

Wakacyjna ekspozycja na słońce zwiększa stężenie witaminy D oraz dimerów tymidynowych u dzieci przebywających na obozie

Holiday sun exposure increases level of vitamin D and thymine dimers in children

Joanna Sieniawska¹, Aleksandra Lesiak¹, Dan Segerbäck²,
 Antony Richard Young³, Anna Woźniacka¹, Joanna Narbutt¹

¹ Klinika Dermatologii i Wenerologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

² Karolinska Institute, Department of Biosciences and Nutrition, Szwecja

³ King's College London, St. John's Institute of Dermatology, Londyn, Wielka Brytania

Praca finansowana z grantu EU nr 227020: *The Impact of Climate and Environmental Factors on Personal Ultraviolet Radiation Exposure and Human Health (ICEPURE)* NCN nr 2012/05/B/N25/01885 oraz funduszy prac statutowych UM w Łodzi 503/1–152–01/503–11–002.

STRESZCZENIE

Wstęp: Ekspozycja na słońce powoduje syntezę witaminy D, która odgrywa istotną rolę w wielu procesach zachodzących w organizmie człowieka. Celem pracy było ustalenie wpływu UVR na syntezę witaminy D oraz uszkodzenie DNA w populacji dzieci w wieku szkolnym w odniesieniu do indywidualnej dawki promieniowania.

Materiał i metody: Badanie przeprowadzono w okresie wakacyjnym na grupie 32 dzieci rasy kaukaskiej podczas 2-tygodniowego pobytu nad Morzem Bałtyckim. Od wszystkich ochotników pobrano próbki krwi w celu pomiaru stężenia witaminy D, parathormonu, *cross-laps*, osteokalcyny i moczu w celu analizy uszkodzenia DNA na podstawie oceny stężenia dimerów tymidynowych (T = T). Pomiarów dokonano 24 godziny przed wyjazdem oraz 24 godziny po powrocie z wakacji.

Wyniki: Analiza statystyczna wykazała znaczne różnice w wartościach PPF zmierzonych na czole oraz wartościach PPF i pigmentacji mierzonych na ramionach i przedramionach. Wykazano dodatnią korelację pomiędzy PPF zmierzonym na czole a zmianą stężenia 25(OH) D. Mediana stężenia 25(OH)D po powrocie z obozu wzrosła istotnie w stosunku do poziomu wyjściowego. Stężenie PTH (parathormonu), osteokalcyny oraz *cross-laps* nie zmieniło się istotnie statystycznie po ekspozycji na promieniowanie słoneczne. Stężenie dimerów tymidynowych wzrosło znamienne statystycznie po ekspozycji na słońce, uzyskując wyższe wartości wśród dzieci z I/II fototypem skóry. Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem T = T a stężeniem witaminy D w surowicy.

Wnioski: Uzyskane wyniki wskazują zarówno korzystne, jak i szkodliwe działanie ekspozycji słonecznej na zdrowie dzieci. Zwiększenie poziomu witaminy D i z drugiej strony wzrost w syntezie T = T są niejednoznaczne w interpretacji. Dlatego wciąż aktualne wydaje się prowadzenie badań dotyczących indywidualnej ekspozycji na promieniowanie słoneczne, ochrony przeciwsłonecznej oraz suplementacji witaminą D.

Forum Derm. 2016; 2: 2, 73–80

Słowa kluczowe: promieniowanie słoneczne, witamina D, dimery tymidynowe

ABSTRACT

Introduction: Sun exposure involves to synthesis of vitamin D, which is associated with many processes in the human body. The aim of the study was to determine the effect of UVR on the synthesis of vitamin D and DNA damage in the population of children including the individual radiation dose.

Material and methods: The study was conducted on a group of 32 children during 2-week stay by the Baltic Sea. Blood samples were taken to measure levels of vitamin D, PTH, cross-laps and osteocalcin, and urine samples for analysis of DNA damage based on the concentration of thymidine dimers (T = T). Measurements were performed 24 hours before and 24 hours after returning. Statistical analysis revealed significant difference in PPF values measured on forehead and on upper and lower arm.

Results: Positive correlation between PPF on the forehead and change (Δ) 25(OH)D was founded. Median value of 25(OH)D after camp increased statistically comparing to baseline level. Levels of PTH, osteocalcin and cross-laps didn't differ significantly after sun exposure. T = T levels increased statistically significant after exposure and higher values was obtained among the children with I/II phototype. Statistical analysis gave no significant correlations between T = T levels and vitamin D concentration.

Conclusions: The results show both beneficial and harmful effects of natural sun exposure on children's health. Increase of vitamin D levels and on the other hand increase in T = T synthesis are confusing to be interpreted. Therefore, it still seems to be valid to conduct research involved individual exposure to sunlight, UVR protection and supplementation of vitamin D.

Forum Derm. 2016; 2: 2, 73–80

Key words: UVR, vitamin D, thymine dimers

Adres do korespondencji:

Joanna Sieniawska, Klinika Dermatologii i Wenerologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, pl. J Hallera 1, bud. 6,
 e-mail: joannasieniawska@op.pl

WPROWADZENIE

W większości krajów świata okres wakacyjny uważa się za bardzo istotny z powodu korzystnego wpływu na stan zdrowia dzieci w wieku szkolnym. Ekspozycja na słońce jest zalecana przez wielu ekspertów jako źródło syntezy witaminy D. Witamina D odgrywa istotną rolę w zachowaniu dobrego stanu zdrowia z powodu udziału w wielu procesach zachodzących w organizmie, takich jak mineralizacja kości oraz właściwości przeciwnowotworowe i protekcyjne w rozwoju chorób autoimmunologicznych [1–3]. Stężenie witaminy D w surowicy nie zależy jedynie od ekspozycji słonecznej, ale również od pigmentacji skóry, diety, suplementacji oraz czynników genetycznych [4, 5]. Nie ma praktycznie żadnych danych na temat związku pomiędzy indywidualnym narażeniem na UVR i stężeniem witaminy D w populacji dzieci w wieku szkolnym.

Z drugiej strony narażenie na promieniowanie ultrafioletowe (UVR, *ultraviolet radiation*) jest uważane za szkodliwe ze względu na właściwości immunosupresyjne, udział w procesie kancerogenezy oraz fotostarzeniu. Promieniowanie UV indukuje uszkodzenia biologiczne poprzez supresję komórkowej odpowiedzi immunologicznej. Jest to skomplikowany proces, zainicjowany przez chromofory znajdujące się w górnych warstwach skóry, które są zdolne do absorbowania promieniowania [6]. Jednym z takich chromoforów jest DNA (*deoxyribonucleic acid*; kwas deoksyrybonukleinowy), a najczęstszym produktem reakcji są cyklobutanowe dimery pirymidynowe (dimery tymidynowe, dTT, T = T). Uszkodzone dimery są naprawiane, ale proces ten jest powolny, a przybliżony okres półtrwania wynosi 33 godziny [7].

Uszkodzenia DNA obejmują wiele zmian biologicznych w skórze, takich jak rumień, oparzenia słoneczne, tworzenie komórek, nasilenie melanogenezy, immunomodulację [8–10]. W większości badań dotyczących wpływu promieniowania na układ odpornościowy u ludzi wykorzystywano źródła emitujące głównie UVB (*ultraviolet B*) i podawano pojedyncze dawki promieniowania powodującego rumień [11].

Jednak taki protokół nie imituje naturalnych warunków, ponieważ większość ludzi jest narażona na codzienną krótkotrwałą ekspozycję, głównie w okresie letnim, okazjonalnie doświadczając poparzeń słonecznych na ograniczonych powierzchniach ciała.

Według naszej wiedzy nie ma danych oceniających wpływ ekspozycji słonecznej w okresie wakacyjnym wśród dzieci rasy kaukaskiej z Europy Środkowej na syntezę witaminy D oraz uszkodzenia DNA ocenionego na podstawie zmiany stężenia dimerów tymidynowych. Dlatego celem niniejszego badania było ustalenie wpływu 2-tygodniowego pobytu nad Morzem Bałtyckim na te parametry w odniesieniu do indywidualnej dawki promieniowania UV. Kolejnym

celem było skorelowanie indywidualnych danych o ekspozycji słonecznej z danymi pochodzącymi ze stacji naziemnych i satelitarnych, które dostarczają informacji na temat środowiskowych i meteorologicznych czynników wpływających na ilość i jakość widma. Analizie poddano również zmiany stężenia witaminy D, parathormonu (PTH), osteokalcyny oraz C-końcowych usieciowanych telopeptydów kolagenu typu I (*cross-laps*, CTx) następujące po ekspozycji słonecznej. Oznaczenie *cross-laps* wykorzystywane jest do oceny resorpcji kostnej.

MATERIAŁY I METODY

Badaną grupę stanowiło 32 dzieci rasy kaukaskiej (21 dziewcząt, 11 chłopców; średnia wieku 8 lat i 9 miesięcy, zakres 8–10 lat). Dzieci spędziły dwa tygodnie na wakacyjnym obozie (23.06.2009–6.07.2009) nad Morzem Bałtyckim (Sztutowo 54° szerokości geograficznej północnej). Dzieci zostały zakwalifikowane do badania podczas spotkania z rodzicami w Szkole Podstawowej nr 2 w Łodzi. Kryteriami wykluczenia były: obecność jakiegokolwiek ostrej lub przewlekłej choroby, w tym choroby skóry, oraz przyjmowanie jakichkolwiek leków w czasie badania. Dzieci, które były poddawane intensywnej ekspozycji słonecznej w ciągu dwóch miesięcy przed rozpoczęciem badania lub przyjmowały suplementy witaminy D, również zostały z niego wykluczone. Przed rozpoczęciem badania wymagane było uzyskanie pisemnej zgody obojga rodziców na udział dziecka w eksperymencie oraz uzyskanie zgody komisji bioetycznej nr RNN/192/08/KE. Dzieci zostały zbadane przez pediatrę, pobrano krew do badań laboratoryjnych. Rodzice wypełnili kwestionariusz dotyczący nawyków związanych z opalaniem u dzieci oraz obiektywnych pomiarów i ocen (tab. 1). Od wszystkich ochotników pobrano próbki krwi 25(OH)D oraz moczu (analiza uszkodzenia DNA) 24 godziny przed wyjazdem oraz 24 godziny po powrocie z wakacji. U każdego dziecka rumień, pigmentację oraz PPF (*pigment protection factor*) mierzono UV — optymalizatorem w sześciu lokalizacjach (czoło, ramię, przedramię, plecy, pośladek, grzbietowa powierzchnia ręki) przed wyjazdem, codziennie wieczorem w trakcie wyjazdu oraz 24 godziny po powrocie. Wszyscy uczestnicy wypełniali dzienniczek podczas całego pobytu w Sztutowie. Dzieciom udzielono wskazówek, aby używały kremów z filtrem przeciwsłonecznym zgodnie ze swoimi przyzwyczajeniami.

Rumień i pigmentacja rejestrowane były za pomocą optymalizatora UV 555 (Chromo-Light, Espergaerde, Dania). Sonda składa się z dwóch świecących diod, fotodetektora oraz obwodów niezbędnych do gromadzenia i przekazywania danych dotyczących odbijania światła czerwonego i zielonego z powierzchni skóry do mikroprocesora. Uzyskane wyniki wyrażone były odsetkiem odbicia światła o długości fali 558 i 660 nm. Rumień, pigmentacja i PPF były określone

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna

Fototyp skóry	I	n = 1
	II	n = 10
	III	n = 15
	IV	n = 6
Kolor włosów	Rudy	n = 1
	Jasny blond	n = 8
	Ciemny blond	n = 16
	Brązowy	n = 7
Kolor oczu	Niebieski	n = 18
	Zielony	n = 3
	Szary	n = 2
	Jasno brązowe	n = 3
	Brązowe	n = 6
Oparzenie słoneczne w przeszłości	Nigdy	n = 20
	1/rok	n = 9
	2/rok	n = 2
	> 3/rok	n = 1
Opalanie w przeszłości	Nie	n = 11
	Rzadko	n = 14
	Często	n = 4
	Bardzo często	n = 1
	Przy każdej okazji	n = 2
Stosowanie kremów z SPF w przeszłości podczas wypoczynku	Nigdy	n = 7
	W połowie czasu	n = 11
	Zawsze	n = 9
	Tylko za granicą	n = 4
Czy wyglądasz lepiej z opalenizną?	Nie	n = 10
	Tak	n = 12
	Tak zdecydowanie	n = 10
Czy jesz ryby?	Tak	n = 7
	Nie	n = 25

na podstawie odczytów i automatycznie obliczane niezależnie od siebie. Pomiaru wykonywane były trzy razy dziennie w sześciu różnych lokalizacjach (czoło, ramię, przedramię, plecy, pośladek, grzbietowa powierzchnia ręki) przed wakacjami, każdego dnia wieczorem oraz 24 godziny po powrocie do domu. Uśredniono wartości z trzech pomiarów. Typ skóry według Fitzpatricka został określony również na początku badania.

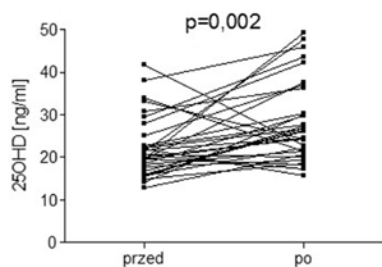
W próbkach krwi pobranych od uczestników analizowano poziom wyjściowy parathormonu metodą immunochemiluminescencji (IMMULITE Turbo intact PTH, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, Stany Zjednoczone), poziom 25(OH)D metodą radioimmunologiczną (BioSource Europe SA, Nivelles, Belgia), poziom *cross-laps* (Immunodiagnostic ELISA Systems GmbH (IDS GmbH), Frankfurt nad Menem, Niemcy) oraz osteokalcyny (ELISA Immuno-

diagnostic Systems GmbH (IDS GmbH), Frankfurt nad Menem, Niemcy). Tę samą procedurę powtórzono 24 godziny po powrocie z letniego obozu. Aby zminimalizować odchylenie badanych parametrów, pobrano dwie próbki surowicy od każdego badanego i każdą analizę przeprowadzono dwukrotnie.

W ciągu całego pobytu dzieci nosiły osobisty, elektroniczny dozymetr *SunSaver*. Dozymetr składa się z czujnika i rejestratora danych. Silicon Carbide Photodiode (JECF1-IDE, Laser Components, Niemcy) został wybrany jako czujnik, ponieważ jest wrażliwy w zakresie 200–400 nm długości fali. Zakres widma jest podobny do spektrum CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage*). Rejestrator kontroluje czujnik ustawiony na pomiar co osiem sekund i przechowuje średnią z ostatnich 75 pomiarów z ostatnich 10 minut. Zakres pomiaru dozymetru wynosi 0,1 SED/godz. do 23 SED/godz. Urządzenie jest zasilane bateriami. Może pracować przez 145 dni bez konserwacji, a dane mogą być przesyłane bezpośrednio do komputera. Ten rodzaj dozymetru w zaktualizowanej wersji został wykorzystany w badaniach terenowych [12]. Skorelowane w czasie pomiary UVR i dane pochodzące z dzienniczków zawierające informacje dotyczące zachowania uczestników badania oraz parametry laboratoryjne zostaną poddane analizie.

Analiza uszkodzenia DNA

W celu ustalenia kinetyki zmian próbki moczu z każdego dnia analizowano osobno. Dla określenia ilościowego próbek moczu z dni 1–5 połączono i tylko z dnia 0 były analizowane osobno. Próbkę moczu przechowywano w temperaturze pokojowej i przesączono z użyciem filtra o rozmiarze porów 0.22 μm . T = T uzyskano z oczyszczenia 10 AL moczu za pomocą metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC, *high-performance liquid chromatography*). Czas retencji T = T (dimerów tymidynowych) także oznaczono przez powtarzalną analizę HPLC z wykorzystaniem standaryzowanych T = T (przygotowane wcześniej) i wynosił 8,2 min. Frakcja wyizolowana pomiędzy 7,3 i 9,1 min została zebrana, zliofilizowana i ponownie rozpuszczona w 40 AL wody. Dimery pirymidynowe są bardzo słabo reaktywnymi substratami w reakcji z kinazą polinukleotydową T4, z tego powodu T = T poddano działaniu UVC (*ultraviolet C*), aby przekształcić w łatwo oznaczalne macierzyste dinukleotydy TpT, jak opisano wcześniej [13]. Oczyszczona próbka 40 AL została przeniesiona do 96-kolumnowej płytki i poddana ekspozycji na promieniowanie UV w dawce 10 kJ/m² wytwarzane przez lampę UVC emitującą monochromatyczną wiązkę światła o długości 254 nm (Stratalinker, La Jolla, Kalifornia). Próbki uprzednio poddane ekspozycji UV zostały przeniesione do probówki Eppendorfa o pojemności 500 AL, odparowane do sucha, a następnie dinukleotydy TpT oznakowano na końcu 5V przy użyciu fosforu 32 (P(32)). Uzyskano do badania materiał zawierający 0,2 AL buforu [20 mmol/l, kwas



Rycina 1. Stężenie witaminy D przed wyjazdem na wakacje i po powrocie

2-(N-cykloheksyloamino)etanosulfonowy, 10 mmol/l MgCl₂, 10 mmol/l ditiotrietolu i 1 mmol/l spermidyny (pH = 9,6)], 1,4 ALof [g-³²P] ATP (aktywność właściwa > 6000 Ci/mmol) i 3 jednostki 0,1 AL (I) kinazy polinukleotydowej T4 (ATP i kinazę otrzymano z Amersham, Uppsala, Szwecja). Próbkę poddano 30-minutowej inkubacji w temperaturze 36°C, rozcieńczono w 5 AL wody i analizowano w systemie HPLC wyposażonym w detektor radioizotopowy mający łączność z Internetem. Duplikaty próbek standardowych T = T o objętości 10 fmol były analizowane jako zewnętrzne standardy równoległe z każdą serią próbek uzyskanych od pacjentów. Oznaczenia były przeprowadzone w ten sam sposób, co przy poprzednich próbkach, oczyszczone w procesie HPLC, poddane działaniu UVC, oznakowane i zanalizowane z użyciem metody P(32) HPLC.

Poziom radioaktywności dla piksu P(32) w dinukleotydzie TpT uzyskanego ze standardowego T = T użyto do obliczenia poziomu T = T w badanych próbkach moczu.

Wszystkie próbki wykorzystywane w celu oznaczenia kinetyki zmian analizowano jednokrotnie. Do oznaczeń ilościowych próbki moczu zebrane w okresie od pierwszego do piątego dnia analizowano w dwóch powtórzeniach. W celu skorygowania różnic w stężeniu w moczu poziomy T = T zostały odniesione do poziomów kreatyniny metodą Jaffa [14]. Całkowita objętość moczu nie była mierzona, ale oszacowana w zależności od 24-godzinnej wydalenia kreatyniny, zakładając, że wynosi ono 160 amol kreatyniny na kg masy ciała dziennie dla kobiet i 200 amol u mężczyzn [15]. W celu umożliwienia dokonywania porównań dane zostały również dostosowane do dawki UV oraz powierzchni ciała. Oczyszczanie próbek moczu przeprowadzono metodą HPLC z użyciem Beckman Instruments (model 126 pump) współpracującego z System Gold oraz podłączonego do modelu 168 diodowego detektora (Beckman Instruments, San Ramon, Kalifornia). Użyto kolumny 5Am, 4,6 250 mm o fazie odwróconej C18 (2) Luna (Phenomenex, Torrance, Kalifornia).

Filtry prekolumn umieszczono przed kolumnami. Kolumnę eluowano izokratycznie przy użyciu 50 mmol/l mrówczanu amonu (pH 4,6) zawierającego 5-procentowy

roztwór metanolu. Przepływ wynosił 0,7 ml/min. Fosfor ³²TpT zanalizowano w systemie HPLC połączonym z radioizotopowym detektorem (model 171, Beckman Instruments). Użyto kolumny C18 4 Am, 2.0 250 mm Synergi Hydro-RP (Phenomenex) wyposażonej w filtr prekolumnowy. Elucję z liniowym gradientem przeprowadzono ze 100-procentowym mrówczanem amonu o stężeniu 0,5 mol/l, kwasem ortofosforowym o stężeniu 20 mmol/l (pH 4,6). Elucję przeprowadzono w gradiencie linearnym, rozpoczynając od 0,5 mol/l 100-procentowego mrówczanu amonu, 20 mmol/l kwasu ortofosforowego (pH 4,6), dochodząc do 20-procentowego metanolu w ciągu 30 minut. Szybkość przepływu wynosiła 0,2 ml/min i utrzymywana była za pomocą odpowiedniego urządzenia.

WYNIKI

Pogoda w Sztutowie była zmienna. Podczas pobytu odnotowano sześć słonecznych, pięć pochmurnych i dwa deszczowe dni. Średni indeks UV wynosił 7,3 i mieścił się w zakresie 1,6–10,1.

Pomiary rumienia, pigmentacji i PPF

Szczegółowe dane na temat rumienia, pigmentacji i PPF ujęte są w tabeli 2. Analiza statystyczna wykazała znaczne różnice w wartościach PPF mierzonych na czole (p = 0,01), w wartościach PPF i pigmentacji mierzonych na ramionach i przedramionach p < 0,05 dla wszystkich porównań; w przypadku rumienia, wartości PPF i pigmentacji mierzonych na plecach i grzbietowych powierzchniach rąk p < 0,05 wynosiło dla wszystkich pomiarów. Dla pomiarów dokonanych w okolicy skóry policzka nie było różnicy statystycznej (p > 0,05). Dodatkowo wykazano korelację pomiędzy PPF zmierzonym na czole a Δ25(OH)D (r = 0,14; p < 0,05).

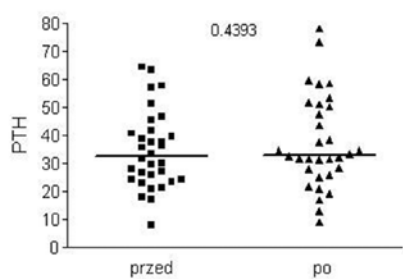
Stężenie witaminy D, parathormonu, osteokalcyny i cross-laps w surowicy

Średnia wartość 25(OH)D po powrocie z obozu uzyskała wzrost w stosunku do poziomu podstawowego (26,2 ng/ml vs. 20,3; p = 0,002) (ryc. 1).

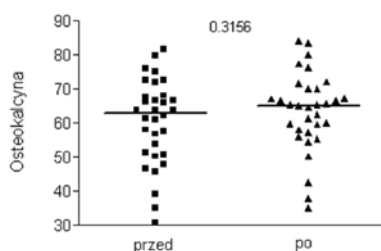
Stężenie PTH, osteokalcyny oraz *cross-laps* nie zmieniło się znacząco w stosunku do wartości uzyskanych przed wyjazdem (PTH 32,9 pg/ml vs. 32,6; osteokalcyna 65,2 ng/ml vs. 63,0 ng/ml; *cross-laps* 2,0 vs. 1,9 ng/ml; p > 0,05 dla wszystkich parametrów) (ryc. 2–4).

Uszkodzenie DNA

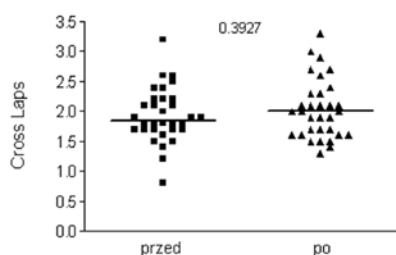
Stężenie T = T w moczu wzrosło znamienne statystycznie po dwóch tygodniach naturalnej ekspozycji na słońce od średniej wartości 25,15 fmol/μmol (w przedziale 7,97–68,64) do 248,9 fmol/μmol (w przedziale 24,91–522,5); p < 0,0001. Zaobserwowano około 12-krotny wzrost stężenia T = T w moczu. Analizując stężenia T = T i fototypy



Rycina 2. Stężenie parathormonu przed wyjazdem na wakacje i po powrocie



Rycina 3. Stężenie osteokalcyny przed wyjazdem na wakacje i po powrocie



Rycina 4. Stężenie cross-laps przed wyjazdem na wakacje i po powrocie

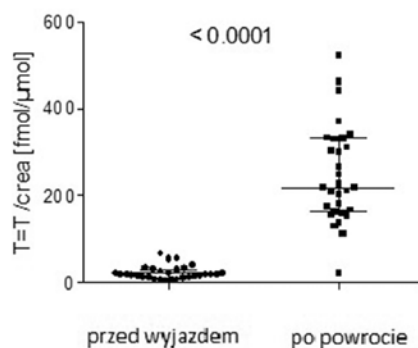
skóry przed pobytem na obozie i po nim wykazano wyższe wartości w stężeniu T = T wśród dzieci z I/II fototypem po ekspozycji na słońce ($p = 0,03$), podczas gdy ta różnica nie była zauważalna przed obozem. Analiza statystyczna nie wykazała korelacji pomiędzy stężeniem T = T a stężeniem witaminy D w surowicy (ryc. 5).

PODSUMOWANIE

Dane z piśmiennictwa wskazują, że dzieci i młodzież są znacznie częściej niż dorośli narażone na działanie promieniowania słonecznego [16]. Ponadto roczna dawka UV otrzymana przez dzieci jest około trzy razy wyższa niż przez dorosłych [17]. Nowotwory skóry niemelanocytarne są wywołane głównie przez przewlekłą ekspozycję UVR zależną od dawki. Dawka skumulowana otrzymana w ciągu całego życia wpływa na skórę bezpośrednio poprzez indukowanie uszkodzenia DNA oraz pośrednio poprzez zmiany w systemie immunologicznym [18]. Z drugiej strony przerywana ekspozycja na słońce, zwłaszcza w dzieciństwie, jest związana z patogenezą czerniaka głównie u osób o niskim fototypie skóry [19]. Biorąc pod uwagę te dane można przyjąć, iż ekspozycja na światło słoneczne powinna być ograniczona, zwłaszcza wśród dzieci i młodzieży. Tak więc, kampanie edukacyjne i informacyjne na temat ochrony przeciwśłonecznej powinny być kierowane już do dzieci w wieku przedszkolnym i uczniów szkół podstawowych. Dzieci powinny nauczyć się zachowywać odpowiednio na świeżym powietrzu i uzyskać podstawową wiedzę na temat właściwości UVR [20]. Jednym z pierwszych programów edukacyjnych był *Sun-Wise Programme*, który został opracowany w Stanach Zjednoczonych w celu zwiększenia poziomu wiedzy na temat UVR oraz stosowania filtrów przeciwśłonecznych w celu ograniczenia szkodliwych skutków nadmiernej

Tabela 2. Pomiary rumienia, pigmentacji oraz PPF w badanej grupie przed i po wakacjach

Lokalizacja	Rumień (%)			Pigmentacja (%)			PPF		
	Min.	Maks.	Mediana	Min.	Maks.	Mediana	Min.	Maks.	Mediana
Czoło przed	4,2	23,0	13,0	15,9	32,3	25,0	5,9	9,0	7,2
Czoło po	2,1	25,0	10,8	14,0	34,7	26,6	4,8	9,9	8,0
Ramię przed	3,0	14,6	9,2	21,0	28,0	30,0	6,0	10,5	8,6
Ramię po	2,5	17,0	9,4	26,0	50,5	57,7	7,8	13,8	10,8
Przedramię przed	4,2	18,0	9,0	22,0	35,0	27,0	6,9	10,2	8,0
Przedramię po	3,5	25,0	10,7	27,0	46,0	33,4	8,1	30,2	9,9
Plecy przed	2,0	20,5	13,2	15,3	32,0	20,5	5,1	9,9	6,6
Plecy po	2,9	45,0	15,5	18,0	41,5	27,5	6,0	13,0	8,4
Pośladki przed	7,9	29,0	17,0	11,0	24,0	17,5	4,2	8,6	6,0
Pośladki po	7,8	32,0	17,3	11,4	22,6	18,3	4,2	6,9	6,6
Grzbietowa powierzchnia ręki przed	3,5	32,5	16,1	17,0	40,0	28,0	6,0	10,5	8,4
Grzbietowa powierzchnia ręki po	2,5	24,6	13,6	19,0	45,8	36,6	8,1	12,6	10,5



Rycina 5. Stężenie dimerów tymidynowych przed wyjazdem na wakacje i po powrocie

ekspozycji na słońce. Według wyników *Sun-Wise Programme* każdy dolar zainwestowany w edukację przynosi 2–4 dolary oszczędności w zakresie świadczeń zdrowotnych [21].

Spektrum działania, które indukuje skórą syntezę witaminy D znajduje się w zakresie UVB w dawkach suberytematogennych, natomiast w wysokich dawkach dochodzi do konwersji 25(OH)D do nieaktywnych metabolitów z jednoczesnym wzrostem syntezy fotoproduktów [22, 23].

Chociaż UVR jest uważany za główne źródło witaminy D, interakcje między jego pozytywnym wpływem na syntezę i szkodliwym na uszkodzenia DNA oraz fotokancerogenezę są bardzo skomplikowane i wciąż słabo poznane. Ograniczenie ekspozycji na słońce jest bardzo ważne, aby zmniejszyć liczbę nowotworów skóry, jednak nie ma pozytywnego wpływu na stężenie witaminy D. Synteza witaminy D w skórze zależy od czynników genetycznych i fenotypowych oraz fototypu skóry osób z niższym fototypem skóry (I/II) dochodzi do syntezy większej ilości witaminy D po pierwszej ekspozycji umiarkowanym UVR w porównaniu z osobami z wyższym fototypem.

W niniejszym badaniu wykazano statystycznie istotny wzrost syntezy witaminy D po letnim obozie, bez korelacji z fototypem i pigmentacją skóry. Wskaźnik PPF, który jest uważany za obiektywną miarę fototypu skóry, zwiększył się podczas obozu we wszystkich eksponowanych lokalizacjach. Podczas analizy korelacji między PPF i poziomem witaminy D nie znaleziono żadnej zależności z wyjątkiem pomiarów dokonanych na czole. Ze względu na stosunkowo niewielką liczbę badanych dzieci oraz bardzo niewiele danych na ten temat w piśmiennictwie można założyć, że ta pozytywna korelacja jest raczej przypadkowa. To stwierdzenie jest zgodne z danymi opublikowanymi przez Bogh i wsp., którzy nie znaleźli związku między syntezą witaminy D pod wpływem UVR [24]. Podczas letniego obozu pogoda była zróżnicowana z pochmurnymi i deszczowymi dniami. Dzieci używały filtrów przeciwsłonecznych według własnych przyzwyczajień. Z pamiętników słonecznych, które

były codziennie uzupełniane, wynika, że większość dzieci używała filtrów przeciwsłonecznych SPF 20–30, ale tylko na odsłonięte powierzchnie skóry.

Optymalne stężenie witaminy D u dzieci wymagane dla normalnego wzrostu i rozwoju szkieletu wynosi 20 ng/ml (50 nmol/l) [25]. U badanych dzieci wartości poniżej 20 ng/ml (zakres 14,9–19,60 ng/ml) występowało u 15 z 32 ochotników. Po 2-tygodniowym pobycie nad morzem wartości poniżej 20 ng/ml obserwowano jedynie w trzech przypadkach. Nie odnotowano żadnego wpływu ekspozycji słonecznej podczas obozu na inne parametry mineralizacji kości, takie jak osteokalcyna, *cross-laps* i parathormon.

Istnieje wiele czynników, które mogą mieć wpływ na efektywność indukowania produkcji witaminy D pod wpływem promieniowania słonecznego. Powierzchnia skóry, która jest narażona na słońce, wykazuje zróżnicowanie w syntezie witaminy D. Wyniki badania przeprowadzonego wśród małych dzieci w Ohio przynoszą następujące dane. W grupie, w której dzieci były w ubraniu (bez czapki) i karmione wyłącznie piersią, wykazano, że 2-godzinna ekspozycja na słońce tygodniowo była potrzebna do utrzymania 25(OH)D na poziomie wyższym niż stężenie 27,5 nmol/l, w porównaniu z dziećmi, które były ubrane tylko w pieluchę, dla których wystarczająca była ekspozycja 30 min/tydzień [26].

Postulowano, że krótkotrwałe narażenie na wysokie dawki światła słonecznego powoduje maksymalny wzrost stężenia witaminy D w surowicy z najniższym ryzykiem wystąpienia rumienia [27].

Zalecane jest zarówno dla dzieci, jak i zdrowych dorosłych, aby odsłonić ramiona i nogi na 5–30 minut między godziną 10:00 rano a 15:00 dwa razy w tygodniu, aby utrzymać optymalne stężenie witaminy D [28]. Autor zaleca również stosowanie kremu z filtrem SPF-15 lub wyższym po ekspozycji, jeśli osoba chce pozostać na zewnątrz [29]. Przeciwnie, zgodnie z *American Academy of Dermatology* maksymalna synteza witaminy D występuje po 2–5 min ekspozycji podczas letniego południa u osób o jasnej karnacji mieszkających w Nowym Jorku czy Bostonie. Chociaż powszechnie wiadomo, że witamina D jest ważna dla zdrowia w opinii ekspertów nie jest wskazane, aby ekspozycja na słońce była podstawowym źródłem witaminy D, ponieważ UVR jest znanym czynnikiem rakotwórczym [30].

Promieniowanie UVB i UVA znajduje się w spektrum światła słonecznego i wpływa na nasz organizm. UVB przenika do naskórka, jest absorbowane przez fotochromy i może bezpośrednio powodować uszkodzenie DNA, co w konsekwencji może prowadzić do rozwoju raka skóry. W naskórku fotony absorbowane są przez DNA, co prowadzi do powstawania cyklobutanowych dimerów pirymidynowych i (6–4) fotoproduktów. W prawidłowych warunkach prawidłowa naprawa tych zmian zapobiega powstawaniu mutacji i rozwoju raka. Kiedy jednak systemy naprawy

DNA są niewystarczające lub gdy skóra jest narażona na słońce, komórki naskórka mogą mutować i prowadzić do rozwoju nowotworów. UVA przenika głębiej do skóry i ma zdolność do powodowania uszkodzeń oksydacyjnych DNA i zmian mutagennych.

Badania eksperymentalne wykazały, że nawet suberytematyczna dawka generuje powstawanie dimerów tyminy, a prawidłowe stosowanie filtrów przeciwsłonecznych jest skuteczne w zapobieganiu uszkodzeń DNA wywołanych przez UV [31, 32]. Dlatego też ochrona przeciwsłoneczna może być bardzo skuteczna w zapobieganiu rozwojowi raka skóry, jednak z drugiej strony regularne i odpowiednie wykorzystanie ochrony przeciwsłonecznej może hamować syntezę witaminy D. Dotychczas uzyskano niewiele danych, a przeprowadzone badania dają sprzeczne wyniki [33, 34].

Dimery tyminy są zwykle barwione w naskórku immunohistochemicznie jednak jest to metoda inwazyjna. Z tego powodu do oznaczeń stosuje się ocenę ilościową z wykorzystaniem znakowania P(32) w połączeniu z wysokosprawną chromatografią cieczową. Według danych z piśmiennictwa jest to metoda nieinwazyjna, umożliwiającą wykrywanie biomarkerów ekspozycji na UV, co jest niezwykle ważne w badaniach przeprowadzanych u dzieci [35].

Podczas obozu dzieci były nadzorowane przez nauczycieli, którzy organizowali czas wolny. Z obserwacji wynika, że podczas słonecznych dni dzieci przebywały na plaży od 10:30 do 17:00 z przerwą na lunch. W pochmurne dni również spędzały wiele czasu na świeżym powietrzu, chodząc na spacer, uprawiając sport — piłka nożna, tenis, siatkówka. Analiza stężenia dimerów tymidynowych w moczu wykazała znaczny wzrost. Synteza T = T koreluje negatywnie z fototypem skóry, co jest kolejnym dowodem, że osoby z niskim fototypem skóry są bardziej podatne na fotoimmunosupresję [11]. Uzyskane wyniki są bardzo interesujące, zwłaszcza, że obóz odbywał się w klimacie umiarkowanym, przez co rumień i oparzenia słoneczne u dzieci występowały sporadycznie. Dzieci zachowywały się naturalnie, jak większość dzieci podczas wakacji. Jednym z wyjaśnień tego wzrostu w T = T może być fakt, że dzieci wyjechały na wakacje 24 godziny po zakończeniu roku szkolnego. Dzieci uczestniczące w badaniu pochodziły z Łodzi i obiektywnie nie spędzały dużo więcej czasu na świeżym powietrzu. Być może, jeśli badanie zostało przeprowadzone pod koniec sierpnia, doszłoby do rozwoju mechanizmów fotoadaptacyjnych i nie obserwowano by takiego zjawiska.

Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują zarówno korzystne, jak i szkodliwe działanie naturalnej ekspozycji słonecznej na zdrowie dzieci. Zwiększenie poziomu witaminy D i z drugiej strony wzrost w syntezie T = T są niejednoznaczne w interpretacji. Dlatego też wciąż aktualne wydaje się prowadzenie badań dotyczących indywidualnej ekspozycji na

promieniowanie słoneczne, ochrony przeciwsłonecznej oraz suplementacji witaminą D. Tylko dalsze poszukiwania mogą na przestrzeni kolejnych lat przyczynić się do opracowania indywidualnych scenariuszy racjonalnego korzystania ze słońca.

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

PIŚMIENNICTWO

1. Garland C.F., Gorham E.D., Mohr S.B., Garland F.C. Vitamin D for cancer prevention: global perspective. *Ann. Epidemiol.* 2009; 19: 468–483.
2. Artaza J.N., Mehrotra R., Norris K.C. Vitamin D and the cardiovascular system. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 4: 1515–1522.
3. Bouillon R., Eelen G., Verlinden L., Mathieu C., Carmeliet G., Verstuyf A. Vitamin D and cancer. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 2006; 102: 156–162.
4. Glass D., Lens M., Swaminathan R., Spector T.D., Bataille V. Pigmentation and vitamin D metabolism in Caucasians: low vitamin D serum levels in fair skin types in the UK. *PLoS One.* 2009; 4: e6477.
5. Wang T.J., Zhang F., Richards J.B. i wsp. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet* 2010; 376: 180–188.
6. Ullrich S.E. Mechanisms underlying UV-induced immune suppression. *Mutat. Res.* 2005; 57: 185–205.
7. Young A.R., Chadwick C.A., Harrison G.I. i wsp. The in situ repair kinetics of epidermal thymine dimers and 6-4 photoproducts in human skin types I and II. *J. Invest. Dermatol.* 1996; 106: 1307–1313.
8. Young A.R., Chadwick C.A., Harrison G.I. i wsp. The similarity of action spectra for thymine dimers in human epidermis and erythema suggests that DNA is the chromophore for erythema. *J. Invest. Dermatol.* 1998; 111: 982–988.
9. Stege H., Roza L., Vink A.A. i wsp. Enzyme plus light therapy to repair DNA damage in ultraviolet-B-irradiated human skin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000; 97: 1790–1795.
10. Eller M.S., Ostrom K., Gilchrest B.A. DNA damage enhances melanogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93: 1087–1092.
11. Kelly D.A., Walker S.L., McGregor J.M., Young A.R. A single exposure of solar simulated radiation suppresses contact hypersensitivity responses both locally and systemically in humans: quantitative studies with high frequency ultrasound. *J. Photochem. Photobiol. B.* 1998; 44: 130–142.
12. Heydenreich J., Wulf H.C. Miniature personal electronic UVR dosimeter with erythema response and time-stamped readings in a wristwatch. *Photochem. Photobiol.* 2005; 81: 1138–1144.
13. Weinfeld M., Liuzzi M., Paterson M.C. Enzymatic analysis of isomeric trithymidylates containing ultraviolet light-induced cyclobutane pyrimidine dimers. II. Phosphorylation by phage T4 polynucleotide kinase. *J. Biol. Chem.* 1989; 264: 6364–6370.
14. Seaton B., Ali A. Simplified manual high performance clinical chemistry methods for developing countries. *Med. Lab. Sci.* 1984; 41: 327–336.
15. Le Curieux F., Hemminki K. Cyclobutane thymidine dimers are present in human urine following sun exposure: quantitation using 32P-postlabeling and high-performance liquid chromatography. *J. Invest. Dermatol.* 2001; 117: 263–268.
16. Thieden E., Philipsen P., Heydenreich J., Wulf H. UV radiation exposure relate to age, sex, occupation and sun behavior based on time-stamped personal dosimeter readings. *Arch. Dermatol.* 2004; 140: 197–203.
17. Godar E., Urbach F., Gasparro F.P., van der Leun J.C. UV doses of young adults. *Photochem. Photobiol.* 2003; 77: 453–457.
18. Van Kranen H.J., Westerman A., Berg R.J. i wsp. Dose-dependent effects of UVB induced skin carcinogenesis in hairless p53 knock-out mice. *Mutat. Res.* 2005; 571: 81–90.
19. Gilchrest B.A., Eller M.S., Geller A.C., Yaar M. The pathogenesis of melanoma induced by UV radiation. *N. Eng. J. Med.* 1999; 340: 1341–1348.
20. Buller D., Buller M., Reynolds K. A survey on sun protection policy and education in secondary schools. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2006; 54: 427–432.
21. Kyle J.W., Hammitt J.K., Lim H.W. i wsp. Economic evaluation of the US Environmental Protection Agency's Sun-Wise Program: sun protection education for young children. *Pediatrics.* 2008; 121. www.pediatrics.org/cgi/content/full/121/5/e1074

22. Lehmann B., Meurer M. Vitamin D metabolism. *Dermatol. Ther.* 2010; 23: 2–12.
23. Lim H.W., Carucci J.A., Spencer J.M., Rigel D.S. Commentary: a responsible approach to maintaining adequate serum vitamin D levels. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2007; 57: 594–595.
24. Bogh M.K., Schmedes A.V., Philipsen P.A., Thieden E., Wulf H.C. Vitamin D Production after UVB Exposure Depends on Baseline Vitamin D and Total Cholesterol but Not on Skin Pigmentation. *J. Invest. Dermatol.* 2009.
25. Wagner C.L., Greer F.R. American Academy of Pediatrics, Section on Breastfeeding and Committee on Nutrition. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents [published correction appears in *Pediatrics.* 2009; 123: 197]. *Pediatrics.* 2008; 122: 1142–1152.
26. Specker B.L., Valanis B., Hertzberg V., Edwards N., Tsang R.C. Sunshine exposure and serum 25hydroxyvitamin D concentrations in exclusively breast-fed infants. *J. Pediatr.* 1985; 107: 372–376.
27. Sayre R.M., Dowdy J.C. Darkness at noon: sunscreens and vitamin D3. *Photochem. Photobiol.* 2007; 83: 459–463.
28. Holick M.F. Vitamin D deficiency. *N. Engl. J. Med.* 2007; 357: 266–281.
29. Holick M.F. Vitamin D: a millenium perspective. *J. Cell. Biochem.* 2003; 88: 296–307.
30. American Academy of Dermatology; AAD Association. Vitamin D and UV exposure. www.aad.org/members/media/_doc/Vitamin%20D%20and%20UV%20Exposure%202007%20%20FINAL.doc. Accessed February 8, 2011
31. Narbutt J., Lesiak A., Jochymski C., Kozłowski W., Sysa-Jedrzejowska A., Norval M. Increased cyclooxygenase expression and thymine dimer formation after repeated exposures of humans to low doses of solar simulated radiation. *Exp. Dermatol.* 2007; 16: 837–843.
32. Al Mahroos M., Yaar M., Phillips T.J., Bhawan J., Gilchrist B.A. Effect of sunscreen application on UV-induced thymine dimers. *Arch. Dermatol.* 2002; 138: 1480–1485.
33. Norval M., Wulf H.C. Does chronic sunscreen use reduce vitamin D production to insufficient level. *Br. J. Dermatol.* 2009; 161: 732–736.
34. Springbett P., Buglass S., Young A.R. Photoprotection and vitamin D status. *J. Photobiol. Photochem. B.* 2010; 101: 160–168.
35. Kotova N., Hemminki K., Segerbäck D. Urinary thymidine dimer as a marker of total body burden of UV-inflicted DNA damage in humans. *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.* 2005; 14: 2868–2872.