - wlewki doodbytnicze z 5-ASA lub HC przy lewostronnej lokalizacji choroby (w połączeniu z terapią doustną lub w monoterapii)
umiarkowany	- GKS (prednison, budesonid) doustnie - GKS (metylprednisolon) dożylnie - leki immunosupresyjne u osób steroidozależnych (6-merkaptopuryna, azatiopryna) - leki biologiczne (infliximab, adalimumab) - kolektomia u osób z powikłaniami farmakoterapii lub gdy ta jest nieskuteczna
ciężki	- wysokie dawki GKS dożylnie - płynoterapia dożylna - żywienie pozajelitowe w przypadku braku możliwości przyjmowania pokarmów doustnie - leczenie chirurgiczne przy braku efektów terapii zachowawczej

4.2 Niedożywienie i specyficzne niedobory pokarmowe w NZJ

4.2.1 Niedożywienie w NZJ

Niedożywieniem określamy stan organizmu żywego będący skutkiem zazwyczaj przedłużonego niedoboru składników pokarmowych. Wśród pacjentów z NZJ w około 70-80% przypadków na jakimś etapie choroby dochodzi do znacznej utraty masy ciała, a w efekcie u wielu z nich (nawet u 40%) dochodzi do znacznego stopnia niedożywienia, mogącego się pojawić zarówno w okresie ostrego rzutu choroby jak i w trakcie remisji (65; 66).

Do głównych przyczyn niedożywienia w NZJ należą: zmniejszona podaż doustna składników pokarmowych, zwiększone zapotrzebowanie organizmu spowodowane toczącym się procesem zapalnym, zmniejszone trawienie i wchłanianie składników odżywczych oraz ich zwiększoną utratę w skutek biegunk i krwawienia z przewodu pokarmowego. Toczyący się proces zapalny uszkadza barierę jelitową, zwłaszcza tzw. połączenia ścisłe, ułatwiając przenikanie przez nią niewłaściwych cząsteczek zarówno do jak i z organizmu. Często u chorych na NZJ można zaobserwować występowanie jadłowstrętu, za który odpowiedzialne mogą być m.in. cytokiny prozapalne (TNF α , IL-1, IL-6), ale również zaburzenia motoryki przewodu pokarmowego, obawa przed dolegliwościami bólowymi oraz przeszkody mechaniczne utrudniające pasaż treści pokarmowej (zwężenia, przetoki) (67).

Analogiczne mechanizmy prowadzą do specyficznych niedoborów pokarmowych takich jak niedobór makro i mikroelementów. W skład pierwszej grupy będą wchodzić m.in. białka, składniki energetyczne czy metale takie jak Ca i Mg, natomiast w skład drugiej grupy m.in. witaminy i pierwiastki śladowe. W przypadku mikroelementów, z uwagi na specyficzne miejsca przewodu pokarmowego, w których są one trawione i wchłaniane, ich niedobór będzie w dużej mierze zależał od lokalizacji i aktywności NZJ. W Tabeli IX przedstawiono częstość występowania wskaźników laboratoryjnych świadczących o niedoborach pokarmowych u pacjentów dorosłych z NZJ (68).

Tabela IX Częstość występowania wskaźników laboratoryjnych świadczących o niedoborach pokarmowych u pacjentów dorosłych z NZJ

Lp.	parametr	częstość występowania (%)
1.	hypoalbuminemia	25 do 80
2.	anemia	60 do 90
3.	niedobór żelaza	39 do 81
4.	niedobór wit. B12	20 do 60
5.	niedobór kwasu foliowego	36 do 54
6.	niedobór wapnia	13
7.	niedobór magnezu	14 do 33
8.	niedobór potasu	6 do 20
9.	niedobór wit. A	11
10.	niedobór wit. D	75
11.	niedobór wit. E	*
12.	niedobór wit. K	*
13.	niedobór cynku	40 do 50
14.	niedobór miedzi	*
15.	niedobór wit. C	*
16.	niedobór wit. B1	32
17.	niedobór niacyny	*

* opisano przypadki niedoboru ale nie określono jego częstości występowania

4.2.2 Pierwiastki śladowe

Endogenne pierwiastki śladowe pomimo, iż występują w bardzo małych ilościach w organizmie w porównaniu do tzw. makroelementów są niezbędne do prawidłowego jego funkcjonowania. Wchodzą one w skład struktur komórkowych, pełnią rolę kofaktorów oraz katalizatorów szeregu procesów biochemicznych. Zarówno niedobór (m.in. w skutek niedożywienia) jak i nadmiar (m.in. w skutek ekspozycji środowiskowej) może być szkodliwy dla organizmu. Do ich wchłaniania dochodzi poprzez śluzówkę jelit zarówno w drodze

biernego, jak i aktywnego transportu, często z wykorzystaniem specyficznych białek transportowych. Określenie stężeń zarówno endogennych jak i egzogennych pierwiastków śladowych w organizmie może być istotne zarówno w diagnozowaniu, jak i monitorowaniu wielu chorób, stanu odżywienia oraz wpływu środowiska na organizm ludzki.

U osób chorujących na NZJ może dochodzić do niedoborów biopierwiastków, w tym w zakresie pierwiastków śladowych zarówno w ostrej fazie choroby, jak i w przypadku łagodnego jej przebiegu, czy też w okresach remisji klinicznej. Z dostępnych w literaturze badań wynika, iż niedobory te częściej dotyczą pacjentów z ChLC oraz tych, u których w obrazie choroby dochodzi do tworzenia przetok czy zwężeń lub poddanych zabiegom operacyjnym na jelitach m.in. resekcjom lub pozostającym na długoterminowym żywieniu pozajelitowym (69; 57).

Większość dostępnych w literaturze doniesień na temat niedoborów biopierwiastków, w tym pierwiastków śladowych dotyczy badań na populacji ludzi dorosłych. Dane dotyczące populacji pediatrycznej koncentrują się głównie na zaburzeniach związanych z niedoborem żelaza oraz wapnia, pojedyncze dotyczą cynku czy miedzi. Z dostępnych danych wynika, iż w grupie dzieci z NZJ również dochodzi do istotnych niedoborów biopierwiastków (żelazo, cynk, selen, miedź), co może w konsekwencji przekładać się nie tylko na stan kliniczny ale również na zaburzenia wzrastania i dojrzewania płciowego tych pacjentów, a także pojawianie się innych powikłań i jednostek chorobowych. W przypadku niektórych biopierwiastków obserwuje się w wybranych przypadkach również ich nadmierne występowanie wśród chorych NZJ (miedź, selen, mangan). Nieliczne prace dotyczące pacjentów pediatrycznych opisują profil pierwiastkowy, jak również mało jest doniesień, w których otrzymane profile porównywane są z aktywnością i obrazem choroby. W Tabeli X przedstawiono podsumowanie wybranych badań, w których mierzono stężenia mikroelementów u pacjentów pediatrycznych z NZJ (70; 71; 72; 73).

Tabela X Podsumowanie wybranych badań, w których mierzono stężenia mikroelementów u pacjentów pediatrycznych z NZJ

Badanie	Populacja badana	Mikroelement	Wynik	Komentarz
Seung Min Song i wsp. (2014)	71 dzieci z ChLC	Fe, Ca, Mg, kw. Foliowy, wit. B12, Zn	Niedobór Fe-49 dzieci Niedobór Ca-24 dzieci Niedobór Mg-6 dzieci Niedobór Zn-26 dzieci	
Wiskin i wsp. (2012)	46 dzieci z ChLC oraz 34 dzieci z WZJG	Fe	niedobór Fe 90% dzieci z ChLC i 95% z WZJG	Niedobór Fe definiowany zgodnie ze standardami WHO
Sikora i wsp. (2011)	154 nowo rozpoznane przypadki NZJ, 64 dzieci gr. kontrolna	Fe, Zn, Se, kw. Foliowy, wit. B1, wit. A, wit. E w surowicy krwi	Se niższe stężenie w NZJ w porównaniu z gr. kontrolną	
Ojuawo & Keith (2002)	74 nowo rozpoznane przypadki NZJ, 40 dzieci gr. kontrolna	Zn, Se, Cu w osoczu	Se i Zn mniejsze stężenie w ChLC niż w gr. kontrolnej; Cu wyższe stężenie w ChLC niż w WZJG i gr. kontrolnej	
Levy i wsp. (2000)	22 chorych z ChLC, 10 dzieci gr. kontrolna	retinol, β -karoten, α - tokoferol w osoczu	niższe stężenie retinolu w ChLC niż w gr. kontrolnej	brak zróżnicowania na aktywną i nieaktywną postać choroby
Bousvaros i wsp. (1998)	97 chorych z NZJ, 23 dzieci gr. kontrolna	wit. A i wit E w osoczu	14,4% niskie stężenie wit. A i 6,2% wit. E w stosunku do wartości referencyjnych	deficyty bardziej nasilone w grupie

				pacjentów z aktywną ChLC
Hoffenberg i wsp. (1997)	24 chorych z NZJ, 23 dzieci gr. kontrolna	Wit.C, wit.A, wit. E, β - karoten, α - tokoferol, białko wiążące retinol, glutathion, Se w osoczu	wit C niższe stężenie w grupie chorych, wit.E wyższa w grupie chorych niż w grupie kontrolnej	stężenie antyoksydantów koreluje ujemnie z wartościami antropometrycz- nymi
Thomas i wsp. (1994)	39 aktywnych postaci ChLC, 86 dzieci gr. kontrolna	Se w osoczu	brak istotnych różnic	

Żelazo (Fe)

Żelazo jest jednym z podstawowych mikroelementów o decydującym znaczeniu dla funkcjonowania żywego organizmu. Wchodzi ono w skład grup prostetycznych licznych, ważnych białek, jak również znajduje się w centrach aktywnych wielu enzymów. Zapotrzebowanie organizmu na ten pierwiastek jest zmienne i zależy od wielu czynników takich jak wiek, płeć czy aktualny stan zdrowia organizmu.

Zasadnicza część zasobów żelaza w organizmie ludzkim (ok. 75%) wchodzi w skład hemu-grupy prostetycznej takich białek jak hemoglobina czy mioglobina. Pozostała część magazynowana jest za pośrednictwem takich białek jak transferryna (transport), ferrytyna (białko ostrej fazy) czy hemosyderyna, a jedynie ok. 3 % wchodzi w skład centrów aktywnych istotnych enzymów takich jak katalazy, peroksydazy czy cytochromy (74).

Równowagę w gospodarce żelazem organizm osiąga przede wszystkim poprzez regulacje jego wchłaniania i transportu w jelitach, które z kolei zależą od następujących czynników: zmagazynowane zasoby Fe (transferryna, ferrytyna), tempo erytropoezy oraz podaż Fe z pożywieniem. Niskie zasoby oraz wzmożona erytropoeza będą zwiększać wchłanianie żelaza w jelitach.

W populacji pediatrycznej, z uwagi na tempo wzrostu oraz ciągłą budowę masy mięśniowej, nawet 30% dziennego zapotrzebowania na żelazo musi być dostarczane z dietą, podczas gdy u dorosłych jest to jedynie ok. 5%. Biodostępność tego mikroelementu jest różna w zależności od spożywanego produktu. Zdecydowanie lepiej przyswajalne jest żelazo pochodzące ze źródeł zawierających hem tj. produkty mięsne, w przeciwieństwie do produktów roślinnych.

Według danych literaturowych nawet do 90% pacjentów z NZJ ma niedobory żelaza, a w konsekwencji do 70% z nich rozwija kliniczną anemię (75; 76). Do głównych przyczyn anemii z niedoboru żelaza u tych chorych zaliczamy: utratę krwi ze stolcem, upośledzone wchłanianie jelitowe żelaza oraz zużywanie zasobów żelaza poprzez toczący się proces zapalny w organizmie.

Cynk (Zn)

Cynk został zaliczony do niezbędnych mikroelementów dopiero w 1957r, wówczas powiązano jego niedobory z występowaniem hypogonadyzmu i karłowatości (77). Swoją rolę biologiczną cynk odgrywa w głównej mierze jako kofaktor stabilizujący strukturę białek, tworząc m.in. tzw. palce cynkowe- rodzaj domeny białkowej występujących w białkach wiążących DNA, dzięki czemu pierwiastek ten ma wpływ na wszystkie podstawowe procesy życiowe, jak również wchodząc w skład enzymów katalizujących ważne procesy życiowe.

Około 60% zasobów cynku w organizmie zdeponowane jest w kościach oraz mięśniach. Jest on aktywnie wchłaniany w jelicie cienkim, przede wszystkim w dwunastnicy oraz jelicie czczym, a proces ten reguluje metalotioneina- metaloproteina, która odpowiedzialna jest również za wchłanianie miedzi. Z uwagi na podobne szlaki wchłaniania cynk może konkurować o absorpcję z jelit zarówno z miedzią jak i żelazem (78).

U pacjentów z NZJ niedobory cynku występują przede wszystkim w ChLC. W tej grupie małe stężenie cynku w surowicy obserwuje się nawet u 65% chorych. Niestety stężenie tego pierwiastka w surowicy waha się w zależności od stężenia w niej albumin i nie do końca odzwierciedla całkowite zasoby organizmu. Wyznacznikiem stopnia niedoboru cynku może

być stężenie fosfatazy alkalicznej w surowicy krwi, która jest metaloenzymem zawierającym cynk (79).

Do klinicznych manifestacji niedoborów cynku zaliczamy: spowolnienie tempa wzrostu, zaburzenia mineralizacji kości, zmiany skórne (t.j. złe gojenie się ran, zmiany łuszczycopodobne), opóźnione dojrzewanie płciowe, hypogonadyzm, zmniejszenie odporności czy zaburzenia widzenia.

Selen (Se)

Najważniejszą funkcją biologiczną selenu jest działanie antyoksydacyjne za pośrednictwem enzymu w którego skład wchodzi- peroksydazy glutationowej. Enzym ten m.in. zapobiega szkodliwemu działaniu wolnych rodników na błony komórkowe. Niedobory tego mikroelementu po raz pierwszy zaobserwowano u szczurów doświadczalnych, u których sztucznie wywoływano niedobory witaminy E, a w konsekwencji uszkodzenie wątroby. Suplementacja Se u tych zwierząt działa hepatoprotekcyjnie (80; 81).

Dodatkowo przypisuje się temu pierwiastkowi działanie przeciwnowotworowe, ma on wpływ na funkcjonowanie układu odpornościowego, syntezę hormonów tarczycy, jak również stanowi istotny element w utrzymaniu czynności seksualnej mężczyzn. Niedobory Se mogą skutkować dysfunkcją mięśni szkieletowych, kardiomiopatią, zaburzeniami zachowania czy funkcjonowania układu odpornościowego (82).

Zawartość selenu w różnych produktach jest zmienna i zależy w głównej mierze od zawartości tego pierwiastka w glebie i w wodzie w danym regionie świata. Polska gleba uważana jest za ubogą w selen. Zakres optymalnych stężeń selenu w organizmie jest bardzo wąski. Nadmierna podaż może prowadzić do objawów zatrucia tj. nudności, biegunka, neuropatia czy wypadanie włosów. Z tego powodu suplementacja tym pierwiastkiem powinna być prowadzona u osób z jego udokumentowanym niedoborem (82).

W świetle danych literaturowych u pacjentów z NZJ kliniczne objawy niedoboru selenu występują rzadko. Obniżone stężenie tego pierwiastka oraz peroksydazy glutationowej w surowicy krwi chorych obserwuje się głównie u pacjentów z ChLC, którzy przeszli resekcję

jelita > 200cm, jak również u tych, którzy pozostają na całkowitym żywieniu pozajelitowym (83).

Miedź (Cu)

Miedź jest mikroelementem występującym w centrach aktywnych wielu enzymów, pełniących rozliczne funkcje np. antyoksydantów czy neurotransmiterów. Swoją funkcjonalność zawdzięcza łatwości oddawania i przyjmowania elektronu oraz wysokim potencjałom oksydacyjnym. Wchłaniana jest w żołądku oraz proksymalnej części jelita cienkiego, następnie w formie związanej z albuminą trafia do wątroby, gdzie wbudowywana jest w białko transportowe ceruloplazminę. Jest niezbędna do prawidłowego wchłaniania żelaza w jelitach, a z uwagi na konkurencyjne szlaki wchłaniania z cynkiem nadmiar tego ostatniego może skutkować niedoborem miedzi (84).

Klinicznie niedobory tego mikroelementu objawiają się łamliwymi, kruchymi włosami, depigmentacją skóry, osłabieniem siły mięśniowej, neuropatią, anemią, hepatosplenomegalią czy osteoporozą. Z drugiej strony zbyt duże stężenie miedzi w organizmie ma działanie toksyczne objawiające się zaburzeniami ze strony przewodu pokarmowego tj. nudnościami, wymiotami, bólami brzucha, biegunką czy ze strony układu nerwowego tj. neuropatią, zaburzeniami poznawczymi, ataksją. W cięższych przypadkach zatrucie może doprowadzić do uszkodzenia serca, nerek czy wątroby, a nawet śmierci.

W świetle danych literaturowych u chorych z NZJ, zarówno wśród dzieci jak i dorosłych rzadko obserwuje się kliniczne objawy niedoboru miedzi, a jeżeli niedobory te występują to dotyczą one głównie chorych z nasiloną biegunką, przetokami lub pozostających na żywieniu pozajelitowym. Istnieje również szereg badań wskazujących na odwrotne zjawisko, a więc zwiększone stężenie miedzi u chorych z NZJ, co z uwagi na jej wysoki potencjał oksydacyjny jest zjawiskiem niebezpiecznym, potencjalnie toksycznym (85; 86).

Mangan (Mn)

Mangan wchodzi w skład centrów aktywnych wielu ważnych dla życia enzymów. Po raz pierwszy jego istotny wpływ na wzrastanie i rozwój organizmu zaobserwowano u gryzoni, u ludzi jego rola biologiczna nie została do końca poznana. Pierwiastek ten wchłaniany jest jedynie w 5%, głównie w jelicie cienkim, po zmianie stopnia utlenienia z Mn(2+) na Mn(3+), a następnie w postaci związanej z albuminami trafia poprzez krążenie wrotne do wątroby,

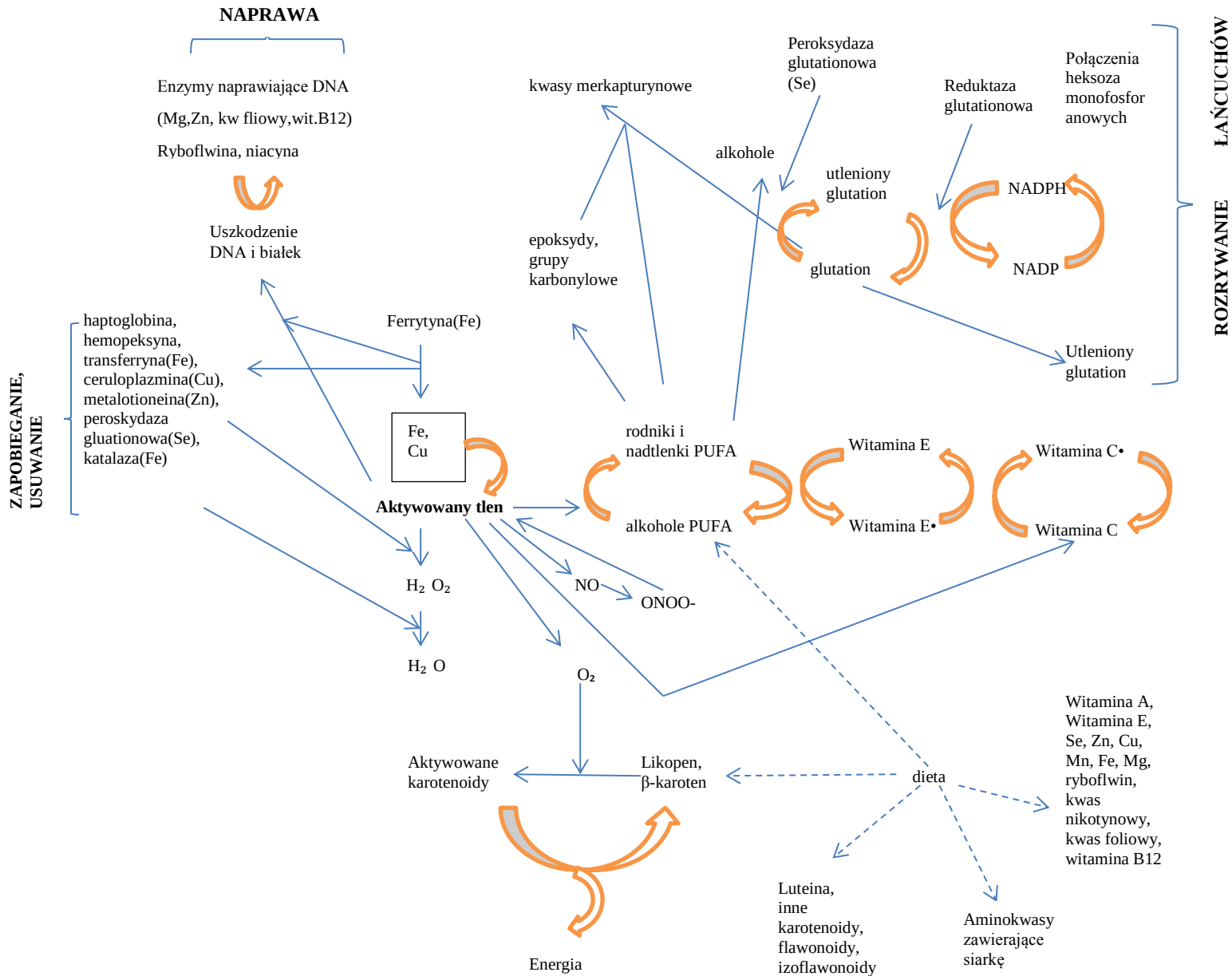
wydalany jest z żółcią. Zwiększona podaż wapnia, fosforanów czy błonnika zmniejsza wchłanianie manganu, podczas gdy niedobór żelaza go zwiększa, z uwagi na fakt, iż zarówno mangan $Mn(3+)$ jak i żelazo $Fe(3+)$ wchłaniane są przy pomocy tych samych białek transportowych. W konsekwencji niedobór Fe w organizmie, będzie prowadził do zwiększonej ekspresji tych białek w kosmkach jelitowych, a przy braku żelaza a obecności manganu w pożywieniu, większe jego ilość będzie wchłaniana (87; 88).

Objawy kliniczne niedoboru manganu obserwuje się głównie u zwierząt doświadczalnych i zalicza się do nich m.in.: spowolnione tempo wzrostu, obniżoną płodność, deformacje szkieletu, ataksję oraz zaburzony metabolizm tłuszczu i węglowodanów (89). Wśród ludzi istotne klinicznie niedobory tego mikropierwiastka występują niezmiernie rzadko, powodując zmiany łuszczycowe skóry oraz dyslipidemię (90).

Z drugiej strony nadmiar manganu w organizmie ludzkim wykazuje działanie toksyczne, przede wszystkim na OUN (ośrodkowy układ nerwowy), powodując zaburzenia układu pozapiramidowego z objawami przypominającymi chorobą Parkinsona (zaburzenia koordynacji, równowagi, koncentracji). Wśród innych objawów należy wymienić nudności, wymioty czy zaburzenia funkcji wątroby.

Potencjalnie toksyczne działanie tego pierwiastka zaobserwowano również u dzieci i dorosłych pozostających na długotrwałym żywieniu pozajelitowym. Mangan wchodzi w skład standardowych mieszanek używanych do żywienia pozajelitowego, skąd absorbowany jest w całości, podczas gdy przy podaży doustnej wchłaniany jest jedynie w niewielkim procencie. Ma to szczególne znaczenie u małych dzieci, u których występują objawy cholestazy, a więc wydalanie manganu z żółcią jest upośledzone (91).

Podsumowując badane pierwiastki pełnią szereg funkcji w organizmie człowieka, wśród których jedną z ważniejszych jest ich udział w ochronnych mechanizmach antyoksydacyjnych, które chronią komórki przed uszkodzeniem oraz zapobiegają nadmiernemu rozwojowi stanu zapalnego. Złożoność mechanizmów antyoksydacyjnych organizmu oraz udziału w nich badanych pierwiastków przedstawiono na Rysunku 1.



Rysunek 1. Mechanizmy obronne antyoksydacyjne organizmu ludzkiego.

Zaadoptowane z pracy Ruiz-Nunez B. et al. (92)

4.3 Metale ciężkie a NZJ

Brak jest doniesień w literaturze na temat akumulacji toksycznych metali ciężkich w tym Pb u chorych z NZJ. Ołów po raz pierwszy wytopiono ok. 4000 lat p.n.e. jako efekt uboczny obróbki srebra. Przez stulecia obserwowano konsekwencje toksycznego działania tego metalu. Przypuszcza się nawet, iż mógł on przyczynić się do upadku Imperium Rzymskiego (93). W czasach nowożytnych konsekwencje zatrucia ołowiem po raz pierwszy zauważono w USA w latach 20-tych XIX wieku, pomimo tego ołów był dodawany do benzyn oraz farb aż do lat 70-tych (94). Po tym okresie obserwowano stopniowy spadek zatruc i efektów toksycznych ołowiu. W 2012 roku u ok. 450 tys. dzieci w USA stężenie Pb w surowicy było przekroczone ($> 5\text{mg/dl}$), co jest efektem ekspozycji środowiskowej na ten metal.

Źródłem ołowiu jest zarówno pożywienie jak i wdychane powietrze. U dzieci wchłanianie ołowiu drogą przewodu pokarmowego jest dużo większe niż u dorosłych (nawet do 70% versus 20%) (95). Niedożywienie oraz niedobory żelaza i wapnia dodatkowo nasilają ten proces. Efekt toksyczny tego metalu w dużej mierze polega na uszkodzeniu komórek prowadzącym do ich śmierci, a szczególnie narażone są komórki układu nerwowego.

Poniższe badanie ma za zadanie ocenić czy stopień akumulacji metali ciężkich jest większy u pacjentów pediatrycznych z NZJ w porównaniu z grupą kontrolną. Z pośród kilku metali ciężkich w tym badaniu wybrano ołów, z uwagi na dobrze opracowaną technikę jego oznaczania w badanym materiale, jak również jego powszechność występowania w środowisku zewnętrznym. Przypuszcza się, iż z uwagi na uszkodzoną barierę jelitową i wzrost jej przepuszczalności, stężenie tego pierwiastka toksycznego może być większe w organizmach dzieci chorych z NZJ.

4.4 Włosy jako alternatywny materiał biologiczny

Analiza ludzkiego włosa jako alternatywnego materiału biologicznego jest metodą stosowaną od wielu lat. Celem takiej analizy są m.in. ocena stanu odżywienia pacjenta oraz wpływu czynników środowiskowych na jego organizm. Analizować można stężenia pojedynczych pierwiastków m.in. pierwiastków śladowych, jak i większych cząsteczek takich jak leki. Włosy są materiałem mniej inwazyjnym, co ma duże znaczenie w grupie pacjentów pediatrycznych, a ze względu na swoje tempo wzrostu (ok. 1 cm/ miesiąc) pokazują wartość uśrednioną oznaczanych substancji w określonym przedziale czasowym. Prawdopodobnie w momencie tworzenia się włosa, wbudowuje on do swojej struktury pierwiastki śladowe w ilości proporcjonalnej do tych jakie znajdują się w osoczu krwi (96).

Część badaczy jest zdania, iż otrzymane stężenia analizowanych substancji są sumą wpływów endogennych oraz egzogennych na ludzki organizm i mogą wykazywać się dużą zmiennością nawet w homogennej populacji. W kontekście wykorzystania włosów jako materiału alternatywnego do surowicy krwi, wiarygodność otrzymanych wyników w dużym stopniu zależy od stopnia wyeliminowania wpływów egzogennych, a więc od sposobu przygotowania włosa do analizy (procedur mycia) (97).

Wykorzystanie włosa jako biomonitora stężeń pierwiastków śladowych w świetle badań populacyjnych tj. Rodrigueza i wsp., wydaje się mieć znaczenie dla wybranych pierwiastków (98). Uznany przykładem takiego wykorzystania włosa jest oznaczanie rtęci w kontekście spożycia zatrutych ryb, czy oznaczanie selenu w kontekście chorób cywilizacyjnych takich jak nowotwory czy choroba niedokrwienna serca (99; 100) .

5. CELE PRACY

1. Określenie profilu stężeń wybranych biopierwiastków i metali ciężkich w surowicy krwi oraz we włosach pacjentów pediatrycznych z NZJ w momencie rozpoznania choroby.
2. Porównanie otrzymanych wyników u dzieci z NZJ z wynikami dzieci z grupy kontrolnej.
3. Ocena wpływu wybranych czynników środowiskowych oraz żywieniowych na zmiany w stężeniach wybranych biopierwiastków u chorych z NZJ.
4. Ocena korelacji stężeń badanych biopierwiastków i metali ciężkich w surowicy krwi oraz we włosach u pacjentów pediatrycznych z NZJ. Próba oceny przydatności włosów jako materiału biologicznego.
5. Określenie profilu stężeń wybranych biopierwiastków i metali ciężkich w surowicy krwi oraz we włosach pacjentów z NZJ po roku od postawienia diagnozy choroby i wdrożenia terapii.

6. MATERIAŁY I METODY

6.1 Charakterystyka badania

Przeprowadzone badanie było prospektywnym badaniem mieszanym. Pierwszą część stanowiło przekrojowe badanie obserwacyjne z grupą kontrolną. Grupę badaną stanowiły dzieci z nowo rozpoznany NZJ. W obu grupach przeprowadzono wywiad żywieniowo-środowiskowy oraz badania biochemiczne i chemiczne w surowicy krwi i we włosach, mające na celu wyznaczenie stężeń wybranych biopierwiastków i metali ciężkich. Drugą część badania stanowiło badanie kohortowo-obserwacyjne. Po rocznym okresie obserwacji u wszystkich pacjentów z grupy dzieci chorych na NZJ powtórzono oznaczenia zgodnie z założeniem projektu badawczego.

Grupa badana dzieci z NZJ składała się z pacjentów leczonych w Klinice Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia dzieci PAIP UJCM w Krakowie w latach 2011-2014. Pierwsza część badania została przeprowadzona w czasie hospitalizacji, podczas której postawiono rozpoznanie NZJ. Drugą część badania wykonano po rocznym okresie leczenia podczas kolejnej hospitalizacji lub wizyty kontrolnej w przyklinicznej Poradni Gastrologicznej. Grupę kontrolną stanowiły dzieci zdrowe zgłaszające się po poradę lekarską do przyklinicznej Poradni Gastrologicznej.

Wszystkie badania były przeprowadzone po uzyskaniu pisemnej zgody rodziców lub prawnych opiekunów dzieci oraz pacjentów, którzy ukończyli 16 rok życia. Każdy uczestnik otrzymał pisemną informację o strukturze, celach i założeniach badania. Wzór formularzy pisemnej zgody oraz informacji o badaniu umieszczono w Aneksie.

Badanie uzyskało akceptację Komisji Bioetycznej UJ: opinia nr KBET/20/B/2011 z dnia 24 marca 2011 roku.

6.2 Kwalifikacja do badania

Do badania zakwalifikowano wyłącznie tych pacjentów, którzy spełniali kryteria włączenia i nie występowały u nich kryteria wyłączenia zgodnie z protokołem badania. Kryteria te przedstawiono poniżej w Tabeli XI.

Tabela XI Kryteria włączenia i wyłączenia z badania

KRYTERIA WŁĄCZENIA	KRYTERIA WYŁĄCZENIA
1. Wiek 1-18 lat, 2. Pierwszorazowe rozpoznanie NZJ zgodnie z kryteriami z Porto, 3. Zgoda rodziców/ prawnych opiekunów dziecka oraz pacjentów powyżej 16 r.ż. na udział w badaniu.	1. Brak zgody rodziców/ prawnych opiekunów dziecka lub pacjentów powyżej 16 r.ż. na uczestnictwo w badaniu, 2. Dieta „odchudzająca” w wywiadzie, z zastosowaniem powszechnie dostępnych suplementów diety np. zawierających chrom, 3. Przewlekłe stosowanie preparatów wielowitaminowych, 4. Przewlekłe choroby wątroby, nerek, trzustki, endokrynologiczne i inne choroby przewlekłe wpływające na wchłanianie pokarmów.

Po rocznym okresie badania u 8 pacjentów z NZJ nie udało się uzyskać odpowiedniej ilości materiału (włosy) do badań kontrolnych . Powodem było zbyt krótkie strzyżenie włosów przez pacjentów.

6.3 Populacja badana

Badaniem zostało objętych ogółem 41 dzieci: 17 chłopców i 24 dziewczynki w wieku od 2 do 17 lat. Rozpoznanie NZJ ustalono zgodnie z Kryteriami z Porto, opierając się na obrazie klinicznym choroby oraz wynikach badań endoskopowych (panendoskopia, kolonoskopia z intubacją zastawki Bauhina), histopatologicznych oraz radiologicznych (enterografia MR, pasaż przewodu pokarmowego, USG jelit). Na podstawie w/w kryteriów u dzieci postawiono jedno z dwóch rozpoznań: chorobę Leśniowskiego-Crona lub wrzodziejące zapalenie jelita grubego. Grupa kontrolna składała się z 20 dzieci zdrowych: 9 chłopców i 11 dziewczynek. Średnia wieku zarówno dla grupy dzieci chorych na NZJ jak i grupy kontrolnej wynosiła 11 lat (chore: $11,5 \pm 4,63$; zdrowe: $11,3 \pm 4,18$), przy czym starsze dzieci występowały w grupie z ChLC ($12,1 \pm 4,1$) niż w grupie z WZJG ($10,4 \pm 5,5$). Charakterystykę kliniczną badanej grupy przedstawiono w Tabeli XII.

Tabela XII Charakterystyka kliniczna badanej grupy (n=61)

Rozpoznanie	Liczba dzieci	Wiek [lata]		Płeć	
		mediana	zakres	chłopcy	dziewczęta
Choroba Leśniowskiego-Crohna (podgrupa Ia)	27	13,0	2-17	8	19
Wrzodziejące zapalenie jelita grubego (podgrupa I)	14	11,0	3-17	9	5
Grupa kontrolna (Grupa II)	20	11,2	1-17	9	11

Na potrzeby projektu dzieci podzielono na dwie grupy: dzieci chore z NZJ stanowiły pierwszą grupę (Grupa I- Chore), dzieci z grupy kontrolnej stanowiły grupę drugą (Grupa II- Zdrowe). Wśród dzieci chorych wyróżniono dwie podgrupy: chore z ChLC (podgrupa Ia) oraz chore z WZJG (podgrupa Ib).

6.4 Materiał badany

Stężenia wybranych, badanych biopierwiastków oceniano w surowicy krwi dzieci, jak również w ich włosach. W tym celu od każdego uczestnika badania pobrano próbkę ok. 2 ml krwi, którą odwirowywano przez 10 min. celem uzyskania surowicy zgodnie ze standardową procedurą, a następnie mrożono w (-20C) w celu późniejszej dalszej analizy.

Równoczasowo od każdego badanego pacjenta pobrano próbkę włosów z okolicy potylicy przy pomocy nożyczek ceramicznych, zgodnie z wytycznymi The Society of Hair Testing (SHT) (101). Zaznaczono koniec od strony skóry głowy, a następnie przechowywano w papierowej kopercie w suchym, ciemnym miejscu w celu późniejszej analizy.

W grupie dzieci chorych pobrano dwie próbki obu materiałów biologicznych, w momencie rozpoznania NZJ oraz po rocznym okresie obserwacji i leczenia. U wszystkich dzieci z badanej grupy leczenie indukujące remisję było oparte o sterydoterapię trwająca 6 tygodni, w celu utrzymania remisji kontynuowano leczenie preparatami immunomodulującymi (tj. azatiopryna, 6-merkaptopuryna), przeciwzapalnymi (tj. preparaty 5-ASA) U dzieci z grupy kontrolnej pobranie materiału było jednorazowe.

6.5 Metody badawcze

6.5.1 Metody kliniczne

W badanej grupie pacjentów przeprowadzono pediatryczne badanie podmiotowe i przedmiotowe. W grupie dzieci z NZJ wykonano podstawowe badania antropometryczne t.j.: wzrost (cm), waga (kg), jak również wyliczono wskaźnik BMI (*ang. body mass index*) oraz współczynnik Cole'a (CI), według następujących wzorów:

BMI (kg/m²) = masa ciała (kg)/ długość ciała² (m²)

CI (%) = (masa ciała x dł. standardowa ciała²/ standardowa masa ciała x dł. ciała²) x 100

Na podstawie uzyskanego wskaźnika Cole'a oceniano stan odżywienia dzieci z NZJ z wykorzystaniem klasyfikacji McLarena:

CI > 120 % : otyłość

CI 110-120 %: nadwaga

CI 90-110 %: norma

CI 85-90 %: łagodne niedożywienie

CI 75-85%: umiarkowane niedożywienie

CI < 75%: ciężkie niedożywienie

Zarówno w grupie dzieci z NZJ jak i kontrolnej przeprowadzono wywiad żywieniowo-środowiskowy przy pomocy autorskiego kwestionariusza (Aneks). Kwestionariusz ten wykorzystano do oceny nawyków żywieniowych badanych dzieci, podaży pokarmów bogatych w badane pierwiastki, częstości stosowania suplementów diety oraz ekspozycji środowiskowej na zanieczyszczenia. Wzór ankiety umieszczono w Aneksie.

U wszystkich pacjentów z NZJ oceniano aktywność choroby przy pomocy indeksów PUCAI i PCDAI (Tabele VI, VII). Przy pomocy badań endoskopowych i obrazowych oceniono lokalizację choroby w momencie rozpoznania i sklasyfikowano wg klasyfikacji paryskiej (Tabele IV i V). Dodatkowo u wszystkich chorych dzieci z NZJ wykonano rutynowe badania laboratoryjne t.j. morfologia krwi, badania biochemiczne, immunologiczne, badania bakteriologiczne stolca.

6.5.2 Metody chemiczne

Oznaczenia chemiczne wykonano w Zakładzie Chemii Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Do pomiaru stężeń badanych biopierwiastków i metali ciężkich wykorzystano techniki spektrometrii mas z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP MS) oraz atomowej spektrometrii fluorescencyjnej z generacją wodorków (HG AFS). Spektrometria mas to uniwersalna technika analityczna, zaliczana do metod spektroskopowych, której podstawą jest pomiar masy do ładunku elektrycznego. Umożliwia ona m.in. dokładne określenie składu pierwiastkowego badanym materiale (102).

W celu przygotowania próbki włosów do analizy podawano ją myciu w 1% roztworze Tritonu w wytrząsarce, następnie płukano wodą dejonizowaną oraz acetonem w wytrząsarce, wreszcie płukano acetonem w myjce ultradźwiękowej. Następnie włosy były suszone w suszarce, cięte na drobne kawałki nożyczkami ceramicznymi, ponownie suszone, wreszcie w ostatnim etapie przygotowań do analizy poddawano włosy mineralizacji. Mineralizacja to całkowity rozkład substancji do prostych stałych związków nieorganicznych. Próbkę surowicy krwi wcześniejszym odmrożeniu, również zostały poddane procesowi mineralizacji.

Przy pomocy techniki ICP MS określano stężenia Fe, Cu, Zn, Mn i Pb, natomiast stężenie Se określano za pomocą HG AFS. Pracowano przy użyciu następującej aparatury: Spectrometr ICP-MS Elan CRC-e firmy Perkin Elmer, Spectrometr AA PinAAcle 900Z firmy Perkin Elmer, Atomic Fluorescence Spectrometer AFS-8220 firmy Beijing Titan Instrumets Co. W celu przygotowania próbek do analizy poddawano je mineralizacji przy pomocy mineralizatora Mineralizator Mikrofalowy Multiwave 3000 firmy ANTON PAAR.

W przeprowadzonych badaniach wykorzystano certyfikowany materiał odniesienia (CRM) surowicy krwi: SERONORMTM, Trace elements Serum L-2 (SERO, Norwegia) oraz włosów GBW 07601 (GSH-1).

6.5.3 Metody statystyczne

Rozkłady zmiennych jakościowych opisywano za pomocą liczebności oraz odsetków. Rozkłady zmiennych ilościowych opisywano za pomocą mediany, kwartyli (notacja: Me [Q1;Q3]) oraz za pomocą średniej arytmetycznej, odchylenia standardowego (notacja: średnia (SD)). Istotność różnic pomiędzy dwiema niezależnymi grupami weryfikowano za pomocą testu Manna-Whitneya oraz testu chi-kwadrat odpowiednio dla zmiennych ilościowych i jakościowych. Współzależność pomiędzy dwiema zmiennymi ilościowymi opisywano za pomocą współczynnika korelacji Spearmana. Ponadto dla wybranych par zmiennych ilościowych sporządzono wykresy rozrzutu wraz z naniesioną krzywą Loessa.

Uznawano, że wartości p mniejsze od 0,05 wskazują na obecność wyniku statystycznie istotnego. Obliczenia wykonano za pomocą pakietu statystycznego R (103).

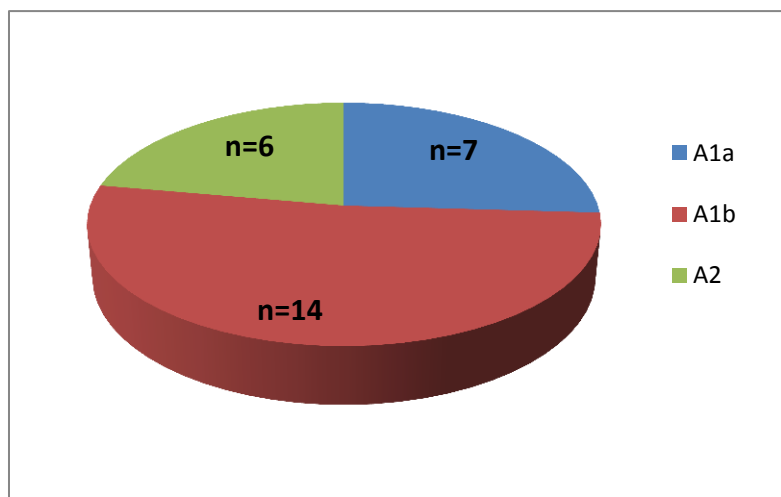
7. WYNIKI

7.1 Lokalizacja, fenotyp i aktywność NZJ

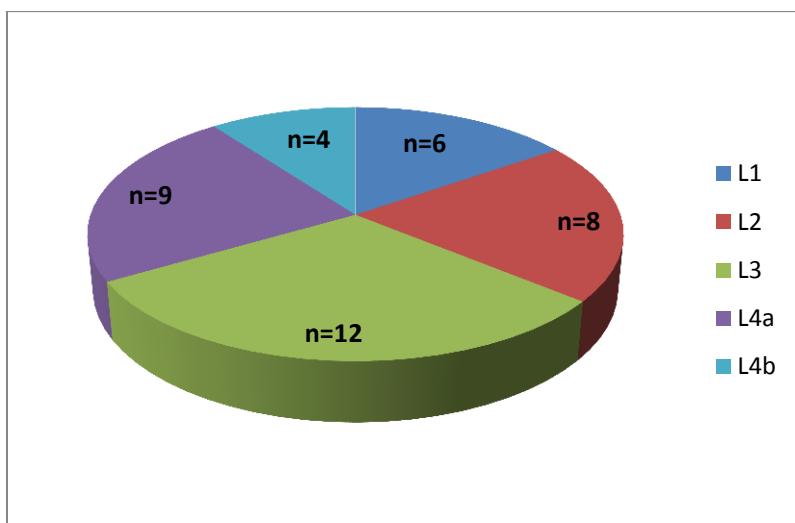
W badanej grupie z 41 pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit (NZJ) u 27 dzieci (66%) rozpoznano chorobę Leśniowskiego-Crohna (ChLC) a u 14 dzieci (32%) wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG). Lokalizację i fenotyp NZJ w całej grupie badanej sklasyfikowano przy pomocy badań endoskopowych i obrazowych, zgodnie z klasyfikacją paryską (Tabele IV i V).

Wśród pacjentów z ChLC (podgrupa Ia) ze względu na wiek, w którym rozpoznano chorobę 7 pacjentów (25,9 %) zakwalifikowano do grupy A1a (0-9 lat), 14 pacjentów (51,9 %) do grupy A1b (10-16 lat), a 6 pacjentów (22,2 %) do grupy A2 (17-40 lat). W badanej grupie górny odcinek przewodu pokarmowego do więzadła Treitza (lokalizacja L4a) zajęty był u 9 dzieci (33,3 %), podczas gdy zmiany zapalne między więzadłem Treitza a proksymalną granicą 1/3 dystalnego odcinka jelita krętego (lokalizacja L4b) stwierdzono u 4 dzieci (14,8 %). Aż 12 pacjentów (44,4 %) miało zajęte jelito kręte i okrężnicę (lokalizacja L3). Stan zapalny w dystalnej części jelita krętego (lokalizacja L1) stwierdzono u 6 dzieci (22,2 %), a w jelicie grubym (lokalizacja L2) u 8 dzieci (29,6 %). Postać zapalną B1 rozpoznano u 18 pacjentów (66,7 %), a postać zwiężającą B2 u 9 pacjentów (33,3 %), postać przebiegającą z przetokami stwierdzono u 4 pacjentów (14,8 %). Zmiany okołodbytowe (p) występowały u 12 chorych (44,4 %) (wykresy 1-2).

Wykres 1 Wiek rozpoznania choroby Leśniowskiego-Crohna w badanej grupie pacjentów (ChLC), n=27.

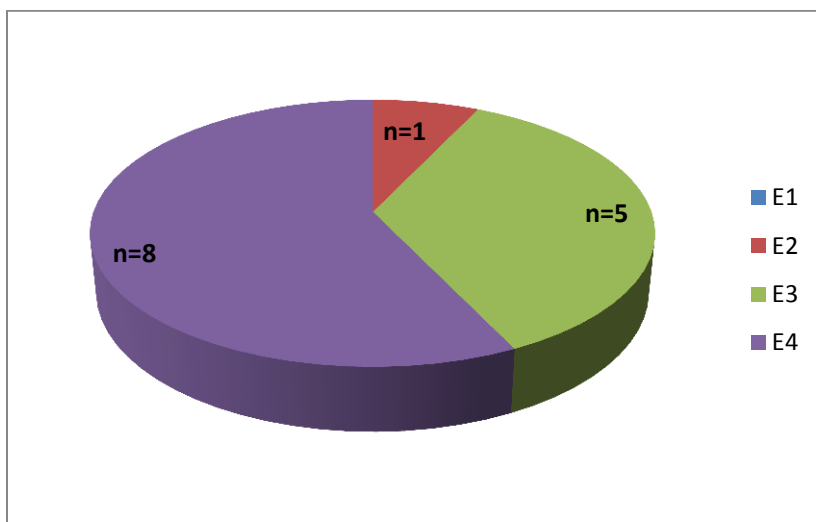


Wykres 2 Umiejscowienie zmian chorobowych w badanej grupie pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna (ChLC).



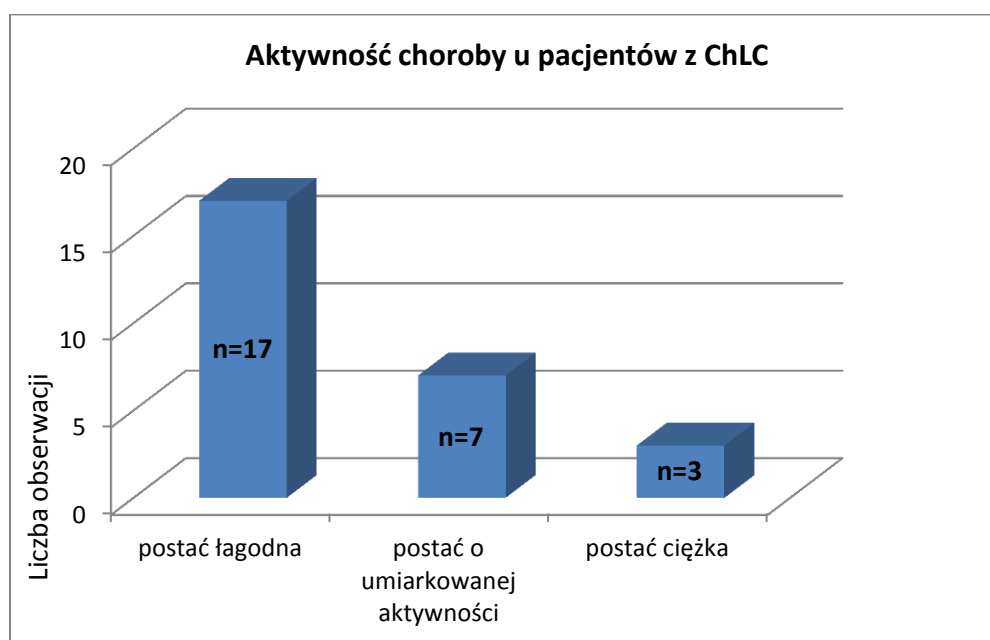
Wśród pacjentów z WZJG (podgrupa Ib) lewostronne zapalenie jelita grubego E2 (dystalnie do więzadła śledzionowego) stwierdzono u 1 pacjenta (7,1 %), rozległe zmiany zapalne E3 (dystalnie do więzadła wątrobowego) stwierdzono u 5 pacjentów (35,7 %), a zapalenie całego jelita grubego E4 (pancolitis) u 8 pacjentów (57,1 %). U żadnego z chorych w badanej podgrupie nie stwierdzono ograniczonego do odbytnicy (E1) stanu zapalnego. Postać ciężką S1 rozpoznano tylko u 1 dziecka (7,1 %), pozostałe dzieci z WZJG zakwalifikowano do fenotypu S0 (wykres 3).

Wykres 3 Lokalizacja zmian w badanej grupie pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (WZJG), n=14.



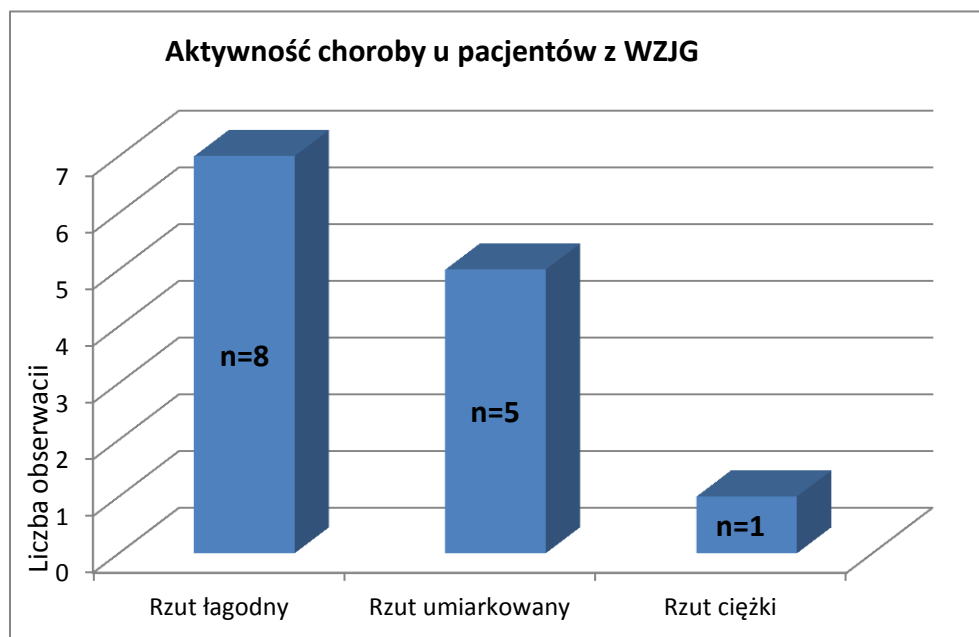
W momencie rozpoznania NZJ, a przed włączeniem leczenia u każdego pacjenta oceniano aktywność choroby przy pomocy Pediatricznego Indeksu Aktywności ChLC (PCDAI) (Tabela VII) i Pediatricznego Indeksu Aktywności WZJG (PUCAI) w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego (Tabela VI). Otrzymane wartości przedstawiono na wykresach 4 i 5.

Wykres 4 Aktywność choroby Leśniowskiego-Crohna (ChLC) w momencie postawienia diagnozy w badanej grupie, n=27.



1. Postać łagodna (PCDAI: 10-27,5 pkt.)- 17 pacjentów
2. Postać o umiarkowanej aktywności (PCDAI: 30-37,5 pkt.)- 7 pacjentów
3. Postać ciężka (PCDAI: > 40 pkt.)- 3 pacjentów

Wykres 5 Aktywność wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (WZJG) w momencie rozpoznania choroby w badanej grupie, n=14.



1. Rzut łagodny (PUCAI= 10-34 pkt.)- 8 pacjentów
2. Rzut umiarkowany (PUCAI= 35-64 pkt.)- 5 pacjentów
3. Rzut ciężki (PUCAI> 65 pkt.)- 1 pacjent

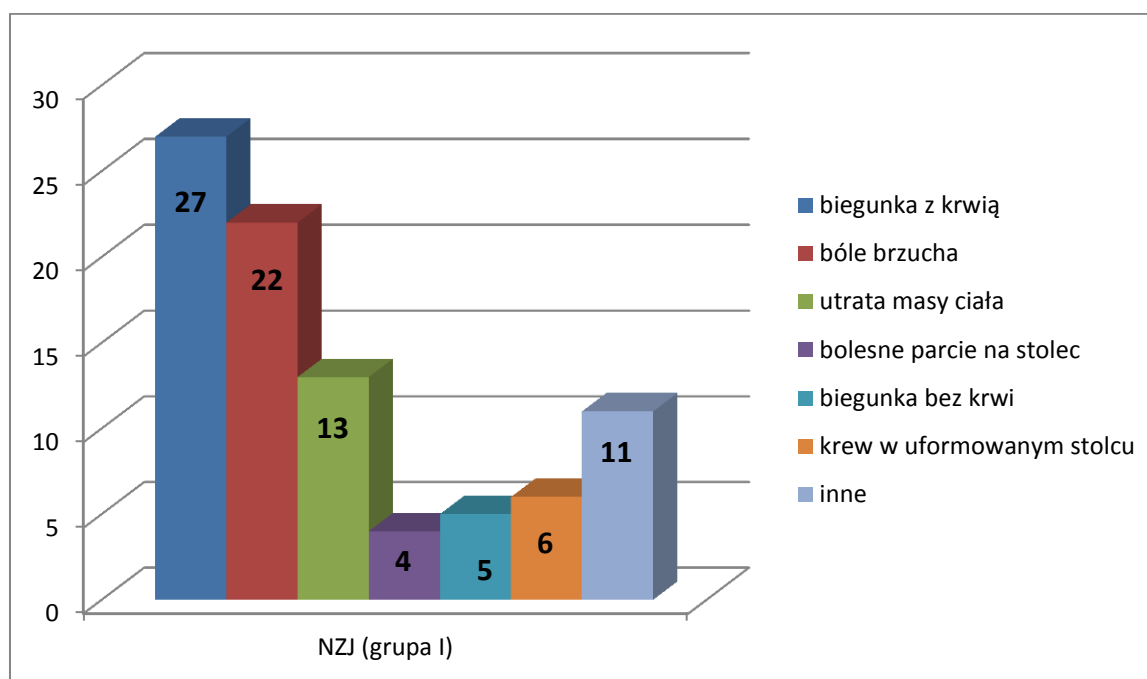
Średni czas trwania objawów NZJ w badanej grupie przed postawieniem rozpoznania choroby wynosił 6,96 miesiąca, przy czym w grupie pacjentów z ChLC okres ten był dłuższy i wynosił średnio 7,31 miesiąca, podczas gdy w grupie pacjentów z WZJG wynosił średnio 6,30 miesiąc (Tabela XIII).

Tabela XIII Czas trwania objawów przed postawieniem rozpoznania w grupie badanej (n=41)

Rozpoznanie	Liczba dzieci [n]	Średnia [miesiące]	Odch. Std.	Mediana [miesiące]	Zakres
NZJ	41	6,96	7,12	4,0	0,5-24,0
ChLC	27	7,31	7,30	5,0	0,5-24,0
WZJG	11	6,30	6,98	2,0	1,0-12,0

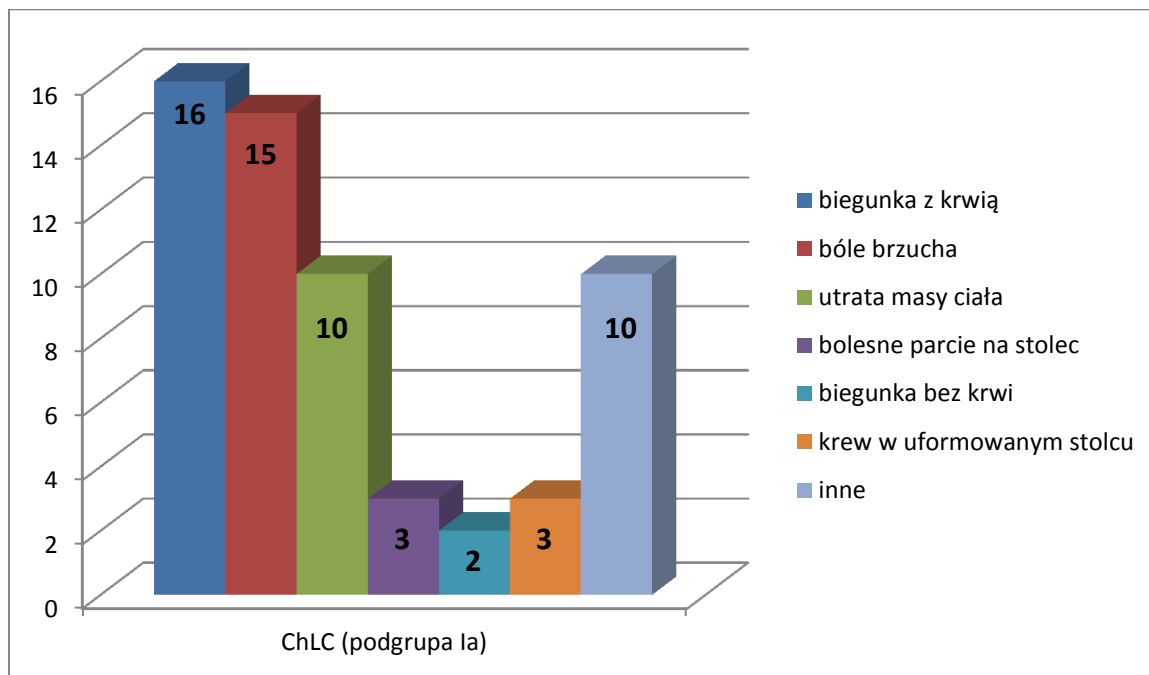
Objawem dominującym, z którym pacjenci z NZJ najczęściej zgłaszali się do lekarza była biegunka z krwią (51,2 % pacjentów). Drugim najczęstszym wiodącym objawem były bóle brzucha (22 % pacjentów), a w następnej kolejności: biegunka bez krwi (12,2 % pacjentów), krew w uformowanym stolcu (9,76 % pacjentów) oraz utrata masy ciała (4,88 % pacjentów). Manifestacje pozajelitowe tj. gorączka, rumień guzowaty, zapalenie stawów obecne były u 11% pacjentów. Rodzaj objawów i częstość ich występowania wśród pacjentów z NZJ przedstawiono na wykresie 6.

Wykres 6 Objawy występujące u pacjentów z NZJ w momencie rozpoznania choroby (n=41).



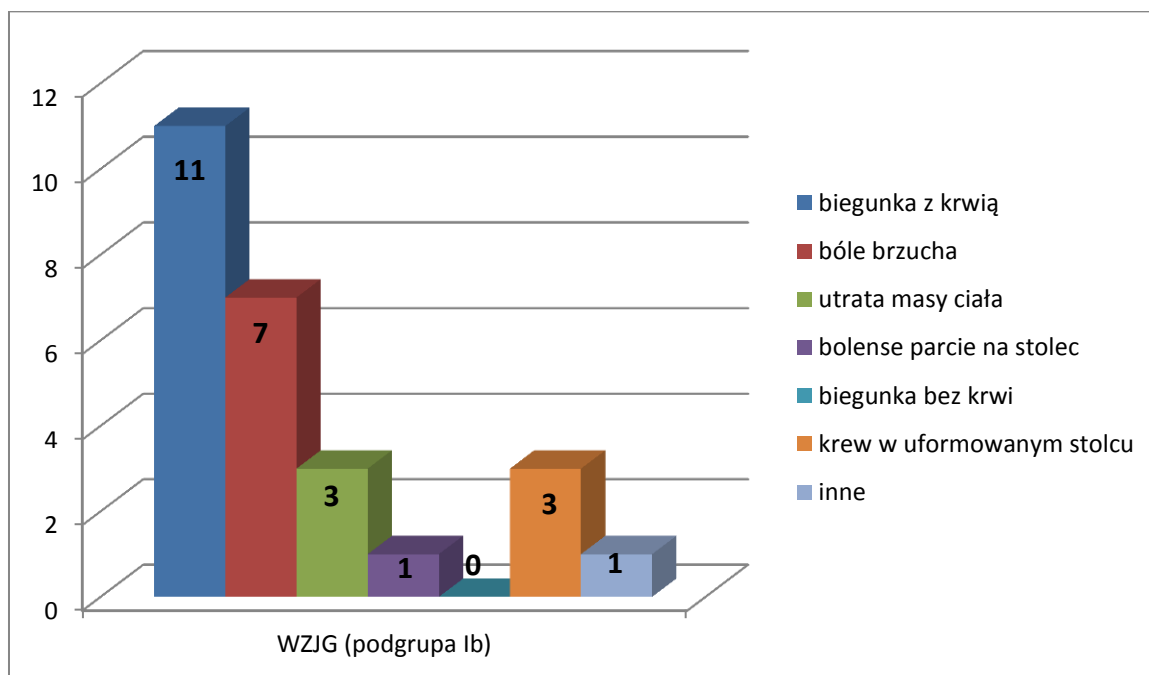
W podgrupie Ia pacjentów z ChLC objawami dominującymi była biegunka z krwią oraz ból brzucha, również częstym objawem były utrata masy ciała oraz manifestacje pozajelitowe choroby (wykres 7).

Wykres 7 Objawy występujące u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna (ChLC) w momencie rozpoznania choroby (n=27).



W podgrupie Ib pacjentów z WZJG dominującymi objawami były również biegunka z krwią i bóle brzucha, jednak utrata masy ciała oraz manifestacje pozajelitowe występowały sporadycznie, a biegunka bez domieszki krwi nie występowała wcale (wykres 8).

Wykres 8 Objawy występujące u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (WZJG) w momencie rozpoznania choroby (n=14).

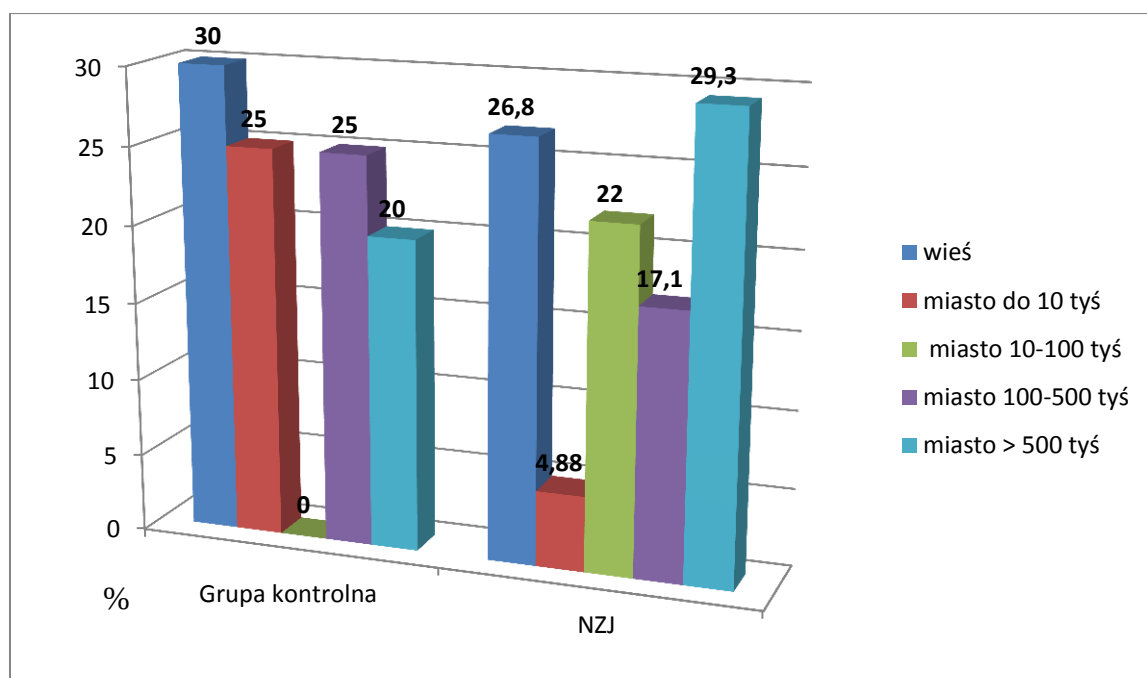


7.2 Wywiad żywieniowy i środowiskowy

U wszystkich pacjentów z NZJ oraz w grupie kontrolnej przeprowadzono wywiad żywieniowo-środowiskowy przy pomocy autorskiej ankiety (Aneks). Oceniano ekspozycję środowiskową na zanieczyszczenia, nawyki żywieniowe w badanej grupie oraz podaż pokarmów bogatych w badane mikroelementy. Dodatkowo oceniano częstość stosowania suplementów diety mogących mieć wpływ na badane parametry.

W obu grupach procentowy odsetek dzieci zamieszkałych na wsi oraz w dużych aglomeracjach miejskich tj. > 500 tys. mieszkańców była zbliżona i wynosiła odpowiednio 27-30% dla wsi i 20-29 % dla dużego miasta. Zaobserwowano różnicę dla pozostałych 40% dzieci z obu grup, w grupie dzieci chorych z NZJ więcej mieszkało w miastach mających 100-500 tys. mieszkańców, podczas gdy dzieci z grupy kontrolnej częściej zamieszkiwały małe miasta do 10 tys. mieszkańców (wykres 9).

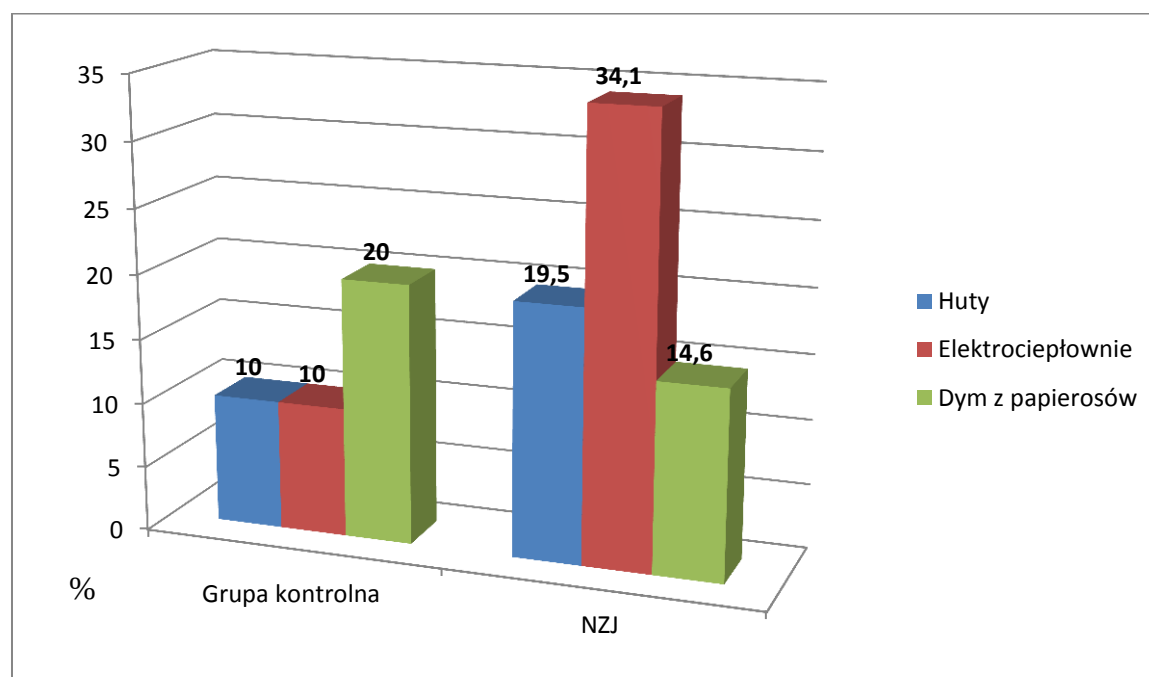
Wykres 9 Miejsce zamieszkania dzieci z badanych grup (NZJ oraz grupa kontrolna).



Dodatkowo w celu oceny ekspozycji środowiskowej na zanieczyszczenia każdego uczestnika badania pytano o odległość jego miejsca zamieszkania od hut oraz elektrociepłowni, jak również narażenie na dym z papierosów w środowisku domowym. Za wzmożoną ekspozycję uznawano odległość hut i elektrociepłowni od miejsca zamieszkania mniejszą niż 10 km.

Wśród dzieci z NZJ 19,5% mieszkało w bliskiej odległości od hut, a 34,1% w bliskiej odległości od elektrociepłowni, podczas gdy w grupie kontrolnej było to odpowiednio 10% dla hut oraz 10% dla elektrociepłowni. Na dym papierosowy w środowisku domowym narażone było 14,6% dzieci z NZJ, natomiast wśród dzieci z grupy kontrolnej odsetek ten był większy i wynosił 20% (wykres 10). Różnice te nie były istotne statystycznie.

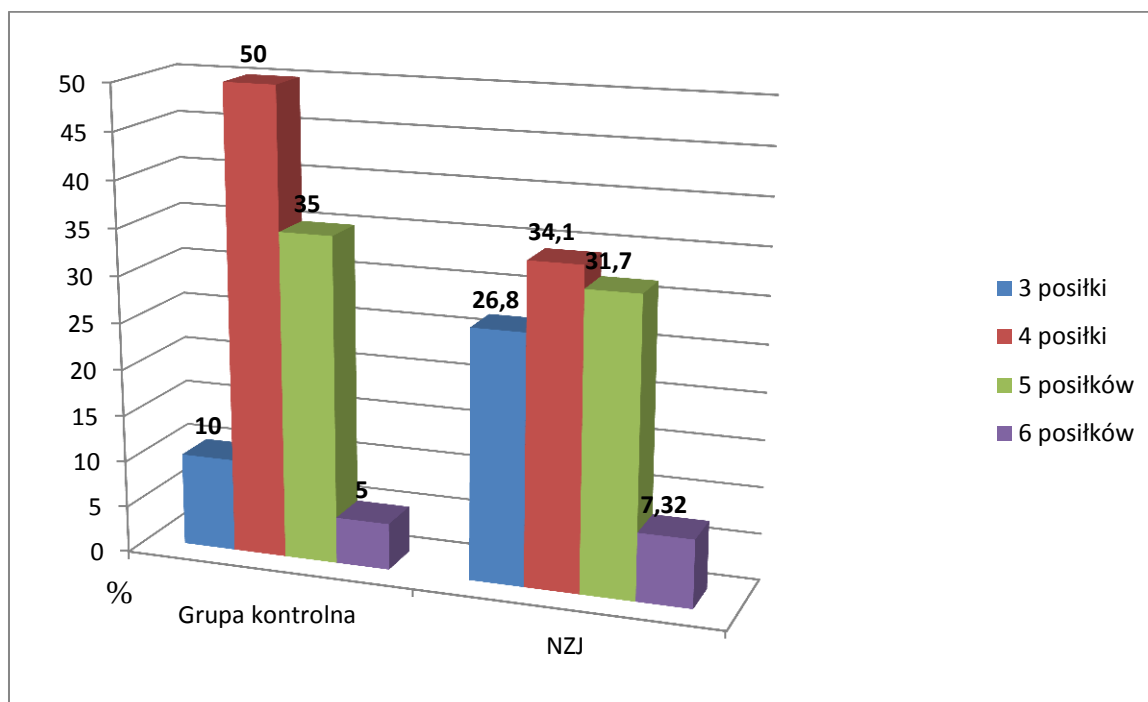
Wykres 10 Ekspozycja na wybrane zanieczyszczenia środowiskowe u dzieci z NZJ oraz z grupy kontrolnej.



W celu oceny nawyków żywieniowych dzieci w badanych grupach pytano o liczbę spożywanych przez nie posiłków w ciągu dnia, miejsce ich przygotowywania (dom/stołówka) oraz częstość spożywania produktów typu *fast food*. W przypadku schorzeń przewodu pokarmowego prawidłowe nawyki żywieniowe, jak również regularne spożywanie posiłków i ich dobra jakość mają szczególne znaczenie dla stanu zdrowia i nasilenia objawów klinicznych.

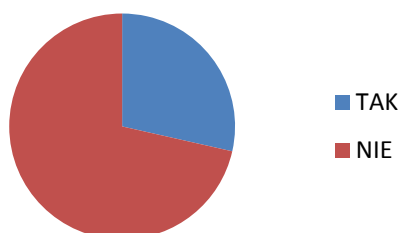
W obu badanych grupach minimalna liczba posiłków spożywanych w ciągu dnia wynosiła 3, a maksymalna 6. Zdecydowana większość dzieci spożywała 4-5 posiłków dziennie, choć w grupie dzieci zdrowych odsetek ten był wyższy niż w grupie dzieci chorych i wynosił 85 % vs 65,8%. Aż 26,8 % dzieci z NZJ przed rozpoznaniem spożywało jedynie 3 posiłki dziennie, podczas gdy w grupie kontrolnej ten schemat powielało jedynie 10 % dzieci (wykres 11).

Wykres 11 Częstość spożywania posiłków w ciągu dnia przez dzieci z obu grup.

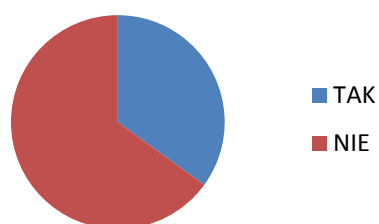


Z usług stołówki szkolnej bądź przedszkolnej korzystało stosunkowo niewiele dzieci, a odsetek zarówno wśród dzieci z NZJ jak i z grupy kontrolnej był podobny i wynosił odpowiednio 34,1 % i 35 %.

Dzieci z NZJ korzystające ze stołówki

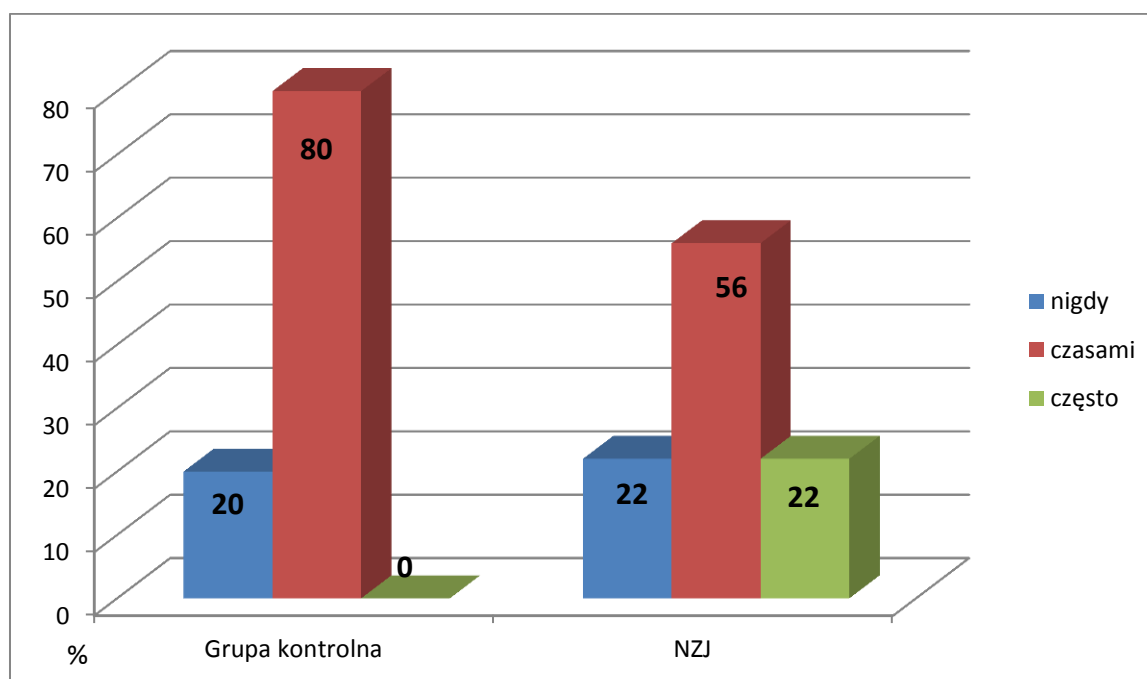


Dzieci z grupy kontrolnej korzystające ze stołówki



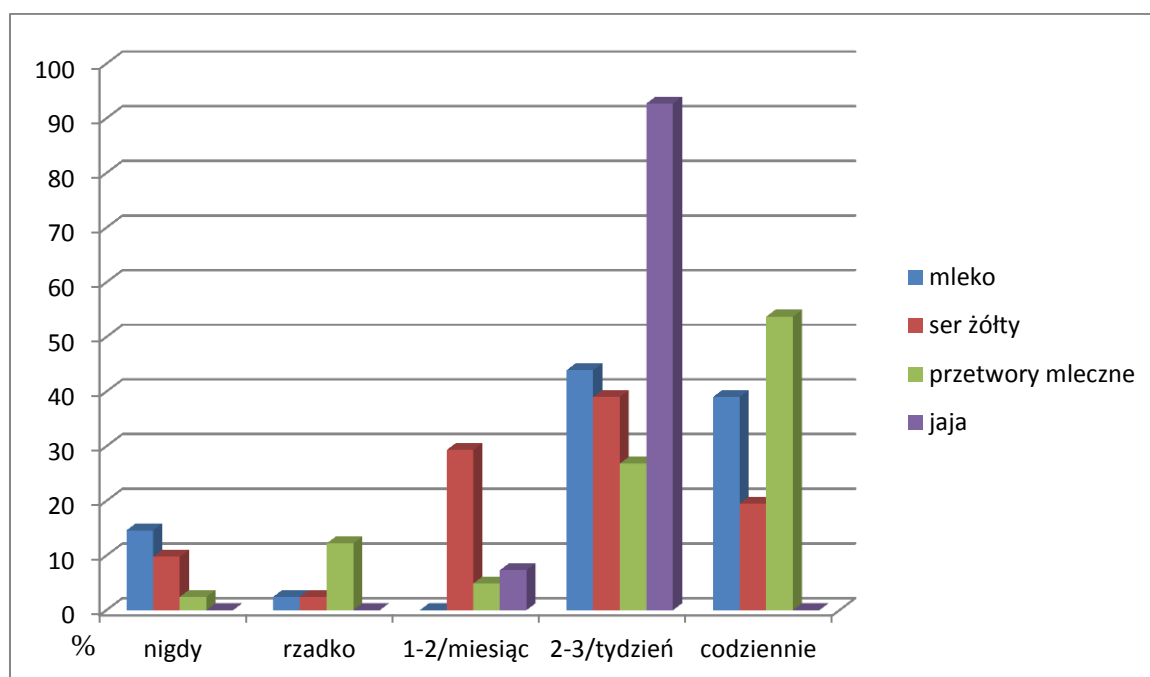
Produkty typu fast food rzadko są źródłem wartościowych substancji odżywczych, w zdecydowanej większości są to produkty wysokokaloryczne, bogate w nasycone kwasy tłuszczowe oraz węglowodany. Z tego powodu nie zaleca się ich częstego spożywania w każdej grupie wiekowej, a szczególnie wśród dzieci. W obu badanych grupach około 20% dzieci negowała spożywanie tego typu produktów w ogóle. Zdecydowana większość okazjonalnie sięgała po fast food, jedynie 22 % dzieci z grupy z NZJ deklarowała częste jego spożywanie (wykres 12).

Wykres 12 Częstość spożywania produktów typu *fast food* przez dzieci z obu badanych grup.

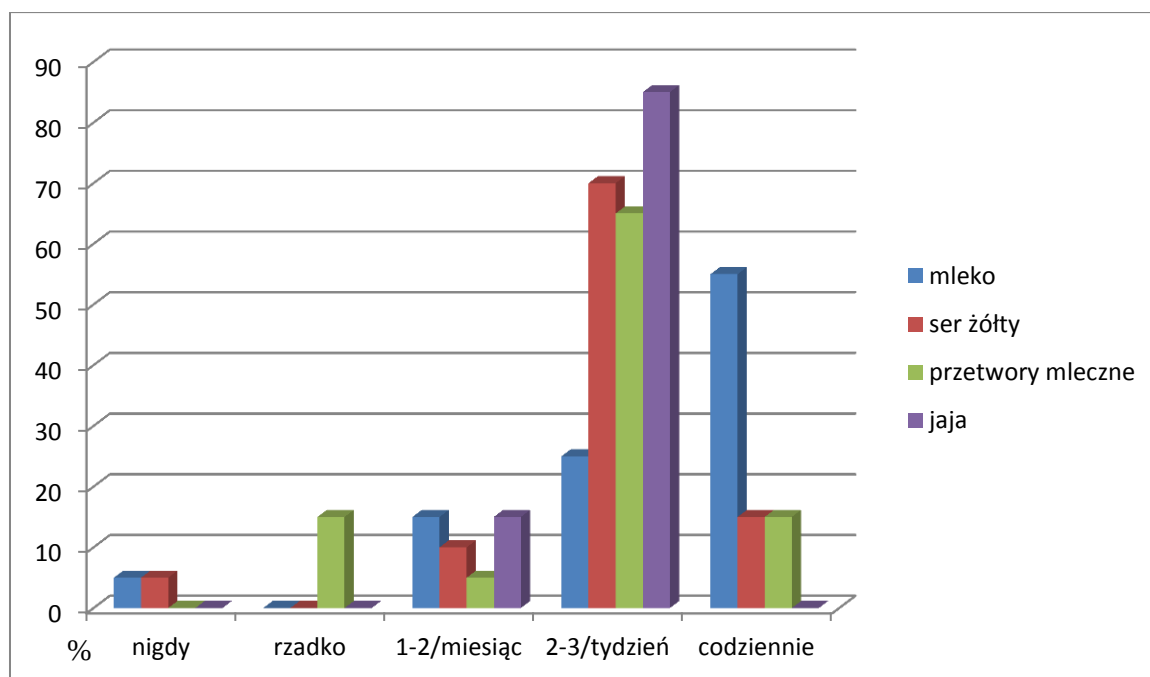


Oceniano również częstość spożywania produktów bogatych w badane mikroelementy. Mleko i jego przetwory są jednym z podstawowych źródeł wapnia w diecie, mięso i podroby to źródło żelaza, cynku, miedzi. Jajo jest bogate w cynk, żelazo i selen. Ryby i owoce morza dostarczają żelazo, cynk, wapń. Orzechy są bogate w selen, magnez, miedź. Warzywa takie jak cebula, sałata, fasola, szpinak czy pomidor dostarczają naszemu organizmowi żelaza, cynku, magnezu, manganu i selenu. Pieczywo razowe jest źródłem magnezu, podczas gdy jasne selenu i miedzi. Częstość spożywania wybranych produktów w badanych grupach przedstawiono na wykresach 13-20.

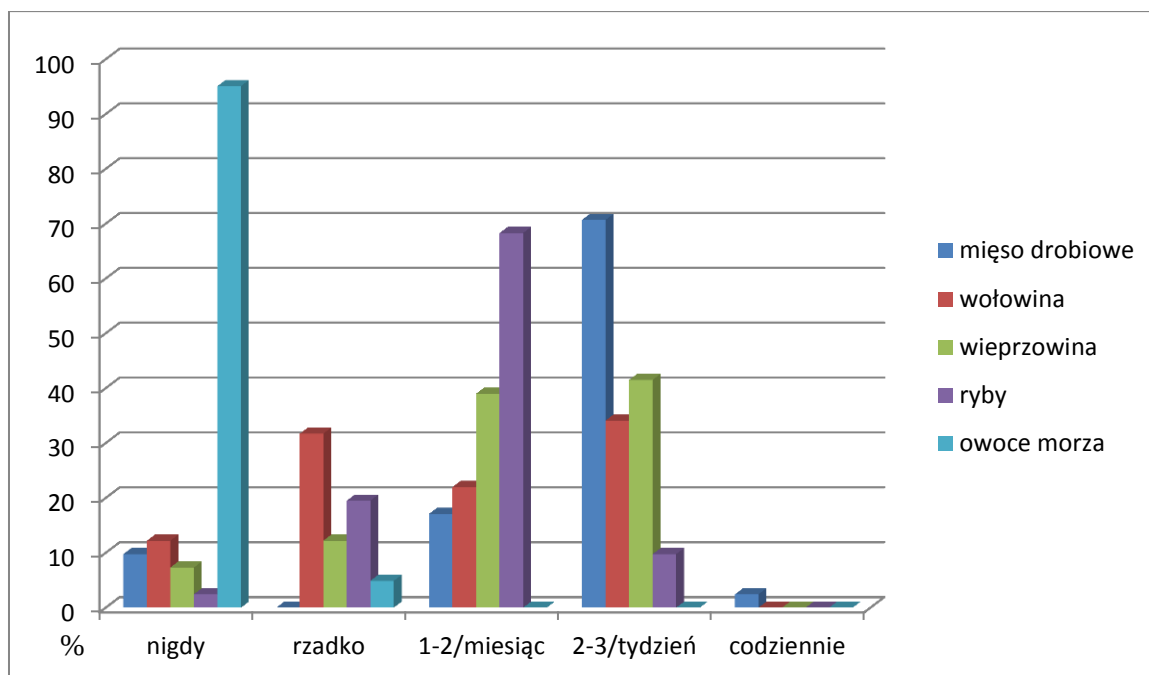
Wykres 13 Częstość spożywania mleka i jego przetworów oraz jaj w grupie dzieci z NZJ.



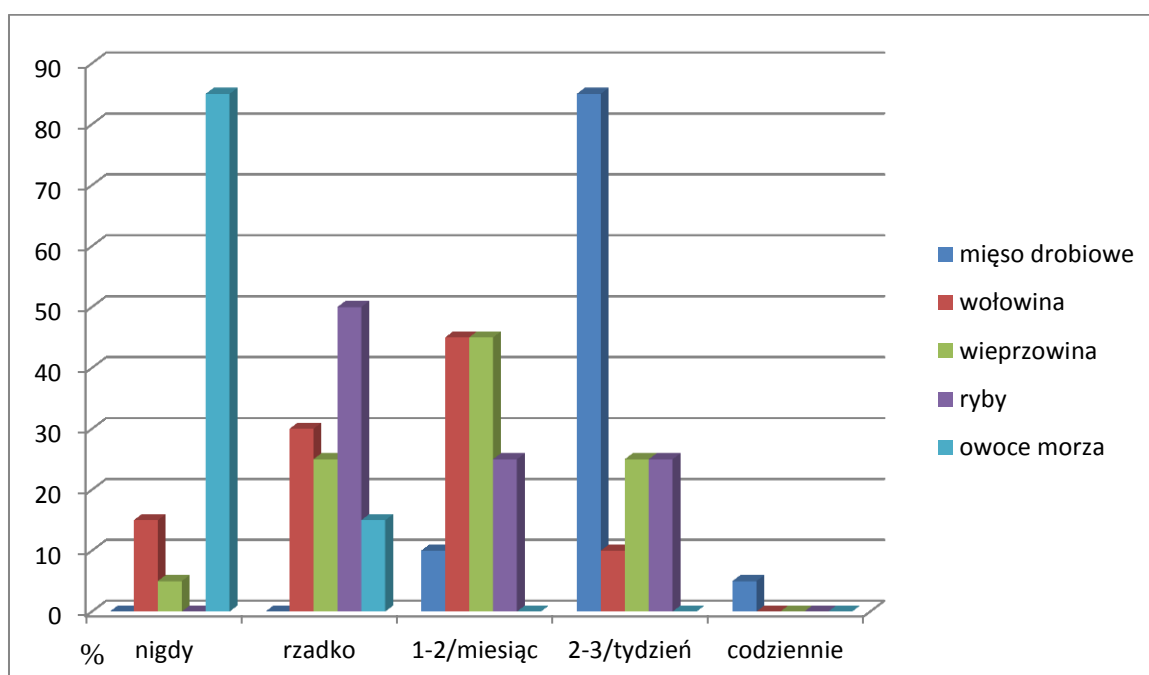
Wykres 14 Częstość spożywania mleka i jego przetworów oraz jaj w grupie kontrolnej.



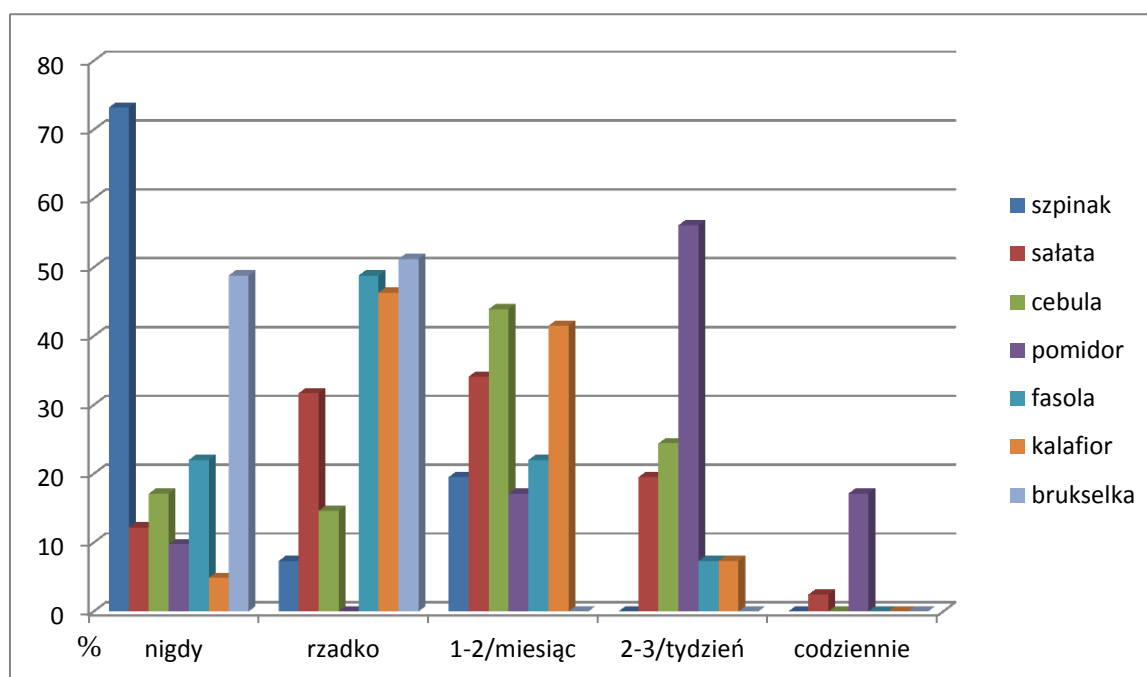
Wykres 15 Częstość spożywania produktów mięsnych, ryb oraz owoców morza w grupie dzieci z NZJ.



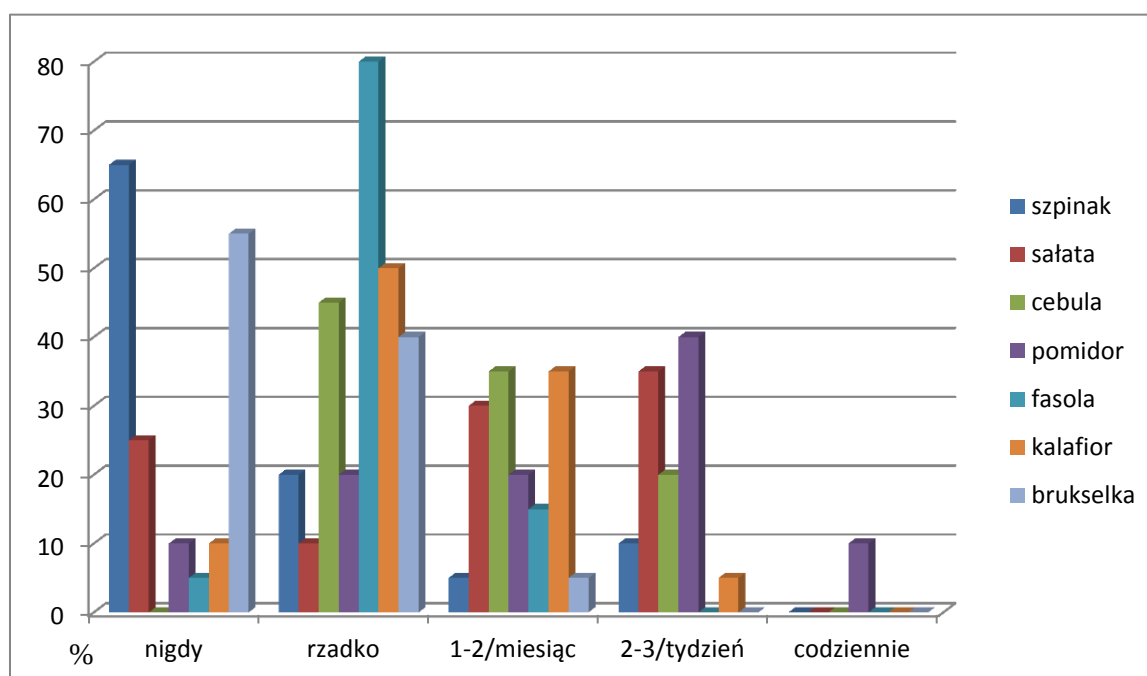
Wykres 16 Częstość spożywania produktów mięsnych, ryb oraz owoców morza w grupie kontrolnej.



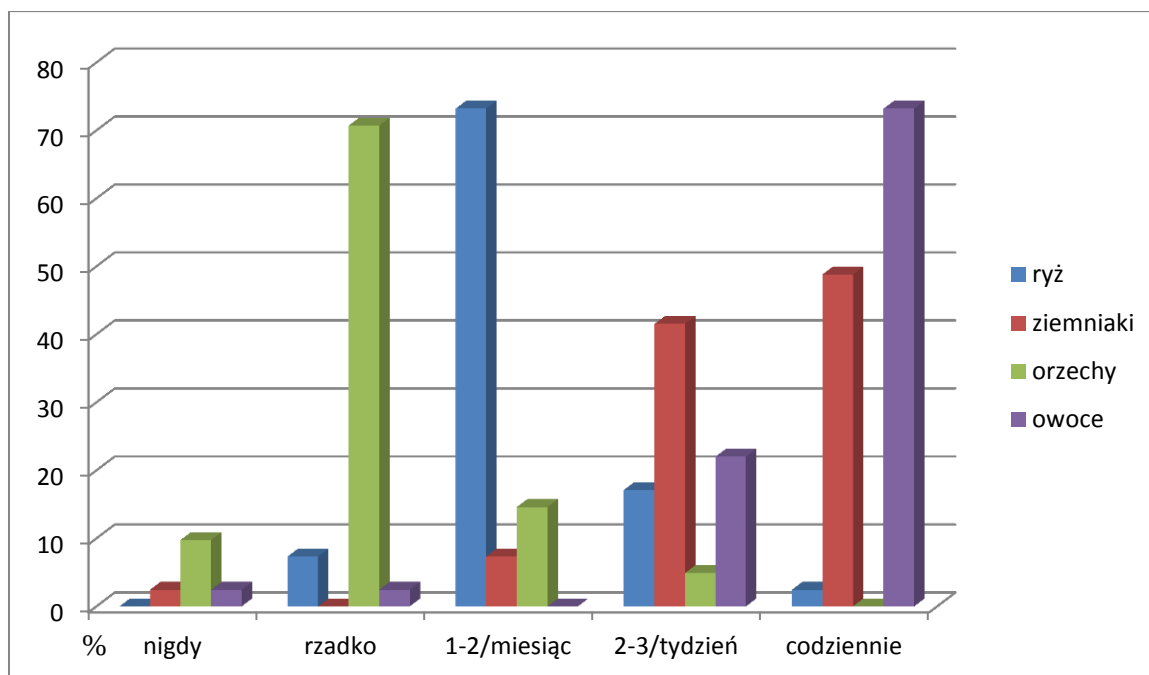
Wykres 17 Częstość spożywania warzyw wśród dzieci z NZJ.



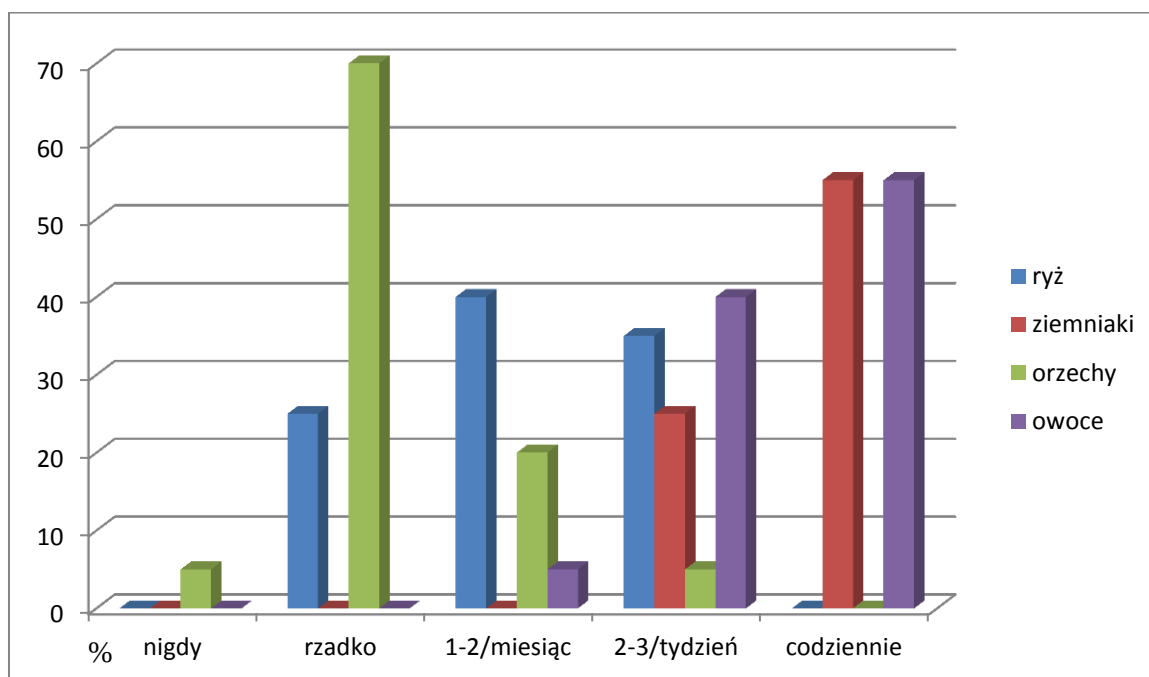
Wykres 18 Częstość spożywania warzyw wśród dzieci z grupy kontrolnej.



Wykres 19 Częstość pożywania ryżu, ziemniaków, orzechów i owoców wśród dzieci z NZJ.



Wykres 20 Częstość spożywania ryżu, ziemniaków, orzechów i owoców wśród dzieci z grupy kontrolnej.



Zdecydowana większość dzieci w obu grupach deklarowała spożywanie mleka od 2 do 3 razy w tygodniu (43-55%), natomiast 14,6% dzieci z NZJ oraz 5 % dzieci z grupy kontrolnej nie pije mleka w ogóle. W przypadku przetworów mlecznych zdecydowanie więcej dzieci z grupy kontrolnej spożywało je regularnie, bo ok. 70% w porównaniu z niespełna 40% dzieci z NZJ. Jaja były jedzone przez wszystkie dzieci z obu grup, zdecydowana większość jadła je 2-3/tydzień.

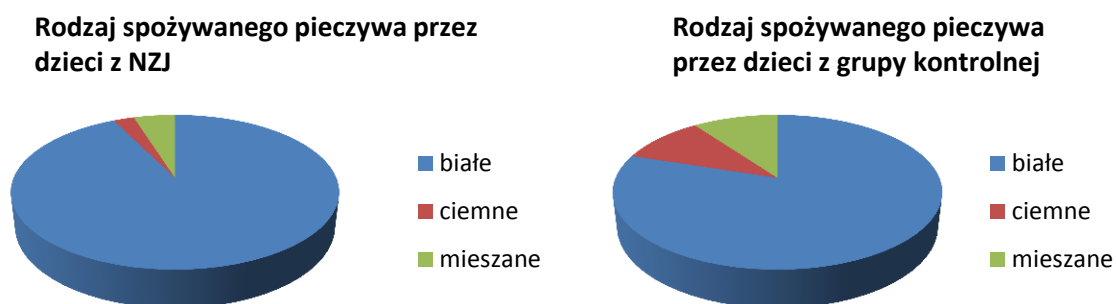
Mięso drobiowe było najczęściej wybieranym w obu grupach, ponad 70 % dzieci z NZJ oraz 85% dzieci z grupy kontrolnej zjada ten rodzaj mięsa 2-3 razy na tydzień. Spożycie ryb było większe w grupie dzieci z NZJ, choć za małe w stosunku do zalecanego, ponieważ 68 % dzieci jadło ryby 1-2/miesiąc, a jedynie 9,8 % 2-3/tydzień. W grupie kontrolnej było to odpowiednio po 25% dzieci. Zdecydowana większość dzieci w badanych grupach nie jada owoców morza, jedynie 4,9 % wśród dzieci z NZJ i 15% z grupy kontrolnej deklaruje sporadyczne ich spożycie.

Do najczęściej wybieranych warzyw w obu grupach należały pomidory, 56,1 % dzieci z NZJ oraz 40% z grupy kontrolnej jada je 2-3/tydzień, a odpowiednio 17,1% i 10% codziennie. Wśród warzyw spożywanych codziennie w niewielkim procencie (2,44%) u dzieci z NZJ dodatkowo była sałata. Szpinak i brukselka były warzywami, których w zdecydowanej większości dzieci z obu grup nie jadały wcale. Szpinaku nie jada aż 73,2% dzieci z NZJ i 65% z grupy kontrolnej, a brukselki aż 48,8 % wśród dzieci z NZJ i 55% dzieci z grupy kontrolnej.

Najczęstszym dodatkiem do drugiego dania w obu grupach były ziemniaki, ich codzienne spożycie deklarowało 48,8% dzieci z NZJ oraz 55% dzieci z grupy kontrolnej. Ryż wybierany był rzadziej, ponad 70% dzieci z NZJ jada go 1-2/miesiąc, w grupie kontrolnej było to 40% dzieci. Orzechy zdecydowana większość dzieci w obu grupach (po ok. 70%) spożywa sporadycznie, ok 5-10% nie jada ich wcale.

Owoce zjadane są przez większość dzieci z obu grup przynajmniej 2-3/tydzień, a wśród dzieci z NZJ aż 73,2% deklarowało ich codzienne spożycie, podczas gdy w grupie dzieci zdrowych było to jedynie 55% dzieci. Jedynie 2,4% dzieci z NZJ nie jada owoców w ogóle.

Pieczywo było spożywane codziennie przez wszystkie dzieci z obu badanych grup. W ankiecie pytano o rodzaj jedzonego pieczywa. Zdecydowana większość dzieci zjada pieczywo białe, jest to aż 92,7% dzieci z NZJ i 80% dzieci z grupy kontrolnej.



Wśród dzieci z obu badanych grup oceniano również stosowanie suplementów diety bądź preparatów witaminowych. Ich przyjmowanie deklarowało jedynie 2 (4,9%) dzieci z NZJ oraz 3 (15%) dzieci z grupy kontrolnej. Zdecydowana większość w obu grupach nie używała tego typu preparatów. Preparatami, które używano były: Vibovit junior, tran, Marsjanki.

7.3 Ocena stanu odżywienia

Stan odżywienia dzieci z NZJ oceniano za pomocą współczynnika masy ciała BMI oraz współczynnika Cole'a (CI). Wartości BMI mieściły się pomiędzy 3 a 95 percentylem, średnia wynosiła 16,3 percentyla. Dzieci z ChLC miały niższe wartości BMI w porównaniu do dzieci z WZJG, różnice te nie były istotne statystycznie. W grupie kontrolnej BMI było w granicach normy.

Wskaźnik CI wśród dzieci z NZJ w momencie rozpoznania mieścił się w granicach od 77,4% do 142%, średnio wynosił 91,6%, odchylenie standardowe 14,5, a mediana 90,8%. Dzieci z ChLC miały średni wskaźnik CI na poziomie 89,6% i był on niższy niż u dzieci z WZJG, u których wynosił 96,4%, różnica ta nie była istotna statystycznie ($p=0,65$). Aż 60 % dzieci z ChLC była niedożywiona w momencie rozpoznania, podczas gdy wśród dzieci z WZJG było to 33,3%. Tylko 4 dzieci z NZJ była otyła, wśród nich 2 z ChLC i 2 z WZJG, w obu grupach były to dziewczynki. Wyniki CI otrzymane dla badanej grupy przedstawiono na wykresie 21 oraz Tabeli XIV.

Wykres 21 Stan odżywienia dzieci z NZJ w momencie rozpoznania wyrażony współczynnikiem Cole'a (CI).

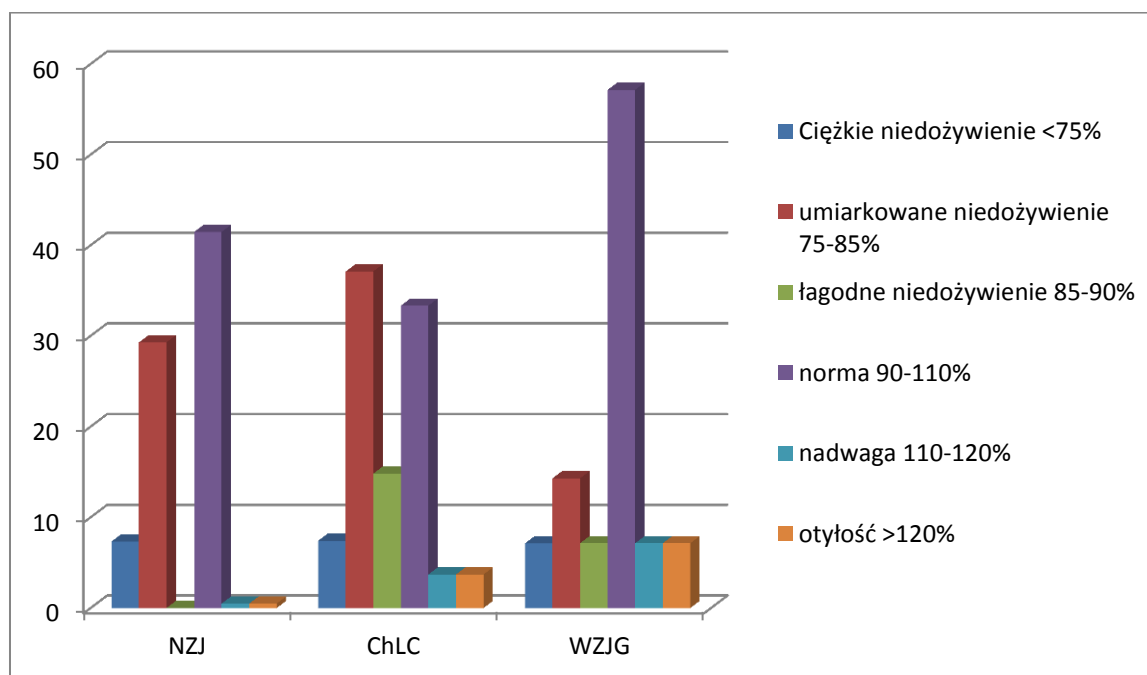
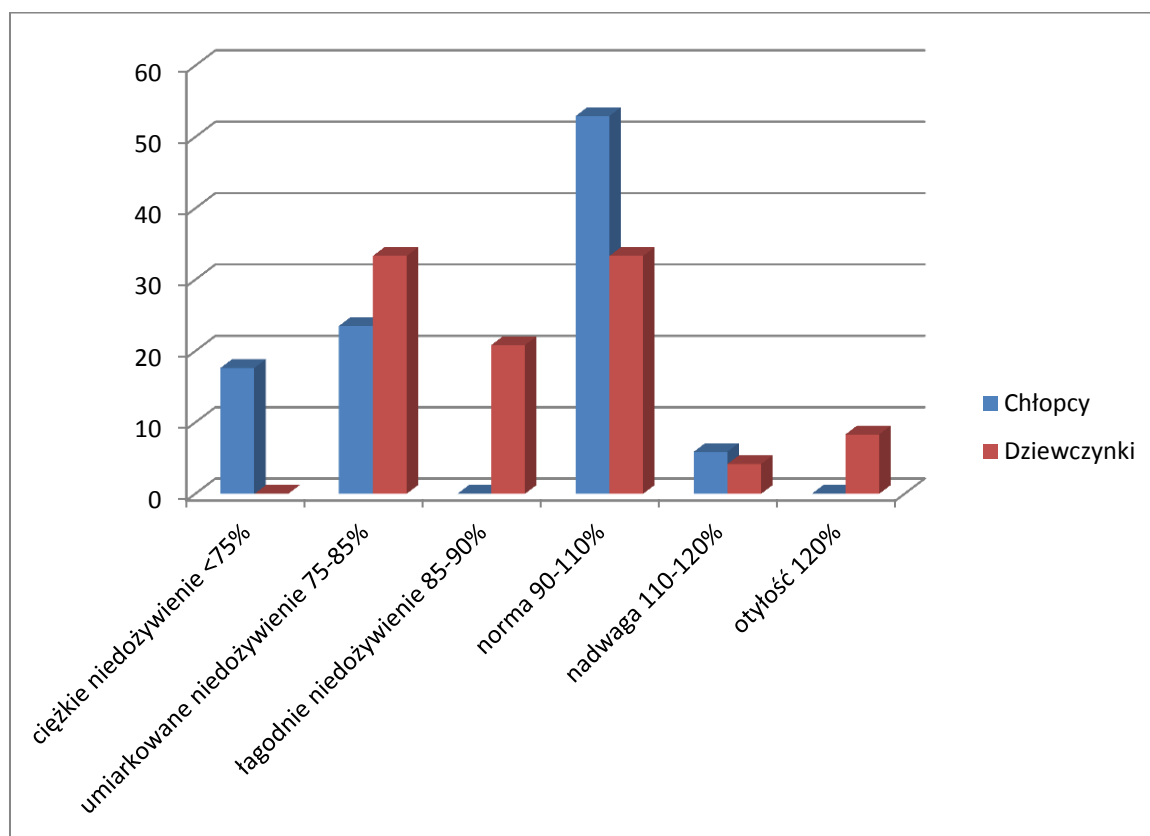


Tabela XIV Stan odżywienia dzieci z NZJ w momencie rozpoznania wyrażony współczynnikiem Cole'a z uwzględnieniem podziału na płeć i jednostkę chorobową (n=41)

Współczynnik Cole'a (%)	NZJ		ChLC		WZJG	
	Chłopcy	Dziewczęta	Chłopcy	Dziewczęta	Chłopcy	Dziewczęta
Ciężkie niedożywienie <75%	3	0	2	0	1	0
Umiarkowane niedożywienie (75-85%)	4	8	2	8	2	0
Łagodne niedożywienie (85-90%)	0	5	0	4	0	1
Norma (90-110%)	9	8	4	5	5	3
Nadwaga (110-120%)	1	1	0	1	1	0
Otyłość >120%	0	2	0	1	0	1

W badanej grupie w momencie rozpoznania NZJ ciężkie niedożywienie (CI <75%) obserwowano tylko u chłopców (2 z ChLC i 1 z WZJG), natomiast niedożywienie umiarkowane (CI 75-85%) oraz łagodne (CI 85-90 %) przeważało wśród dziewczynek, z których 93% miały postawione rozpoznanie ChLC. Wśród dzieci z nadwagą również przeważały dziewczynki. Stan odżywienia dzieci z badanej grupy w momencie rozpoznania NZJ z podziałem na płeć przedstawiono na wykresie 22.

Wykres 22 Stan odżywienia dzieci z badanej grupy z NZJ z uwzględnieniem podziału na płeć.



7.4 Badania laboratoryjne

U wszystkich dzieci z NZJ w momencie rozpoznania wykonywano rutynowe badania laboratoryjne takie jak: morfologia krwi z rozmazem, OB, CRP, badania biochemiczne, immunologiczne oraz badania bakteriologiczne stolca. Oznaczenia wykonano metodą tradycyjną.

Wśród wartości morfotycznych krwi w obu badanych podgrupach (ChLC i WZJG) wskaźnik średniej objętości krwinki czerwonej (MCV) był niższy niż dolne wartości zakresu referencyjnego (82-92 fl). U dzieci z ChLC średnie wartości MCV były istotnie statystycznie niższe niż u dzieci z WZJG ($p=0,032$) i wynosiły odpowiednio 77,3 fl dla ChLC oraz 82,6 fl dla WZJG. Średnie stężenie hemoglobiny w obu podgrupach wynosiło 11 g/dl i znajdowało się w dolnych granicach wartości referencyjnych. Pozostałe parametry morfotyczne nie odbiegały istotnie od zakresu wartości referencyjnych.

Jako wykładniki stanu zapalnego oznaczano odczyn Biernackiego (OB) po godzinie oraz białko C-reaktywne (CRP). OB w obu podgrupach było podwyższone (norma < 20 mm) i wynosiło średnio 27,6 mm dla WZJG i 28,2 mm dla ChLC. CRP również było podwyższone w obu podgrupach (norma < 10 mg/l), jednak obserwowano istotną statystycznie różnicę pomiędzy wartościami u dzieci z ChLC (średnia 30,3 mg/l) a dziećmi z WZJG (średnia 23,4 mg/l) ($p=0,001$).

Badania biochemiczne obejmowały takie parametry jak: wykładniki stanu odżywienia (białko całkowite, albumina), wydolności nerek (mocznik, kreatynina), wydolności wątroby (ALT, AST, GGTP), wydolności trzustki (amylaza). W całej badanej grupie dzieci z NZJ średnie wartości badanych parametrów mieściły się w zakresie wartości referencyjnych. Poza AST, który był wyższy u dzieci z WZJG nie obserwowano różnic pomiędzy badanymi podgrupami.

W celu oceny gospodarki żelazem badano stężenie ferrytyny, transferyny oraz jej wysycenie żelazem. Średnie stężenie ferrytyny wśród dzieci z NZJ wynosiło 54,6 ug/l, z ChLC 66,2 ug/l, a z WZJG 32,4 ug/l. Obniżony poziom ferrytyny, świadczący o niedoborze żelaza stwierdzono u 37% dzieci z ChLC oraz aż u 57,1% dzieci z WZJG. Podwyższony poziom ferrytyny stwierdzono natomiast u 11% dzieci z ChLC i 7,1% dzieci z WZJG. Z uwagi na fakt, iż ferrytyna jest również białkiem ostrej fazy oceniano niedobór żelaza korygując

stężenie ferrytyny w zależności od wysokości CRP (poniżej lub powyżej 10 mg/l). W ten sposób niedobór żelaza stwierdzono u 70,4% pacjentów z ChLC oraz 64,3% pacjentów z WZJG. Średnie stężenie transferryny wynosiło 2,3 g/l u dzieci z ChLC oraz 2,4 g/l u dzieci z WZJG (norma 2-4 g/l). Stężenie transferryny poniżej wartości referencyjnych stwierdzono u 40,7% dzieci z ChLC oraz u 35,7% dzieci z WZJG. Oceniano również wysycenie transferryny żelazem. Dla dzieci z ChLC wynosiło ono średnio 12,5%, a dla dzieci z WZJG średnio 12,2% przy normie od 15-45%. Wysycenie transferryny żelazem poniżej wartości referencyjnych stwierdzono aż u 74,1% dzieci z ChLC oraz 78,6% dzieci z WZJG.

Wśród badań immunologicznych oznaczano przeciwciała przeciwko cytoplazmie neutrofilów (p-ANCA) oraz przeciwciała przeciw *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) w klasie IgA i IgG. U 50% dzieci z WZJG stwierdzono obecność p-ANCA, podczas gdy wśród dzieci z ChLC ich obecność stwierdzono jedynie u 14% ($p=0,026$). Natomiast przeciwciała ASCA w klasie IgA stwierdzono u 59,3% dzieci z ChLC, podczas gdy wśród dzieci z WZJG występowały one jedynie u 21,4% ($p=0,048$). Poziom przeciwciał w klasie IgA wynosił średnio 76,7 IU dla ChLC i 29,5 IU dla WZJG ($p=0,018$), natomiast w klasie IgG wynosił średnio 64 IU dla dzieci z ChLC i 8,26 IU dla dzieci z WZJG ($p=0,05$).

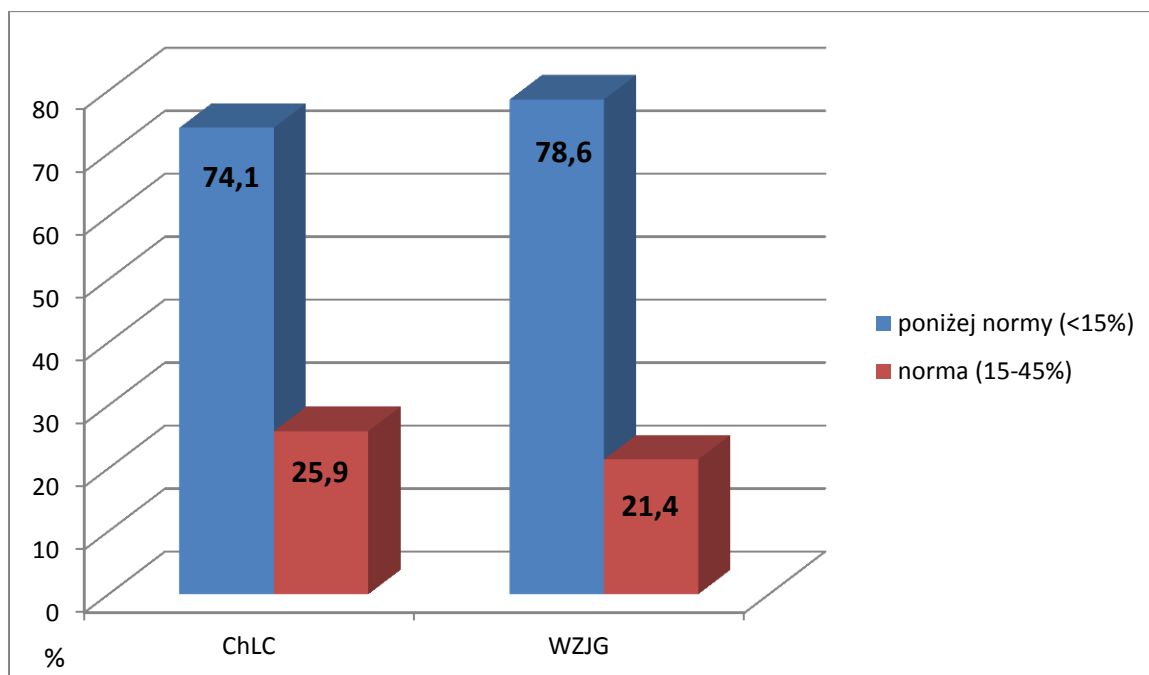
U wszystkich dzieci pobierano stolec w kierunku badań bakteriologicznych oraz mykologicznych. U 17 % dzieci z NZJ badanie bakteriologiczne stolca było dodatnie, a najczęściej izolowanymi bakteriami były *Clostridium difficile* (3 dzieci), patogenna *E.coli* (2 dzieci) oraz *Campylobacter* (2 dzieci). U 19,5% dzieci z NZJ stwierdzono obecność *Candida albicans* w stolcu. Dodatnia bakteriologia stolca częściej dotyczyła dzieci z ChLC.

Wyniki badań laboratoryjnych dla badanej grupy dzieci z NZJ, wyrażone przy pomocy średnich, odchyłeń standardowych, mediany i kwartyli, przedstawiono w tabeli XV. Wysycenie transferryny żelazem w badanych podgrupach przedstawiono na wykresie 23. Wyniki badań immunologicznych w badanej grupie przedstawiono na wykresie 24 i tabeli XVI. Wyniki posiewu stolca dzieci z badanej grupy z NZJ przed rozpoznaniem choroby przedstawiono na wykresie 25.

Tabela XV Wybrane wyniki badań laboratoryjnych w badanej grupie dzieci z NZJ przedstawione jako średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe, mediany, kwartyle.

Badany parametr	NZJ	WZJG	ChLC	p
RBC [mln/μl]	4,63 $\pm$ 0,48 4,64 [4,29;4,95]	4,46 $\pm$ 0,42 4,51 [4,18;4,73]	4,71 $\pm$ 0,49 4,68 [4,41;4,96]	0,130
Hg [g/dl]	11,3 $\pm$ 1,36 11,4 [10,3;12,2]	11,6 $\pm$ 1,58 11,4 [11,0;12,3]	11,2 $\pm$ 1,24 11,0 [10,1;12,1]	0,379
Hct [%]	36,2 $\pm$ 3,41 36,2 [34,0;38,6]	36,1 $\pm$ 3,60 35,7 [34,2;37,3]	36,3 $\pm$ 3,63 33,8[34,0;38,8]	0,700
MCV [fl]	78,6 $\pm$ 5,62 79,9 [74,8;81,7]	80,9 $\pm$ 5,72 82,6 [79,1;85,0]	77,3 $\pm$ 5,27 77,7 [74,7;80,5]	0,032
OB [mm]	28,0 $\pm$ 18,3 26,0 [13,0;42,0]	27,6 $\pm$ 17,2 33,0 [12,0;37,5]	28,2 $\pm$ 19,1 23,0 [13,5;44,0]	0,967
CRP [mg/l]	28,0 $\pm$ 51,6 8,80 [5,00;27,5]	23,4 $\pm$ 61,0 5,00 [5,00;5,00]	30,3 $\pm$ 47,2 21,4 [6,90;31,6]	0,001
Białko całkowite [mg/ml]	69,6 $\pm$ 8,54 69,3 [64,0;74,7]	70,2 $\pm$ 9,83 69,0 [63,3;78,6]	69,3 $\pm$ 7,98 69,3 [65,0;74,3]	0,912
Albuminy [mg/ml]	38,0 $\pm$ 6,40 37,7 [34,0;42,2]	39,1 $\pm$ 5,51 38,8 [35,8;42,5]	37,4 $\pm$ 6,84 37,7 [32,5;41,9]	0,518
Kreatynina [μmol/l]	42,3 $\pm$ 11,2 40,0 [35,0;47,1]	44,6 $\pm$ 12,6 40,5 [34,2;52,0]	41,1 $\pm$ 10,4 40,0 [35,1;45,5]	0,630
AST [IU/l]	28,3 $\pm$ 23,2 21,7 [17,7;28,7]	35,8 $\pm$ 32,9 26,4 [21,2;36,8]	24,4 $\pm$ 15,5 23,0 [20,9;27,4]	0,058
ALT [IU/l]	28,3 $\pm$ 24,5 24,2 [20,9;28,4]	35,1 $\pm$ 40,6 25,8 [20,9;28,3]	24,7 $\pm$ 7,91 23,0 [20,9;27,4]	0,458
GGT [IU/l]	26,3 $\pm$ 16,0 33,4[11,0;24,0]	38,3 $\pm$ 53,4 16,5 [11,0;37,0]	20,1 $\pm$ 13,1 16,0 [12,0;23,0]	0,804
Amylaza [IU/l]	53,9 $\pm$ 20,3 49,9 [39,0;68,1]	51,1 $\pm$ 24,2 45,4 [33,1;56,9]	55,3 $\pm$ 18,2 52,9 [43,9;69,8]	0,296

Wykres 23 Wysycenie transferryny żelazem w badanych podgrupach.



Wykres 24 Obecność przeciwciał ANCA i ASCA w badanej grupie dzieci z WZJG i ChLC.

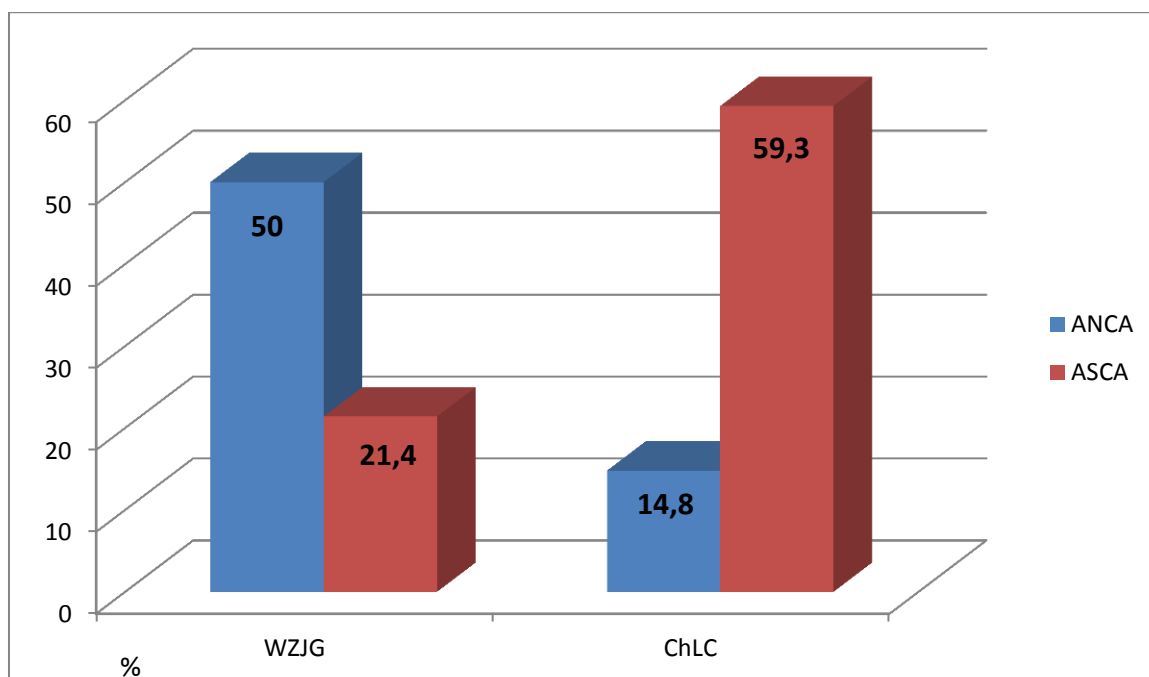
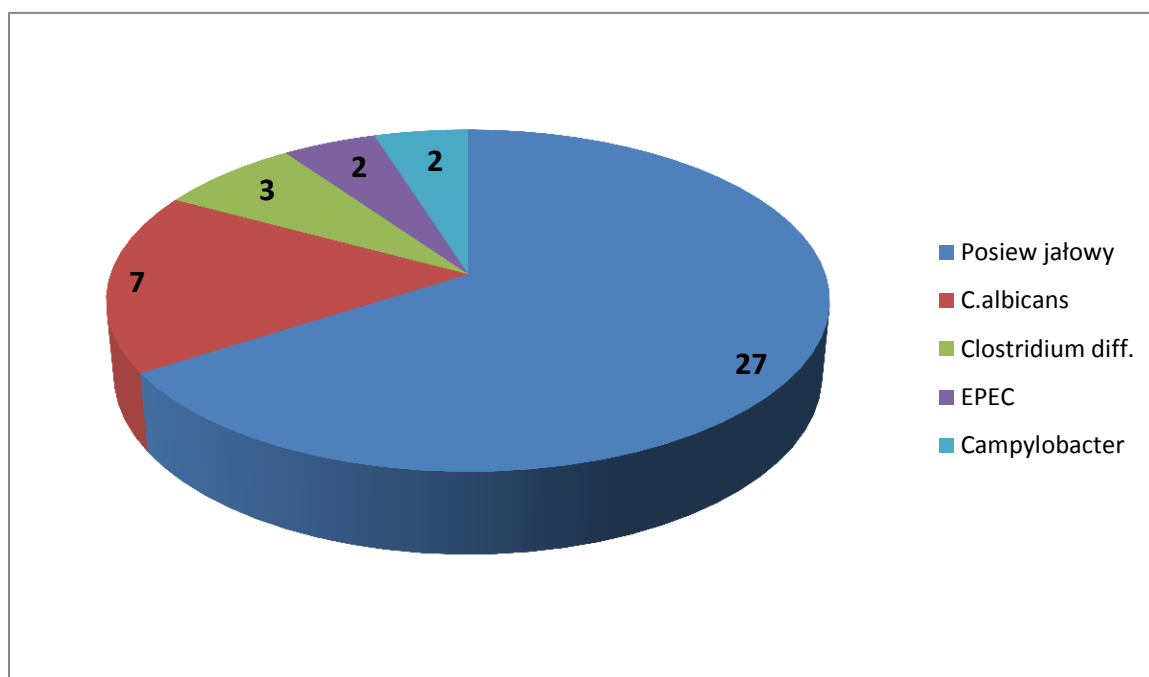


Tabela XVI Wartości przeciwciał ASCA w klasie IgA i IgG w badanej grupie przedstawione jako średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe, mediany i kwartyle.

Badany parametr	WZJG	ChLC	p
ASCA IgA [IU/l]	29,5 ± 72,1 2,00 [1,44;4,02]	76,7 ± 85,7 30,0 [2,00;171]	0,018
ASCA IgG [IU/l]	8,26 ± 17,1 2,00 [2,00;3,29]	64,0 ± 75,0 20,0 [2,00;113]	0,005

Wykres 25 Posiew stolca u dzieci z NZJ przed rozpoznaniem choroby (n=41).



7.5 Wyniki oznaczania badanych pierwiastków w surowicy krwi

7.5.1 Wyniki otrzymane w surowicy krwi w momencie rozpoznania NZJ

Od wszystkich dzieci z badanej grupy z NZJ oraz od dzieci z grupy kontrolnej, po uzyskaniu pisemnej zgody pobrano próbkę krwi w celu oznaczenia stężenia w surowicy krwi badanych pierwiastków. Oznaczano następujące pierwiastki w surowicy krwi: żelazo (Fe), miedź (Cu), cynk (Zn), mangan (Mn), selen (Se) oraz ołów (Pb). Otrzymane wśród dzieci z NZJ w momencie rozpoznania wyniki porównywano z wynikami uzyskanymi w grupie kontrolnej.

U dzieci chorych w momencie postawienia rozpoznania NZJ w porównaniu do grupy kontrolnej stwierdzono istotnie statystycznie mniejsze stężenie w surowicy krwi żelaza (mediana: 1,09 mg/L vs 1,52 mg/L) ($p=0,011$) oraz cynku (mediana: 0,78 mg/L vs 0,88 mg/L) ($p=0,049$). Natomiast stężenie miedzi było istotnie statystycznie wyższe u dzieci chorych niż u dzieci z grupy kontrolnej (mediana: 1,38 mg/L vs 1,06 mg/L) ($p<0001$). Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniach manganu, selenu oraz ołowiu pomiędzy obiema badanymi grupami.

Otrzymane wyniki stężeń badanych pierwiastków dla badanej grupy dzieci z NZJ oraz dzieci z grupy kontrolnej, wyrażone przy pomocy średnich, odchyleń standardowych, mediany i kwartyli, przedstawiono w tabeli XVII.

Tabela XVII Stężenie badanych pierwiastków w grupie dzieci z NZJ (n=41) oraz grupie kontrolnej (n=20), przedstawione jako średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe, mediany, kwartyle.

Badany pierwiastek	Dzieci z nowo rozpoznaną NZJ	Dzieci z grupy kontrolnej	p
Fe [mg/L]	1,41 ± 1,30 1,09 [0,73;1,47]	1,57 ± 0,63 1,52 [1,26;1,74]	0.011
Cu [mg/L]	1,41 ± 0,39 1,38 [1,14;1,59]	1,02 ± 0,19 1,06 [0,88;1,15]	<0.001
Zn [mg/L]	0,85 ± 0,29 0,78 [0,68;0,94]	0,93 ± 0,22 0,88 [0,84;0,95]	0,049
Mn [µg/L]	12,9 ± 9,79 9,00 [6,20;16,5]	10,3 ± 9,07 6,65 [5,10;12,3]	0,160
Se [µg/L]	44,3 ± 13,6 42,0 [36,0;51,0]	45,1 ± 13,4 47,4 [41,4;52,8]	0,307
Pb [µg/L]	25,5 ± 95,4 3,00 [3,00;11,5]	5,25 ± 4,22 3,00 [3,00;5,78]	0,262

Porównano również wyniki oznaczania badanych pierwiastków w surowicy krwi osobno dla dzieci z ChLC oraz dla dzieci z WZJG z wynikami otrzymanymi dla grupy kontrolnej. W przypadku dzieci z ChLC podobnie jak w przypadku całej grupy z NZJ stężenie żelaza i cynku były istotnie statystycznie niższe niż w grupie dzieci zdrowych a stężenie miedzi istotnie statystycznie wyższe. W przypadku dzieci z WZJG nie obserwowano już istotnie statystycznie mniejszego stężenia cynku w surowicy krwi w momencie rozpoznania choroby. Otrzymane wyniki przedstawiono w Tabeli XVIII dla dzieci z ChLC oraz w Tabeli XIX dla dzieci z WZJG.

Tabela XVIII Stężenia badanych pierwiastków w surowicy krwi w momencie rozpoznania u dzieci z ChLC (n=27) i grupy kontrolnej (n=20), wyrażone jako średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe, mediany, kwartyle.

Badany pierwiastek	Dzieci z ChLC	Dzieci z grupy kontrolnej	p
Fe [mg/L]	1,44 ± 1,34 0,89 [0,74;1,48]	1,57 ± 0,63 1,52 [1,26;1,74]	0,036
Cu [mg/L]	1,44 ± 0,44 1,43 [1,17;1,58]	1,02 ± 0,19 1,06 [0,88;1,15]	<0,001
Zn [mg/L]	0,84 ± 0,33 0,77 [0,68;0,92]	0,93 ± 0,22 0,88 [0,84;0,95]	0,013
Mn [µg/L]	14,0 ± 10,7 11,1 [5,75;18,2]	10,3 ± 9,07 6,65 [5,10;12,3]	0,152
Se [µg/L]	45,1 ± 15,0 42,0 [36,0;51,2]	45,1 ± 13,4 47,4 [41,4;52,8]	0,432
Pb [µg/L]	11,9 ± 16,9 3,00 [3,00;11,4]	5,25 ± 4,22 3,00 [3,00;5,78]	0,427

Tabela XIX Stężenie badanych pierwiastków w surowicy krwi w momencie rozpoznania u dzieci chorych z WZJG (n=14) i w grupie kontrolnej (n=20), wyrażone jako średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe, mediany, kwartyle.

Badany pierwiastek	Dzieci z WZJG	Dzieci z grupy kontrolnej	p
Fe [mg/L]	1,37 ± 1,27 1,10 [0,74;1,25]	1,57 ± 0,63 1,52 [1,26;1,74]	0,016
Cu [mg/L]	1,35 ± 0,29 1,27 [1,14;1,58]	1,02 ± 0,19 1,06 [0,88;1,15]	0,002
Zn [mg/L]	0,85 ± 0,22 0,90 [0,67;1,01]	0,93 ± 0,22 0,88 [0,84;0,95]	0,661
Mn [µg/L]	10,8 ± 7,56 8,45 [6,62;13,9]	10,3 ± 9,07 6,65 [5,10;12,3]	0,381
Se [µg/L]	42,7 ± 10,7 41,6 [38,2;48,9]	45,1 ± 13,4 47,4 [41,4;52,8]	0,294
Pb [µg/L]	51,8 ± 162 3,00 [3,00;17,3]	5,25 ± 4,22 3,00 [3,00;5,78]	0,196

Porównując wyniki oznaczania badanych pierwiastków w surowicy krwi dla dzieci z obu podgrup, a więc z ChLC oraz z WZJG w momencie rozpoznania choroby nie obserwowano istotnych statystycznie różnic. Otrzymane wyniki przedstawiono w Tabeli XX.

Tabela XX Stężenia badanych pierwiastków w surowicy krwi w momencie rozpoznania u dzieci z ChLC (n=27) oraz WZJG (n=14) wyrażone za pomocą średnich arytmetycznych, odchyłeń standardowych, median, kartyli.

Badany pierwiastek	Dzieci z ChLC	Dzieci z WZJG	p
Fe [mg/L]	1,44 ± 1,34 0,89 [0,74;1,48]	1,37 ± 1,27 1,10 [0,74;1,25]	0,978
Cu [mg/L]	1,44 ± 0,44 1,43 [1,17;1,58]	1,35 ± 0,29 1,27 [1,14;1,58]	0,554
Zn [mg/L]	0,84 ± 0,33 0,77 [0,68;0,92]	0,85 ± 0,22 0,90 [0,67;1,01]	0,492
Mn [µg/L]	14,0 ± 10,7 11,1 [5,75;18,2]	10,8 ± 7,56 8,45 [6,62;13,9]	0,690
Se [µg/L]	45,1 ± 15,0 42,0 [36,0;51,2]	42,7 ± 10,7 41,6 [38,2;48,9]	0,847
Pb [µg/L]	11,9 ± 16,9 3,00 [3,00;11,4]	51,8 ± 162 3,00 [3,00;17,3]	0,701

Podsumowując otrzymane w surowicy krwi dzieci chorych w momencie rozpoznania NZJ (Tabele XVII-XX) stwierdzono mniejsze stężenie żelaza i cynku, natomiast większe stężenie miedzi. Różnica w stężeniach cynku dotyczyła jedynie dzieci z ChLC.

7.5.2 Wyniki otrzymane w surowicy krwi po rocznej obserwacji

Po rocznej obserwacji ponownie badano stężenie wybranych pierwiastków w surowicy krwi dzieci chorych. Stwierdzono istotny statystycznie spadek stężenia miedzi w stosunku do wartości w momencie postawienia diagnozy ($p=0,02$). Zaobserwowano również wzrost stężenia cynku i selenu oraz spadek manganu, lecz nie były to różnice istotne statystycznie. Stężenia żelaza i ołowiu utrzymywały się na zbliżonym poziomie. Otrzymane wyniki przedstawiono w Tabeli XXI.

Tabela XXI Stężenia badanych pierwiastków w surowicy krwi dzieci z NZJ po rocznej obserwacji w porównaniu do wartości w momencie rozpoznania choroby (n=41), wyrażone za pomocą średnich arytmetycznych, odchyleń standardowych, median, kwartyli.

Badany pierwiastek	Dzieci z nowo rozpoznaną NZJ	Dzieci z NZJ po rocznym okresie obserwacji	p
Cu [mg/L]	1,41 ± 0,39 1,38 [1,14;1,59]	1,13 ± 0,47 1,08 [0,78;1,43]	0,002
Fe [mg/L]	1,41 ± 1,30 1,09 [0,73;1,47]	1,57 ± 1,62 1,04 [0,79;1,68]	0,898
Zn [mg/L]	0,85 ± 0,29 0,78 [0,68;0,94]	0,85 ± 0,20 0,84 [0,71;0,95]	0,783
Mn [µg/L]	12,9 ± 9,79 9,00 [6,20;16,5]	12,1 ± 12,5 8,20 [3,84;14,7]	0,480
Se [µg/L]	44,3 ± 13,6 42,0 [36,0;51,0]	50,9 ± 19,9 48,6 [37,8;56,3]	0,098
Pb [µg/L]	25,5 ± 95,4 3,00 [3,00;11,5]	8,66 ± 15,6 3,00 [2,61;5,53]	0,101

Porównując wyniki po roku obserwacji z tymi w momencie stawiania diagnozy NZJ w poszczególnych podgrupach (ChLC i WZJG) dla obu podobnie jak w przypadku całej grupy dzieci chorych zaobserwowano istotny spadek stężenia miedzi w surowicy krwi.

W podgrupie dzieci z ChLC dodatkowo zaobserwowano wzrost stężenia żelaza, cynku i selenu, natomiast spadek stężenia manganu. W podgrupie dzieci z WZJG zarówno stężenie żelaza, cynku jak i manganu spadło, natomiast selenu wzrosło. Różnice te nie były jednak istotne statystycznie. Otrzymane wyniki dla podgrupy z ChLC przedstawiono w Tabeli XXII, natomiast dla podgrupy z WZJG w Tabeli XXIII.

Tabela XXII Stężenia badanych pierwiastków w surowicy krwi po rocznej obserwacji w podgrupie dzieci z ChLC (n=27) w porównaniu do wartości otrzymanych w momencie rozpoznania choroby, wyrażonych za pomocą średnich, odchyłeń standardowych, median i kwartyli.

Badany pierwiastek	Dzieci z ChLC w momencie rozpoznania	Dzieci z ChLC po rocznym okresie obserwacji	p
Cu [mg/L]	1,44 ± 0,44 1,43 [1,17;1,58]	1,19 ± 0,52 1,14 [0,82;1,46]	0,049
Fe [mg/L]	1,44 ± 1,34 0,89 [0,74;1,48]	1,48 ± 1,33 1,16 [0,82;1,66]	0,934
Zn [mg/L]	0,84 ± 0,33 0,77 [0,68;0,92]	0,83 ± 0,15 0,85 [0,70;0,94]	0,657
Mn [µg/L]	14,0 ± 10,7 11,1 [5,75;18,2]	12,5 ± 10,9 8,37 [4,50;17,2]	0,485
Se [µg/L]	45,1 ± 15,0 42,0 [36,0;51,2]	49,9 ± 19,9 49,1 [37,2;56,8]	0,336
Pb [µg/L]	11,9 ± 16,9 3,00 [3,00;11,4]	7,51 ± 13,5 3,00 [2,80;4,37]	0,117

Tabela XXIII Stężenia badanych pierwiastków w surowicy krwi po rocznej obserwacji w podgrupie dzieci z WZJG (n=14) w porównaniu do wartości otrzymanych w momencie rozpoznania, wyrażona za pomocą średnich arytmetycznych, odchyleń standardowych, median i kwartyli.

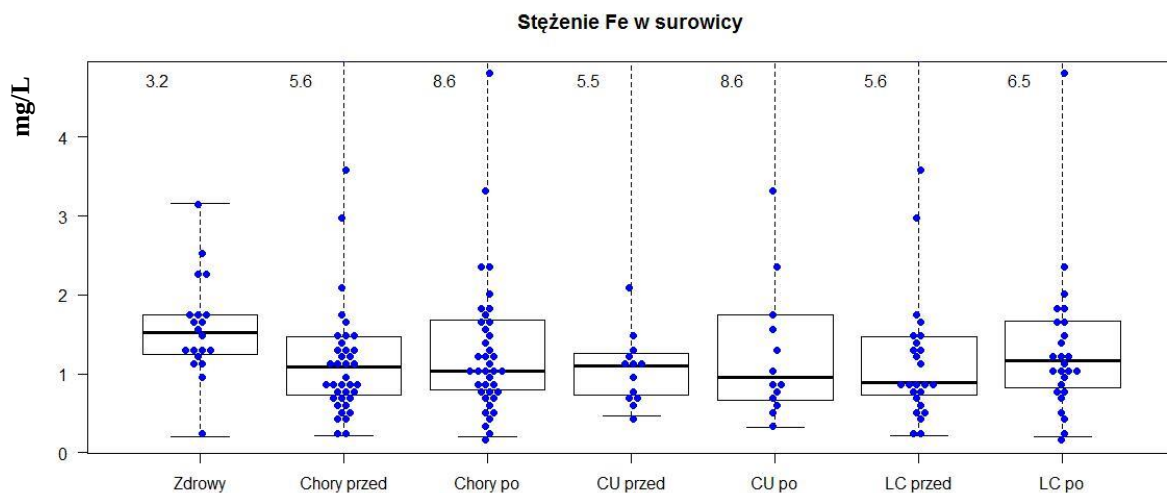
Badany pierwiastek	Dzieci z WZJG w momencie rozpoznania	Dzieci z WZJG po rocznym okresie obserwacji	p
Cu [mg/L]	1,35 ± 0,29 1,27 [1,14;1,58]	1,00 ± 0,32 0,94 [0,80;1,21]	0,011
Fe [mg/L]	1,37 ± 1,27 1,10 [0,74;1,25]	1,75 ± 2,12 0,96 [0,70;1,70]	0,855
Zn [mg/L]	0,85 ± 0,22 0,90 [0,67;1,01]	0,89 ± 0,27 0,83 [0,75;0,94]	0,903
Mn [µg/L]	10,8 ± 7,56 8,45 [6,62;13,9]	11,4 ± 15,4 5,28 [2,30;12,5]	0,808
Se [µg/L]	42,7 ± 10,7 41,6 [38,2;48,9]	52,7 ± 20,5 47,2 [40,9;53,7]	0,091
Pb [µg/L]	51,8 ± 162 3,00 [3,00;17,3]	10,9 ± 19,5 3,00 [2,55;8,12]	0,563

Porównując obie podgrupy dzieci chorych ze sobą (ChLC i WZJG) po rocznym okresie obserwacji nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy stężeniami badanych pierwiastków w ich surowicy krwi.

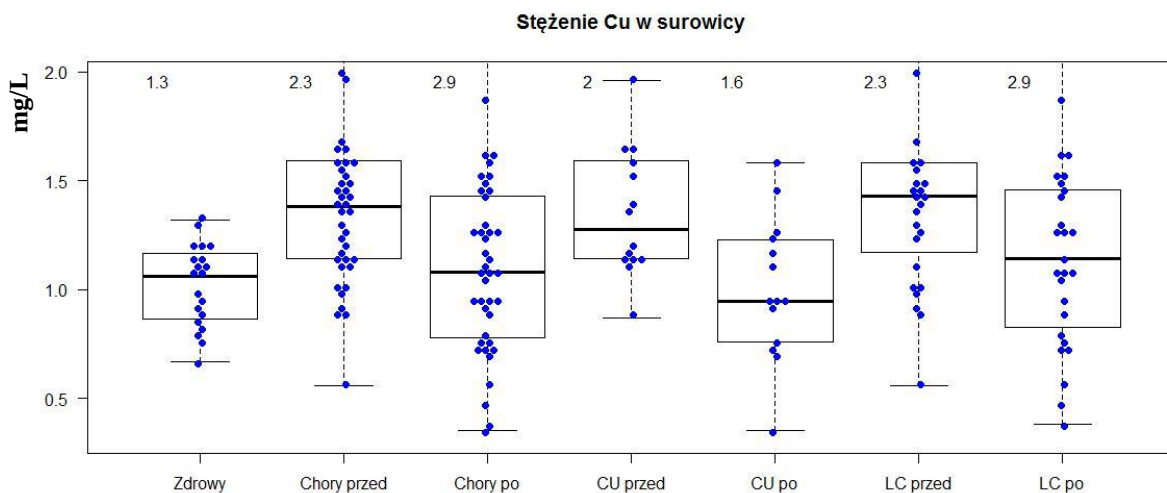
7.5.3 Zbiorcze zestawienie wyników otrzymanych w surowicy krwi

Otrzymane wyniki stężeń poszczególnych badanych pierwiastków w surowicy krwi w grupie dzieci z NZJ oraz podgrupach dzieci z ChLC oraz WZJG, w momencie rozpoznania choroby oraz po rocznej obserwacji zilustrowano na wykresach 26-31.

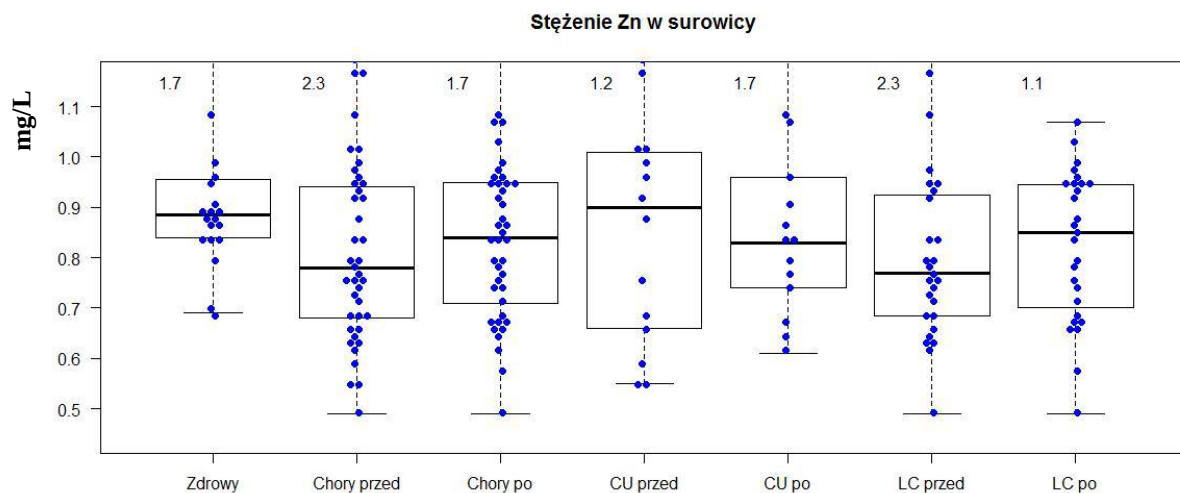
Wykres 26 Stężenie żelaza (Fe) w surowicy krwi w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC (LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Fe w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



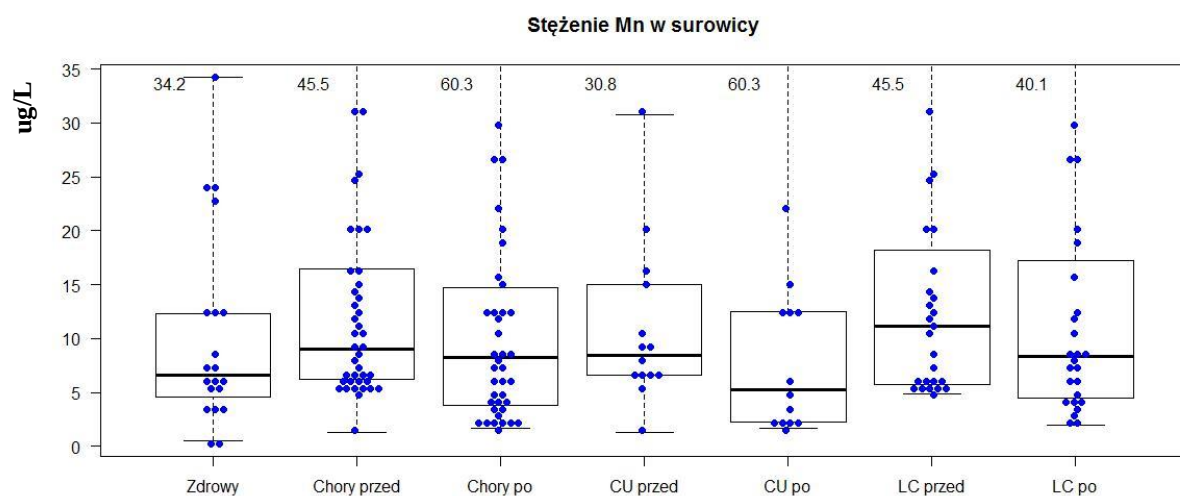
Wykres 27 Stężenie miedzi (Cu) w surowicy krwi w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC(LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Cu w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



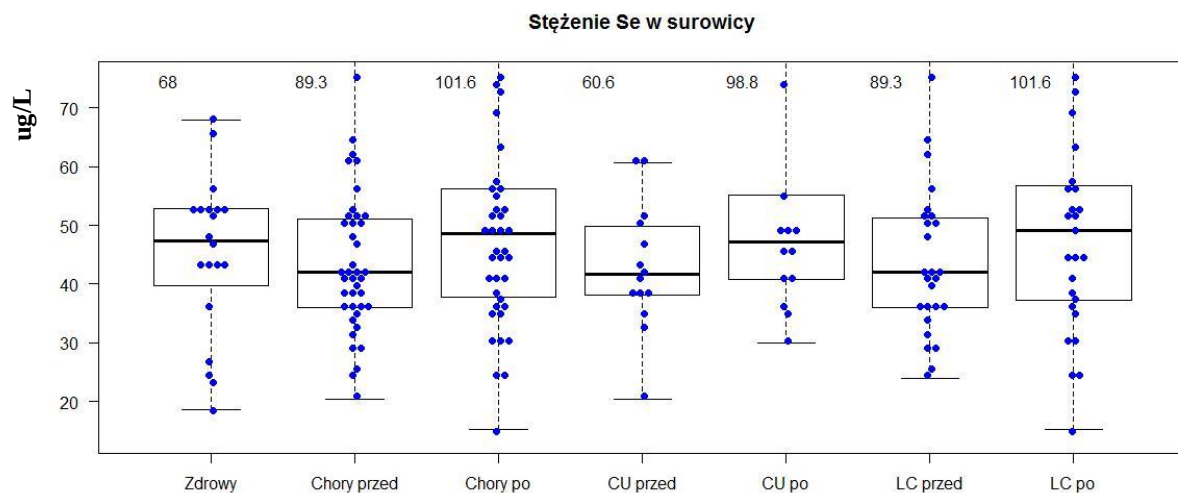
Wykres 28 Stężenie cynku (Zn) w surowicy krwi w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC (LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Zn w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



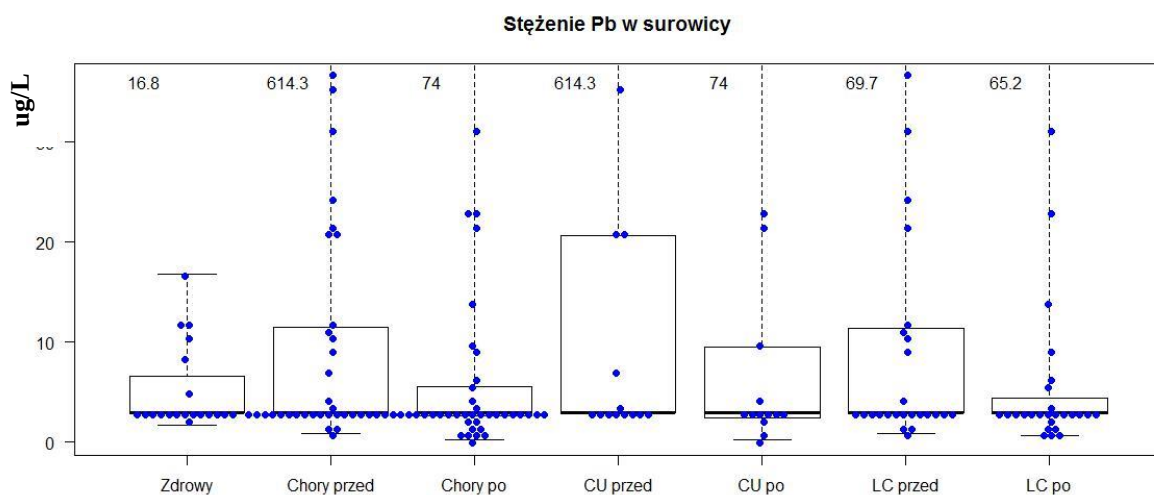
Wykres 29 Stężenie manganu (Mn) w surowicy krwi w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC (LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Mn w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



Wykres 30 Stężenie selenu (Se) w surowicy krwi w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC (LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Se w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



Wykres 31 Stężenie ołowiu (Pb) w surowicy krwi w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC (LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Pb w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



Podsumowując w momencie rozpoznania NZJ w surowicy krwi badanych dzieci zaobserwowano niższe stężenia żelaza oraz cynku, natomiast wyższe stężenia miedzi w stosunku do wyników otrzymanych dla dzieci zdrowych. Przy podziale na podgrupy różnice w stężeniach cynku w surowicy krwi były obserwowane jedynie u dzieci z ChLC. Po rocznym okresie obserwacji normalizacji ulegało stężenie miedzi, osiągając podobne wartości jak w grupie dzieci zdrowych, w przypadku żelaza oraz cynku otrzymane wyniki nadal były niższe niż w grupie kontrolnej. W przypadku manganu obserwowano spadek jego stężenia po rocznej obserwacji, a w przypadku selenu wzrost jego stężenia, choć nie były to istotne statystycznie różnice. Stężenia ołowiu utrzymywały się na podobnym poziomie przez cały okres badania.

7.5.4 Korelacje stężeń badanych pierwiastków w surowicy krwi z wybranymi parametrami

W badanej grupie dzieci z NZJ oceniano również występowanie istotnych korelacji otrzymanych stężeń badanych pierwiastków ze sobą oraz parametrami biochemicznymi i morfologią krwi. Wyniki przedstawiono w Tabeli XXIV.

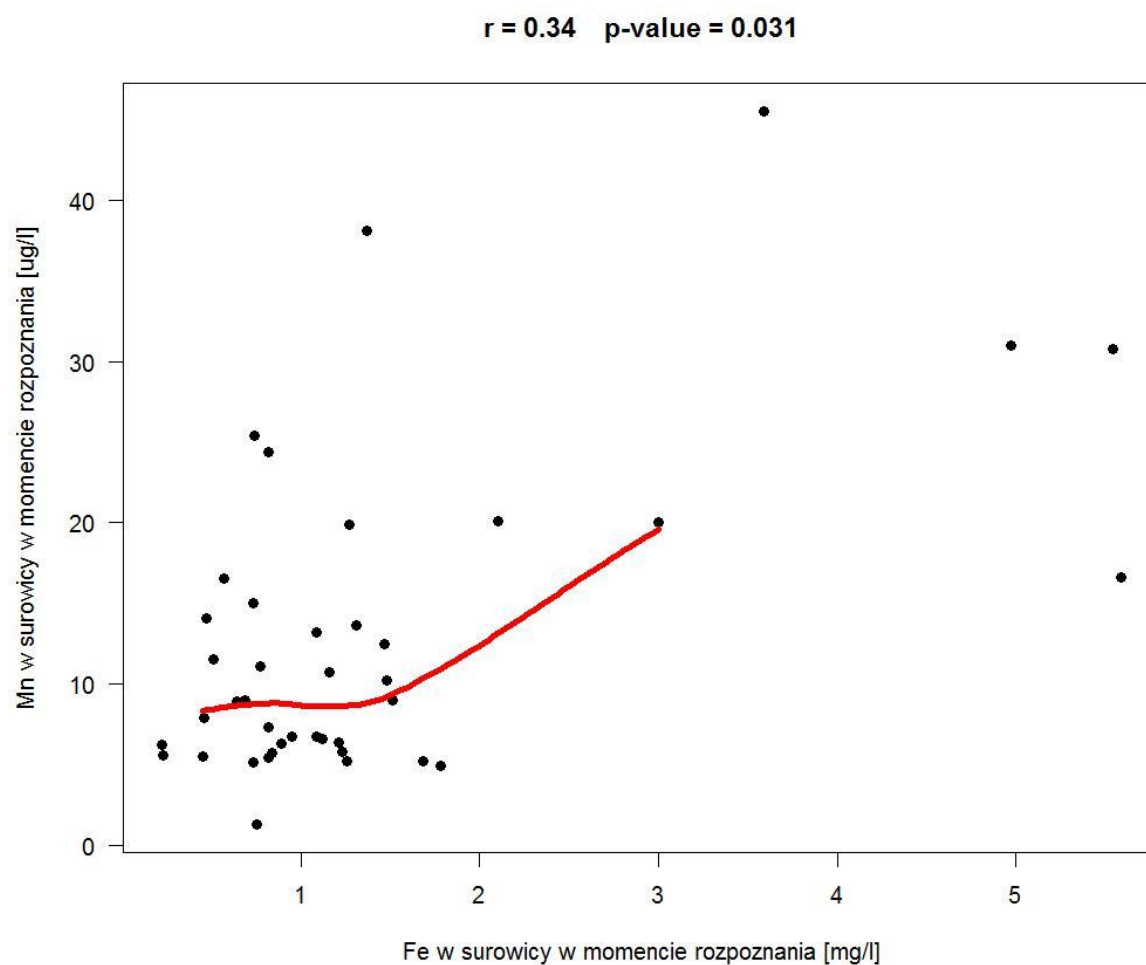
Tabela XXIV Istotne korelacje stężeń badanych pierwiastków w surowicy krwi dzieci z NZJ w momencie rozpoznania choroby z wybranymi parametrami.

Badany pierwiastek w surowicy dzieci z nowo rozpoznaną NZJ	Parametry korelujący istotnie ze stężeniem badanego pierwiastka	Współczynnik korelacji Pearsona (r)	p
Fe	surowica Zn	0.55	0.000
Fe	surowica Mn	0.34	0.031
Fe	wysycenie transferyny Fe	0.32	0.041
Fe	białko całkowite	0.43	0.005
Cu	hemoglobina	-0.36	0.022
Cu	Hct	-0.34	0.030
Cu	amylaza	-0.33	0.033
Mn	wiek	0.31	0.048
Mn	surowica Fe	0.34	0.031

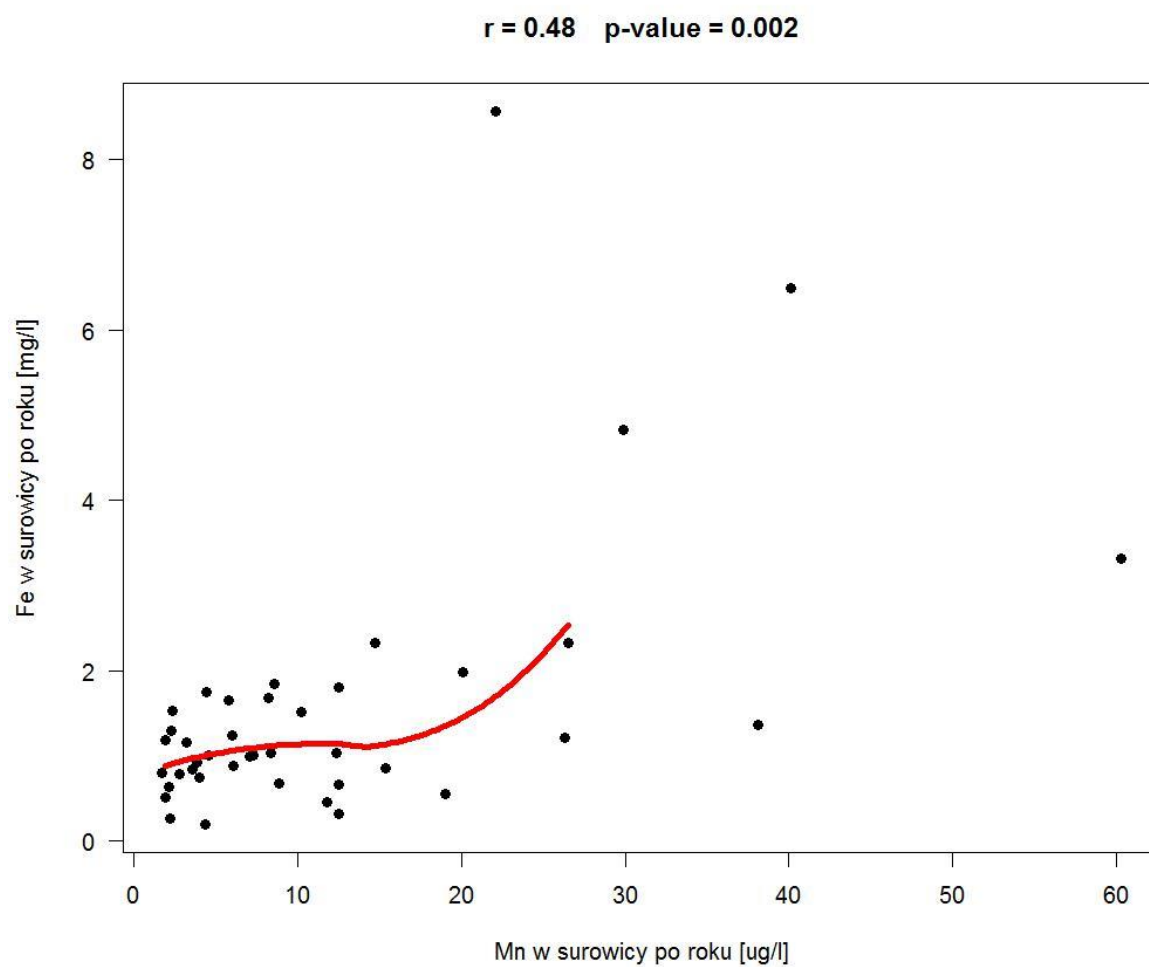
Mn	transferryna	0.31	0.049
Mn	białko całkowite	0.38	0.014
Mn	waga	0.31	0.046
Mn	wzrost	0.34	0.031
Se	Hct	0.31	0.050
Se	wysycenie transferryny Fe	0.31	0.049

W przypadku żelaza jego stężenie w surowicy krwi dzieci z nowo rozpoznany NZJ korelowało dodatnio ze stężeniem cynku oraz manganu w ich surowicy, jak również z wysyceniem transferryny żelazem i stężeniem białka całkowitego. W podgrupie dzieci z ChLC w momencie rozpoznania stężenie żelaza w surowicy krwi korelowało dodatnio ze stężeniem cynku w ich surowicy, białka całkowitego oraz ujemnie z wysokością CRP. Po rocznym okresie obserwacji obserwowano również korelację stężenia żelaz i manganu w surowicy krwi. Przykładowe korelacje stężenia Fe w surowicy krwi dzieci z NZJ przedstawiono na wykresach 32-35.

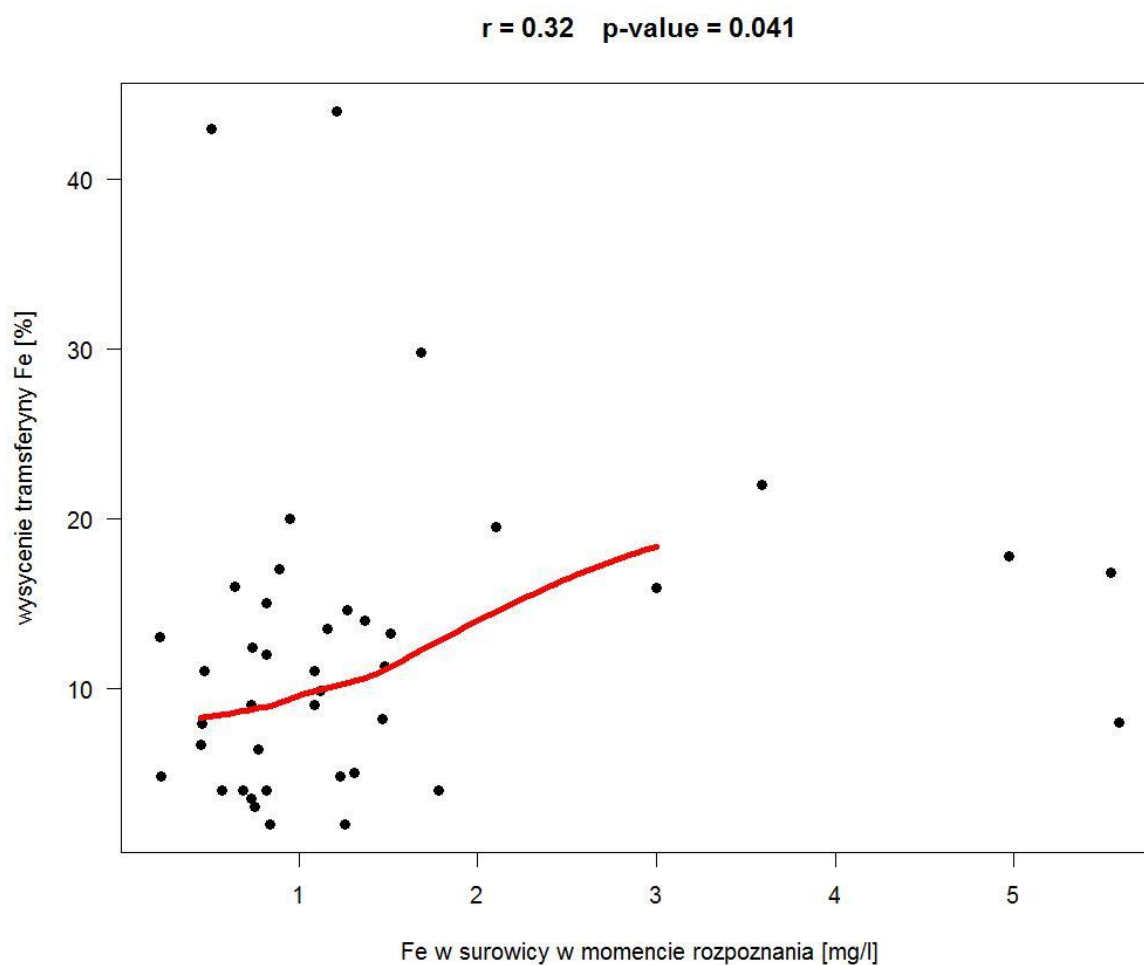
Wykres 32 Korelacja stężenia Fe i Mn w surowicy dzieci z NZJ w momencie rozpoznania choroby.



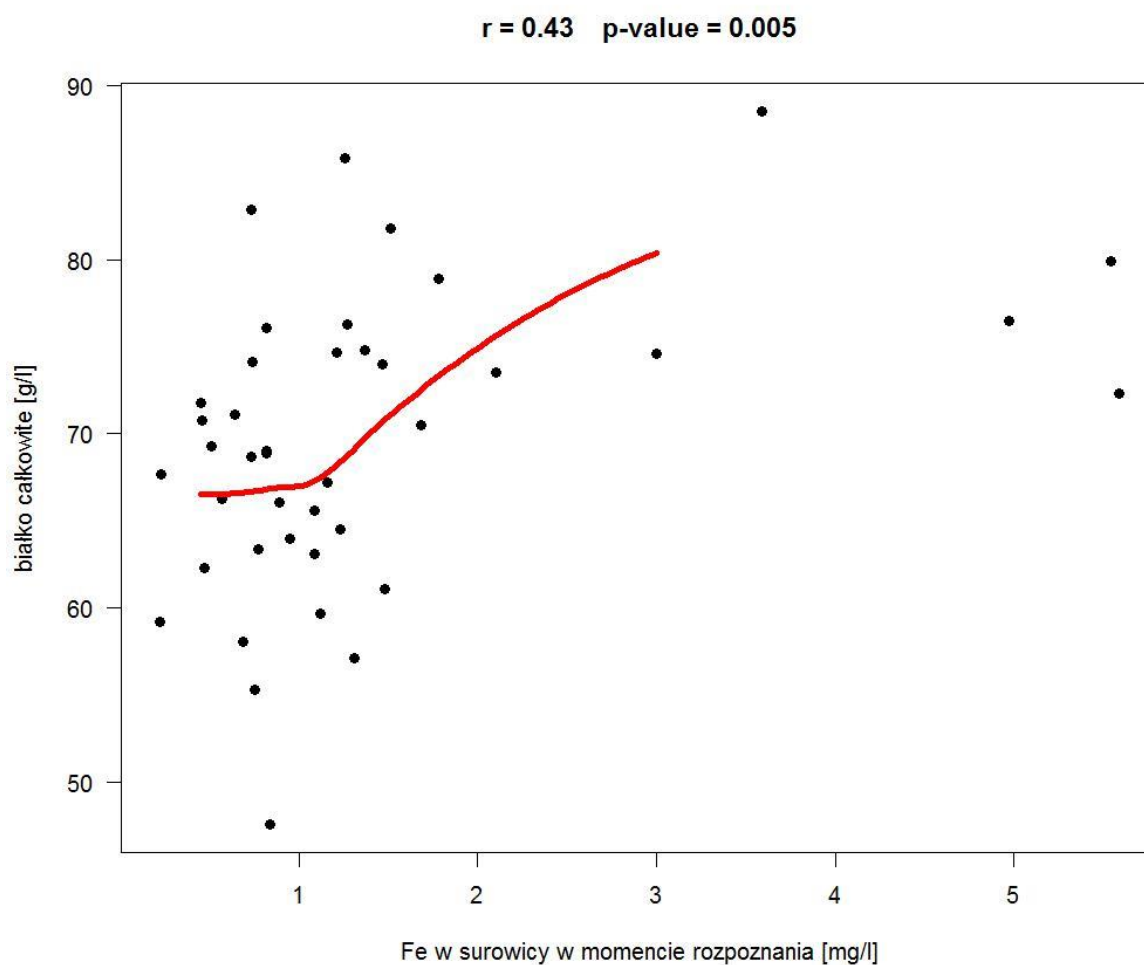
Wykres 33 Korelacja stężenia Fe i Mn w surowicy krwi dzieci z NZJ po rocznej obserwacji.



Wykres 34 Korelacja stężenia Fe w surowicy krwi dzieci z NZJ w momencie rozpoznania oraz wysycenia transferyny żelazem.

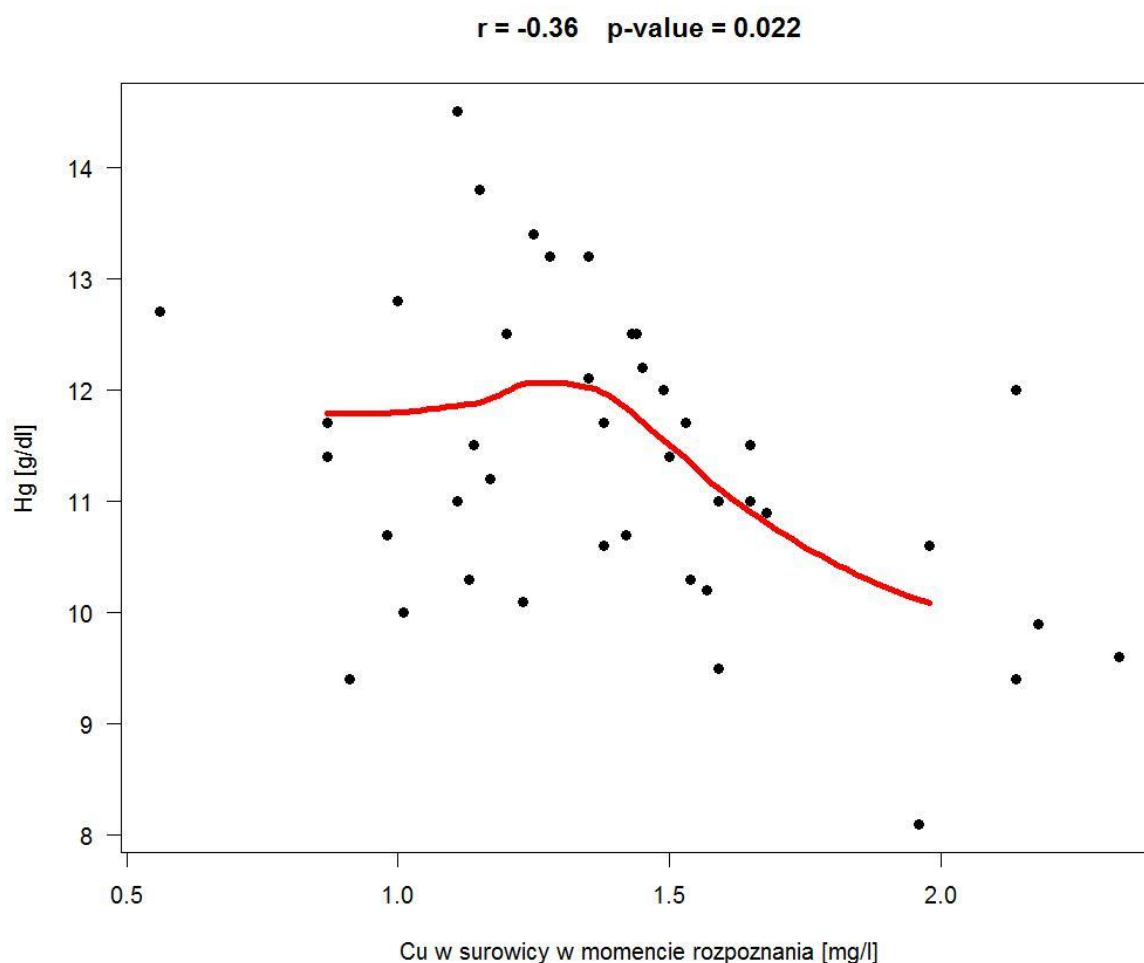


Wykres 35 Korelacja stężenia Fe w surowicy krwi dzieci z NZJ w momencie rozpoznania z stężeniem białka całkowitego.



Stężenie miedzi w surowicy krwi dzieci z nowo rozpoznanym NZJ korelowało ujemnie ze stężeniem hemoglobiny (Hg) (wykres 36) oraz z hematokrytem (Hct). W przypadku podgrupy dzieci z WZJG zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem Cu w surowicy oraz stężeniem białka całkowitego, albumin oraz AST.

Wykres 36 Korelacja stężenia Cu w surowicy krwi dzieci z nowo rozpoznanym NZJ oraz stężenia hemoglobiny Hg.



Stężenie manganu w surowicy krwi dzieci z NZJ w momencie rozpoznania korelowało dodatnio ze stężeniem żelaza w surowicy krwi jak również stężeniem transferryny oraz białka całkowitego. Dodatkowo zaobserwowano dodatnią korelację stężenia manganu z wagą oraz wzrostem chorych dzieci z NZJ w momencie rozpoznania choroby.

Stężenie selenu w surowicy krwi dzieci z nowo rozpoznanym NZJ korelowało dodatnio z hematokrytem oraz wysyceniem transferryny żelazem, a w przypadku dzieci z WZJG również z MCV. W przypadku stężenia ołowiu w surowicy krwi w momencie diagnozy zaobserwowano ujemną korelację z długością trwania objawów jedynie w przypadku dzieci z WZJG.

Zaobserwowano również pewne korelacje stężeń badanych pierwiastków w surowicy krwi dzieci z nowo rozpoznanym NZJ z częstością spożycia przez nie wybranych produktów żywieniowych, które przedstawiono w tabeli XXV.

Tabela XXV Istotne korelacje stężeń badanych pierwiastków w surowicy krwi dzieci z nowo rozpoznanym NZJ oraz częstości spożywania wybranych produktów spożywczych.

Badany pierwiastek	Produkt spożywczy	Współczynnik korelacji Pearsona (r)	p
Fe	ziemniaki	-0,31	0,05
Zn	orzechy	0,37	0,018
Mn	mleko	0,38	0,013
Mn	fasola	0,31	0,049
Mn	ziarna zbóż	0,32	0,041
Mn	owoce	0,33	0,033
Se	fast food	0,33	0,037
Se	nabiał	0,31	0,048
Se	drób	-0,33	0,034
Se	pomidor	0,38	0,014
Se	brukselka	0,4	0,01

Po roku od rozpoznania NZJ zaobserwowano istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem żelaza i manganu w surowicy krwi dzieci chorych, ale jedynie w przypadku dzieci z ChLC.

Nie zaobserwowano istotnych korelacji pomiędzy stężeniem badanych pierwiastków w surowicy krwi dzieci z NZJ w momencie rozpoznania choroby a jej lokalizacją. Po rocznym okresie choroby istotnie mniejsze stężenie Pb występowało u dzieci z NZJ, u których proces chorobowy zajmował okrężnice ($p=0,044$).

7.6 Wyniki oznaczania badanych pierwiastków we włosach

7.6.1 Wyniki otrzymane we włosach w momencie rozpoznania NZJ

Od wszystkich dzieci z badanej grupy z NZJ oraz od dzieci z grupy kontrolnej, po uzyskaniu pisemnej zgody pobrano próbkę włosów w celu oznaczenia badanych pierwiastków. Oznaczano we włosach następujące pierwiastki: żelazo (Fe), miedź (Cu), cynk (Zn), mangan (Mn), ołów (Pb) oraz selen (Se). Otrzymane wśród dzieci z NZJ w momencie rozpoznania wyniki porównywano z wynikami uzyskanymi w grupie kontrolnej.

U dzieci z NZJ w momencie rozpoznania stężenia wszystkich badanych pierwiastków były porównywalne z wynikami otrzymanymi wśród dzieci z grupy kontrolnej. Otrzymane wyniki przedstawiono w Tabeli XXVI.

Tabela XXVI Stężenia badanych pierwiastków we włosach dzieci z NZJ (n=41) w momencie rozpoznania choroby oraz w grupie kontrolnej (n=20), przedstawione jako średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe, mediany, kwartyle.

Badany pierwiastek	Dzieci z NZJ w momencie rozpoznania	Dzieci z grupy kontrolnej	p
Mn [μg/g]	0,90 ± 1,06 0,55 [0,42;0,96]	0,90 ± 0,98 0,54 [0,28;1,19]	0,524
Fe [μg/g]	50,8 ± 74,1 25,1 [15,0;63,7]	29,6 ± 16,3 23,0 [20,4;30,1]	0,842
Cu [μg/g]	20,3 ± 16,1 13,5 [9,80;26,5]	16,1 ± 10,7 13,3 [9,60;18,6]	0,484
Zn [μg/g]	173 ± 134 148 [108;176]	173 ± 77,6 166 [146;187]	0,240
Se [μg/g]	0,24 ± 0,11 0,25 [0,19;0,30]	0,27 ± 0,08 0,29 [0,21;0,33]	0,118
Pb [μg/g]	2,24 ± 1,69 1,84 [0,90;2,80]	3,04 ± 3,52 1,86 [1,18;3,03]	0,684

Porównywano również wyniki otrzymane we włosach dzieci z ChLC oraz WZJG w momencie rozpoznania choroby z wynikami otrzymanymi dla dzieci z grupy kontrolnej. Nie zaobserwowano żadnej istotnej różnicy pomiędzy stężeniami wszystkich badanych pierwiastków pomiędzy tymi grupami. Otrzymane wyniki przedstawiono w Tabelach XXVII i XXVIII.

Tabela XXVII Stężenia badanych pierwiastków we włosach w podgrupie dzieci z ChLC (n=27) w momencie rozpoznania choroby oraz w grupie kontrolnej (n=20) przedstawione jako średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe, mediany, kwartyle.

Badany pierwiastek	Dzieci z ChLC w momencie rozpoznania	Dzieci z grupy kontrolnej	p
Mn [µg/g]	0,80 ± 0,90 0,47 [0,40;0,74]	0,90 ± 0,98 0,54 [0,28;1,19]	0,838
Fe [µg/g]	38,4 ± 37,7 25,0 [15,0;44,0]	29,6 ± 16,3 23,0 [20,4;30,1]	0,763
Cu [µg/g]	19,6 ± 15,9 13,5 [9,70;24,1]	16,1 ± 10,7 13,3 [9,60;18,6]	0,704
Zn [µg/g]	188 ± 162 148 [108;179]	173 ± 77,6 166 [146;187]	0,395
Se [µg/g]	0,23 ± 0,09 0,24 [0,20;0,30]	0,27 ± 0,08 0,29 [0,21;0,33]	0,134
Pb [µg/g]	2,35 ± 1,91 1,49 [0,90;2,80]	3,04 ± 3,52 1,86 [1,18;3,03]	0,690

Tabela XXVIII Stężenia badanych pierwiastków we włosach w podgrupie dzieci z WZJG (n=14) w momencie rozpoznania choroby oraz w grupie kontrolnej (n=20) przedstawione jako średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe, mediany, kwartyle.

Badany pierwiastek	Dzieci z WZJG w momencie rozpoznania	Dzieci z grupy kontrolnej	p
Mn [μg/g]	1,11 ± 1,33 0,60 [0,52;0,99]	0,90 ± 0,98 0,54 [0,28;1,19]	0,263
Fe [μg/g]	74,7 ± 114 28,0 [18,5;66,2]	29,6 ± 16,3 23,0 [20,4;30,1]	0,345
Cu [μg/g]	21,7 ± 17,2 15,0 [10,0;28,9]	16,1 ± 10,7 13,3 [9,60;18,6]	0,325
Zn [μg/g]	145 ± 39,0 144 [111;171]	173 ± 77,6 166 [146;187]	0,195
Se [μg/g]	0,25 ± 0,14 0,26 [0,19;0,28]	0,27 ± 0,08 0,29 [0,21;0,33]	0,262
Pb [μg/g]	2,02 ± 1,19 2,45 [0,98;2,74]	3,04 ± 3,52 1,86 [1,18;3,03]	0,779

Porównując otrzymane stężenia badanych pierwiastków we włosach dzieci z obu podgrup w momencie rozpoznania choroby, nie stwierdzono żadnych istotnych różnic pomiędzy wynikami dla dzieci z ChLC oraz z WZJG. Otrzymane wyniki przedstawiono w Tabeli XXIX.

Tabela XXIX Stężenia badanych pierwiastków we włosach w podgrupie dzieci z ChLC (n=27) oraz w podgrupie dzieci z WZJG (n=14) w momencie rozpoznania choroby przedstawione jako średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe, mediany, kwartyle.

Badany pierwiastek	Dzieci z ChLC w momencie rozpoznania	Dzieci z WZJG w momencie rozpoznania	p
Mn [µg/g]	0,80 ± 0,90 0,47 [0,40;0,74]	1,11 ± 1,33 0,60 [0,52;0,99]	0,105
Fe [µg/g]	38,4 ± 37,7 25,0 [15,0;44,0]	74,7 ± 114 28,0 [18,5;66,2]	0,322
Cu [µg/g]	19,6 ± 15,9 13,5 [9,70;24,1]	21,7 ± 17,2 15,0 [10,0;28,9]	0,554
Zn [µg/g]	188 ± 162 148 [108;179]	145 ± 39,0 144 [111;171]	0,752
Se [µg/g]	0,23 ± 0,09 0,24 [0,20;0,30]	0,25 ± 0,14 0,26 [0,19;0,28]	0,989
Pb [µg/g]	2,35 ± 1,91 1,49 [0,90;2,80]	2,02 ± 1,19 2,45 [0,98;2,74]	0,978

7.6.2 Wyniki otrzymane we włosach po rocznej obserwacji

Po okresie rocznej obserwacji ponownie badano stężenie pierwiastków we włosach dzieci chorych z NZJ. Otrzymane wyniki porównywano z wartościami otrzymanymi dla tych dzieci w momencie rozpoznania u nich choroby. Stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenie Se (0,29 ug/g vs 0,25 ug/g, p=0,047), pozostałe badane pierwiastki były na podobnym poziomie zarówno w momencie rozpoznania NZJ jak i po rocznej obserwacji. Otrzymane wyniki przedstawiono w Tabeli XXX.

Tabela XXX Stężenie badanych pierwiastków we włosach w grupie dzieci z NZJ (n=41) w momencie rozpoznania oraz po roku obserwacji, przedstawione jako średnie arytmetyczne, odchylenie standardowe, mediana, kwartyle.

Badany pierwiastek	Dzieci z NZJ w momencie rozpoznania	Dzieci z NZJ po rocznej obserwacji	p
Se [µg/g]	0,24 ± 0,11 0,25 [0,19;0,30]	0,30 ± 0,12 0,29 [0,25;0,34]	0,047
Mn [µg/g]	0,90 ± 1,06 0,55 [0,42;0,96]	0,91 ± 0,50 0,89 [0,52;1,17]	0,188
Fe [µg/g]	50,8 ± 74,1 25,1 [15,0;63,7]	46,8 ± 36,4 43,2 [21,5;55,1]	0,899
Cu [µg/g]	20,3 ± 16,1 13,5 [9,80;26,5]	24,7 ± 14,1 19,8 [13,6;31,2]	0,313
Zn [µg/g]	173 ± 134 148 [108;176]	220 ± 191 161 [141;184]	0,274
Pb [µg/g]	2,24 ± 1,69 1,84 [0,90;2,80]	2,63± 2,44 1,80 [1,31;2,61]	0,786

Porównywano również wyniki otrzymane we włosach po rocznym okresie obserwacji u dzieci w poszczególnych podgrupach (ChLC i WZJG) z wynikami otrzymanymi dla tych dzieci w momencie rozpoznania u nich NZJ. Nie obserwowano istotnych różnic pomiędzy stężeniami badanych pierwiastków. Otrzymane wyniki przedstawiono w Tabelach XXXI i XXXII.

Tabela XXXI Stężenia badanych pierwiastków we włosach dzieci z ChLC (n=27) w momencie rozpoznania choroby oraz po rocznej obserwacji, przedstawione jako średnie arytmetyczne, odchylenie standardowe, mediana, kwartyle.

Badany pierwiastek	Dzieci z ChLC w momencie rozpoznania	Dzieci z ChLC po rocznej obserwacji	p
Mn [μg/g]	0,80 ± 0,90 0,47 [0,40;0,74]	0,92 ± 0,58 0,81 [0,51;1,18]	0,130
Fe [μg/g]	38,4 ± 37,7 25,0 [15,0;44,0]	47,6 ± 43,4 36,8 [17,8;54,9]	0,808
Cu [μg/g]	19,6 ± 15,9 13,5 [9,70;24,1]	21,9 ± 12,0 19,2 [13,9;26,4]	0,224
Zn [μg/g]	188 ± 162 148 [108;179]	249 ± 229 159 [144;210]	0,348
Se [μg/g]	0,23 ± 0,09 0,24 [0,20;0,30]	0,28 ± 0,14 0,28 [0,23;0,35]	0,187
Pb [μg/g]	2,35 ± 1,91 1,49 [0,90;2,80]	3,08 ± 2,86 1,82 [1,33;3,76]	0,424

Tabela XXXII Stężenia badanych pierwiastków we włosach dzieci z WZJG (n=14) w momencie rozpoznania choroby oraz po rocznej obserwacji, przedstawione jako średnie arytmetyczne, odchylenie standardowe, mediana, kwartyle.

Badany pierwiastek	Dzieci z WZJG w momencie rozpoznania	Dzieci z WZJG po rocznej obserwacji	p
Mn [µg/g]	1,11 ± 1,33 0,60 [0,52;0,99]	0,89 ± 0,30 0,98 [0,78;1,08]	0,919
Fe [µg/g]	74,7 ± 114 28,0 [18,5;66,2]	45,1 ± 16,6 50,5 [32,1;58,0]	0,476
Cu [µg/g]	21,7 ± 17,2 15,0 [10,0;28,9]	30,3 ± 16,9 28,3 [16,4;39,5]	0,838
Zn [µg/g]	145 ± 39,0 144 [111;171]	162 ± 34,2 161 [139;180]	0,638
Se [µg/g]	0,25 ± 0,14 0,26 [0,19;0,28]	0,33 ± 0,08 0,32 [0,29;0,32]	0,155
Pb [µg/g]	2,02 ± 1,19 2,45 [0,98;2,74]	1,75 ± 0,77 1,41 [1,28;2,11]	0,365

Porównując stężenia badanych pierwiastków we włosach obiema podgrupami po rocznej obserwacji nie stwierdzono żadnych istotnych statystycznie różnic pomiędzy podgrupą dzieci z ChLC a podgrupą dzieci z WZJG. Otrzymane wyniki przedstawiono w Tabeli XXXIII.

Tabela XXXIII Stężenia badanych pierwiastków we włosach dzieci z ChLC (n=27) oraz z WZJG (n=14) po rocznej obserwacji, przedstawione jako średnie arytmetyczne, odchylenie standardowe, mediana, kwartyle.

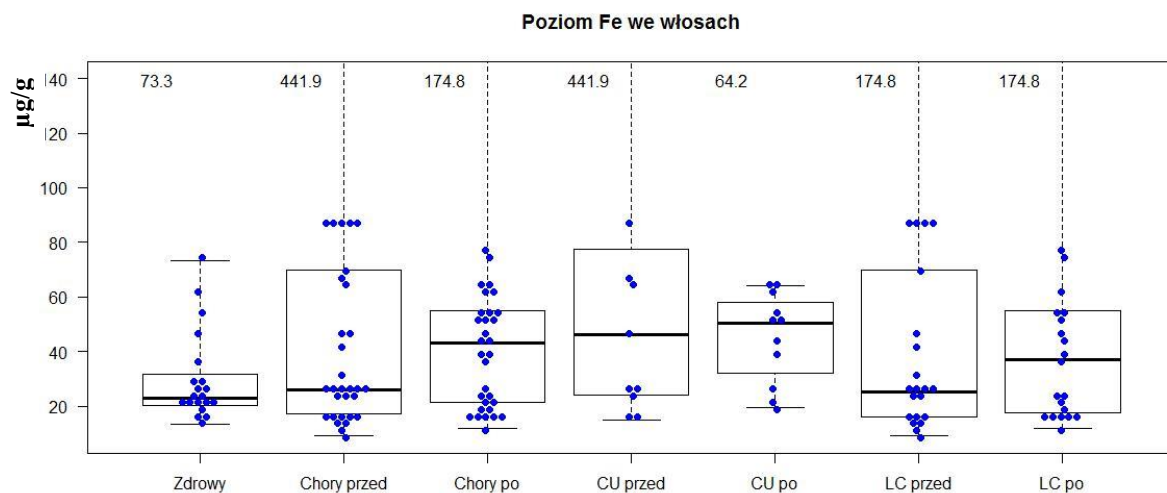
Badany pierwiastek	Dzieci z ChLC po rocznej obserwacji	Dzieci z WZJG po rocznej obserwacji	p
Mn [µg/g]	0,92 ± 0,58 0,81 [0,51;1,18]	0,89 ± 0,30 0,98 [0,78;1,08]	0,633
Fe [µg/g]	47,6 ± 43,4 36,8 [17,8;54,9]	45,1 ± 16,6 50,5 [32,1;58,0]	0,302
Cu [µg/g]	21,9 ± 12,0 19,2 [13,9;26,4]	30,3 ± 16,9 28,3 [16,4;39,5]	0,158
Zn [µg/g]	249 ± 229 159 [144;210]	162 ± 34,2 161 [139;180]	0,674
Se [µg/g]	0,28 ± 0,14 0,28 [0,23;0,35]	0,33 ± 0,08 0,32 [0,29;0,32]	0,193
Pb [µg/g]	3,08 ± 2,86 1,82 [1,33;3,76]	1,75 ± 0,77 1,41 [1,28;2,11]	0,380

Podsumowując po rocznej obserwacji zaobserwowano istotny wzrost stężenia selenu we włosach dzieci z NZJ w stosunku do wartości otrzymanych w momencie rozpoznania choroby. Podczas gdy po podziale na podgrupy ani wśród dzieci z ChLC ani wśród tych z WZJG takiej różnicy stężeń już nie obserwowano.

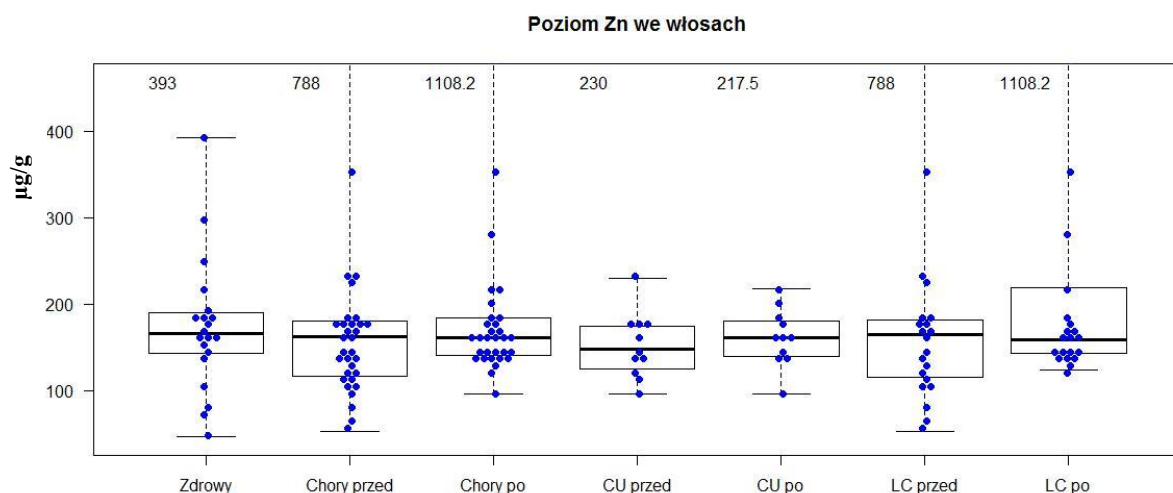
7.6.3 Zbiorcze zestawienie wyników otrzymanych we włosach

Otrzymane wyniki stężeń poszczególnych badanych pierwiastków we włosach w grupie dzieci z NZJ oraz podgrupach dzieci z ChLC oraz WZJG, w momencie rozpoznania choroby oraz po rocznej obserwacji zilustrowano na wykresach 37-42.

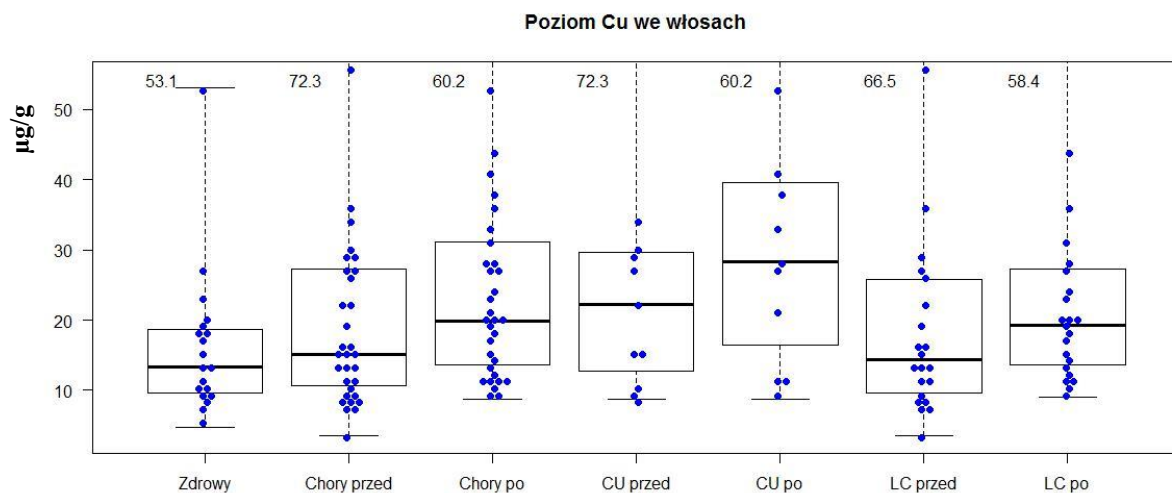
Wykres 37 Stężenie żelaza (Fe) we włosach w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC (LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Fe w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



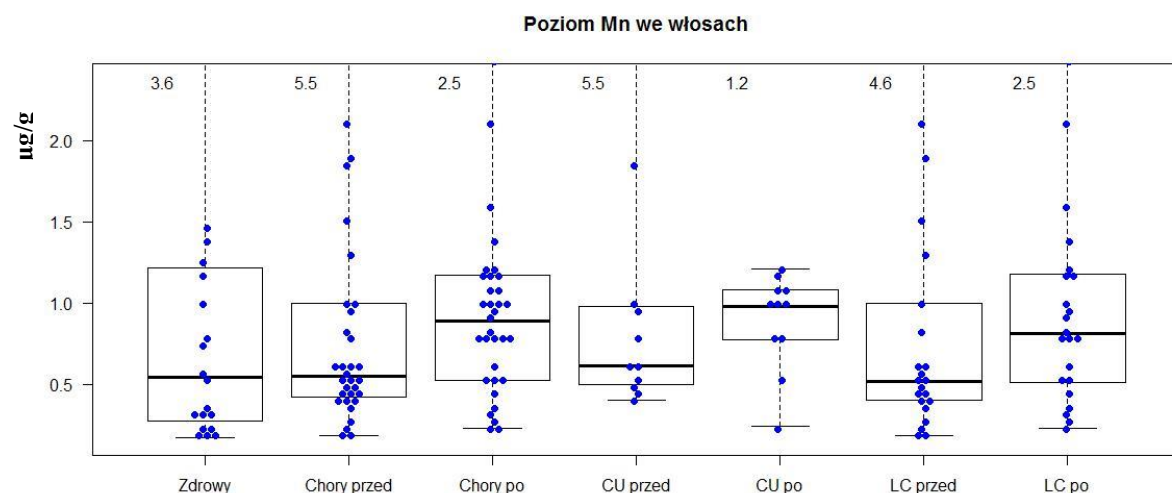
Wykres 38 Stężenie cynku (Zn) we włosach w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC (LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Zn w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



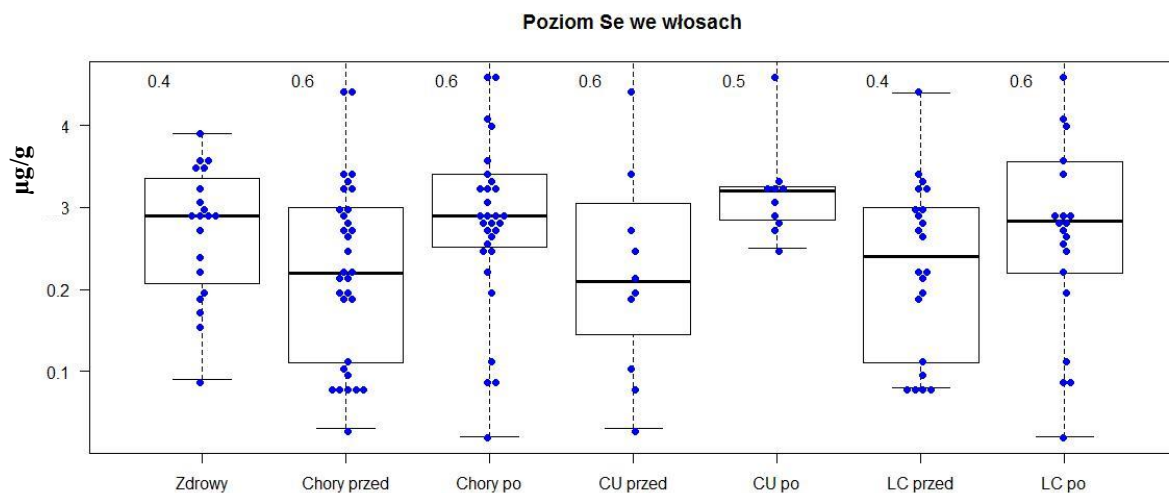
Wykres 39 Stężenie miedzi (Cu) we włosach w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC (LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Cu w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



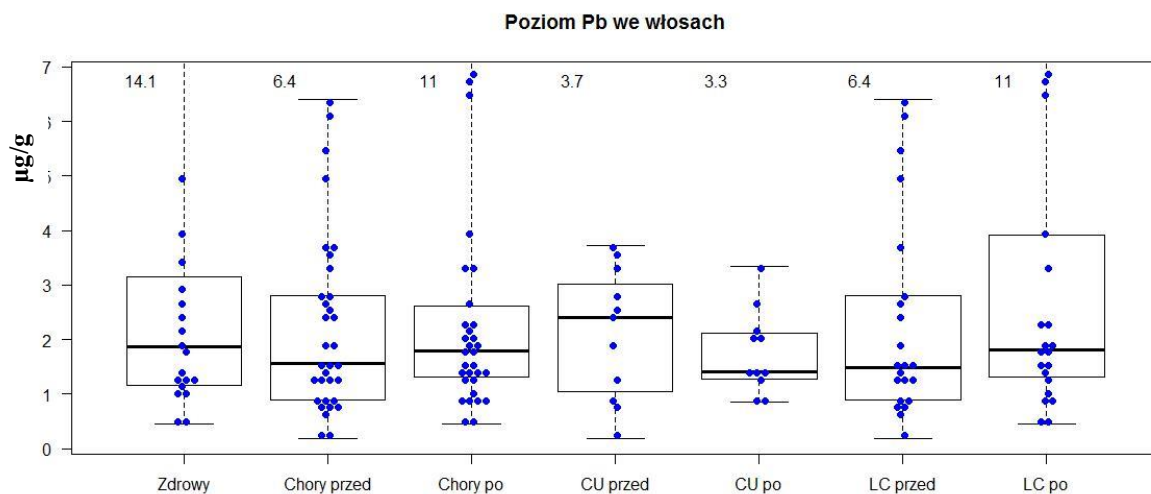
Wykres 40 Stężenie manganu (Mn) we włosach w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC (LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Mn w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



Wykres 41 Stężenie selenu (Se) we włosach w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC (LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Se w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



Wykres 42 Stężenie ołowiu (Pb) we włosach w badanej grupie dzieci z NZJ (chore) oraz podgrupach ChLC (LC) i WZJG (CU) w momencie rozpoznania choroby (przed) oraz po rocznej obserwacji (po), jak również u dzieci z grupy kontrolnej (zdrowy). Maksymalną wartość otrzymanego stężenia Pb w poszczególnych podgrupach podano jako wartość liczbową.



Podsumowując otrzymane wartości stężeń badanych pierwiastków we włosach były zbliżone zarówno dla dzieci z NZJ jak i tych z grupy kontrolnej. Nie obserwowano również istotnych zmian stężeń po rocznym okresie obserwacji. Jedynym wyjątkiem był selen, którego stężenie istotnie statystycznie wzrosło wśród dzieci z NZJ po rocznym okresie obserwacji w stosunku do wartości z momentu rozpoznania choroby.

7.6.4 Korelacje stężeń badanych pierwiastków we włosach z wybranymi parametrami

W badanej grupie dzieci oceniano występowanie istotnych korelacji stężeń badanych pierwiastków we włosach z wybranymi parametrami w surowicy krwi oraz we włosach tych dzieci. Wyniki przedstawiono w Tabeli XXXIV.

Tabela XXXIV Istotne korelacje stężeń badanych pierwiastków we włosach dzieci z NZJ w momencie rozpoznania z wybranymi parametrami.

Badany pierwiastek we włosach dzieci z nowo rozpoznaną NZJ	Parametry korelujące istotnie ze stężeniem badanego pierwiastka	Współczynnik korelacji Pearsona (r)	p
Fe	włosy Mn	0.65	0.000
Fe	włosy Cu	0.46	0.003
Fe	włosy Pb	0.32	0.041
Fe	włosy Se	-0.55	0.000
Fe	GGTP	0.37	0.017
Cu	białko całkowite	0.44	0.004
Cu	albuminy	0.35	0.023
Cu	AST	0.28	0.080
Cu	ALT	0.44	0.004
Cu	surowica Pb	-0.34	0.029
Cu	OB	-0.36	0.021
Zn	wiek	0.34	0.027
Zn	waga	0.33	0.033
Zn	wzrost	0.34	0.030
Mn	włosy Se	-0.33	0.035

Mn	włosy Cu	0.43	0.005
Se	włosy Cu	-0.35	0.026
Pb	wiek	-0.41	0.007
Pb	OB	-0.35	0.024
Pb	waga	-0.40	0.009
Pb	wzrost	-0.38	0.015
Pb	BMI	-0.33	0.034

Oceniając korelację stężeń badanych pierwiastków we włosach w poszczególnych podgrupach stwierdzono ich istotne występowanie w grupie dzieci z ChLC w przypadku żelaza, manganu, cynku i selenu, natomiast w grupie dzieci z WZJG istotne korelacje występowały w przypadku wszystkich badanych pierwiastków.

Stężenie żelaza we włosach dzieci z ChLC w momencie rozpoznania korelowało dodatnio ze stężeniem manganu we włosach oraz GGTP w surowicy krwi, natomiast ujemnie ze stężeniem selenu we włosach oraz BMI badanych dzieci. W przypadku manganu obserwowano dodatnią korelację ze stężeniem żelaza i miedzi we włosach oraz wysyceniem tranferyny żelazem w surowicy krwi, natomiast ujemną ze stężeniem selenu we włosach badanych dzieci. Stężenie cynku we włosach w podgrupie z ChLC korelowało dodatnio z wiekiem, wagą i wzrostem, natomiast stężenie selenu we włosach w tej podgrupie korelowało dodatnio ze wskaźnikiem Cole’a, a ujemnie ze stężeniem manganu i żelaza we włosach oraz GGTP w surowicy krwi tych pacjentów.

Wśród dzieci z WZJG najwięcej istotnych korelacji obserwowano w przypadku stężenia miedzi we włosach. Stężenie to dodatnio korelowało ze stężeniem manganu, żelaza i ołowiu we włosach badanych dzieci oraz ze stężeniem miedzi, białka całkowitego, albumin, ALT i AST w ich surowicy krwi, natomiast ujemnie z OB. Ponadto stężenie żelaza we włosach dzieci z podgrupy z WZJG korelowało dodatnio ze stężeniem manganu w ich włosach oraz ujemnie ze stężeniem selenu we włosach i z OB. W przypadku cynku zaobserwowano dodatnią korelację jego stężenia ze stężeniem selenu we włosach oraz poziomem mocznika w surowicy krwi.

W badanej grupie dzieci z NZJ oceniano również występowanie korelacji stężeń badanych pierwiastków we włosach z częstością spożywania poszczególnych produktów żywieniowych. Otrzymane wyniki przedstawiono w Tabeli XXXV.

Tabela XXXV Korelacja stężeń badanych pierwiastków we włosach dzieci z NZJ z częstością spożywania wybranych produktów żywieniowych.

Badany pierwiastek	Produkt spożywczy	Współczynnik korelacji Pearsona (r)	p
Fe	ser żółty	-0.36	0.019
Fe	orzechy	-0.37	0.017
Fe	mleko	-0.51	0.001
Mn	ser żółty	-0.48	0.002
Mn	mleko	-0.46	0.003
Cu	sałata	-0.31	0.048
Pb	szpinak	0.31	0.049
Se	mleko	0.33	0.032
Se	jaja	0.35	0.024

7.7 Korelacja stężeń badanych pierwiastków w surowicy i we włosach

W badanej grupie dzieci z NZJ oraz w podgrupach dzieci z ChLC i WZJG próbowano ocenić występowanie korelacji pomiędzy stężeniami badanych tych samych pierwiastków w surowicy krwi i we włosach.

Zaobserwowano istotną korelację pomiędzy stężeniem miedzi w surowicy i we włosach dzieci z WZJG w momencie rozpoznania ($r = 0,53$, $p = 0,049$), pozostałe korelacje nie były istotne statystycznie. Otrzymane korelacje w badanej grupie z NZJ oraz podgrupach z ChLC i WZJG przedstawiono w Tabeli XXXVI.

Tabela XXXVI Korelacje stężeń badanych pierwiastków we włosach oraz w surowicy krwi dzieci z NZJ oraz z podgrup z ChLC i WZJG.

Badany pierwiastek	Współczynnik korelacji Pearsona (r) dla dzieci z NZJ	p	Współczynnik korelacji Pearsona (r) dla dzieci z ChLC	p	Współczynnik korelacji Pearsona (r) dla dzieci z WZJG	p
Cu	-0.05	0.745	-0.24	0.230	0.53	0.049
Fe	-0.08	0.624	0.13	0.510	-0.40	0.151
Zn	0.22	0.160	0.16	0.432	0.46	0.097
Mn	-0.08	0.626	-0.01	0.954	-0.15	0.614
Pb	-0.23	0.148	-0.16	0.437	-0.41	0.142
Se	0.09	0.566	0.05	0.807	0.31	0.355

7.8 Podsumowanie wyników

1. Wśród badanych dzieci z NZJ w porównaniu z grupą kontrolną więcej mieszkało w obszarach zurbanizowanych (70% vs 45%) oraz w pobliżu hut (19,5% vs 10%) i elektrociepłowni (34,1% vs 10%).
2. Częstość spożywania przez dzieci posiłków była mniejsza w grupie dzieci z NZJ niż w grupie kontrolnej, dodatkowo aż 22% dzieci chorych vs 0% w grupie kontrolnej, często spożywała produkty typu fast food.
3. Spożycie mleka 2-3 razy w tygodniu deklarowało ok. 50% dzieci z obu grup, natomiast aż 14,6% dzieci z NZJ nie pije mleka w ogóle, w grupie kontrolnej było to jedynie 5% dzieci. Zdecydowanie więcej dzieci bo ok. 70% z grupy kontrolnej zjada często przetwory mleczne, w grupie dzieci chorych jest to jedynie niespełna 40% dzieci.
4. Najczęściej wybieranym mięsem w obu grupach było mięso drobiowe, zjada je 70% dzieci z NZJ oraz 85% z grupy kontrolnej.
5. Spożycie warzyw w obu grupach było niskie, jedynym często jadanym warzywem był pomidor.
6. Spożywanie owoców codziennie deklarowało 73,2% dzieci z NZJ oraz 55% dzieci z grupy kontrolnej.
7. Stosowanie suplementów diety zarówno w grupie dzieci z NZJ jak i w grupie kontrolnej było sporadyczne.
8. W badanej grupie dzieci z NZJ niedożywienie występowało aż u 48,7% dzieci w momencie rozpoznania ($CI < 90\%$). Wśród dzieci z ChLC niedożywienie występowało u 60% dzieci, podczas gdy u dzieci z WZJG było to 33,3%. Różnica ta nie była istotna statystycznie ($p = 0,65$). Częściej niedożywione były dziewczynki w porównaniu z chłopcami (65% vs 35%).
9. Średnie stężenie hemoglobiny w grupie dzieci z NZJ było w dolnych granicach zakresów referencyjnych i wynosiło 11 g/dl. Wartość MCV również oscylowała w dolnych zakresach normy i była istotnie statystycznie niższa w podgrupie dzieci z ChLC niż z WZJG (77,3 fl vs 82,6 fl) ($p = 0,032$).
10. Niedobór żelaza, określany na podstawie stężenia ferrytyny skorygowanego do CRP, stwierdzono u 70,4% pacjentów z ChLC oraz 64,3% pacjentów z WZJG. Wysycenie transferryiny żelazem poniżej wartości referencyjnych stwierdzono aż u 74,1% dzieci z ChLC oraz 78,6% dzieci z WZJG.

11. Stwierdzono podwyższone CRP w obu podgrupach (norma < 10 mg/l), dodatkowo obserwowano istotną statystycznie różnicę pomiędzy jego wartościami u dzieci z ChLC (średnia 30,3 mg/l) a dziećmi z WZJG (średnia 23,4 mg/l) ($p=0,001$).
12. U dzieci chorych w momencie postawienia rozpoznania NZJ stwierdzono istotnie statystycznie mniejsze stężenie w surowicy krwi żelaza (mediana: 1,09 mg/L vs 1,52 mg/L) ($p=0,011$) oraz cynku (mediana: 0,78 mg/L vs 0,88 mg/L) ($p=0,049$) w porównaniu z grupą kontrolną.
13. W momencie rozpoznania NZJ stężenie miedzi w surowicy krwi było istotnie statystycznie wyższe u dzieci chorych niż u dzieci z grupy kontrolnej (mediana: 1,38 mg/L vs 1,06 mg/L) ($p<0,001$).
14. Stężenia w surowicy krwi manganu były wyższe, a selenu niższe w grupie dzieci z NZJ w momencie rozpoznania w porównaniu z grupą kontrolną, jednak różnice te nie były istotne statystycznie. Nie obserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniach ołowiu pomiędzy tymi grupami.
15. W przypadku dzieci z ChLC w momencie rozpoznania choroby podobnie jak w przypadku całej grupy z NZJ stężenie żelaza i cynku w surowicy krwi były istotnie statystycznie niższe niż w grupie dzieci zdrowych, a stężenie miedzi istotnie statystycznie wyższe.
16. W przypadku dzieci z WZJG w momencie rozpoznania choroby nie obserwowano już istotnie statystycznie mniejszego stężenia cynku w surowicy krwi w porównaniu z grupą kontrolną (mediana: 0,85 mg/L vs 0,93 mg/L) ($p=0,661$).
17. Nie obserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniami badanych pierwiastków w surowicy krwi w momencie rozpoznania choroby pomiędzy podgrupami dzieci z ChLC i WZJG.
18. Po rocznym okresie obserwacji w surowicy krwi dzieci z NZJ stwierdzono istotny statystycznie spadek stężenia miedzi ($p=0,02$).
19. Porównując wyniki po roku obserwacji z tymi w momencie stawiania diagnozy NZJ w poszczególnych podgrupach, również zaobserwowano istotny statystycznie spadek stężenia miedzi w obu z nich ($p=0,049$ dla ChLC oraz $p=0,011$ dla WZJG).
20. Po rocznym okresie obserwacji dzieci z NZJ stwierdzono wzrost stężenia w surowicy krwi żelaza, cynku i selenu oraz spadek stężenia manganu w porównaniu do wartości w momencie rozpoznania choroby, jednak różnice te nie były istotne statystycznie.

21. Porównując obie podgrupy dzieci chorych (ChLC i WZJG) między sobą, po rocznym okresie obserwacji nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi pierwiastkami w surowicy krwi.
22. W momencie rozpoznania NZJ stężenie żelaza w surowicy krwi dzieci chorych koreluje dodatnio ze stężeniem cynku oraz manganu w ich surowicy, jak również z wysyceniem transferryny żelazem i stężeniem białka całkowitego.
23. W podgrupie dzieci z ChLC w momencie rozpoznania stężenie żelaza w surowicy krwi koreluje dodatnio ze stężeniem cynku w ich surowicy, białka całkowitego oraz koreluje ujemnie z wysokością CRP. W przypadku dzieci z WZJG w momencie rozpoznania brak jest korelacji stężenia żelaza zarówno ze stężeniem cynku jak i manganu.
24. Stężenie miedzi w surowicy krwi dzieci z nowo rozpoznanym NZJ koreluje ujemnie ze stężeniem hemoglobiny (Hg) oraz z hematokrytem (Hct). W przypadku podgrupy dzieci z WZJG zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem Cu w surowicy oraz stężeniem białka całkowitego, albumin oraz AST.
25. Stężenie manganu w surowicy krwi dzieci z NZJ w momencie rozpoznania korelowało dodatnio ze stężeniem żelaza w surowicy krwi jak również stężeniem transferryny oraz białka całkowitego. Dodatkowo zaobserwowano dodatnią korelację stężenia manganu z wagą oraz wzrostem chorych dzieci z NZJ w momencie rozpoznania choroby.
26. Stężenie selenu w surowicy krwi dzieci z nowo rozpoznanym NZJ korelowało dodatnio z hematokrytem oraz wysyceniem transferryny żelazem, a w przypadku dzieci z WZJG również z MCV.
27. Stężenie ołowiu w surowicy krwi w momencie diagnozy korelowało ujemnie z długością trwania objawów jedynie w przypadku dzieci z WZJG.
28. Nie zaobserwowano istotnych korelacji pomiędzy stężeniem badanych pierwiastków w surowicy krwi dzieci z NZJ w momencie rozpoznania choroby a jej lokalizacją.
29. Po rocznym okresie choroby istotnie mniejsze stężenie Pb występowało u dzieci z NZJ, u których proces chorobowy zajmował okrężnice ($p=0,044$).
30. U dzieci z NZJ w momencie rozpoznania stężenia wszystkich badanych pierwiastków we włosach były porównywalne z tymi otrzymanymi dla grupy kontrolnej.
31. Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniach badanych pierwiastków we włosach w momencie rozpoznania zarówno pomiędzy poszczególnymi podgrupami (ChLC i

WZJG) w porównaniu z wynikami dzieci z grupy kontrolnej, jak również pomiędzy wartościami otrzymanymi dla dzieci z ChLC i WZJG..

32. Po rocznej obserwacji stwierdzono istotny statystycznie wzrost stężenia selenu we włosach dzieci z NZJ w porównaniu z wartościami otrzymanymi w momencie rozpoznania choroby (0,29 ug/g vs 0,25 ug/g, $p=0,047$).
33. Stężenie miedzi we włosach dzieci z nowo rozpoznaną NZJ korelowało dodatnio z poziomem takich parametrów w surowicy krwi jak białko całkowite, albuminy, AST, ALT oraz dTIBC, natomiast ujemnie z wartością OB oraz stężeniem ołowiu.
34. W przypadku stężenia cynku we włosach dzieci z NZJ stwierdzono dodatnią korelację z takimi parametrami antropometrycznymi jak waga i wzrost oraz wiek.
35. Stężenie manganu we włosach dzieci z NZJ w momencie rozpoznania korelowało dodatnio ze stężeniem w nich żelaza, miedzi i selenu, podczas gdy stężenie selenu korelowało również dodatnio ze stężeniem ołowiu w surowicy krwi tych dzieci.
36. W przypadku stężenia ołowiu we włosach dzieci z badanej grupy w momencie rozpoznania obserwowano dodatnią korelację ze stężeniem w nich żelaza, cynku oraz z wiekiem tych dzieci, natomiast ujemna korelację z wagą, wzrostem oraz BMI.
37. Zaobserwowano istotną korelację pomiędzy stężeniem miedzi w surowicy i we włosach dzieci z WZJG w momencie rozpoznania ($r= 0,53$, $p= 0,049$). Pozostałe korelacje pomiędzy stężeniami pierwiastków we włosach i surowicy nie były istotne statystycznie.

8. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Prawidłowe nawyki żywieniowe, kształtowane od wczesnego dzieciństwa oraz zdrowy, higieniczny tryb życia wśród dzieci są nie tylko elementem niezbędnym do prawidłowego, harmonijnego rozwoju, ale również elementem profilaktyki chorób cywilizacyjnych takich jak: otyłość, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca czy miażdżyca. Równie ważnym elementem, mającym wpływ na zdrowie i rozwój dziecka jest środowisko zewnętrzne w którym ono żyje. Etiologia NZJ nadal pozostaje niewyjaśniona, postulowanych jest kilka czynników je wywołujących m.in. genetyczny, immunologiczny oraz środowiskowy (22). Faktem jest, iż w ostatnich latach obserwuje się wzrost zachorowalności na NZJ proporcjonalny do rozwoju ekonomicznego społeczeństwa, jak również zmiany stylu życia i diety (104).

Do oceny sposobu odżywiania człowieka i środowiska w którym żyje konieczne jest dokładne, rzetelne zebranie wywiadu oraz oszacowanie ilościowe i jakościowe spożywanych produktów. W praktyce zebranie wiarygodnych danych od małych pacjentów oraz ich rodziców spotyka się często z licznymi trudnościami (105). W przeprowadzonym badaniu autorski kwestionariusz wykorzystano do jakościowej oceny nawyków żywieniowych pacjentów, podaży produktów bogatych w badane biopierwiastki oraz oceny ekspozycji środowiskowej na zanieczyszczenia.

W badanej grupie 70% dzieci z NZJ mieszkało w obszarach wysoko zurbanizowanych, w porównaniu z 45% dzieci z grupy kontrolnej, które w większości zamieszkiwały wsie i miasta do 10 tys. mieszkańców. Dodatkowo więcej dzieci chorych mieszkało w bliskiej odległości hut oraz elektrociepłowni. W przeciwieństwie do układu oddechowego, wpływ zanieczyszczeń środowiskowych na przewód pokarmowy nadal pozostaje słabo poznany, pomimo iż znaczna ilość zanieczyszczeń dostaje się do organizmu wraz z pokarmami i wodą. W badaniach na ludziach udowodniono, iż duże cząsteczki ($>6\text{ }\mu\text{m}$) szybko usuwane są z płuc przy pomocy mechanizmu śluzówkowo-rzęskowego i transportowane do jelit, w ten sposób dodatkowo do zanieczyszczeń spożywanych z pokarmem na śluzówkę jelit oddziałują zanieczyszczenia wdychane wraz z powietrzem (106; 107; 108). W przeprowadzanym w 2010 roku przez Kaplana i wsp. badaniu epidemiologicznym zauważono związek pomiędzy częstszym wczesnym zachorowaniem ($<23\text{ r. ż.}$) na ChLC a ekspozycją na dwutlenek azotu (109). Z kolei Ananthakrishnan i wsp. zauważyli związek pomiędzy częstością hospitalizacji dorosłych pacjentów z NZJ w USA a wzrostem zanieczyszczeń środowiskowych (110).

Zdrowa, zbilansowana dieta jest elementem niezbędnym dla prawidłowego rozwoju psychosomatycznego dziecka. Nawyki żywieniowe kształtowane od wczesnego dzieciństwa, głównie przez rodziców niestety nie zawsze są zgodne z zaleceniami, często nie zaspakajają dobowego zapotrzebowania dzieci na niezbędne składniki odżywcze, a czasami wręcz przyczyniają się do rozwoju chorób. Już w 1976 roku Martini & Brandes oraz Miller i wsp. zwrócili uwagę, iż dieta bogata w cukier może być jednym z istotnych czynników mających wpływ na rozwój ChLC. Następne liczne badania epidemiologiczne doprowadziły do wysnucia przez badaczy wniosków, iż dieta uboga w błonnik, warzywa, owoce, a bogata w tłuszcze i węglowodany może przyczyniać się do rozwoju NZJ (111; 112).

W ostatnich latach wzrasta częstość spożycia przez dzieci produktów typu fast food w coraz młodszych grupach wiekowych. Znaczącymi czynnikami mającymi wpływ na wybór tych produktów przez dzieci są walory smakowe i łatwa dostępność (113). Persson i wsp. w swoich badaniach epidemiologicznych zauważyli związek pomiędzy zwiększonym spożyciem produktów typu fast food a rozwojem zarówno ChLC jak i WZJG (114). W badanej przez autora rozprawy doktorskiej grupie aż 22% dzieci z NZJ deklarowało częste (2-3/tydzień) spożywanie produktów typu fast food, podczas gdy wśród dzieci z grupy kontrolnej większość dzieci deklarowała spożywanie tych produktów okazjonalnie (1-2/miesiąc). Odsetek dzieci, które negowały jedzenie tego typu produktów w ogóle był porównywalny w obu grupach dzieci chorych i zdrowych i wynosił ok. 20%.

Odpowiednie spożycie warzyw, owoców i błonnika (15 mg/dzień i więcej) w świetle wielu badań epidemiologicznych ma działanie protekcyjne i zmniejsza ryzyko zachorowania zarówno na ChLC, jak i WZJG (115; 116; 117). W badanej przez autora rozprawy doktorskiej grupie dzieci zarówno wśród tych chorych, jak i zdrowych spożycie warzyw było na niskim, niewystarczającym poziomie. Jedynym codziennie spożywanym warzywem były pomidory, ale jada je jedynie 17,1% dzieci z NZJ oraz 10% dzieci z grupy kontrolnej, większość deklarowała spożycie pomidorów z częstością 2-3/tydzień (56,1% dzieci z NZJ oraz 40% z grupy kontrolnej). Wśród warzyw zielonych spożywanych regularnie (2-3/tydzień) wśród dzieci z NZJ wymieniana była sałata ale jedynie przez mniej niż 20% dzieci (zdrowe ok. 35%) i brukselka przez mniej niż 10%, podczas gdy w grupie dzieci kontrolnych 10% często spożywała dodatkowo szpinak. Warzywa strączkowe w zdecydowanej większości w obydwu grupach było spożywane rzadko lub wcale. Codzienne spożycie owoców było wysokie w obu grupach (73,2% dla NZJ oraz 55% dla grupy kontrolnej).

Wpływ ilości spożytego białka na ryzyko rozwoju NZJ nie został jednoznacznie określony. W badaniu Tragnone'a i wsp. (118) zauważono zwiększone spożycie białka przed diagnozą choroby u pacjentów z WZJG, podczas gdy w japońskim badaniu przeprowadzonym przez Shoda i wsp. (119) stwierdzono związek pomiędzy zwiększonym spożyciem białka, głównie zwierzęcego, a ryzykiem rozwoju ChLC. Tymczasem Reif i wsp. (116) nie zauważyli wpływu spożycia białka na rozwój NZJ. Wśród dzieci uczestniczących w opisywanym w rozprawie doktorskiej badaniu w obu grupach mięso było spożywane w większości z częstością 2-3/tydzień, najczęściej wybierane było mięso drobiowe, spożywało je 70% dzieci z NZJ oraz 85% dzieci z grupy kontrolnej. Wśród dzieci chorych nieco częściej spożywana była wołowina i wieprzowina niż w grupie kontrolnej, jednak nie były to istotne statystycznie różnice. Wyniki przeprowadzonego badania skłaniają badacza do przyjęcia teorii Reifa i wsp. o braku istotnego wpływu spożycia białka na ryzyko rozwoju NZJ.

Mleko i jego przetwory są źródłem nie tylko białka ale również licznych minerałów i witamin jak wapń, magnez czy witamina D. Spożycie mleka i przetworów mlecznych w opisywanym w rozprawie badaniu było podobne w obu badanych grupach, ich spożycie 2-3/tydzień deklarowało 43-55% dzieci, a więc połowa badanych dzieci nie wypija wystarczającej dla prawidłowego wzrostu i rozwoju, ilości mleka. W przypadku przetworów mlecznych zaobserwowano znacznie mniejsze ich spożycie w grupie dzieci z NZJ (ok. 40%) w porównaniu z grupą kontrolną (ok. 70%). W świetle rozlicznych badań trudno ustalić czy dieta uboga w preparaty mleczne przyczynia się do rozwoju NZJ czy jest ich skutkiem. U części pacjentów, zwłaszcza z WZJG picie mleka nasila niekorzystne objawy t.j.: biegunka, wzdęcia, bóle brzucha. Najprawdopodobniej jest to efekt wtórnej nietolerancji laktozy, która może być wywołana dysbakteriozą jelita grubego. Teorie tą potwierdzają wyniki badań Jowett'a i wsp. (120). Z kolei Glassman i wsp. w swoich badaniach zauważyli związek pomiędzy nadwrażliwością na białko mleka krowiego w niemowlęctwie a późniejszym zwiększonym ryzykiem rozwoju WZJG (121).

Nieprawidłowe żywienie dzieci, niewystarczająca podaż składników odżywczych, jak również toczący się proces chorobowy przyczyniają się do upośledzenia prawidłowego rozwoju i wzrastania dzieci z NZJ, a nawet mogą prowadzić do niedożywienia i niedoborów w zakresie zarówno makro- jak i mikroelementów oraz nasilenia objawów choroby (122; 123). W badaniach polskich Grzybowskiej i wsp. stwierdzono, iż spożycie większości składników odżywczych w dziennej racji pokarmowej dzieci z NZJ było poniżej zalecanej

normy, a rozwój somatyczny większości badanych dzieci był zaburzony, w większym stopniu obserwowano niedobór masy ciała niż wzrostu (124).

W zależności od aktywności procesu chorobowego, lokalizacji zmian, wieku rozpoznania u 70-80% pacjentów z NZJ na jakimś etapie choroby dochodzi do spadku wagi, a w efekcie do 40% z nich rozwija ciężkie niedożywienie (65; 66). W badanej przez autora rozprawy doktorskiej grupie dzieci z NZJ niedożywienie, zdefiniowane jako $CI < 90\%$, występowało u 48,7% dzieci w momencie rozpoznania, a więc nieznacznie częściej niż w danych literaturowych. Wśród dzieci z ChLC niedożywienie występowało u 60% dzieci, podczas gdy u dzieci z WZJG było to 33,3%. Różnica ta nie była istotna statystycznie ($p=0,65$). Częściej niedożywione były dziewczynki w porównaniu z chłopcami (65% vs 35%). Dane te są zbliżone do danych literaturowych, w niektórych badaniach niedożywienie wśród pacjentów z ChLC dotyczy nawet 75% z nich (125).

Nawet w przypadku pozornego dobrego stanu odżywienia pacjenta z NZJ w świetle dostępnych badań może dochodzić u niego do niedoborów w zakresie mikroelementów oraz witamin (126). Jawne objawy kliniczne niedoborów tych składników odżywczych mogą pojawiać się z dużym opóźnieniem, w związku z czym możliwość wcześniejszej oceny ich statusu przy pomocy odpowiednich badań laboratoryjnych może być pomocna w procesie doboru odpowiedniego leczenia oraz suplementacji już na wczesnych etapach choroby (127).

Niedokrwistość występuje w świetle danych literaturowych nawet u do 80% pacjentów z NZJ, przy czym u pacjentów z ChLC waha się w granicach 25-80%, a u pacjentów z WZJG sięga do 66%. W populacji pediatrycznej częstość występowania niedokrwistości szacuje się na 41-75%. Do głównych przyczyn jej występowania wśród pacjentów z NZJ należy niedobór żelaza, spowodowany m.in. utratą tego pierwiastka z krwią poprzez przewód pokarmowy, niedostateczną podażą, upośledzonym wchłanianiem, nadmiernym rozwojem patologicznej flory bakteryjnej czy toczącym się przewlekłym procesem zapalnym. Anemia z niedoboru żelaza dotyczy od 36 do 90% chorych z NZJ ogółem, a wśród dzieci około 40-88% pacjentów (128; 129; 130; 131). W badanej w tej rozprawie doktorskiej grupie pacjentów z NZJ średni poziom hemoglobiny wynosił 11 g/l i mieścił się w dolnej granicy zakresu wartości referencyjnych. Wartość MCV również oscylowała w dolnych zakresach normy i była istotnie statystycznie niższa w podgrupie z ChLC niż z WZJG (77,3 fl vs 82,6 fl) ($p=0,32$). Niedobór żelaza szacowany na podstawie stężenia ferrytyny skorygowanego do CRP, stwierdzono u

70,4% pacjentów z ChLC oraz 64,3% pacjentów z WZJG. Wysycenie transferryny żelazem poniżej wartości referencyjnych stwierdzono aż u 74,1% dzieci z ChLC oraz 78,6% dzieci z WZJG. Na podstawie otrzymanych wyników można wnioskować, iż niedobór żelaza wśród dzieci z NZJ jest dużo bardziej rozpowszechniony niż sama anemia i dotyczy ponad połowy pacjentów. Potwierdzają to wyniki otrzymane przy pomocy metody ICP-MS, mianowicie w badanej grupie stężenie żelaza w surowicy krwi mierzone w momencie rozpoznania choroby było istotnie statystycznie niższe u dzieci z NZJ w porównaniu do grupy kontrolnej (mediana: 1,09 mg/L vs 1,52 mg/L) ($p=0,011$). Podobne dane otrzymali Sikora i wsp. w swoich badaniach (71). Przy podziale na podgrupy nadal stężenie żelaza w surowicy krwi dzieci zarówno z ChLC, jak i WZJG było istotnie statystycznie niższe niż w grupie kontrolnej. Porównując obie podgrupy między sobą stężenia żelaza w surowicy krwi było niższe wśród dzieci z ChLC co koreluje z wartościami MCV, mimo iż różnice te nie były istotne statystycznie. Podobne rezultaty otrzymali Wiskin i wsp. w swoim retrospektywnym badaniu na grupie 80 dzieci z NZJ (132). W badanej w tej rozprawie grupie w momencie rozpoznania NZJ stężenie żelaza w surowicy krwi dzieci chorych korelowało dodatnio z wysyceniem transferryny żelazem oraz ze stężeniem białka całkowitego, które odzwierciedla stan odżywienia organizmu, potwierdzając niedobory żywieniowe w badanej grupie. Mimo, iż żelazo z uwagi na podobne szlaki wchłaniania może konkurować z cynkiem w badanej grupie obserwowano dodatnią korelację stężeń obydwu tych pierwiastków. Fakt ten może być wytłumaczony tym, iż obserwowano niedobór w zakresie obu tych pierwiastków wśród badanych dzieci, a więc szlaki transportowe nie były w pełni wysyczone żadnym z nich. Z drugiej strony mikroorganizmy wchodzące w skład flory bakteryjnej, zwłaszcza tej patologicznej również wykorzystują żelazo $Fe(3+)$ do ważnych życiowo procesów tj. synteza DNA, transport elektronów czy wiązanie tlenu. W badanej grupie dzieci z NZJ aż u 14 posiew stolca w momencie rozpoznania choroby był dodatni, a dane literaturowe potwierdzają, iż dysbioza jest zjawiskiem częstym w tej grupie pacjentów (133). Wnioskować można, iż część żelaza dostarczana do organizmu drogą przewodu pokarmowego zużywana jest przez nadmiernie rozwiniętą florę bakteryjną, a w efekcie białka transportujące mogą być wykorzystywane przez cynk, gdyż ten pierwiastek mikroorganizmy wykorzystują dopiero w drugiej kolejności (134). W przypadku podgrupy z ChLC obserwowano ujemną korelację stężenia żelaza w surowicy z poziomem CRP co potwierdza tezę, iż aktywny proces zapalny jest jedną z przyczyn niedokrwistości z niedoboru żelaza. Po rocznym okresie obserwacji stężenie żelaza w surowicy krwi dzieci z NZJ utrzymywało się na podobnym poziomie w stosunku do wartości z okresu rozpoznania, a więc nadal stężenia były mniejsze niż w grupie

kontrolnej. Obserwowano jednak wzrost stężenia tego pierwiastka w podgrupie dzieci z ChLC natomiast spadek w podgrupie dzieci z WZJG. Różnice te nie były istotne statystycznie, jednak mogą sugerować iż w badanej populacji dzieci z WZJG gorzej reagowały na leczenie niż dzieci z ChLC. Dodatkowo można przypuszczać, iż patologiczna flora bakteryjna nie pozostaje bez znaczenia, zwłaszcza iż większość mikroorganizmów bytuje w jelicie grubym, a więc u tych dzieci u których proces zapalny toczy się właśnie w tym miejscu podaż żelaza do przewodu pokarmowego może wręcz nasilać proces chorobowy i stymulować rozwój patologicznej flory. Dlatego suplementacja tym pierwiastkiem powinna zdecydowanie odbywać się drogą parenteralną. Niestety w praktyce nadal duża część pacjentów suplementowana jest doustnie co potwierdzają badania niemieckie z 2014 roku (135). W tej rozprawie badano również stężenie żelaza we włosach obu grup (ChLC i WZJG) nie stwierdzając istotnych różnic pomiędzy dziećmi z NZJ oraz tymi z grypy kontrolnej. Stężenia żelaza we włosach dzieci z NZJ korelowały dodatnio ze stężeniem w nich manganu, miedzi i ołowiu, co skłania badacza do wniosku, iż nie bez znaczenia pozostaje ekspozycja środowiskowa na zanieczyszczenia. Składowe włosy odzwierciedlają zarówno status pierwiastkowy organizmu, jak i czynniki zewnętrzne na niego działające w dłuższym przedziale czasowym.

Cynk jest niezbędnym w aktywacji katalitycznej ponad 300 enzymów pierwiastkiem. Jego niedobory upośledzają działanie układu immunologicznego i nerwowego, gojenie ran oraz syntezę białek czy kolagenu. Dodatkowo w świetle ostatnich doniesień literaturowych jest to pierwiastek niezbędny do utrzymania integralności nabłonka jelitowego w przypadku narażenia jego komórek na działanie takiej cytokiny zapalnej jak TNF α (136). W badanej populacji dzieci z NZJ stwierdzono istotnie niższe stężenie cynku w surowicy krwi niż u dzieci z grupy kontrolnej (mediana: 0,78 mg/L vs 0,88 mg/L) ($p=0,049$). Różnica ta głównie dotyczyła dzieci z ChLC, co koreluje z danymi dostępnymi w literaturze dotyczącymi populacji dorosłych z NZJ (86; 137; 138). Z kolei w badaniach przeprowadzonych na populacji pediatrycznej zarówno Sikora et al., jak i Ojuawo i Keith, nie obserwowali istotnych różnic w stężeniu cynku w surowicy krwi pomiędzy grupą dzieci chorych i zdrowych, natomiast istotnie niższe było stężenie tego pierwiastka z surowicy krwi dzieci z ChLC niż z WZJG (71; 85). W opisywanym w tej pracy doktorskiej badaniu dzieci z ChLC również miały niższe stężenia cynku w surowicy krwi niż dzieci z WZJG ale różnice te nie były istotne statystycznie. Po rocznym okresie obserwacji stężenie cynku w surowicy krwi dzieci NZJ wzrosło w stosunku do wartości w momencie rozpoznania, jednak wzrost ten

dotyczył jedynie dzieci z podgrupy z ChLC. W podgrupie dzieci WZJG obserwowano wręcz spadek stężenia tego pierwiastka, co koreluje z wynikami dotyczącymi stężenia żelaza w surowicy krwi i może przemawiać za tezą, iż w badanej grupie dzieci z WZJG gorzej reagowały na leczenie. Badano również stężenie cynku we włosach dzieci z obu grup stwierdzając mniejsze stężenie tego pierwiastka we włosach dzieci chorych, choć nie były to istotne różnice. Obserwowano również korelację stężeń cynku we włosach z wiekiem, wagą i wzrostem, co może sugerować, iż niedobór tego pierwiastka może przyczyniać się do spowolnienia tempa wzrastania.

Selen jest niezbędnym składnikiem życiowo ważnych enzymów pełniących funkcje antyoksydacyjne t.j. peroksydaza glutationowa. Przypisuje mu się również działanie przeciwnowotworowe, chociaż wyniki badań na ludziach są niejednoznaczne (139). W przeprowadzonym przez autora rozprawy doktorskiej badaniu nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniach selenu w surowicy krwi u dzieci z NZJ w porównaniu z grupą kontrolną. Doniesienia literaturowe odnośnie stężeń selenu w tej grupie chorych są niejednoznaczne, w części badań obserwowano jego niższe stężenie u pacjentów z NZJ jak w badaniach Geerlinga i wsp. (140), z kolei Sturnilo i wsp. (141) zaobserwowali niższe stężenia u pacjentów z WZJG, podczas gdy Ringstad i wsp. oraz Fernandez-Banares i wsp. wykazali niższe stężenia u pacjentów z ChLC (142; 143). W badaniu na populacji pediatrycznej Sikory nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu selenu u dzieci chorych z NZJ w porównaniu z grupą kontrolną (71), co potwierdzają wyniki badań opisywane w tej pracy. We włosach dzieci z obu badanych grup (NZJ i grupa kontrolna) również nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu selenu, natomiast po rocznej obserwacji zanotowano istotny wzrost stężenia selenu we włosach dzieci z NZJ w porównaniu ze stężeniem tego pierwiastka we włosach w momencie rozpoznania choroby (0,29 ug/g vs 0,25 ug/g, $p=0,047$). Dodatkowo obserwowano ujemną korelację stężenia selenu we włosach ze stężeniem w nich żelaza, manganu, miedzi i ołowiu. Na podstawie otrzymanych wyników można próbować wysnuć tezę, iż w momencie rozpoznania choroby uszkodzona błona śluzowa jelit przepuszcza większą ilość szkodliwych elementów dostających się do organizmu wraz z zanieczyszczeniami środowiskowymi.

Miedź jest mikroelementem występującym w centrach aktywnych wielu enzymów, pełniących rozliczne funkcje np. antyoksydantów czy neurotransmiterów. Swoją funkcjonalność zawdzięcza łatwości oddawania i przyjmowania elektronu w trakcie zmiany stopnia utlenienia. Z uwagi, iż jest zmagazynowana zarówno w wątrobie, jak i w mięśniach, do

niedoborów w zakresie miedzi dochodzi rzadko. W badanej grupie dzieci z NZJ w momencie rozpoznania stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenie miedzi w surowicy u dzieci chorych niż u dzieci z grupy kontrolnej (mediana: 1,38 mg/L vs 1,06 mg/L) ($p < 0.001$). Przy podziale na podgrupy zarówno wśród dzieci z ChLC, jak i z WZJG stężenie miedzi było istotnie statystycznie wyższe niż wśród dzieci z grupy kontrolnej, przy czym wśród dzieci z ChLC były to większe wartości niż u tych z WZJG. Podobne wyniki otrzymali Fernandez-Banares, Sturniolo i Ringstad w swoich badaniach (143; 141; 142) oraz w populacji pediatrycznej Ojuawo i Keith (85). Wyższe stężenia miedzi w populacji dzieci chorych z aktywnie toczącym się procesem zapalnym może być procesem potencjalnie niebezpiecznym ze względu na możliwość tworzenia wolnych rodników. Z kolei w badaniu Filippi i wsp. na pacjentach z ChLC w remisji klinicznej stwierdzono niższe stężenie miedzi w surowicy krwi (86), co sugeruje iż dopiero długotrwały proces zapalny toczący się nawet bez prezentacji klinicznej objawów, może prowadzić do niedoboru tego mikroelementu. Ten punkt widzenia wydają się potwierdzać wyniki badań przedstawionych w tej rozprawie doktorskiej. Mianowicie po roku od rozpoznania NZJ obserwowano istotny statystycznie spadek stężenia miedzi w surowicy krwi dzieci chorych ($p = 0,02$) w całości, jak również w każdej z podgrup ($p = 0,049$ dla ChLC oraz $p = 0,011$ dla WZJG). Stężenia miedzi we włosach dzieci z NZJ i z grupy kontrolnej były porównywalne w momencie rozpoznania, choć nieznacznie wyższe w grupie dzieci chorych. Przy podziale na podgrupy wyższe wartości obserwowano w podgrupie dzieci z WZJG, odwrotnie niż w przypadku stężeń w surowicy krwi, jednak we włosach różnice te nie były istotne statystycznie.

Mangan wchodzi w skład centrów aktywnych wielu ważnych dla życia enzymów. Niedobory w zakresie tego pierwiastka raczej nie są obserwowane. Większe znaczenie kliniczne ma jego działanie hepato- i neurotoksyczne. Ma to szczególne znaczenie wśród pacjentów przebywających na długotrwałym żywieniu pozajelitowym, również tych z NZJ. W badanej grupie dzieci z NZJ stwierdzono wyższe stężenia manganu w surowicy krwi w porównaniu z grupą kontrolną, jednak różnice te nie były istotne statystycznie (mediana: 9 ug/L vs 6,65 ug/L) ($p = 0,160$). Przy podziale na podgrupy większe stężenia obserwowano u dzieci z ChLC niż z WZJG. Biorąc pod uwagę fakt, iż mangan $Mn(3+)$ wiązany jest w jelitach do tych samych białek transportowych co żelazo $Fe(3+)$, niedobór tego drugiego może zwiększać ilość wchłanianego w jelitach manganu. W badanej populacji obserwowano w momencie rozpoznania istotnie niższe stężenia żelaza, a wyższe manganu co potwierdza ten mechanizm. Może to mieć szczególne znaczenie kliniczne sugerując, iż suplementacja żelaza nie tylko

zapobiega powstaniu anemii ale również chroni organizm przed zbyt dużym, toksycznym stężeniem manganu. Po rocznym okresie obserwacji obserwowano spadek stężenia manganu w całej grupie z NZJ w porównaniu do wartości z momentu rozpoznania choroby, podczas gdy stężenia żelaza podnosiły się, jednak nadal były niższe niż w grupie kontrolnej. Stężenia manganu we włosach w momencie rozpoznania choroby były porównywalne w obydwu grupach (NZJ i grupa kontrolna), nieco większe stężenie obserwowano w podgrupie dzieci z WZJG, a więc odwrotnie do wartości w surowicy krwi. Po rocznej obserwacji stwierdzono wzrost stężenia manganu we włosach dzieci z NZJ w porównaniu do wartości w momencie rozpoznania. Otrzymane wyniki dotyczące włosów są niejednoznaczne. W literaturze brak jest danych na temat stężeń tego pierwiastka w surowicy krwi u pacjentów z NZJ w momencie rozpoznania. Jedyne dostępne dane dotyczą pacjentów na żywieniu pozajelitowym i pokazują, iż nawet przy niskich poziomach manganu w mieszankach żywieniowych, jego poziom w surowicy krwi jest podwyższony, zwłaszcza u pacjentów z niewydolnością wątroby (144). Dostępne są badania na innych pediatrycznych populacjach niż dzieci z NZJ. W badaniu Smith E.A. i wsp. oceniano stężenie manganu oraz żelaza u dzieci w wieku 1-6 lat. Zaobserwowano, iż u dzieci u których występowała anemia z niedoboru żelaza stężenia manganu były istotnie wyższe co koreluje z opisanymi w tej rozprawie wynikami (145). Otrzymane dane dotyczące manganu sugerują, iż wyższe jego stężenia w surowicy krwi chorych z NZJ dotyczą pacjentów u których występuje również niedobór żelaza oraz tych z niewydolnością lub uszkodzeniem wątroby.

Podsumowując otrzymane wyniki dotyczące badanych biopierwiastków należy zwrócić uwagę nie tylko na wartość każdego z nich z osobna lecz przede wszystkim na ich profil oraz wzajemne zależności. Żelazo, miedź i mangan należą do metali tzw. redoksowych, a więc takich które mogą zmieniać swoje stopnie utlenienia w wyniku wymiany elektronów. Zaburzenia homeostazy tych pierwiastków mogą prowadzić do nadmiernego uwalniania wolnych rodników, wzrostu stresu oksydacyjnego, a w efekcie uszkodzenia komórek i nasilenia procesu zapalnego. Na nasilenie procesu zapalnego może mieć również wpływ osłabienie mechanizmów antyoksydacyjnych oraz regeneracyjnych organizmu. Funkcję antyoksydacyjną pełnią enzymy tj. peroksydaza glutationowa, której prawidłowe funkcjonowanie zależne jest od stężeń selenu, natomiast poziom cynku w organizmie ma ogromny wpływ na mechanizmy regeneracyjne m.in. poprzez tworzenie tzw. palców cynkowych umożliwiających naprawę i stabilizację DNA. W badanej populacji dzieci z NZJ obserwowano w momencie rozpoznania wyższe stężenia miedzi i manganu. Jest to zjawisko

potencjalnie bardzo niebezpieczne właśnie ze względu na możliwość nasilenia stresu oksydacyjnego (146). Kolejną obserwowaną zależnością w badanej populacji dzieci chorych był podwyższony stosunek miedzi do cynku (CZr- Cu/Zn ratio), biorąc pod uwagę mediany otrzymanych stężeń wynosił on 1,8 dla dzieci z NZJ i 1,2 dla dzieci zdrowych. W świetle danych literaturowych zależność tych dwóch pierwiastków wiązana jest z obniżoną zdolnością organizmu do utrzymania lub przywrócenia homeostazy po okresie destabilizacji tj. aktywny proces zapalny. Dodatkowo wartości CZr zbliżone do 2 oraz większe wskazują na nasiloną odpowiedź zapalną lub duże niedobory w zakresie cynku w organizmie (147). Wśród badanej populacji dzieci z NZJ zaobserwowano również wspomnianą już przez autora rozprawy zależność stężeń żelaza oraz manganu. Mianowicie niskie stężenia żelaza w surowicy krwi w momencie rozpoznania choroby korespondowały z wysokimi stężeniami w niej manganu, który ma potencjalne działanie toksyczne. Patrząc na otrzymane profile stężeń badanych pierwiastków można wnioskować, iż taka konstelacja wyników, w której stężenia żelaza, cynku i seleniu są niższe, natomiast miedzi i manganu wyższe w grupie dzieci chorych w stosunku do grupy kontrolnej, będą świadczyć o aktywnym toczącym się procesie zapalnym w jelitach, a ewentualna interwencja lecznicza bądź suplementacja powinna być włączana po analizie całego profilu, a nie stężeń pojedynczego pierwiastka.

W literaturze brak jest doniesień na temat stężeń ołowiu w surowicy krwi i we włosach dzieci z NZJ. W badanej populacji nie obserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniu tego pierwiastka w surowicy krwi dzieci chorych i zdrowych, zarówno w momencie rozpoznania jak i po rocznej obserwacji. Przy podziale na podgrupy również stężenia ołowiu w surowicy krwi nie wykazywały istotnych różnic. Zaobserwowano ujemną korelację stężenia ołowiu w surowicy krwi w podgrupie dzieci z WZJG z długością trwania objawów. Dodatkowo po rocznym okresie obserwacji istotnie mniejsze stężenie Pb występowało u dzieci z NZJ, u których proces chorobowy zajmował okrężnice ($p=0,044$). W przypadku stężenia ołowiu we włosach, było ono porównywalne w momencie rozpoznania w obu grupach (dzieci z NZJ i grupa kontrolna), natomiast przy podziale na podgrupy wyższe stężenia obserwowano u dzieci z WZJG, jednak nie były to istotne statystycznie różnice. Po rocznym okresie obserwacji stężenie ołowiu we włosach dzieci z NZJ nieco spadło w porównaniu z wartościami z okresu rozpoznania, spadek stężenia dotyczył podgrupy z WZJG, w podgrupie dzieci z ChLC zaobserwowano nieznaczny wzrost stężenia badanego pierwiastka. Stężenie ołowiu we włosach dzieci z NZJ korelowało dodatnio ze stężeniem w nich żelaza i cynku. Otrzymane wyniki pozwalają wysnuć wniosek, iż NZJ nie mają istotnego wpływu na wzrost

przepuszczalności błony śluzowej jelit dla ołowiu, a ewentualne wyższe stężenia we włosach związane są raczej z ekspozycją środowiskową na zanieczyszczenia.

W zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej badaniach próbowano ocenić ewentualną przydatność włosów jako materiału biologicznego, mogącego służyć do monitorowania statusu pierwiastkowego organizmu chorych dzieci z NZJ. Niestety otrzymane wyniki w surowicy krwi, które znajdują swoje potwierdzenie w literaturze, nie korelowały z wynikami uzyskanymi we włosach tych samych dzieci. Jedyny wyjątek stanowiła miedź i to tylko w podgrupie dzieci z WZJG. Zaobserwowano istotną korelację pomiędzy stężeniem miedzi w surowicy i we włosach dzieci z WZJG w momencie rozpoznania ($r = 0,53$, $p = 0,049$). Można więc wysnuć wniosek, iż włosy nie są przydatnym materiałem analitycznym w tej grupie pacjentów. Teoretycznie włos z uwagi na swoje tempo wzrostu daje wgląd w status pierwiastkowy organizmu w dłuższym przedziale czasowy, jednak praktycznie poza czynnikami wewnętrznymi wpływającymi na jego budowę trzeba się liczyć z czynnikami zewnętrznymi, takimi jak zanieczyszczenia środowiskowe. Poprawny wynik analizy włosa będzie więc zależał od tego czy i w jakim stopniu uda się wyeliminować czynnik zewnętrzny na niego oddziałujący. Na potrzeby przeprowadzonych badań opracowano metodę mycia i przygotowania włosów do analizy, a otrzymane wyniki próbne były zgodne z wartościami w certyfikowanym materiale referencyjnym, a więc czynnik zewnętrzny działający na włos został skutecznie wyeliminowany. Reasumując na podstawie otrzymanych wyników włosy nie są dobrym materiałem analitycznym do monitorowania stężeń pierwiastków śladowych u dzieci z NZJ, co nie wyklucza ich przydatności w innych jednostkach chorobowych. Do podobnych wniosków doszli Rodrigues i wsp. (98).

9. WNIOSKI

1. Ekspozycja środowiskowa na zanieczyszczenia była większa wśród dzieci z NZJ niż w grupie kontrolnej, co może być jednym z czynników wpływającym na rozwój tej choroby.
2. Dieta pacjentów pediatrycznych z NZJ odbiegała od zalecanych norm żywieniowych, zwłaszcza w odniesieniu do warzyw, produktów bogatych w błonnik oraz przetworów mlecznych, co z jednej strony może przyczyniać się do rozwoju choroby, a z drugiej prowadzić do niedożywienia i specyficznym niedoborów żywieniowych.
3. Spożycie produktów typu fast food było częstsze w grupie dzieci z NZJ w porównaniu z grupą kontrolną, co może przyczyniać się do rozwoju tej choroby.
4. Niedożywienie jest powszechnie występującym problemem wśród dzieci z NZJ już w momencie rozpoznania choroby, częściej dotyczy pacjentów z ChLC niż z WZJG, co może przekładać się na nasilenie procesu zapalnego, jak również może utrudniać proces leczenia oraz wprowadzenia pacjenta w remisję.
5. Niedobór żelaza jest dużo bardziej rozpowszechniony w grupie dzieci z nowo rozpoznaną NZJ niż sama niedokrwistość, co sugeruje konieczność suplementacji tego pierwiastka nawet bez klinicznych objawów anemii już momencie rozpoznania choroby.
6. W momencie rozpoznania choroby u dzieci z NZJ stężenie żelaza i cynku w surowicy krwi jest istotnie niższe, a miedzi wyższe niż w grupie kontrolnej, co może odzwierciedlać aktywność procesu zapalnego toczącego się w jelitach. Przy podziale na podgrupy wśród dzieci z WZJG nie obserwuje się istotnych różnic w stężeniach cynku w surowicy, co sugeruje iż niedobory w zakresie tego pierwiastka dotyczą głównie pacjentów z nowo rozpoznaną ChLC.
7. W momencie rozpoznania choroby wśród dzieci z NZJ niższe stężenia żelaza w surowicy krwi korelują z wyższymi stężeniami w niej manganu, a z uwagi na podobne szlaki transportowe można wnioskować, iż wyrównywanie niedoborów w zakresie żelaza zapobiega również toksycznemu działaniu manganu.
8. Niedobory w zakresie żelaza i cynku w surowicy krwi w momencie rozpoznania NZJ istotnie dodatnio korelują ze sobą pomimo, iż pierwiastki te korzystają z tych samych szlaków transportowych w jelitach. Może to sugerować, iż żelazo wykorzystywane jest również przez nadmierną patogenną mikroflorę jelit, pozostawiając białka transportowe do dyspozycji jonów cynku.

9. Po rocznej obserwacji pacjentów z NZJ dochodzi do normalizacji stężenia miedzi, co może wynikać ze stopniowego opanowania procesu zapalnego. Obserwacja ta dotyczy również każdej z podgrup (ChLC i WZJG).
10. Po rocznej obserwacji stężenie żelaza i cynku w surowicy krwi wzrasta, a manganu spada ale jedynie w podgrupie dzieci z ChLC, co może sugerować iż w tej podgrupie udało się wprowadzić pacjentów w remisję.
11. Brak jest różnic pomiędzy stężeniami ołowiu w surowicy krwi w badanych grupach zarówno w momencie rozpoznania choroby, jak i po rocznej obserwacji, a więc pierwiastek ten nie odgrywa istotnej roli w patomechanizmie NZJ.
12. Stężenia badanych pierwiastków w surowicy krwi nie korelują z lokalizacją choroby w jelicie w momencie rozpoznania NZJ, z wyjątkiem stężenia ołowiu w podgrupie dzieci z WZJG po rocznej obserwacji, w których zajęta jest okrężnica. Można więc wnioskować, iż ta podgrupa szczególnie narażona jest na ekspozycję środowiskową.
13. Brak jest istotnych różnic pomiędzy stężeniami badanych pierwiastków we włosach dzieci chorych z NZJ w momencie rozpoznania, a stężeniami we włosach dzieci z grupy kontrolnej, co sugeruje iż ekspozycja środowiskowa włosów pozostaje nie bez wpływu na badane parametry.
14. Po rocznej obserwacji stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenie selenu we włosach dzieci z NZJ w stosunku do wartości z momentu rozpoznania, co mogłoby sugerować, iż ten pierwiastek ma szczególne znaczenie w ekspozycji środowiskowej.
15. Jedynie stężenia miedzi w surowicy krwi oraz we włosach w podgrupie dzieci z WZJG korelowały ze sobą, co może sugerować iż w tej podgrupie włosy byłyby dobrym materiałem biologicznym do monitorowania statusu tego pierwiastka.
16. W przypadku pozostałych badanych pierwiastków ich stężenia w surowicy krwi i we włosach dzieci z NZJ nie korelowały ze sobą, a więc włosy nie są dobrym materiałem biologicznym do monitorowania niedoborów żywieniowych w NZJ.

10. ANEKS

10.1 Świadoma zgoda rodzica / opiekuna prawnego na udział dziecka w badaniu klinicznym

1. Ja, niżej podpisana/y wyrażam zgodę na udział mojego dziecka

.....ur.....
w badaniach klinicznych pod nazwą: „Profil wybranych pierwiastków śladowych i metali ciężkich u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) w momencie rozpoznania choroby oraz po wdrożeniu terapii.”

Wypełniają rodzice/prawni opiekunowie:

Nazwisko i imię:
Adres:
Telefon kontaktowy:
Data urodzenia:
PESEL:

2. Potwierdzam, że zapoznałem się z warunkami uczestnictwa w badaniach i otrzymałem wyczerpujące odpowiedzi na wszystkie moje pytania.
3. Wyjaśniono mi w sposób zrozumiały: rodzaj, cel oraz oczekiwane efekty naukowych badań klinicznych.
4. Otrzymałam/em i zapoznałam/em się z pisemną informacją dla rodziców.
5. Rozumiem, że moje dziecko zostanie poddane badaniom opisanym w protokole badań w ramach prowadzonych naukowych badań klinicznych i do czego służy moja zgoda.
6. Przyjmuję do wiadomości, że wyniki badań będą wykorzystywane do opracowań naukowych przy zachowaniu tajemnicy wszystkich danych identyfikacyjnych oraz że mogą być sprawdzone przez osobę monitorującą badanie lub władze nadzorcze, ale pomimo to moja tożsamość nie zostanie ujawniona w przypadku publikacji wyników.
7. Jestem świadoma/y, że odmowa udziału w badaniu nie wpłynie negatywnie na opiekę lekarską nad moim dzieckiem oraz, że w każdej chwili bez podania przyczyny mam prawo wycofać zgodę na udział dziecka w badaniu.
8. Jestem poinformowana/y, że badania kliniczne nie są objęte dodatkowym ubezpieczeniem.
9. Zgodę na przeprowadzenie badań podpisuję dobrowolnie.

Kraków.....
(data)

.....
(podpis matki, ojca/opiekuna prawnego*)

Wypełnia lekarz prowadzący badanie:

Japoinformowałem o szczegółach dotyczących badania.

.....
(podpis i pieczęć lekarza)

* niepotrzebne skreślić

10.2 Świadoma zgoda uczestnika który ukończył 16 lat na udział w badaniu klinicznym

1. Ja, niżej podpisana/y

.....ur.....

Wyrażam zgodę na udział w badaniach klinicznych pod nazwą:

„Profil wybranych pierwiastków śladowych i metali ciężkich u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) w momencie rozpoznania choroby oraz po wdrożeniu terapii.”

Nazwisko i imię:
Adres:
Telefon kontaktowy:
Data urodzenia:
PESEL:

2. Potwierdzam, że zapoznałem się z warunkami uczestnictwa w badaniach i otrzymałem wyczerpujące odpowiedzi na wszystkie moje pytania.

3. Wyjaśniono mi w sposób zrozumiały: rodzaj, cel oraz oczekiwane efekty naukowych badań klinicznych.

4. Otrzymałam/em i zapoznałam/em się z pisemną informacją dla pacjentów i rodziców.

5. Rozumiem, że zostanę poddana/y badaniom opisanym w protokole badań w ramach prowadzonych naukowych badań klinicznych i do czego służy moja zgoda.

6. Przyjmuję do wiadomości, że wyniki badań będą wykorzystywane do opracowań naukowych przy zachowaniu tajemnicy wszystkich danych identyfikacyjnych oraz że mogą być sprawdzone przez osobę monitorującą badanie lub władze nadzorcze, ale pomimo to moja tożsamość nie zostanie ujawniona w przypadku publikacji wyników.

7. Jestem świadoma/y, że odmowa udziału w badaniu nie wpłynie negatywnie na opiekę lekarską nadę mną oraz, że w każdej chwili bez podania przyczyny mam prawo wycofać zgodę na udział w badaniu.

8. Jestem poinformowana/y, że badania kliniczne nie są objęte dodatkowym ubezpieczeniem.

9. Zgodę na przeprowadzenie badań podpisuję dobrowolnie.

Kraków.....

(data)

.....

(podpis pacjenta)

Wypełnia lekarz prowadzący badanie:

Japoinformowałem o szczegółach dotyczących badania.

Kraków.....

(data)

.....

(podpis i pieczęć lekarza)

10.3 Świadoma zgoda rodzica / opiekuna prawnego na udział dziecka w badaniu klinicznym- grupa kontrolna

1. Ja, niżej podpisana/y wyrażam zgodę na udział mojego dziecka

.....ur.....
w badaniach klinicznych pod nazwą: „Profil wybranych pierwiastków śladowych i metali ciężkich u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) w momencie rozpoznania choroby oraz po wdrożeniu terapii.”

Wypełniają rodzice/prawni opiekunowie:

Nazwisko i imię:
Adres:
Telefon kontaktowy:
Data urodzenia:
PESEL:

2. Potwierdzam, że zapoznałem się z warunkami uczestnictwa w badaniach i otrzymałem wyczerpujące odpowiedzi na wszystkie moje pytania.
3. Wyjaśniono mi w sposób zrozumiały: rodzaj, cel oraz oczekiwane efekty naukowych badań klinicznych.
4. Otrzymałam/em i zapoznałam/em się z pisemną informacją dla rodziców.
5. Rozumiem, że moje dziecko zostanie poddane badaniom opisanym w protokole badań w ramach prowadzonych naukowych badań klinicznych i do czego służy moja zgoda.
6. Przyjmuję do wiadomości, że wyniki badań będą wykorzystywane do opracowań naukowych przy zachowaniu tajemnicy wszystkich danych identyfikacyjnych oraz że mogą być sprawdzone przez osobę monitorującą badanie lub władze nadzorcze, ale pomimo to moja tożsamość nie zostanie ujawniona w przypadku publikacji wyników.
7. Jestem świadoma/y, że odmowa udziału w badaniu nie wpłynie negatywnie na opiekę lekarską nad moim dzieckiem oraz, że w każdej chwili bez podania przyczyny mam prawo wycofać zgodę na udział dziecka w badaniu.
8. Jestem poinformowana/y, że badania kliniczne nie są objęte dodatkowym ubezpieczeniem.
9. Zgodę na przeprowadzenie badań podpisuję dobrowolnie.

Kraków.....
(data)

.....
(podpis matki, ojca/opiekuna prawnego*)

Wypełnia lekarz prowadzący badanie:

Japoinformowałem o szczegółach dotyczących badania.

.....
(podpis i pieczęć lekarza)

* niepotrzebne skreślić

10.4 Świadoma zgoda uczestnika który ukończył 16 lat na udział w badaniu klinicznym- grupa kontrolna

1. Ja, niżej podpisana/y

.....ur.....

Wyrażam zgodę na udział w badaniach klinicznych pod nazwą:

„Profil wybranych pierwiastków śladowych i metali ciężkich u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) w momencie rozpoznania choroby oraz po wdrożeniu terapii.”

Nazwisko i imię:
Adres:
Telefon kontaktowy:
Data urodzenia:
PESEL:

2. Potwierdzam, że zapoznałem się z warunkami uczestnictwa w badaniach i otrzymałem wyczerpujące odpowiedzi na wszystkie moje pytania.

3. Wyjaśniono mi w sposób zrozumiały: rodzaj, cel oraz oczekiwane efekty naukowych badań klinicznych.

4. Otrzymałam/em i zapoznałam/em się z pisemną informacją dla pacjentów i rodziców.

5. Rozumiem, że zostaną poddana/y badaniom opisanym w protokole badań w ramach prowadzonych naukowych badań klinicznych i do czego służy moja zgoda.

6. Przyjmuję do wiadomości, że wyniki badań będą wykorzystywane do opracowań naukowych przy zachowaniu tajemnicy wszystkich danych identyfikacyjnych oraz że mogą być sprawdzone przez osobę monitorującą badanie lub władze nadzorcze, ale pomimo to moja tożsamość nie zostanie ujawniona w przypadku publikacji wyników.

7. Jestem świadoma/y, że odmowa udziału w badaniu nie wpłynie negatywnie na opiekę lekarską nadę mną oraz, że w każdej chwili bez podania przyczyny mam prawo wycofać zgodę na udział w badaniu.

8. Jestem poinformowana/y, że badania kliniczne nie są objęte dodatkowym ubezpieczeniem.

9. Zgodę na przeprowadzenie badań podpisuję dobrowolnie.

Kraków.....

(data)

.....

(podpis pacjenta)

Wypełnia lekarz prowadzący badanie:

Japoinformowałem o szczegółach dotyczących badania.

Kraków.....

(data)

.....

(podpis i pieczęć lekarza)

10.5 Zgoda rodzica / opiekuna prawnego uczestnika badania na przetwarzanie danych osobowych

Niniejszym wyrażam zgodę na przetwarzanie danych związanych z udziałem mojej/go córki/syna*

w badaniach klinicznych pod nazwą:

„Profil wybranych pierwiastków śladowych i metali ciężkich u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) w momencie rozpoznania choroby oraz po wdrożeniu terapii.”

Wypełniają rodzice/prawni opiekunowie:

Nazwisko i imię:
Adres:
Telefon kontaktowy:
Data urodzenia:
PESEL:

Wiem, że w ramach powyższego badania klinicznego dane dotyczące choroby mojego dziecka, w tym dane osobiste będą zapisywane anonimowo (nie wskazując nazwiska), będą wykorzystywane wyłącznie do celów naukowych i że nie będą udostępniane osobom trzecim ani kopiowane.

Aby zapewnić poprawne prowadzenie badania wyrażam zgodę na udostępnianie historii choroby mojego dziecka upoważnionej osobie lub/i urzędowemu organowi nadzorującemu badania.

Oświadczam, że zapoznałam/em się z warunkami uczestnictwa w badaniu i otrzymałam wyczerpujące odpowiedzi na wszystkie pytania.

Zgodę potwierdzam podpisem:

Kraków.....
(data)

.....
(podpis matki, ojca/opiekuna prawnego*)

* niepotrzebne skreślić

10.6 Zgoda uczestnika badania który ukończył 16 lat na przetwarzanie danych osobowych

Ja, niżej podpisana/y

.....ur.....

Wyrażam zgodę na przetwarzanie danych związanych z moim udziałem
w badaniach klinicznych pod nazwą:

„Profil wybranych pierwiastków śladowych i metali ciężkich u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) w momencie rozpoznania choroby oraz po wdrożeniu terapii.”

Nazwisko i imię:
Adres:
Telefon kontaktowy:
Data urodzenia:
PESEL:

Wiem, że w ramach powyższego badania klinicznego dane dotyczące mojej choroby, w tym dane osobiste będą zapisywane anonimowo (nie wskazując nazwiska), będą wykorzystywane wyłącznie do celów naukowych i że nie będą udostępniane osobom trzecim ani kopiowane.

Aby zapewnić poprawne prowadzenie badania wyrażam zgodę na udostępnianie mojej historii choroby upoważnionej osobie lub/i urzędowemu organowi nadzorującemu badania.

Oświadczam, że zapoznałam/em się z warunkami uczestnictwa w badaniu i otrzymałam wyczerpujące odpowiedzi na wszystkie pytania.

Zgodę potwierdzam podpisem:

Kraków.....
(data)

.....
(podpis pacenta)

10.7 Zgoda rodzica / opiekuna prawnego uczestnika badania na przetwarzanie danych osobowych- grupa kontrolna

Niniejszym wyrażam zgodę na przetwarzanie danych związanych z udziałem mojej/go córki/syna*

w badaniach klinicznych pod nazwą:

„Profil wybranych pierwiastków śladowych i metali ciężkich u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) w momencie rozpoznania choroby oraz po wdrożeniu terapii.”

Wypełniają rodzice/prawni opiekunowie:

Nazwisko i imię:
Adres:
Telefon kontaktowy:
Data urodzenia:
PESEL:

Wiem, że w ramach powyższego badania klinicznego dane dotyczące choroby mojego dziecka, w tym dane osobiste będą zapisywane anonimowo (nie wskazując nazwiska), będą wykorzystywane wyłącznie do celów naukowych i że nie będą udostępniane osobom trzecim ani kopiowane.

Aby zapewnić poprawne prowadzenie badania wyrażam zgodę na udostępnianie historii choroby mojego dziecka upoważnionej osobie lub/i urzędowemu organowi nadzorującemu badania.

Oświadczam, że zapoznałam/em się z warunkami uczestnictwa w badaniu i otrzymałam wyczerpujące odpowiedzi na wszystkie pytania.

Zgodę potwierdzam podpisem:

Kraków.....
(data)

.....
(podpis matki, ojca/opiekuna prawnego*)

* niepotrzebne skreślić

10.8 Zgoda uczestnika badania który ukończył 16 lat na przetwarzanie danych osobowych- grupa kontrolna

Ja, niżej podpisana/y

.....ur.....

Wyrażam zgodę na przetwarzanie danych związanych z moim udziałem
w badaniach klinicznych pod nazwą:

„Profil wybranych pierwiastków śladowych i metali ciężkich u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) w momencie rozpoznania choroby oraz po wdrożeniu terapii.”

Nazwisko i imię:
Adres:
Telefon kontaktowy:
Data urodzenia:
PESEL:

Wiem, że w ramach powyższego badania klinicznego dane dotyczące mojej choroby, w tym dane osobiste będą zapisywane anonimowo (nie wskazując nazwiska), będą wykorzystywane wyłącznie do celów naukowych i że nie będą udostępniane osobom trzecim ani kopiowane.

Aby zapewnić poprawne prowadzenie badania wyrażam zgodę na udostępnianie mojej historii choroby upoważnionej osobie lub/i urzędowemu organowi nadzorującemu badania.

Oświadczam, że zapoznałam/em się z warunkami uczestnictwa w badaniu i otrzymałam wyczerpujące odpowiedzi na wszystkie pytania.

Zgodę potwierdzam podpisem:

Kraków.....
(data)

.....
(podpis pacenta)

10.9 Informacja dotycząca udziału w badaniu dla rodziców / opiekunów prawnych uczestnika badania / uczestnika który ukończył 16 lat

Informacja dla rodziców/opiekunów prawnych/dzieci i pacjentów powyżej 16 roku życia odnosząca się do badania: Profil wybranych pierwiastków śladowych i metali ciężkich u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) w momencie rozpoznania choroby oraz po wdrożeniu terapii.

Szanowni Państwo,

Nieswoiste zapalenia jelit (NZJ) to grupa przewlekłych schorzeń zapalnych przewodu pokarmowego najczęściej zajmujących jelito cienkie oraz grube, cechujących się samoistnymi remisjami i nawrotami. Około 20% do 40% nowo rozpoznanych przypadków dotyczy wieku dziecięcego.

Najczęstszymi objawami nieswoistych zapaleń jelit są bóle brzucha o różnym nasileniu i lokalizacji, biegunka ze śluzem i/lub krwią, utrata apetytu oraz ubytek masy ciała. Dodatkowo mogą występować objawy niespecyficzne: stanu podgorączkowego, gorączki, zahamowanie wzrostu czy dojrzewania płciowego, rumień guzowaty, choroby wątroby, zapalenia stawów, choroby oczu.

Szybkie rozpoznanie choroby i jej prawidłowe leczenie jest niezmiernie ważne, ponieważ jego brak może prowadzić do licznych komplikacji m.in. niedoborów pokarmowych i wyniszczenia organizmu. Na zmiany niedoborowe w organizmie ma wpływ aktywność choroby, stosowane leki, ilość i jakość spożywanych przez dziecko pokarmów.

Proponowane Państwu badanie ma na celu ocenić czy i jak nasilone są niedobory w zakresie pierwiastków śladowych tj. żelazo, miedź, cynk, mangan, selen (które są dziecku niezbędne do prawidłowego rozwoju i wzrostu) u dzieci chorujących na nieswoiste zapalenia jelit oraz czy w tej grupie chorych dochodzi do zwiększonej akumulacji w organizmie metali ciężkich takich jak ołów i rtęć, które znajdują się w otaczającym nas środowisku. Ocena ma być wykonana w momencie rozpoznania choroby u dziecka, po 6 tygodniach i po rocznym okresie leczenia, aby zaobserwować ewentualną progresję bądź regresję zmian.

U dzieci, u których rozpoznano NZJ konieczne jest wykonanie wielu badań laboratoryjnych, endoskopowych, radiologicznych, ultrasonograficznych. W ramach projektu będą wykonane dodatkowe oznaczenia, wykraczające poza podstawowy panel badań, które pozwolą na szerszą i dokładniejszą ocenę stanu klinicznego Państwa dziecka oraz przyczynią się do poszerzenia wiedzy na temat grupy chorych z NZJ.

Wyniki powinny odpowiedzieć na pytanie o celowości wprowadzenia suplementacji poszczególnych pierwiastków śladowych w momencie rozpoznania choroby. Pozwolą określić czy metale ciężkie bardziej się kumulują w tej grupie chorych. Odpowiedzą również na pytanie czy włosy, jako mniej inwazyjny materiał biologiczny do badań, mogą służyć do monitorowania dysfunkcji jelit w grupie chorych z NZJ.

1. Kto będzie uczestniczył w badaniu?

Dzieci i młodzież od 1 do 18 lat z nowo rozpoznanymi przypadkami schorzenia z grupy NZJ, po uzyskaniu pisemnej zgody na uczestnictwo w badaniu.

2. Opis badania:

Badanie polega na:

Badaniach laboratoryjnych :

* w surowicy krwi: (potrzebne będzie pobranie dodatkowo 2ml krwi):

- białko C-reaktywne
- albumina
- żelazo
- ferrytyna
- transferyna
- mangan
- cynk
- selen
- miedź
- rtęć
- ołów
- chrom

* w próbce włosów (pobrane z okolicy potylicy, bezbolesne, ok.0,5g- grubość ołówka)

- ołów
- rtęć
- żelazo
- mangan
- cynk
- miedź
- selen
- chrom

Badania będą wykonane w trakcie pobytu pacjenta na oddziale w czasie którego postawiona została diagnoza, po ok.6 tygodniach kiedy proces wygaszania procesu zapalnego jest największy oraz po rocznym okresie leczenia, podczas wizyty kontrolne w poradni gastrologicznej.

3. Czy badania są bezpieczne dla pacjentów, jakie przyniosą korzyści pacjentowi?

Badania uzyskały pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego. Bezpośrednią korzyścią dla pacjentów będzie określenie, w oparciu o zbiorcze wyniki badań, stanu klinicznego pacjenta oraz wpływu choroby podstawowej i leczenia na niedobory pierwiastków śladowych oraz akumulację metali ciężkich u dziecka. Wyniki badań pozwolą na wychwycenia w grupie badanych tych dzieci, u których konieczna jest suplementacja. Pozwolą na zapewnienie pacjentom bardziej kompleksowej diagnostyki i terapii. Pacjenci będą pod stałą, ścisłą opieką Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia, co pozwoli na dokładniejsze monitorowanie procesu chorobowego, przebiegu procesu leczenia oraz jego odpowiednio szybką i dokładną modyfikację. Uczestnictwo w badaniu przyczyni się również do pogłębienia wiedzy o zapalnej chorobie jelit i w przyszłości do ewentualnej zmiany postępowania klinicznego wobec pacjentów.

Pacjenci ani jego rodzina nie będą czerpać korzyści finansowych z uczestnictwa w badaniu. Nie ponoszą również żadnych kosztów związanych z proponowanym badaniem. Badanie nie jest sponsorowane.

4. Dobrowolność udziału w badaniach i poufność danych:

Udział w badaniu jest całkowicie dobrowolny. Jeżeli nie chce Pan/i z jakiegokolwiek powodu aby Pana/i dziecko brało udział w badaniu, może Pan/i odmówić bez potrzeby podawania powodu swojej decyzji. W każdym momencie badania, bez wpływu na przebieg dalszego leczenia ma Pan/i prawo do rezygnacji i wycofania się z badania. Odmowa uczestnictwa w żaden sposób nie wpłynie na jakość i dostępność opieki medycznej.

5. Ochrona danych osobowych:

Wyrażenie zgody na udział w badaniu jest równoznaczne ze zgodą na anonimowe wykorzystywanie uzyskanych wyników badań do celów naukowych zgodnie z ustawą o danych osobowych.

W celu zachowania prywatności zapewnia się całkowitą poufność wszystkich danych dotyczących Państwa dziecka, jakie zostaną zgromadzone w trakcie badania tak aby uniemożliwić powiązanie poszczególnych wyników z danymi osobowymi.

Zgodnie z ustawą z dnia 29 sierpnia 1997 roku o ochronie danych osobowych (Dz.U n. 133 poz 833) wyraża Pan/i zgodę na umieszczenie i zachowanie danych osobowych pochodzących z badania z zachowaniem wymogów bezpieczeństwa danych określonych w przepisach. Ma Pan/i prawo wglądu do danych, poprawiania ich i żądania zaprzestania ich przetwarzania.

Mamy nadzieję, że proponowane badania zyskają Pana/i akceptację
Dziękujemy za wysiłek i poświęcony czas.

Jeśli zdecyduje się Pan/i na udział dziecka w badaniu proszony jest Pan/i o podpisanie zgody na badanie.

Jeżeli ma Pan/i jakiekolwiek pytania proszę zadać je przed wyrażeniem zgody lekarzowi, który chętnie udzieli odpowiedzi.

10.10 Informacja dotycząca udziału w badaniu dla rodziców / opiekunów prawnych uczestnika badania / uczestnika który ukończył 16 lat- grupa kontrolna

Informacja dla rodziców/opiekunów prawnych/dzieci i pacjentów powyżej 16 roku życia odnosząca się do badania: Profil wybranych pierwiastków śladowych i metali ciężkich u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) w momencie rozpoznania choroby oraz po wdrożeniu terapii.- grupa kontrolna:

Szanowni Państwo,

Nieswoiste zapalenia jelit (NZJ) to grupa przewlekłych schorzeń zapalnych przewodu pokarmowego najczęściej zajmujących jelito cienkie oraz grube, cechujących się samoistnymi remisjami i nawrotami. Około 20% do 40% nowo rozpoznanych przypadków dotyczy wieku dziecięcego.

Najczęstszymi objawami nieswoistych zapaleń jelit są bóle brzucha o różnym nasileniu i lokalizacji, biegunka ze śluzem i/lub krwią, utrata apetytu oraz ubytek masy ciała. Dodatkowo mogą występować objawy niespecyficzne: stanu podgorączkowego, gorączki, zahamowanie wzrostu czy dojrzewania płciowego, rumień guzowaty, choroby wątroby, zapalenia stawów, choroby oczu.

Szybkie rozpoznanie choroby i jej prawidłowe leczenie jest niezmiernie ważne, ponieważ jego brak może prowadzić do licznych komplikacji m.in. niedoborów pokarmowych i wyniszczenia organizmu. Na zmiany niedoborowe w organizmie ma wpływ aktywność choroby, stosowane leki, ilość i jakość spożywanych przez dziecko pokarmów.

Proponowane Państwu badanie ma na celu ocenić czy i jak nasilone są niedobory w zakresie pierwiastków śladowych tj. żelazo, miedź, cynk, mangan, selen (które są dziecku niezbędne do prawidłowego rozwoju i wzrostu) u dzieci chorujących na nieswoiste zapalenia jelit oraz czy w tej grupie chorych dochodzi do zwiększonej akumulacji w organizmie metali ciężkich takich jak ołów i rtęć, które znajdują się w otaczającym nas środowisku. Otrzymane dane zostaną porównane z wynikami uzyskanymi od dzieci z grupy kontrolnej, którą będą stanowić dzieci z czynnościowymi zaburzeniami przewodu pokarmowego.

U dzieci, u których występują dolegliwości związane z czynnościowymi zaburzeniami przewodu pokarmowego konieczne jest przeprowadzenie licznych badań laboratoryjnych oraz obrazowych. W ramach projektu będą wykonane dodatkowe oznaczenia, wykraczające poza podstawowy panel badań, które pozwolą na szerszą i dokładniejszą ocenę stanu klinicznego Państwa dziecka oraz przyczynią się do poszerzenia wiedzy na temat grupy chorych z NZJ.

1. Kto będzie uczestniczył w badaniu?

Dzieci i młodzież od 1 do 18 lat z nowo rozpoznaną chorobą NZJ oraz jako grupa kontrolna dzieci z czynnościowymi zaburzeniami przewodu pokarmowego, po uzyskaniu pisemnej zgody na uczestnictwo w badaniu.

2. Opis badania:

Badanie polega na:

Badaniach laboratoryjnych :

* w surowicy krwi: (potrzebne będzie pobranie dodatkowo 2ml krwi):

- żelazo
- mangan
- cynk
- selen
- miedź
- rtęć
- ołów
- chrom

* w próbce włosów (pobrane z okolicy potylicy, bezbolesne, ok.0,5g- grubość ołówka)

- ołów
- rtęć
- żelazo
- mangan
- cynk
- miedź
- selen
- chrom

Badania będą wykonane w trakcie pobytu pacjenta na oddziale .

3. Czy badania są bezpieczne dla pacjentów, jakie przyniosą korzyści pacjentowi?

Badania uzyskały pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego

Bezpośrednią korzyścią dla pacjentów będzie określenie, w oparciu o zbiorcze wyniki badań, stanu klinicznego pacjenta. Wyniki badań pozwolą na wychwycenia w grupie badanych tych dzieci, u których konieczna jest suplementacja. Pozwolą na zapewnienie pacjentom bardziej kompleksowej diagnostyki i terapii. Pacjenci będą pod stałą, ścisłą opieką Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia. Uczestnictwo w badaniu przyczyni się również do pogłębienia wiedzy o zapalnej chorobie jelit i w przyszłości do ewentualnej zmiany postępowania klinicznego wobec pacjentów.

Włosy jako materiał biologiczny poddawany analizie mają wiele zalet, m.in. są one materiałem mniej inwazyjnym, co ma duże znaczenie w grupie pacjentów pediatrycznych, jak również z uwagi na swoje tempo wzrostu (ok.1cm/miesiąc) pokazują wartość uśrednioną pewnych oznaczanych substancji w określonym przedziale czasowym. Powyższe badanie ma za zadanie wyjaśnić czy oznaczenia we włosach oraz w surowicy krwi pierwiastków śladowych i metali ciężkich dobrze ze sobą korelują, co pozwoliłoby na opracowanie mniej inwazyjnego protokołu monitorowania dysfunkcji jelit u pacjentów pediatrycznych.

Pacjenci ani jego rodzina nie będą czerpać korzyści finansowych z uczestnictwa w badaniu. Nie ponoszą również żadnych kosztów związanych z proponowanym badaniem. Badanie nie jest sponsorowane.

4. Dobrowolność udziału w badaniach i poufność danych:

Udział w badaniu jest całkowicie dobrowolny. Jeżeli nie chce Pan/i z jakiegokolwiek powodu aby Pana/i dziecko brało udział w badaniu, może Pan/i odmówić bez potrzeby podawania powodu swojej decyzji. W każdym momencie badania, bez wpływu na przebieg dalszego leczenia ma Pan/i prawo do rezygnacji i wycofania się z badania. Odmowa uczestnictwa w żaden sposób nie wpłynie na jakość i dostępność opieki medycznej.

5. Ochrona danych osobowych:

Wyrażenie zgody na udział w badaniu jest równoznaczne ze zgodą na anonimowe wykorzystywanie uzyskanych wyników badań do celów naukowych zgodnie z ustawą o danych osobowych.

W celu zachowania prywatności zapewnia się całkowitą poufność wszystkich danych dotyczących Państwa dziecka, jakie zostaną zgromadzone w trakcie badania tak aby uniemożliwić powiązanie poszczególnych wyników z danymi osobowymi.

Zgodnie z ustawą z dnia 29 sierpnia 1997 roku o ochronie danych osobowych (Dz.U n. 133 poz 833) wyraża Pan/i zgodę na umieszczenie i zachowanie danych osobowych pochodzących z badania z zachowaniem wymogów bezpieczeństwa danych określonych w przepisach. Ma Pan/i prawo wglądu do danych, poprawiania ich i żądania zaprzestania ich przetwarzania.

Mamy nadzieję, że proponowane badania zyskają Pana/i akceptację
Dziękujemy za wysiłek i poświęcony czas.

Jeśli zdecyduje się Pan/i na udział dziecka w badaniu proszony jest Pan/i o podpisanie zgody na badanie.

Jeżeli ma Pan/i jakiekolwiek pytania proszę zadać je przed wyrażeniem zgody lekarzowi, który chętnie udzieli odpowiedzi.

10.11 Ankieta żywieniowo-środowiskowa

PROFIL WYBRANYCH PIERWIASTKÓW ŚLADOWYCH I METALI CIĘŻKICH U DZIECI Z NIESWOISTYMI ZAPALENIAMI JELIT (NZJ) W MOMENCI ROZPOZNANIA CHOROBY ORAZ WDROŻENIU TERAPII

Kwestionariusz ma za zadanie zebranie danych dotyczących stanu zdrowia oraz nawyków żywieniowych dziecka biorącego udział w badaniu. Dane te są niezbędne do właściwej oceny poziomów oznaczanych pierwiastków.

Proszę o uważne zapoznanie się z poniższymi pytaniami i udzielenie szczerych odpowiedzi.

I) Kto wypełnia ankietę:

rodzic.....

dziecko.....

II) Data urodzenia

III) Waga wzrost.....

IV) Szkoła

V) Miejsce stałego zamieszkania- proszę podać miejscowość.....
i określić jej wielkość

wieś

miasto do 10 tys

Miasto 10-100 tys

miasto 100-500 tys

miasto powyżej 500tys

VI) W jakiej odległości od pani/pana miejsca zamieszkania znajdują się:

	do 1 km	1-5 km	5-10 km	>10 km
huty	☐	☐	☐	☐
elektrociepłownie	☐	☐	☐	☐
kopalnie	☐	☐	☐	☐
zakłady produkujące:				
szkła i emalie	☐	☐	☐	☐
barwniki	☐	☐	☐	☐
preparaty ochrony roślin	☐	☐	☐	☐
kosmetyki	☐	☐	☐	☐
leki	☐	☐	☐	☐
elektronikę	☐	☐	☐	☐
urządzeń fotoelektrycznych	☐	☐	☐	☐
akumulatorów	☐	☐	☐	☐
ceramiki	☐	☐	☐	☐

STAN ZDROWIA

I) Czy dziecko jest leczone z jakiegoś powodu, lub pozostaje pod opieką jakiejś poradni specjalistycznej.....

jeśli tak to jakiej

z powodu.....

II) Czy przyjmuje jakieś leki na stałe, jeśli tak to jakie:.....

od kiedy.....dawka.....

.....

.....

III) Czy dziecko było kiedyś w szpitalu, jeśli tak to z jakiego powodu.....

.....

IV) Czy u dziecka występują jakieś alergie (pokarmowe, skórne, wziewne) , jeśli tak to jakie.....

.....

V) Czy dziecko zażywa jakieś preparaty witaminowe, jeśli tak to jakie.....

nazwa.....dawka.....

.....

VI) Czy dziecko przebywa w środowisku osób palących.....

domownik.....

rodzina.....

NAWYKI ŻYWIENIOWE

VII) Ile posiłków dziennie dziecko zjada.....

VIII) Czy są jakieś produkty których dziecko nie jada, jeśli tak to jakie.....

.....

IX) Czy dziecko korzysta z usług stołówki szkolnej/przedszkolej.....

X) Czy dziecko zjada produkty typu „fast food”, jeśli tak to jak często.....

.....

XI) Jak często dziecko spożywa następujące produkty:

	codziennie	2-3x/tydz	1-2x/miesiąc	rzadziej	nigdy
mleko	☐	☐	☐	☐	☐
żółty ser	☐	☐	☐	☐	☐
sery białe/jourty/danio	☐	☐	☐	☐	☐
mięso drobiowe	☐	☐	☐	☐	☐
wołowina	☐	☐	☐	☐	☐
wieprzowina	☐	☐	☐	☐	☐
szpinak	☐	☐	☐	☐	☐
sałata	☐	☐	☐	☐	☐
ziemniaki	☐	☐	☐	☐	☐
cebulę	☐	☐	☐	☐	☐
pomidory	☐	☐	☐	☐	☐
fasola	☐	☐	☐	☐	☐
kapusta	☐	☐	☐	☐	☐
kukurydza	☐	☐	☐	☐	☐
brukselka	☐	☐	☐	☐	☐
kalafior	☐	☐	☐	☐	☐
czosnek	☐	☐	☐	☐	☐
owoce	☐	☐	☐	☐	☐
orzechy	☐	☐	☐	☐	☐
ryż	☐	☐	☐	☐	☐
ziarna zbóż	☐	☐	☐	☐	☐
ryby	☐	☐	☐	☐	☐
owoce morza	☐	☐	☐	☐	☐
jaja	☐	☐	☐	☐	☐

XII) Jakie pieczywo spożywa dziecko.....

ilość.....

XIII) Ile szklanek mleka dziennie pije dziecko (szklanka=200ml)

	nie pije	1	2	3	4	5 i
więcej						
herbata	☐	☐	☐	☐	☐	☐
mleko	☐	☐	☐	☐	☐	☐
woda mineralna	☐	☐	☐	☐	☐	☐
soki owocowe	☐	☐	☐	☐	☐	☐
kawa	☐	☐	☐	☐	☐	☐

Dziękujemy za wypełnienie kwestionariusza

11. PIŚMIENNICTWO

1. **W. Bartnik.** Wytyczne postępowania w nieswoistych zapalnych chorobach jelit. *Przegląd Gastroenterologiczny*. 2007, Tom 2, 5, strony 215-229.
2. **Kappelman MD, Rivas-Shiman SL i Kleinman K.** The prevalence and geographic distribution of Crohn's disease and ulcerative colitis in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007, Tom 5, 12, str. 1424.
3. **Loftus EV Jr.** Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*. 2004, Tom 126, 2, str. 1504.
4. **Molodecky NA, Soon IS i Rabi DM.** Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*. 2012, Tom 142, 1, str. 46.
5. **Ng SC, Tang W i Ching JY.** Incidence and phenotype of inflammatory bowel disease based on results from the Asia-Pacific Crohn's and colitis epidemiology study. *Gastroenterology*. 2013, Tom 145, 1, strony 158-165.
6. **Bartnik W. i Kraszewska E.** Trendy hospitalizacji z powodu nieswoistych chorób zapalnych jelit w Polsce. *Gastroenterologia Polska*. 2010, Tom 17, 50.
7. **Brahme F., Lindström C. i Wenckert A.** Crohn's disease in a defined population. An epidemiological study of incidence, prevalence, mortality, and secular trends in the city of Malmö, Sweden. *Gastroenterology*. 1975, Tom 69, 2, str. 342.
8. **Gollop JH i Phillips SF i wsp.** Epidemiologic aspects of Crohn's disease: a population based study in Olmsted County, Minnesota, 1943-1982. *Gut*. 1988, Tom 29, 1, str. 49.
9. **Binder V i Both H i wsp.** Incidence and prevalence of ulcerative colitis and Crohn's disease in the County of Copenhagen, 1962 to 1978. *Gastroenterology*. 1982, Tom 83, 3, str. 563.
10. **Kirsner JB i Shorter RG.** The epidemiology of idiopathic inflammatory bowel diseases. *Inflammatory Bowel Disease*. 1988, str. 3.
11. **Binder V.** Epidemiology of IBD during the twentieth century: an integrated view. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2004, Tom 18, strony 463-79.
12. **Karolewska-Bochenek K, Lazowska-Przeorek I i Albrecht P i wsp.** Epidemiology of inflammatory bowel disease among children in Poland. *Digestion*. 2009, Tom 79, 2, strony 121-129.
13. **Cosgrove M, Al-Atia RF i Jenkins HR.** The epidemiology of paediatric inflammatory bowel disease. *Arch Dis Child*. 1996, Tom 74, 5, str. 460.
14. **Armitage E i Drummond H i wsp.** Incidence of juvenile-onset Crohn's disease in Scotland. *Lancet*. 1999, Tom 353, 9163, str. 1496.
15. **Askling J i Grahnquist L.** Incidence of paediatric Crohn's disease in Stockholm, Sweden. *Lancet*. 1999, Tom 354, 9185, str. 1179.
16. **Sładek M i Ćmiel A.** Charakterystyka obrazu klinicznego 146 nowo rozpoznanych przypadków pediatrycznych choroby Leśniowskiego-Crohna. *Przegląd Gastroenterologiczny*. 2011, Tom 6, 2, strony 102-109.
17. **Iwańczak F, Krzesiek E i Iwańczak B.** Epidemiologia wrzodziejącego zapalenia jelita grubego i choroby Leśniowskiego-Crohna u dzieci z województwa dolnośląskiego. *Pediatr. Pol*. 2002, Tom 4, strony 301-309.
18. **Jedynak-Wąsowicz U, Wędrychowicz A i Przybyszewska K.** Epidemiology of ulcerative colitis in children in southern Poland; retrospective study 1992-2002. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr*. 2004, str. 352.

19. **Turunen P, Kolho KL i Auvinen A i wsp.** Incidence of inflammatory bowel disease in Finnish children. *Inflamm Bowel Dis.* 2006, Tom 12, 8, str. 677.
20. **Canvan C, Abrams KR i Mayberry JF.** Meta-analysis: mortality in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007, Tom 25, 8, str. 861.
21. **Duricova D, Pedersen N i Elkjaer M i wsp.** Overall and cause-specific mortality in Crohn's disease a metaanalysis of population-based studies. *Inflamm Bowel Dis.* 2010, Tom 16, strony 347-353.
22. **Fiocchi C.** Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology.* 1998, Tom 115, strony 182-205.
23. **Orholm M, Munkholm P i Langholz E.** Familial occurrence of inflammatory bowel disease. *N Engl J Med.* 1991, Tom 324, 2, str. 84.
24. **Franke A i McGovern DP i wsp.** Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet.* 2010, Tom 42, 12, str. 1118.
25. **Anderson CA i Boucher G i wsp.** Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet.* 2011, Tom 43, 3, str. 246.
26. **Ogura Y, Bonen DK i Inohara N.** A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature.* 2001, Tom 411, 6837, str. 603.
27. **Cuthbert AP i Fisher SA i wsp.** The contribution of NOD2 gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2002, Tom 122, 4, str. 867.
28. **Kugathasan S, Collins N i Maresso K.** CARD15 gene mutations and risk for early surgery in pediatric-onset Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2004, Tom 2, 11, str. 1003.
29. **Hampe J i Franke A i wsp.** A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet.* 2007, Tom 39, 2, str. 207.
30. **McCarroll SA, Huett A i Kuballa P.** Deletion polymorphism upstream of IRGM associated with altered IRGM expression and Crohn's disease. *Nat Genet.* 2008, Tom 40, 9, strony 1107-12.
31. **Marteau P, Lepage P i Mangin I i wsp.** Review article: gut flora and inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004, Tom 20, supl. 4, strony 18-23.
32. **Fyderek K i Strus M i wsp.** Mucosal bacterial microflora and mucus layer thickness in adolescents with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2009, Tom 15, 42, strony 5287-94.
33. **Xavier RJ i Podolsky DK.** Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature.* 2007, Tom 448, 7152, str. 427.
34. **Cho JH.** The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol.* 2008, Tom 8, 6, str. 458.
35. **Saxon A, Shanahan F i Landers C.** A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol.* 1990, Tom 86, 2, str. 202.
36. **Ruemmele FM, Targan SR i Levy G.** Diagnostic accuracy of serological assays in pediatric inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 1998, Tom 115, 4, str. 822.
37. **Heyman MB i Kirschner BS i wsp.** Children with early-onset inflammatory bowel disease (IBD): analysis of a paediatric IBD consortium registry. *J Pediatr.* 2005, Tom 146, 1, str. 35.
38. **Gryboski JD.** Crohn's disease in children 10 years old and younger: comparison with ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1994, Tom 18, 2, str. 174.

39. **Jose FA i Garnett EA i wsp.** Development of extraintestinal manifestations in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2009, Tom 15, 1, str. 63.
40. **Dotson JL i Hyams JS i wsp.** Extraintestinal manifestations of pediatric inflammatory bowel disease and their relation to disease type and severity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010, Tom 51, 2, strony 140-5.
41. **Harries AD i Heatley RV.** Nutritional disturbances in Crohn's disease. *Postgrad Med J.* 1983, Tom 59, strony 690-697.
42. **Das KM.** Relationship of extraintestinal involvements in inflammatory bowel disease: New insights into autoimmune pathogenesis. *Dig Dis Sci.* 1999, Tom 44, str. 1.
43. **Silverberg MS, Satsangi J i Ahmad T.** Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol.* 2005, Tom 19, Suppl A, str. 5A.
44. **Farmer RG, Hawk WA i Turnbull RB Jr.** Clinical patterns in Crohn's disease: a statistical study of 615 cases. *Gastroenterology.* 1975, Tom 68, 4 Pt 1, str. 627.
45. **Burgmann T i Clara I i wsp.** The Manitoba Inflammatory Bowel Disease Cohort Study: prolonged symptoms before diagnosis--how much is irritable bowel syndrome? *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006, Tom 4, 5, str. 614.
46. **Mekhjian HS, Switz DM i Melnyk CS.** Clinical features and natural history of Crohn's disease. *Gastroenterology.* 1997, Tom 77, 4 Pt 2, str. 898.
47. **Schwartz DA, Loftus EV Jr i Tremaine WJ.** The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology.* 2002, Tom 122, 4, str. 875.
48. **Lichtenstein GR, Hanauer SB i Sandborn WJ i wsp.** Management of Crohn's disease in adults. *Am J Gastroenterol.* 2009, Tom 104, 2, str. 465.
49. **Baumgart DC i Sandborn WJ.** Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet.* 2007, Tom 369, str. 1641.
50. **Satsangi J, Silverberg MS i Vermeire S.** The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut.* 2006, Tom 55, 6, strony 749-53.
51. **Nutrition IBD Working Group of European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and.** Inflammatory bowel disease in children and adolescents: recommendations for diagnosis-the Porto criteria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005, Tom 41, strony 1-7.
52. **Levine A i Griffiths A i wsp.** Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. *Inflamm Bowel Dis.* 2011, Tom 17, 6, strony 1314-21.
53. **Levine A i Koletzko S i wsp.** ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* Tom 58, 6, strony 795-806.
54. **Turner D, Otley AR i Mack D i wsp.** Development, validation and evaluation of a paediatric ulcerative colitis activity index. *Gastroenterology.* 2007, Tom 133, strony 423-432.
55. **Ryzko J i Woynarowski M.** Zastosowanie skali punktowej w ocenie aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejacego zapalenia jelita grubego u dzieci. *Pediatr Pol.* 1995, Tom 70, 7, strony 585-9.
56. **Neubauer K i Paradowski L.** Leczenie podtrzymujące remisję w nieswoistych zapaleniach jelit. *Gastroenterologia Polska.* 2010, Tom 17, 2, strony 129-132.
57. **Van Gossum A i Cabre E.** ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: Gastroenterology. *Gin. Nutr.* 2009, Tom 28, strony 415-127.
58. **Hartman C, Eliakim R i Shamir R.** Nutritional status and nutritional therapy in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.* 2009, Tom 15, 21, strony 2570-8.

59. **Dziechciarz P i Horvath A i wsp.** Meta-analysis: enteral nutrition in active Crohn's disease in children. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2007, Tom 26, 6, strony 795-806.
60. **Kierkuś J, Ryżko J i Olek A.** Leczenie żywieniowe w nieswoistych zapaleniach jelit u dzieci. *Pediatr. Wspólcz. Gastroenterol. Hepatol. Żywienia Dziecka*. 2004, Tom 6, strony 195-197.
61. **Błoński W, Lichtenstein GR i Gary R.** Medical treatment of ulcerative colitis. *Gastroenterologia Polska*. 2008, Tom 15, 6, strony 359-367.
62. **Kotynia J i Malecka-Panas E.** Choroby zapalne jelit-nowości w leczeniu.[w:] Wybrane zagadnienia gastroenterologii praktycznej. *Wydawnictwo Medyczne Terimiedia*. 2007, strony 55-64.
63. **Colombel JF, Sandborn WJ i Rutgeerts P i wsp.** Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology*. 2007, Tom 132, strony 52-65.
64. **Hanauer SB i Feagan BG i wsp.** Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet*. 2002, Tom 359, 9317, strony 1541-9.
65. **Forbes A, Goldesgeyme E i Paulon E.** Nutrition in inflammatory bowel disease. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2011, Tom 35, strony 571-580.
66. **Prescha A, Pieczyńska J i Biernat K.** Nutritional status assessment of patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterologia Polska*. 2010, Tom 17, 1, strony 25-31.
67. **Lucendo AJ i De Rezende LC.** Importance of nutrition in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2009, Tom 15, strony 2081-8.
68. **Hwang C, Ross V i Mahadevan U.** Micronutrient deficiencies in inflammatory bowel disease: from A to zinc. *Inflamm Bowel Dis*. 2012, Tom 18, str. 1961.
69. **Waśko-Czopnik D i Paradowski L.** The influence of deficiencies of essential trace elements and vitamins on the course of Crohn's disease. *Adv Clin Exp Med*. 2012, Tom 21, 1, strony 5-11.
70. **Gerasimidis K, McGrogan P i Edwards CA.** The aetiology and impact of malnutrition in paediatric inflammatory bowel disease. *J Hum Nutr Diet*. 2011, Tom 24, strony 313-326.
71. **Sikora S, Spady D i Prosser C.** Trace Elements and Vitamins at diagnosis in Paediatric-onset Inflammatory Bowel Disease. *Clin. Pediatr*. 2011, Tom 506, strony 488-492.
72. **Wiskin AE, Fleming BJ i Wootton SA.** Anemia and iron deficiency in children with inflammatory bowel disease. *J Crohn Colitis*. 2012, Tom 6, 6, strony 687-91.
73. **Seung Min Song, Young Kim i Oh Seak Hee.** Nutritional Status and Growth in Korean Children with Crohn's Disease: A Single-Center Study. *Gut and Liver*. 2014, Tom 8, 5, strony 500-507.
74. **Andrews NC i Bridges KR.** Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. *Hematology of Infancy and Childhood*. 1998, str. 423.
75. **Kulnigg S i Gasche C.** Systematic review: managing anaemia in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006, Tom 24, 11-12, str. 1507.
76. **Gispert JP i Gomollón F.** Common misconceptions in the diagnosis and management of anemia in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2008, Tom 103, 5, str. 1299.
77. **Prasad AS.** Clinical, endocrinological and biochemical effects of zinc deficiency. *Clin Endocrinol Metab*. 1985, Tom 14, 3, str. 567.
78. **Lee HH, Prasad AS i Brewer GJ.** Zinc absorption in human small intestine. *Am J Physiol*. 1989, Tom 256, 1 Pt 1, strony G87-91.
79. **Alkhouiri RH i Hashmi H i wsp.** Vitamin and mineral status in patients with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013, Tom 56, 1, strony 89-92.
80. **Schwartz K i Foltz CM.** Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J Am Chem Soc*. 1957, Tom 79, str. 3293.

81. **Holben DH i Smith AM.** The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *J Am Diet Assoc.* 1999, Tom 99, 7, str. 836.
82. **Rayman MP.** The importance of selenium to human health. *Lancet.* 2000, Tom 356, 9225, str. 233.
83. **Johtatsu T i Andoh A i wsp.** Serum concentrations of trace elements in patients with Crohn's disease receiving enteral nutrition. *J Clin Biochem Nutr.* 2007, Tom 41, 3, str. 197.
84. **Wapnir RA.** Copper absorption and bioavailabilit. *Am J Clin Nutr.* 1998, Tom 67 (5suppl), 1054S.
85. **Ojuawo A i Keith L.** The serum concentrations of zinc, copper and selenium in children with inflammatory bowel disease. *Cent Afr J Med.* 2002, Tom 48, 9-10, str. 116.
86. **Filipp J i Al-Jaouni R i wsp.** Nutritional deficiencies in patients with Crohn's disease in remission. *Inflamm Bowel Dis.* 2006, Tom 12, 3, str. 185.
87. **Keen CL i Zidenburg-Cherr S.** *Present knowledge in nutrition.* Washington, DC : International Life Sciences Institute, 1996. str. 334.
88. **Nielsen FH.** *Modern nutrition in health and disease.* Baltimore 1999 : Williams and Wilkins, 1999. str. 283.
89. **Johnson PE i Finley JW.** *Manganese in health and disease.* Boca Raton : CRC Press, 1994. str. 85.
90. **Friedman BJ i Freeland-Graves JH i wsp.** Manganese balance and clinical observations in young men fed a manganese-deficient diet. *J Nutr.* 1987, Tom 117, 1, str. 133.
91. **Fell JM i Reynolds AP i wsp.** Manganese toxicity in children receiving long-term parenteral nutrition. *Lancet.* 1996, Tom 347, 9010, str. 1218.
92. **Ruiz-Nunez Begona, Pruimboom Leo i Dijck-Brouwer Janneke D.A.i wsp.** lifestyle and nutritional imbalances associated with Western diseases: causes and consequences of chronic systemic low-grade inflammation in an evolutionary context. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 2013, Tom 24, strony 1183-1201.
93. **Nriagu JO.** Saturnine gout among Roman aristocrats. Did lead poisoning contribute to the fall of the Empire? *N Engl J Med.* 1983, Tom 308, 11, str. 660.
94. **Hernberg S.** Lead poisoning in a historical perspective. *Am J Ind Med.* 2000, Tom 38, 3, str. 244.
95. **Ziegler EE, Edwards BB i Jensen RL.** Absorption and retention of lead by infants. *Pediatr Res.* 1978, Tom 12, 1, str. 29.
96. **Menezes M.A.B.C., Maia E.C.P. i Albinati C.C.B.i wsp.** How suitable are scalp hair and toenail as biomonitors? *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry.* 2004, Tom 259, 1, strony 81-86.
97. **Chatt A i Katz SA.** *Hair analysis: applications in the biomedical.* New York : VCH Publishers Inc, 1988.
98. **Rodrigues JL, Batista BL i Nunes JA.** Evaluation of the use of human hair for biomonitoring the deficiency of essential and exposure to toxic elements. *Sci Total Environ.* 2008, Tom 405, 1-3, strony 370-6.
99. *Food and Drug Administration (2004) What you need to know about mercury in fish and shellfish.* 2011.
100. **Steven Morris J, Spate Vickie L. i Crane Stacy B.** Limitations of the scalp-hair biologic monitor in assessing selenium status in epidemiological investigations. *J Radioanal Nucl Chem.* 2012, Tom 291, strony 409–414.
101. The 18th congress of the Society of Hair Testing (SoHT) in Geneva. *Drug Test Anal.* 2014, 6 Suppl 1.
102. **Thomas R.** *A Beginner's Guide to ICP-MS.* brak miejsca : Spectroscopy, 2001.
103. **Core Team R.** *A language and environment for statistical computing.* Vienna, Austria : R Foundation for statistical computing, 2013.

104. **Loftus Jr EV.** Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*. 2004, 126, strony 1504–17.
105. **Pac A i Florek M.** Wiarygodność wywiadu żywieniowego z dziećmi w wieku szkolnym. *Probl Hig Epidemiol*. 2008, Tom 89, 3, strony 383-388.
106. **Kreyling W.G., Blanchard J.D. i Godleski J.J.i wsp.** Anatomic localization of 24- and 96-h particle retention in canine airways. *J Appl Physiol*. 1999, 87, strony 269–284.
107. **Moller W., Haussinger K. i Winkler-Heil R.i wsp.** Mucociliary and long-term particle clearance in the airways of healthy nonsmoker subjects. *J Appl Physiol*. 2004, 97, strony 2200–2206.
108. **Calderon-Garciduenas L., Franco-Lira M. i Torres-Jardon R.i wsp.** Pediatric respiratory and systemic effects of chronic air pollution exposure: nose, lung, heart, and brain pathology. *Toxicol Pathol*. 2007, 35, strony 154–162.
109. **Kaplan G.G., Hubbard J. i Korzenik J.i wsp.** The inflammatory bowel diseases and ambient air pollution: a novel association. *Am J Gastroenterol*. 2010, 105, strony 2412–2419.
110. **Ananthakrishnan A.N. i McGinley E.L.i wsp.** Ambient air pollution correlates with hospitalizations for inflammatory bowel disease: An ecologic analysis. *Inflamm Bowel Dis*. 2011, 17, strony 1138–1145.
111. **Martini GA i Brandes JW.** Increased consumption of refined carbohydrates in patients with Crohn's disease. *Klinische Wochenschrift*. 1976, 54, strony 367–71.
112. **Millar B., Fervers F i Rohbeck R.** Sugar consumption in patients with Crohn's disease. *Verh Dtsch Ges Inn Med*. 1976, 82, strony 922–4.
113. **Wyka J, Grochowska - Niedworok E i Malczyk E.** Częstość spożycia produktów typu Fast Food przez młodzież męską. *BROMAT. CHEM. TOKSYKOL*. 2012, Tom XLV, 3, strony 675–679.
114. **Persson PG, Ahlbom A i Hellers G.** Diet and inflammatory bowel disease: a case case control study. *Epidemiology*. 1992, 3, strony 47-52.
115. **Thornton JR, Emmett PM i Heaton KW.** Diet and Crohn's disease: characteristics of the pre-illness diet. *Br Med J*. 1979, 2, strony 762–4.
116. **Reif S, Klein I i Lubin F.** Pre-illness dietary factors in inflammatory bowel disease. *Gut*. 1997, 40, strony 754–60.
117. **Amre DK, D'Souza S i Morgan K i wsp.** Imbalances in dietary consumption of fatty acids, vegetables, and fruits are associated with risk for Crohn's disease in children. *Am J Gastroenterol*. 2007, 102, strony 2016–25.
118. **Tragnone A, Valpiani D i Miglio F i wsp.** Dietary habits as risk factors for inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1995, 7, strony 47–51.
119. **Shoda R, Matsueda K i Yamato S.** Epidemiologic analysis of Crohn's disease in Japan: increased dietary intake of n-6 polyunsaturated fatty acids and animal protein relates to the increased incidence of Crohn's disease in Japan. *Am J Clin Nutr*. 1996, 63, strony 741–5.
120. **Jowett SI i Seal CJ i wsp.** Dietary beliefs of people with ulcerative colitis and their effect on relapse and nutrient intake. *Clin. Nutr*. 2004, 2, strony 161-70.
121. **Glassman MS i Newman LJ i wsp.** Cow's milk protein sensitivity during infancy in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 1990, 85, strony 838–40.
122. **Seidman EG, Roy CC i Weber AM.** Nutritional therapy of Crohn's disease in childhood. *Dig Dis Sci*. 1987, 32(Suppl), strony 82S–8S.
123. **Langholz E, Munkholm P i Krasilnikoff PA.** Inflammatory bowel diseases with onset in childhood. Clinical features, morbidity, and mortality in a regional cohort. *Scand J Gastroenterol*. 1997, 32, strony 139–47.
124. **Grzybowska K i Dziuda-Gorzkowska M i wsp.** Ocena sposobu żywienia i stanu odżywienia dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit. *Pediatrica Współczesna Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka*. 2004, 2, strony 1507-5532.

125. **Driscoll RH i Rosenberg IH.** Total parenteral nutrition in inflammatory bowel disease. *Med Clin North Am.* 1978, 62, strony 185–201.
126. **van Hogezaand RA i Hamdy NA.** Skeletal morbidity in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 2006, strony 59–64.
127. **Wong A i Bass D.** Laboratory evaluation of inflammatory bowel disease. *Curr Opin Pediatr.* 2008, 20, strony 566–570.
128. **Zurita VF, Rawls DE i Dyck WP.** Nutritional support in inflammatory bowel disease. *Dig Dis.* 1995, 503, strony 92–107.
129. **Beeken WL.** Remediable defects in Crohn disease: a prospective study of 63 patients. *Arch Intern Med.* 1975, 135, strony 686–690.
130. **Ormerod TP.** Observations on the incidence and cause of anaemia in ulcerative colitis. *Gut.* 1967, 8, strony 107–114.
131. **Goodhand JR i Kamperidis N i wsp.** Prevalence and management of anemia in children, adolescents, and adults with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2011, Tom 18, 3, strony 513–9.
132. **Wiskin AE, Fleming BJ i Wootton SA.** Anaemia and iron deficiency in children with inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis.* 2012, 6, strony 687–691.
133. **Igný Iwona, Piatkowska Patrycja i Roszak Dorota.** MIKROFLORA JELITOWA A ROZWÓJ NIESWOISTYCH ZAPALEŃ JELIT U DZIECI. *Nowiny Lekarskie.* 2007, Tom 76, 1, strony 59–64.
134. **Diaz-Ochoa Vladimir i Jellbauer Stefan i wsp.** Transition metal ions at the crossroads of mucosal immunity and microbial pathogenesis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* 2014, Tom 4, 2.
135. **Blumenstein Irina, Dignass Axel i Vollmer Stephan i wsp.** Current practice in the diagnosis and management of IBD-associated anaemia and iron deficiency in Germany: The German Anaemia IBD Study. *Journal of Crohn's and Colitis.* 2014, Tom 8, strony 1308–1314.
136. **Ranaldi Giulia, Ferruzza Simonetta i Canali Raffaella.** Intracellular zinc is required for intestinal cell survival signals triggered by the inflammatory cytokine TNF- α . *Journal of Nutritional Biochemistry.* 2013, Tom 24, strony 967–976.
137. **Vagianos K, Bector S i McConnell J i wsp.** Nutrition assessment of patients with inflammatory bowel disease. *JPEN.* 2007, 31, strony 311–319.
138. **Nabet TH, van den Hamer CJ i Baadenhuysen H.** The value of methods to determine zinc deficiency in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol.* 1998, Tom 33, 5, strony 514–523.
139. **Denner G, Zwahlen M i Brinkman M i wsp.** Selenium for preventing cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011, 5, str. CD005195.
140. **Geerling BJ, Badart-Smook A i Stockbrugger RW i wsp.** Comprehensive nutritional status in recently diagnosed patients with inflammatory bowel disease compared with population controls. *Eur J Clin Nutr.* 2000, 54, strony 514–521.
141. **Sturnilo GC, Mestriner C i Lecis PE i wsp.** Altered plasma and mucosal concentrations of trace elements and antioxidants in active ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol.* 1998, 33, strony 644–649.
142. **Ringstad J, Kildebo S i Thomassen Y.** Serum selenium, copper and zinc concentration in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol.* 1993, 28, strony 605–608.
143. **Fernandez-Banares F, Mingorance MD i Esteve M i wsp.** Serum zinc, copper, and selenium levels in inflammatory bowel disease: effect of total enteral nutrition on trace element status. *Am J Gastroenterol.* 1990, 85, strony 1584–1589.
144. **Btaiche IF, Caraver PL i Welch KB.** Dosing and monitoring of trace elements in long-term home parenteral nutrition patients. *JPEN J.* 2011, 35, strony 736–747.

145. **Smith Elisabeth Anne, Newland Paul i Bestwick Keith George.** Increased whole blood manganese concentrations observed in children with iron deficiency anaemia. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2013, 27, strony 65-69.
146. **Biasi Fiorella i Leonarduzzi Gabriella i wsp.** Inflammatory Bowel Disease: Mechanisms, Redox Considerations, and Therapeutic Targets. *Antioxidants and Redox signaling*. 2013, Tom 19, 14, strony 1711-1747.
147. **Malavolta Marco, Piacenza Francesco i Basso Andrea.** Serum copper to zinc ratio: Relationship with aging and health status. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2015, Tom xxx, strony xxx-xxx ARTICLE IN PRESS.
148. **Krawit EL, Beeken BL i Janney CD.** Calcium absorption in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1976, Tom 71, 2, str. 251.
149. **Tong GM i Rude RK.** Magnesium deficiency in critical illness. *J Intensive Care Med*. 2005, Tom 20, 1, str. 3.
150. **Flink EB.** Magnesium deficiency. Etiology and clinical spectrum. *Acta Med Scand Suppl*. 1981, Tom 647, str. 125.
151. **Habtezion A i Silverberg MS i wsp.** Risk factors for low bone density in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2002, Tom 8, 2, str. 87.
152. **Matkovic V, Jelic T i Wardlaw GM.** Timing of peak bone mass in Caucasian females and its implication for the prevention of osteoporosis. Inference from a cross-sectional model. *J Clin Invest*. 1994, Tom 93, 2, str. 799.
153. **Wong ET, Rude RK i Singer FR.** A high prevalence of hypomagnesemia and hypermagnesemia in hospitalized patients. *Am J Clin Pathol*. 1983, Tom 79, 3, str. 348.