UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU

WYDZIAŁ NAUK O ZDROWIU



Mgr. Ewa Trusewicz

WPŁYW DIETY I SUPLEMENTÓW WITAMINY D3 NA POZIOM RÓŻNYCH METABOLITÓW WITAMINY D ORAZ JEJ AKTYWNEJ FORMY – KALCYTRIOLU U KOBIET CHORYCH NA CHOROBĘ HASHIMOTO W PORÓWNANIU Z KOBIETAMI ZDROWYMI

Praca napisana pod kierunkiem

dr hab. n. med. Lucyny Ostrowskiej

w Zakładzie Dietetyki i Żywienia Klinicznego

Białystok 2018

**Spis treści**

[1.1.1. Metabolizm 2](#_Toc519789945)

[1.1.2. Diagnostyka 6](#_Toc519789946)

[2. CEL PRACY 9](#_Toc519789947)

[3. MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ 10](#_Toc519789948)

[3.1. Osoby zakwalifikowane do badania 10](#_Toc519789949)

[3.2. Pierwsza wizyta – pobranie krwi przed suplementacją 11](#_Toc519789950)

[3.3. Druga wizyta – pobranie krwi do badania po 10 tygodniowej suplementacji 15](#_Toc519789951)

[4. WYNIKI 17](#_Toc519789952)

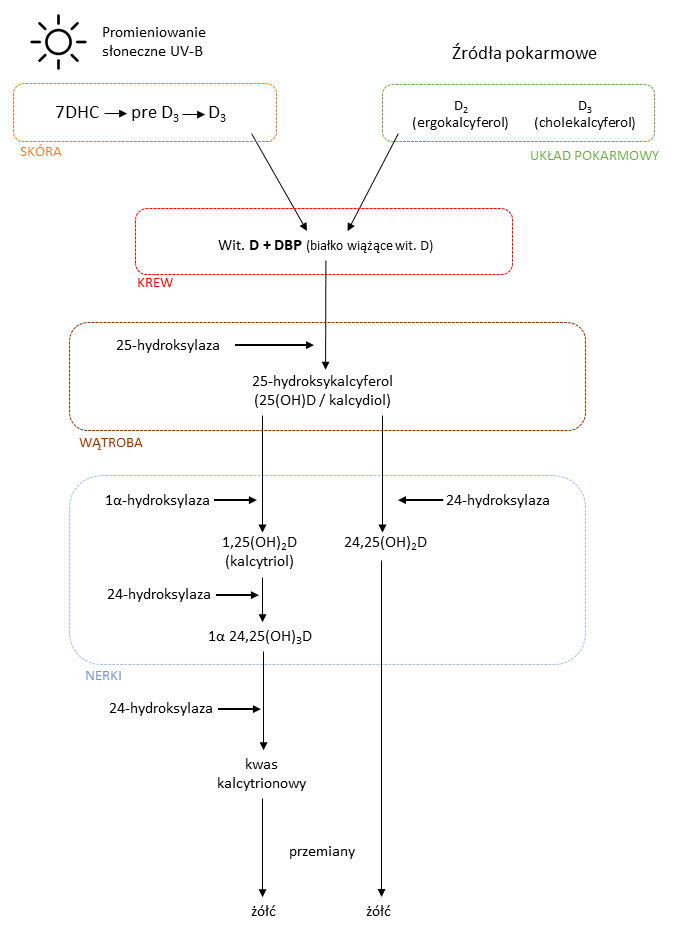
[5. DYSKUSJA 57](#_Toc519789953)

[6. WNIOSKI 63](#_Toc519789954)

[7. BIBLIOGRAFIA 64](#_Toc519789955)

### Metabolizm

Witamina D syntetyzowana endogennie ze skóry, jak i ze źródeł żywieniowych i suplementacji może być przechowywana w adipocytach lub może być transportowana do wątroby (1), gdzie przez 25-hydroksylazę (CYP27A1 oraz CYP2R1) przechodzi konwersję do 25-hydroksy witaminy D (inaczej – 25 hydroksykalcyferol / 25(OH)D / kalcydiol). CYP27A1 nie hydroksyluje D2, ale CYP2R1 hydroksyluje zarówno D2 jak i D3 (2)(3). Aktywność 25-hydroksylazy wzrasta pod wpływem prowitaminy D, stężenia DBP i niektórych leków np. przeciwpadaczkowych, a spada na skutek działania końcowych metabolitów tej przemiany (4). Główne szlaki metabolizmu witaminy D zostały przedstawione na rycinie 2.



**Rycina 2.** Szlaki metabolizmu witaminy D. Opracowanie własne.

Metabolit 25(OH)D

25(OH)D (w skład, którego wchodzi zarówno 25(OH)D2 oraz 25(OH)D3) jest główną formą (metabolitem) witaminy D – zarówno krążącą w surowicy, jak i przechowywaną w organizmie (5) (2). Metabolit ten, tak jak inne jest cząsteczką lipofilową o niskiej rozpuszczalności, która przemieszcza się w surowicy związana z białkami plazmatycznymi (1). Około 85% jest związane z białkiem wiążącym witaminę D (VDBP), a około 15% z albuminami (6) (7). Okres półtrwania wynosi 2-3 tygodnie (25 dni według (8)). Ilość 25(OH)D odzwierciedla całkowitą ilość witaminy D ze źródeł dietetycznych, nasłonecznienia i konwersji z tłuszczowych zapasów wątroby a jego stężenie w osoczu jest najbardziej wiarygodnym wskaźnikiem stanu witaminy D (9).

Witamina D2, poprzez różnicę w łańcuchu bocznym posiada mniejsze powinowactwo do DBP. Przez to następuje jej szybszy klirens z krwiobiegu i zmniejszona konwersja do   
25-hydroksywitaminy D (25(OH)D) (3). Z tego powodu, jeśli nie jest podawana codziennie, suplementacja D2 nie powoduje tak wysokiego poziomu 25(OH)D2 we krwi jak porównywalne ilości D3 (10). Z drugiej strony 1,25(OH)2D2 i 1,25(OH)2D3 mają porównywalne powinowactwo do VDR (*Vitamin D Receptor*, receptor witaminy D), który to znajduje się w wielu komórkach naszego ciała (3).

Kalcytriol – 1,25(OH)2D

Kalcydiol (25(OH)D) jest metabolitem niewykazującym aktywności biologicznej i musi zostać przekształcony głównie w nerkach do aktywnej formy 1,25-hydroksy witaminy D (1,25(OH)2D inaczej kalcytriolu) przez 1 α-hydroksylazę (CYP27B1). Jednakże 1,25(OH)2D może, w zależności od zapotrzebowania na ten hormon, powstawać przy udziale enzymu CYP27B1 również lokalnie w tkankach, gdzie reguluje proliferację i różnicowanie się komórek oraz proces apoptozy m.in. w makrofagach, komórkach mięśniowych, keratynocytach, wątrobie, tkance tłuszczowej, komórkach gruczołu piersiowego, nabłonka jelitowego i komórkach wrodzonego układu odpornościowego (odpowiedź nieswoista) (1). W przeciwieństwie do 25-hydroksylazy, 1α-hydroksylaza jest ściśle regulowana przez 3 hormony – hormon przytarczyc - parathormon (PTH), czynnik wzrostowy fibroblastów-23 (FGF23) oraz sam kalcytriol (2) (1). Parathormon stymuluje 1α-hydroksylazę do syntezy 1,25(OH)2D, a wysoki poziom 1,25(OH)2D, czynnika wzrostowego fibroblastów-23 (FGF23), wapnia i fosforanów hamują syntezę kalcytriolu (11) (2) (3) (1) (12) (13). Konwersja do kalcytriolu jest dużo bardziej aktywna w stanach niedoboru witaminy D, ale i również obniżonego stężenia wapnia i fosforu (11). Na poza nerkową produkcję kalcytriolu mają wpływ również inne czynniki, np.: produkcja 1,25(OH)2D w monocytach jest stymulowana przez IFN (interferon) i inne cytokiny, takie jak np.: TNF (*tumor necrosis factor*, czynnik martwicy nowotworu), interleukina 1, interleukina 2 (3). 1,25(OH)2D3 ma okres półtrwania paru godzin. Jest transportowany przez przyłączenie do białek plazmatycznych, takich jak DBP (1).

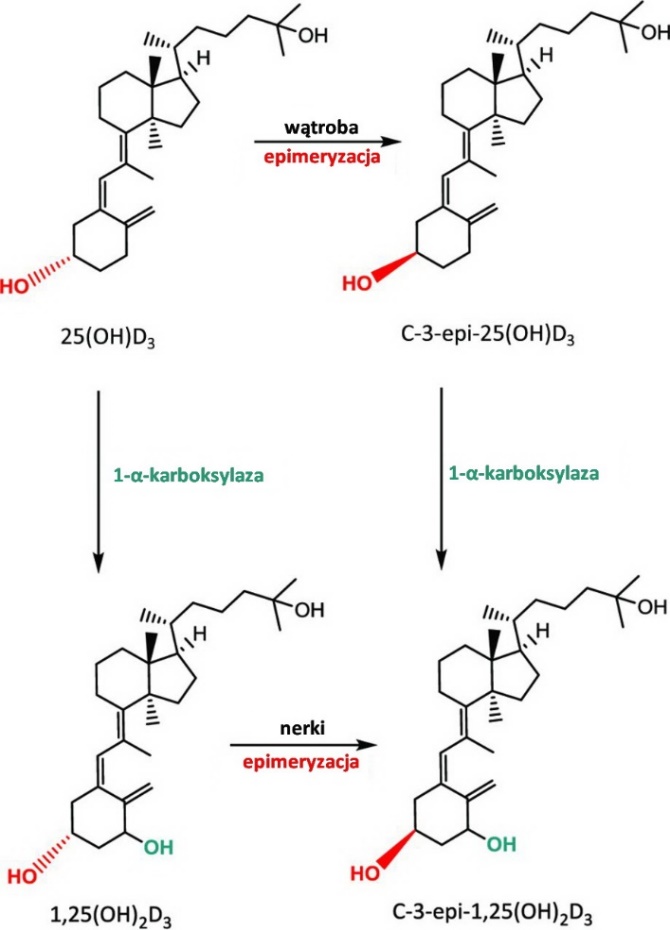
Metabolit 24,25(OH)2D3

Nadmiar powstałego w wątrobie 25(OH)D3 może zostać przekształcony, głównie w nerkach przez 24-hydroksylazę (CYP24A1) do nieaktywnego metabolitu - 24,25(OH)2D3 (24,25 dihydroksywitaminy D3). Największe ilości CYP24A1 są jelitach i nerkach (1) (14).Badania wykazały ograniczoną aktywność biologiczną 24,25(OH)2D u ludzi i jest on uznawany jako produkt katabolizmu witaminy D (15). W dalszym szlaku metabolicznym 24,25(OH)2D jest przekształcany i wydalany z żółcią(16)**.** Podobnie, przy dużym stężeniu 1,25(OH)2D3 (kalcytriol) może być on inaktywowany (głównie w nerkach) przez produkowaną w wątrobie 24-hydroksylazę (CYP24A1). Powstaje wówczas głównie metabolit 1α24,25(OH)3D3 (metabolit jeszcze aktywny, mający powinowactwo do VDR (3)), a ten natomiast zostaje przekształcony do nieaktywnego biologicznie kwasu kalcytrionowego, który to następnie jest transportowany do wątroby i wydalany z żółcią (11) (17) (18).

Metabolit epi-25(OH)D3

Ze znanych i przebadanych w tej pracy metabolitów witaminy D jest jeszcze epi-25(OH)D3. Powstaje on jako wynik epimeryzacji 25(OH)D3. Najwyższy jego poziom obserwuje się u noworodków i u dzieci do 1 roku życia. U dorosłych występuje w ilości ok 9% 25(OH)D3 (14).

Epimeryzacji mogą ulec również inne metabolity witaminy D, w tym kalcytriol, co jest pokazane na rycinie nr 3. Powstaje wówczas 3-epi-1,25(OH)2D3, który jest aktywną formą witaminy D podobnie jak kalcytriol. Epimery mają zmienioną konfigurację, lecz działają w komórkach, podobnie jak ich prekursory, z tym, że dla receptora VDR 3-epimery są słabszymi ligandami. Ich metabolizm jest spowolniony, dlatego mogą osiągać większe stężenie wewnątrzkomórkowe. Działanie fizjologiczne epimerów nie jest do końca poznane. Mogą odgrywać rolę w regulacji różnicowania się komórek, indukowaniu apoptozy. Mogą również posiadać aktywność transkrypcyjną i antyproliferacyjną (19).



**Rycina 3.** Reakcje epimeryzacji metabolitów witaminy D. Na podstawie (20).

### Diagnostyka

25(OH)D

W diagnostyce niedoborów witaminy D powinno się stosować badanie kalcydiolu – 25(OH)D (suma stężeń 25(OH)D2 i 25(OH)D3). Kalcydiol stanowi najlepszy wykładnik zaopatrzenia organizmu w witaminę D, posiada długi okres półtrwania. Mimo, że kalcytriol jest aktywną postacią witaminy D, to jego stężenie w surowicy nie powinno być stosowane do rutynowego badania niedoborów witaminy D. Po pierwsze oznaczenie kalcytriolu jest trudniejsze (krótki czas półtrwania – 6-8 godzin) i droższe. Po drugie stężenie kalcytriolu w osoczu może być podwyższone lub w górnych granicach normy u kobiet w ciąży, w niewydolności nerek, sarkoidozie, gruźlicy czy w reumatoidalnym zapaleniu stawów (17).

**Tabela 4.** Ocena stanu zaopatrzenia organizmu w witaminę D na podstawie stężenia 25(OH)D w surowicy dla wszystkich grup wiekowych. Na podstawie (21).

|  | Stężenie 25(OH)D w surowicy | | Działanie do rozważenia |
| --- | --- | --- | --- |
| nmol/l | ng/ml |
| Deficyt | 0-50 | 0-20 | Terapia deficytu |
| Stężenie suboptymalne | >50-75 | >20-30 | Zwiększenie/utrzymanie suplementacji witaminą D |
| Stężenie optymalne | >75-125 | >30-50 | Utrzymanie suplementacji witaminą D |
| Stężenie wysokie | >125-250 | >50-100 | Utrzymanie/obniżenie dawek witaminy D |
| Stężenie potencjalnie  toksyczne | >250 | >100 | Powstrzymanie się od przyjmowania witaminy D do momentu uzyskania stężenia 25(OH)D w zakresie optymalnym |
| Poziom toksyczny | >500 | >200 | Leczenie potencjalnych efektów toksycznych |

Kalcytriol

W zależności od metody oznaczenia oraz norm laboratoryjnych wartości prawidłowe mieszczą się w zakresie 20-60 pg/mL (8).

24,25(OH)2D3

Nie określono bezwzględnych norm stężenia 24,25(OH)2D3. Do tej pory przeprowadzane były jedynie badania kohortowe, które ustalały zakresy norm w danej populacji (15). Wzrost stężenia może świadczyć m.in. o podwyższonym stężeniu krążącego kalcytriolu (formy aktywnej biologicznie) oraz wynikającym z niego przekierowaniu metabolizmu witaminy D na szlak eliminacji (katabolizm) (11) (22) (23). Wykazano, że wyższa cotygodniowa dawka witaminy D w suplemencie znacznie silniej indukuje działanie 24-hydroksylazy powodując dużo większy wzrost stężenia 24,25(OH)2D, utrzymujący się po zaprzestaniu suplementacji (22) (24). Ponieważ 24,25(OH)2D3 jest głównym produktem katabolizmu 25(OH)D3 przez CYP24A1, pomiar stężenia 24,25(OH)2D3 w surowicy może pomóc w identyfikacji pacjentów z mutacjami powodującymi utratę funkcji w CYP24A1. (15).

**Stosunek 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3**

Względny stosunek stężenia 25(OH)D3 w surowicy do 24,25(OH)2D3 może służyć jako wskaźnik statusu katabolicznego witaminy D (15). Nie ustalono prawidłowych, bezwzględnych wartości dla tego stosunku, ale laboratorium Masdiag w Warszawie, wykonujące badania do niniejszej pracy, ustaliło normy wewnętrzne oceniające stopień eliminacji witaminy D. (25). Stworzone zostały na podstawie badań populacyjnych. Zakres norm został przedstawiony w tabeli nr 5.

**Tabela 5.** Ocena stopnia eliminacji witaminy D z krwioobiegu na podstawie stosunku 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3.

|  |  |
| --- | --- |
| Stosunek 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 | Katabolizm witaminy D |
| < 6 | Nadmierna eliminacja |
| 6 - 17 | Zrównoważona eliminacja |
| > 17 | Zahamowana eliminacja |

# CEL PRACY

Opublikowane badania wykazują związek pomiędzy niskim stężeniem 25(OH)D w surowicy a częstością występowania autoimmunologicznego zapalenia tarczycy Hashimoto (26) (27) (2). Brakuje niestety analiz porównawczych wykazujących różnice w stężeniach różnych metabolitów witaminy D u osób chorych na Hashimoto w porównaniu do osób zdrowych.

Celem badania jest analiza różnic w stężeniu witaminy D3 oraz jej metabolitów w surowicy krwi u kobiet chorych na autoimmunologiczne zapalenie tarczycy Hashimoto i kobiet zdrowych.

a) ocena stężenia witaminy D2, D3 i jej metabolitów u kobiet zdrowych i chorych nie narażonych na promienie słoneczne i nie suplementujących witaminy D3

b) ocena zawartości witaminy D w dietach pacjentów obu grup

c) ocena stężenia witaminy D2, D3 i jej metabolitów po zastosowanej 10 tygodniowej suplementacji witaminą D3 (dawka 4000 IU).

# MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

## Osoby zakwalifikowane do badania

Badaniem zostały objęte kobiety z województwa mazowieckiego z chorobą Hashimoto (n=41) i zdrowa grupa kontrolna (n=30). Praca realizowana była w Zakładzie Dietetyki i Żywienia Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, pod tytułem „Wpływ diety i suplementów witaminy D3 na stężenia różnych metabolitów witaminy D oraz jego aktywnej formy – kalcytriolu u kobiet chorych na chorobę Hashimoto w porównaniu z kobietami zdrowymi” (zgoda Komisji Bioetycznej UMB nr R-I-002/143/2017).

Kwalifikację do badania przeprowadzono drogą internetową (ankieta Google umieszczona na Facebooku oraz wypełniona przez pacjentów poradni Dieta i Fitness przy ulicy Ksawerów 3 w Warszawie). Pytania dotyczyły możliwości dojazdu pacjenta na badania w Warszawie (osoby nie mogące dojechać od razu zostały zdyskwalifikowane). Ankieta zawierała również pytania o płeć, wiek, wzrost, masę ciała, czy dana osoba suplementuje witaminę D3, czy opalała się w ciepłych krajach przez ostatnie miesiące, czy planuje wyjazd do ciepłych krajów przez następne miesiące lub opalanie się w Polsce, czy choruje na chorobę Hashimoto i ma badania potwierdzające stan chorobowy, czy uprawia aktywność fizyczną więcej niż 5 godzin tygodniowo i czy w przypadku zakwalifikowania się do badania zgadza się na przyjmowanie preparatu witaminy D3.

Kwestionariusz ankiety wypełniło 910 osób. 90% stanowiły kobiety, w związku z czym badania zostały oparte tylko na grupie kobiet. Kryteriami włączenia było:

- niesuplementowanie witaminy D,

- nieplanowanie wyjazdów do ciepłych krajów i opalania się,

- BMI powyżej 30 kg/m2 i poniżej 18,5 kg/m2,

- kobiety będące w ciąży,

- kobiety nie zgłaszające żadnych schorzeń

- wiek 20-50 lat,

- w grupie chorych na Hashimoto wymagane było również potwierdzenie występowania choroby Hashimoto poprzez wykazanie obecnych w badaniach biochemicznych krwi przeciwciał anty-TPO/anty-TG bądź zaświadczenia od endokrynologa lub USG tarczycy z wyraźnie opisaną obecnością zmian w zapaleniu tarczycy Hashimoto

Kryterium wyłączenia były:

- płeć męska

- kobiety w ciąży,

- kobiety zgłaszające choroby współistniejące

- podejmowanie intensywnych ćwiczeń (powyżej 5 godzin tygodniowo, gdyż zawartość beztłuszczowej tkanki mogłaby być u takich osób dużo wyższa),

- otyłość (BMI ≥30 kg/m2) oraz niedowaga (BMI ≤ 18,5 kg/m2) (ze względu na możliwą sekwestrację witaminy D w tkance tłuszczowej a przez to różnice w stężeniu 25(OH)D),

- opalanie się w przeciągu ostatnich pięciu miesięcy (solarium lub ciepłe kraje),

- planowanie opalania się podczas okresu trwania badania.

Z 910 osób zostało zakwalifikowanych tylko 125 kobiet.

Zakwalifikowane kobiety zostały poinstruowane, gdzie i kiedy przyjechać na pobranie krwi żylnej oraz zbadanie składu ciała metodą bioimpedancji. Nie musiały być na czczo. Kobiety chore na Hashimoto musiały przedstawić badania potwierdzające chorobę. Badania odbywały się w Laboratorium Masdiag w Warszawie przy ulicy Żeromskiego 33.

## Pierwsza wizyta – pobranie krwi przed suplementacją

Pierwsze badanie odbyło się w okresie między 18-25 kwietnia 2017 roku. Na pierwsze badanie zgłosiło się 98 kobiet: 56 chorych na Hashimoto oraz 42 pacjentki zdrowe. Uczestniczki podpisały formularz świadomej zgody pacjenta na udział w badaniu oraz otrzymały broszurę opisującą projekt. Następnie kobiety zostały zważone, określono BMI oraz wykonano badanie składu ciała metodą bioimpedancji urządzeniem TANITA w celu określenia zawartości tkanki tłuszczowej i stopnia otłuszczenia narządów. Po wykonaniu zaplanowanych procedur każda pacjentka otrzymała preparat Molekin D3 Forte (Żywność Specjalnego Przeznaczenia Medycznego).

Kobiety wypełniły również kwestionariusz ankiety. Jedno pytanie wielokrotnego wyboru określało typ stosowanej diety (wegańska, wegetariańska, bezglutenowa, bezmleczna lub brak konkretnej diety), kolejne stanowiły pytania dotyczące częstości spożycia w tygodniu poszczególnych grup produktów zawierających witaminę D oraz określenie ilości spożycia danych produktów.

Następnie indywidualnie dla każdej pacjentki zarówno z grupy badanej jak i kontrolnej wyliczono średnią tygodniową i dzienną podaż witaminy D w produktach spożywczych. Do wyliczania wartości witaminy D w poszczególnych produktach użyto programu Kcalmar. Baza danych zawartości witaminy D w poszczególnych produktach i potrawach była oparta o normy IŻŻ w Warszawie (28).

Uzyskane wartości średnie, zarówno w grupie z chorobą Hashimoto, jak i w grupie kontrolnej zostały porównane z normami dziennego, wystarczającego spożycia witaminy D (800-2000 IU/dzień) (29).

W trakcje tej samej wizyty wszystkim została pobrana krew żylna (5ml) na skrzep w celu oznaczenia witaminy D3 oraz jej metabolitów: 25(OH)D, 25(OH)D2, 25(OH)D3, 24,25(OH)2D3, 1,25(OH)D3 (kalcytriol), 3-epi-25(OH)D3.

Analizę laboratoryjną wykonano metodą rozcieńczeń iztopowych. Wzorce i materiały (standardy) odniesienia:

* 24,25-dihydroksywitamina D3 (24,25(OH)2D3)
* D6-24,25-dihydroksywitamina D3 (24,25(OH)2D3-26,26,26,27,27,27-d6)
* 25-hydroksywitamina D3 (25(OH)D3)
* D6-25-hydroksywitamina D3 (25(OH)D3-26,26,26,27,27,27-d6)
* 3-epi-25-hydroksywitamina D3 (3-epi-25(OH)D3)
* D3-3-epi-25-hydroksywitamina D3 (3-epi-25(OH)D3-6,9,19-d3)
* 25-hydroksywitamina D2 (25(OH)D2)
* D3-25-hydroksywitamina D2 (25(OH)D2-6,9,19-d3)

Przygotowanie próbki surowicy:

Do 100 µl surowicy dodano 10 µl roztworu deuterowanych standardów wewnętrznych i inkubowano przez 10 minut. Po tym czasie strącono białka poprzez dodatek 100 µl 0,2M siarczanu cynku i 200 µl metanolu. Po dokładnym wymieszaniu dodano 400 µl heksanu, w celu przeprowadzenia ekstrakcji ciecz-ciecz. Próbkę wytrząsano, a następnie zwirowano (13200 RPM, 5 minut), fazę organiczną przeniesiono do czystego eppendorfa, po czym ponownie dodano 400 µl heksanu. Po wytrząsaniu i odwirowaniu ekstrakty heksanowe połączono i odparowano do sucha w strumieniu azotu w temperaturze 50ºC. Następnie przeprowadzono proces upochodnienia. W tym celu do suchej pozostałości dodano 100 µl roztworu odczynnika typu Cookson, 4-(4'-dimethylaminophenyl)-1,2,4-triazoline-3,5-dione (DAPTAD). Reakcję prowadzono bez dostępu światła, w temperaturze pokojowej, przez 30 minut. Po tym czasie dodano 30 µl metanolu, w celu zatrzymania reakcji i całość odparowano do sucha w strumieniu azotu. Do suchej pozostałości dodano 100 µl mieszaniny woda:metanol (1:1), po czym wykonano analizę LC-MS/MS.

Analiza LC-MS/MS

Próbki surowicy oraz suchej kropli krwi analizowano przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas (LC-MS/MS), firmy SCIEX. Analizy prowadzono w trybie pozytywnym z jonizacją poprzez elektrorozpraszanie (ESI). W celu rozdzielenia metabolitów zastosowano elucję gradientową z wykorzystaniem kolumny C18-AR (150x2,1 mm, 2 µm), firmy ACE. Analizę ilościową przeprowadzono w oparciu o wartość stosunku pola powierzchni danego metabolitu do powierzchni odpowiadającego mu standardu wewnętrznego, którą odniesiono do krzywej kalibracji.

**Tabela 14.** Parametry analizy LC-MS/MS.

|  |  |
| --- | --- |
| Chromatograf | ExionLC™ (2 pompy + piec kolumnowy) |
| Kolumna | ACE C18-AR; 150 x 2,1 mm; 2 µm |
| Faza ruchoma | Faza A: woda + 0,1% FA;  Faza B: acetonitryl + 0,1% FA;  Program gradientowy:  0 min. 50% B  6,5 min. 65% B  6,7 min. 98% B  7,9 min. 98% B  8 min. 50% B  9,5 min. 50% B |
| Czas analizy [min.] | 9,5 |
| Temperatura kolumny [oC] | 40 |
| Detekcja | MS/MS (tryb MRM) |
| Przepływ fazy ruchomej [ml/min.] | 0,45 |
| Objętość próbki podawanej na kolumnę [l] | 10 |

Za prawidłowe wartości 25(OH)D uznaje się stężenie 30-50 ng/ml (21). Prawidłowe wartości stężenia kalcytriolu uznaje się zakres 20-60 pg/mL (8).

Stosunek stężeń - 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3. Według norm laboratorium Masdiag stosunek stężeń 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 >6 oznacza nadmierny katabolizm 25(OH)D3. Stosunek stężeń między 6-17 oznacza zrównoważoną eliminację 25(OH)D3, a stosunek stężeń >17 oznacza zahamowaną eliminację 25(OH)D3 (25).

**Ostateczna kwalifikacja grupy badanej i kontrolnej**

Na podstawie wykonanych oznaczeń stężenia 25(OH)D3 w surowicy krwi u wszystkich zakwalifikowanych wstępnie do badania osób, do dalszego etapu badania włączono tylko osoby które miały stężenie 25(OH)D3 poniżej normy (<30 ng/ml). Pozostało **51 kobiet w grupie badanej** oraz **39 kobiet w grupie kontrolnej**. Kobiety, które nie zostały zakwalifikowane do badania z uwagi na prawidłowe stężenie 25(OH)D3 otrzymały wyniki badań oraz zostały poinformowane o braku potrzeby suplementacji witaminy D. Wszystkie kobiety mające niedobór witaminy D3 przyjmowały ten sam suplement, w takich samych dawkach, aby wyniki analizy witaminy D3 były jak najdokładniejsze.

Kobiety zakwalifikowane (tylko te z niedoborami 25(OH)D3) do suplementacji preparatem witaminy D3, zostały poinformowane o tym, aby nie narażały się na ekspozycje słoneczną w przeciągu następnych 10 tygodni i aby nie wyjeżdżały do „ciepłych krajów” w czacie trwania badania, w przeciwnym razie, wyniki tych uczestniczek nie będą brane pod uwagę, a drugie pobranie (po 10 tygodniach) nie będzie wykonane. Uczestniczki badania nie miały zaleconej żadnej specjalnej diety. Zostały poinstruowane jak przyjmować preparat witaminy D3 (z posiłkiem tłuszczowym, o dowolnej godzinie), kiedy i gdzie mają zgłosić się na kontrolnym pobraniu krwi oraz aby nie przebywać na słońcu, a jeśli by się to zdarzyło powinny zastosować na skórę filtry przeciwsłoneczne.

Pacjentki nie ponosiły żadnych kosztów, preparat witaminy D3 został przekazany nieodpłatnie przez firmę Zdrovit. Molekin D3 forte należy do żywności specjalnego przeznaczenia medycznego. Sprzedawany jest w aptekach i drogeriach. Firma udostępniła preparat nieodpłatnie, nie oczekując żadnych wyników. Oświadczam, że z firmą Zdrovit ani ja ani dr hab. n. med. Lucyna Ostrowska nie mamy żadnych sprzecznych interesów.

Według wymogów prawnych suplementy i preparaty Żywności Specjalnego Przeznaczenia Medycznego witaminy D3 nie są lekiem (który ma bardzo rygorystyczne wymogi) i mogą zawierać od -20 do +50% wartości deklarowanej na opakowaniu. Chcąc uzyskać jak najdokładniejszą jednolitość badania uzyskano oznaczenie wybranej partii suplementu przez firmę zewnętrzną. W wyniku okazało się, że suplement Molekin 4000j. wit. D3 posiada ok 4800 IU (119,9 µg) witaminy D3 (dzięki temu wiemy jaka jest dokładna ilość witaminy D3 w suplemencie). Podjęto decyzję o suplementowaniu diety witaminą D3 – 6 razy w tygodniu, co średnio daje zawartość 4114 IU dziennie.

## Druga wizyta – pobranie krwi do badania po 10 tygodniowej suplementacji

Po okresie 10 tygodniowej suplementacji pacjentki ponownie zgłosiły się do laboratorium. Po raz drugi została pobrana do badania krew żylna. Zostały zbadane te same parametry biochemiczne (25(OH)D, 25(OH)D2, 25(OH)D3, 24,25(OH)2D3, 1,25(OH)D3 (kalcytriol), 3-epi-25(OH)D3), tymi samymi metodami analitycznymi. Pacjentki wypełniły ankietę, która oceniała ewentualne zmiany w sposobie życia i przestrzeganie zaleceń.

Na badanie drugie zgłosiło się 71 kobiet (**41 chorych na chorobę Hashimoto i 30 zdrowych**) i to one w pracy stanowiły grupę badaną Hashimoto i grupę kontrolną kobiet zdrowych. Wyniki badań uczestniczek z pierwszego badania (tych, które nie pojawiły się na drugim pobraniu krwi) nie zostały wzięte pod uwagę we wszystkich obliczeniach.

Uzyskane wyniki, zarówno z pierwszego pobrania krwi, jak i z drugiego zostały wyliczone indywidualnie dla każdego pacjenta. Zostały poddane analizie statystycznej w programie STATISTICA z wyliczeniem średnich stężeń, mediany, stężeń minimalnych, maksymalnych, dolnego i górnego kwartyla dla każdych parametrów dla grupy Hashimoto i dla grupy kontrolnej w zależności od tego czy istniała normalność rozkładu czy nie. Użyte zostały testy Manna-Whitneya, Wilcoxona, T-studenta, Shapiro-Wilka, korelacje Spearmana i Pearsona. Za różnice istotne statystycznie przyjęto te, gdy p<0,05. Została oceniona normalność rozkładu i dla danych, u których normalność nie występuje - wyniki przedstawione są za pomocą mediany, dolnego i górnego kwartylu (Me (Q1;Q3)). Dla danych z normalnością rozkładu zastosowano średnią i odchylenie standardowe (Śr. ± odch. std).

**Ograniczenia pracy**

Do badań zakwalifikowano wstępnie 98 kobiet: 56 chorych na Hashimoto oraz 42 pacjentki zdrowe. Po wykonaniu oznaczeń stężenia 25(OH)D3 w surowicy krwi, do dalszego etapu badania włączono tylko te osoby, które miały stężenie 25(OH)D3 <30 ng/ml) – było to 51 kobiet chorych na chorobę Hashimoto oraz 39 kobiet zdrowych. Na wizytę końcową zgłosiło się tylko 71 kobiet (41 chorych na chorobę Hashimoto i 30 zdrowych) u których wykonano wszystkie zaplanowane analizy wyników.

Wśród analizowanych wyników stwierdzono, że 17 kobiet nie przyjęło wszystkich preparatów witaminy D3. Łącznie uczestniczki powinny przyjąć ~280.000 IU witaminy D3. Dwie kobiety nie przyjęły 57.600 IU, dwie 48.000 IU, jedna 43.200 IU, dwie 24.800 IU, jedna 24.000 IU, sześć 19.200 IU, dwie 14.400 IU, jedna 9.600 IU. Średnia w grupie, która nie przyjęła wszystkich tabletek wyniosła 30.000 IU, co stanowiło ~ 10% mniejsze spożycie witaminy D3 niż zalecane. Dlatego postanowiono włączyć te uczestniczki do badania.

Wyniki analizy stężeń poszczególnych metabolitów witaminy D przed i po suplementacji zostały wykonane tylko w grupie kobiet mających niedobór 25(OH)D3 wynoszący <30 ng/ml.

W kwalifikacji do grupy badanej i kontrolnej użyto stężenie 25(OH)D3, a nie stężenie całkowite 25(OH)D (25(OH)D2 + 25(OH)D3), z uwagi na to, że wszystkie badane metabolity witaminy D (oprócz samego 25(OH)2) były metabolitami witaminy D3 a nie witaminy D2. Dodatkowo witamina D2 stanowi jedynie niewielki procent w stężeniu total 25(OH)D.

# WYNIKI

Na pierwszą wizytę zgłosiło się 98 kobiet. 56 chorych na Hashimoto oraz 42 zdrowe. Wyniki średnich stężeń metabolitów witaminy D zostały przedstawione w tabeli nr 15.

**Tabela 15.** Średnie stężenia metabolitów witaminy D w całej grupie Hashimoto i grupie zdrowej przy pierwszym badaniu.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| | Grupa  Hashimoto | Liczba osób | Średnia | | --- | --- | --- | | Total 25(OH)D (ng/ml) | 56 | 19,9 | | 3-epi-25(OH)D3 (ng/ml) | 56 | 0,85 | | 25(OH)D3 (ng/ml) | 56 | 19,23 | | 24,25(OH)2D3 (ng/ml) | 56 | 1,79 | | 25(OH)D2 (ng/ml) | 56 | 0,68 | | Stosunek 25(OH)D3 do epi-25(OH)D3 | 56 | 23,86 | | Stosunek  25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 | 56 | 12,5 | | 1,25(OH)2D3 (pg/mL) | 56 | 42,2 | | | Grupa  Zdrowa | Liczba osób | Średnia | | --- | --- | --- | | Total 25(OH)D (ng/ml) | 42 | 17,9 | | 3-epi-25(OH)D3 (ng/ml) | 42 | 0,75 | | 25(OH)D3 (ng/ml) | 42 | 17,1 | | 24,25(OH)2D3 (ng/ml) | 42 | 1,49 | | 25(OH)D2 (ng/ml) | 42 | 0,81 | | Stosunek 25(OH)D3 do epi-25(OH)D3 | 42 | 24,73 | | Stosunek  25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 | 42 | 14,65 | | 1,25(OH)2D3 (pg/mL) | 42 | 40,23 | |

W pierwszym badaniu, przed suplementacją 6 z 56 kobiet chorych na Hashimoto (10.7%) miało prawidłowe stężenie 25(OH)D3 (> 30 ng/ml) w surowicy krwi. Wśród 42 kobiet zdrowych 3 (7,14%) miały prawidłowe stężenie 25(OH)D3 (> 30 ng/ml). Rozkład procentowy został przedstawiony na rycinach numer 4 i 5.

**Rycina 4**. Stężenie 25(OH)D3 w surowicy u wszystkich kobiet chorych na Hashimoto, również nie zakwalifikowanych do badania [%].

**Rycina 5.** Stężenie 25(OH)D3 w surowicy u wszystkich kobiet zdrowych, również nie zakwalifikowanych do badania [%].

Do ostatecznego badania zakwalifikowano 71 kobiet. 41 w grupie badanej – z chorobą Hashimoto i 30 w grupie kontrolnej. Podstawowe parametry zostały przedstawione osobno dla grupy badanej i dla grupy kontrolnej w tabeli nr 16 i 17.

**Tabela 16.** Charakterystyka grupy badanej (chorej na Hashimoto).

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Grupa badana  Hashimoto | Liczba osób | Średnia | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny kwartyl | Górny kwartyl |
| Wiek | 41 | 32,7 | 31,0 | 22,0 | 50,0 | 26,0 | 39,0 |
| Wzrost | 41 | 167,1 | 167,0 | 157,0 | 181,0 | 163,0 | 169,0 |
| % tkanki tłuszczowej | 41 | 29,8 | 29,0 | 18,1 | 49,0 | 24,6 | 34,5 |
| Otłuszczenie narządów | 41 | 3,4 | 3,0 | 1,0 | 10,0 | 2,0 | 5,0 |
| Masa ciała (kg) | 41 | 64,8 | 61,8 | 49,0 | 84,8 | 57,2 | 73,3 |
| BMI | 41 | 23,2 | 22,3 | 19,1 | 28,7 | 20,4 | 25,6 |

**Tabela 17.** Charakterystyka grupy kontrolnej.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Grupa kontrolna  zdrowa | Liczba osób | Średnia | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny kwartyl | Górny kwartyl |
| Wiek | 30 | 28,2 | 25,5 | 21,0 | 49,0 | 23,0 | 33,0 |
| Wzrost | 30 | 168,3 | 168,5 | 158,0 | 183,0 | 164,0 | 172,0 |
| % tkanki tłuszczowej | 30 | 28,5 | 27,5 | 16,7 | 39,9 | 23,9 | 32,2 |
| Otłuszczenie narządów | 30 | 2,6 | 2,0 | 1,0 | 7,0 | 1,0 | 3,0 |
| Masa ciała (kg) | 30 | 64,9 | 64,1 | 49,1 | 91,4 | 58,8 | 72,7 |
| BMI | 30 | 22,9 | 22,3 | 18,5 | 29,8 | 20,6 | 24,3 |

**Stężenia metabolitów witaminy D3 na drugiej wizycie, po suplementacji**

Oceniono różnice statystyczne w podstawowych parametrach osobniczych pomiędzy grupą chorą na Hashimoto a grupą zdrową. Porównanie statystyczne przedstawiono w tabeli nr 18.

**Tabela 18.** Różnica w podstawowych parametrach pomiędzy grupą badaną a kontrolną.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Hashimoto | Zdrowe | p value |
| Wiek 2 | 31 (26 ; 39) | 25,5 (23 ; 33) | 0,006 |
| Wzrost 1 | 167,1 ± 5,77 | 168,3 ± 6,18 | 0,882 |
| % tkanki tłuszczowej 1 | 29,8 ± 6,85 | 28,5 ± 6,15 | 0,834 |
| Otłuszczenie narządów 2 | 3 (2 ; 5) | 2 (1 ; 3) | 0,076 |
| Masa ciała 2 | 61,8 (57,2 ; 73,3) | 64,1 (58,8 ; 72,7) | 0,811 |
| BMI 2 | 22,3 (20,4 ; 25,6) | 22,3 (20,6 ; 24,3) | 0,609 |

1 występuje normalność rozkładu, użyta średnia i odchylenie standardowe (Śr. ± odch.std).

2 brak normalności rozkładu, użyta mediana, dolny i górny kwartyl (Me (Q1 ; Q3)

Wystąpił brak istotnych różnic dla wzrostu, zawartości tkanki tłuszczowej, otłuszczenia narządów, masy ciała i BMI. Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,05) różnice dla wieku pomiędzy grupą chorą na Hashimoto a grupą kontrolną. W grupie chorych na Hashimoto mediana wyniosła Me=31 lat (Q1= 26; Q3= 39). W grupie kontrolnej mediana wyniosła Me=25,5 lat (Q1= 23; Q3= 33). Różnice prezentuje rycina nr 6.



**Rycina 6.** Mediana wieku w grupie Hashimoto i grupie kontrolnej.

Wykonano analizę stężeń metabolitów witaminy D we krwi podczas pierwszego badania, przed suplementacją witaminy D3. Została ona przedstawiona osobno dla grupy badanej i dla grupy kontrolnej w tabeli nr 19 i 20.

**Tabela 19.** Ocena stężeń metabolitów witaminy D przed suplementacją w grupie badanej.

| Grupa badana  Hashimoto | Liczba osób | Średnia | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny kwartyl | Górny kwartyl |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Total 25(OH)D (ng/ml) | 41 | 18,3 | 17,9 | 5,7 | 30,3 | 13,8 | 22,0 |
| 3-epi-25(OH)D3 (ng/ml) | 41 | 0,7 | 0,6 | 0,2 | 1,5 | 0,6 | 0,8 |
| 25(OH)D3 (ng/ml) | 41 | 17,5 | 17,0 | 3,4 | 29,3 | 13,1 | 21,5 |
| 24,25(OH)2D3 (ng/ml) | 41 | 1,6 | 1,5 | 0,1 | 3,0 | 1,0 | 2,2 |
| 25(OH)D2 (ng/ml) | 41 | 0,7 | 0,6 | 0,3 | 2,3 | 0,5 | 0,8 |
| Stosunek 25(OH)D3 do epi-25(OH)D3 | 41 | 25,0 | 25,8 | 13,0 | 36,3 | 22,2 | 27,9 |
| Stosunek  25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 | 41 | 12,9 | 12,2 | 7,3 | 42,4 | 10,2 | 13,7 |
| 1,25(OH)2D3 (pg/mL) | 41 | 39,6 | 36,9 | 19,4 | 74,1 | 33,5 | 44,3 |

**Tabela 20.** Ocena stężeń metabolitów witaminy D przed suplementacją w grupie kontrolnej.

| Grupa kontrolna  zdrowa | Liczba osób | Średnia | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny kwartyl | Górny kwartyl |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Total 25(OH)D (ng/ml) | 30 | 16,5 | 16,5 | 5,5 | 27,8 | 12,7 | 20,5 |
| 3-epi-25(OH)D3 (ng/ml) | 30 | 0,7 | 0,7 | 0,2 | 2,9 | 0,4 | 0,9 |
| 25(OH)D3 (ng/ml) | 30 | 15,7 | 15,7 | 4,0 | 27,0 | 11,3 | 19,4 |
| 24,25(OH)2D3 (ng/ml) | 30 | 1,2 | 1,2 | 0,1 | 3,0 | 0,7 | 1,4 |
| 25(OH)D2 (ng/ml) | 30 | 0,9 | 0,8 | 0,4 | 2,1 | 0,7 | 1,0 |
| Stosunek 25(OH)D3 do epi-25(OH)D3 | 30 | 24,2 | 24,6 | 7,5 | 41,1 | 21,2 | 27,1 |
| Stosunek  25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 | 30 | 16,4 | 13,2 | 8,9 | 44,9 | 11,3 | 17,6 |
| 1,25(OH)2D3 (pg/mL) | 30 | 40,8 | 41,9 | 16,9 | 61,5 | 35,0 | 46,6 |

Wykonano analizę statystyczną porównującą stężenia metabolitów witaminy D w grupie chorych na Hashimoto i kontrolnej grupie zdrowej przed suplementacją. Wyniki przedstawiono w tabeli nr 21.

Średnie stężenie witaminy D (25(OH)D) przed zastosowaną suplementacją wynosiło 18,3 ng/ml u kobiet chorych na Hashimoto i 16,5 ng/ml u kobiet zdrowych. Różnice nie są istotne statystycznie, co prezentuje tabela nr 21.

Różnice istotne statystycznie (p<0,05), pomiędzy grupami wystąpiły dla stężenia 25(OH)D2. W grupie chorych na Hashimoto mediana stężenia 25(OH)D2 wyniosła Me= 0,6 ng/ml (Q1= 0,5; Q3= 0,8). W grupie kontrolnej mediana wyniosła Me=0,8 ng/ml (Q1=0,7; Q3=1). Różnice prezentuje rycina nr 7. Różnice pomiędzy stężeniem innych metabolitów nie są istotne statystycznie, co przedstawiono w tabeli nr 21.

**Tabela 21.** Różnice stężeń metabolitów witaminy D podczas pierwszego badania, przed suplementacją pomiędzy grupą Hashimoto a grupą zdrową.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Hashimoto | Zdrowe | p value |
| Total 25(OH)D (ng/ml)1 | 18,3 ± 6,21 | 16,5 ± 5,98 | 0,242 |
| 3-epi-25(OH)D3 (ng/ml)2 | 0,6 (0.6 ; 0,8) | 0,7 (0,4 ; 0,9) | 0,499 |
| 25(OH)D3 (ng/ml)1 | 17,5 ± 6,21 | 15,7 ± 6,13 | 0,207 |
| 24,25(OH)2D3 (ng/ml)1 | 1,6 ± 0,8 | 1,2 ± 0,74 | 0,053 |
| 25(OH)D2 (ng/ml)2 | 0,6 (0,5 ; 0,8) | 0,8 (0,7 ; 1) | 0,007 |
| Stosunek 25(OH)D3 do epi-25(OH)D31 | 25 ± 4,94 | 24,2 ± 6,3 | 0,537 |
| Stosunek 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 2 | 12,2 (10,2 ; 13,7) | 13,2 (11,2 ; 17,6) | 0,057 |
| 1,25(OH)2D3 (pg/mL)1 | 39,6 ± 11,5 | 40,8 ± 10,7 | 0,662 |

1występuje normalność rozkładu, użyta średnia i odchylenie standardowe (Śr. ± odch.std).

2 brak normalności rozkładu, użyta mediana, dolny i górny kwartyl (Me (Q1 ; Q3)



**Rycina 7.** Mediana stężenia 25(OH)D2 przed suplementacją pomiędzy grupą chorych na Hashimoto i grupą kontrolną.

Za optymalne stężenie kalcytriolu uznaje się 20-60 pg/mL. Przy pierwszym badaniu jedna kobieta (2,43%) z grupy Hashimoto miała stężenie kalcytriolu poniżej optymalnego, a dwie powyżej (4,88%). W grupie kontrolnej stężenie 1,25(OH)2D3 poniżej normy miały 2 kobiety (6,67%), a powyżej normy jedna (3,33%). Rozkład procentowy został przedstawiony na rycinach numer 8 i 9.

**Rycina 8.** Stężenie 1,25(OH)2D3 w surowicy u kobiet chorych na Hashimoto przed suplementacją [%].

**Rycina 9.** Stężenie 1,25(OH)2D3 w surowicy u kobiet zdrowych przed suplementacją [%].

Przy pierwszym badaniu, przed suplementacją u żadnej kobiety z obu grup nie stwierdzono nadmiernej eliminacji 25(OH)D3. Stwierdzono, że u 7,32% kobiet chorujących na Hashimoto (n=3) była zahamowana eliminacja 25(OH)D3 (stężenie 24,25(OH)2D3 było bardzo niskie). Reszta, czyli 38 kobiet (92,68%) z grupy badanej miało eliminację 25(OH)D3 na zrównoważonym poziomie. W grupie kontrolnej 26,67% (n=8) miało zahamowany katabolizm 25(OH)D3, a 73,33% (n=22) miało eliminację 25(OH)D3 na zrównoważonym poziomie. Rozkład procentowy został przedstawiony na rycinach numer 10 i 11.

**Rycina 10.** Ocena stopnia eliminacji witaminy D z krwiobiegu (katabolizmu) na podstawie stosunku 25(OH)D3 : 24,25(OH)2D u kobiet chorych na Hashimoto przed suplementacją [%].

**Rycina 11.** Ocena stopnia eliminacji witaminy D z krwiobiegu (katabolizmu) na podstawie stosunku 25(OH)D3 : 24,25(OH)2D u kobiet zdrowych przed suplementacją [%].

**Stężenia metabolitów witaminy D3 na drugiej wizycie, po suplementacji.**

Po 10 tygodniach suplementacji witaminą D3 powtórzono badania tych samych parametrach biochemicznych. Uzyskane wyniki zostały przedstawione osobno dla grupy badanej i dla grupy kontrolnej w tabeli nr 22 i 23.

**Tabela 22.** Ocena stężeń metabolitów witaminy D po suplementacji w grupie Hashimoto.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Grupa badana  Hashimoto | Liczba osób | Średnia | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny kwartyl | Górny kwartyl |
| Total 25(OH)D (ng/ml) | 41 | 35,6 | 34,6 | 23,4 | 62,5 | 29,8 | 39,7 |
| 3-epi-25(OH)D3 (ng/ml) | 41 | 2,3 | 2,2 | 0,9 | 5,7 | 1,5 | 2,5 |
| 25(OH)D3 (ng/ml) | 41 | 35,3 | 34,3 | 22,9 | 62,2 | 29,0 | 39,7 |
| 24,25(OH)2D3 (ng/ml) | 41 | 4,3 | 3,7 | 1,9 | 8,8 | 3,3 | 5,2 |
| 25(OH)D2 (ng/ml) | 41 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 1,0 | 0,1 | 0,3 |
| Stosunek 25(OH)D3 do epi-25(OH)D3 | 41 | 17,2 | 17,0 | 9,2 | 26,6 | 14,8 | 19,9 |
| Stosunek 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 | 41 | 8,9 | 8,8 | 5,2 | 14,4 | 7,4 | 10,5 |
| 1,25(OH)2D3 (pg/mL) | 41 | 37,4 | 34,9 | 22,0 | 83,3 | 30,0 | 42,0 |

**Tabela 23.** Ocena stężeń metabolitów witaminy D po suplementacji w grupie kontrolnej.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Grupa kontrolna zdrowa | Liczba osób | Średnia | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny kwartyl | Górny kwartyl |
| Total 25(OH)D (ng/ml) | 30 | 37,9 | 37,6 | 22,9 | 52,9 | 32,6 | 44,6 |
| 3-epi-25(OH)D3 (ng/ml) | 30 | 2,8 | 2,5 | 1,3 | 7,8 | 2,1 | 3,2 |
| 25(OH)D3 (ng/ml) | 30 | 37,6 | 37,4 | 22,6 | 52,7 | 32,4 | 44,5 |
| 24,25(OH)2D3 (ng/ml) | 30 | 4,0 | 4,0 | 1,5 | 5,9 | 3,2 | 4,8 |
| 25(OH)D2 (ng/ml) | 30 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 0,7 | 0,2 | 0,4 |
| Stosunek 25(OH)D3 do epi-25(OH)D3 | 30 | 14,7 | 14,2 | 5,9 | 28,7 | 11,8 | 17,3 |
| Stosunek 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 | 30 | 9,9 | 9,5 | 7,2 | 15,2 | 8,0 | 11,1 |
| 1,25(OH)2D3 (pg/mL) | 30 | 40,4 | 39,0 | 13,5 | 71,0 | 29,3 | 51,3 |

Wykonano analizę statystyczną porównującą stężenia metabolitów witaminy D w grupie chorych na Hashimoto i kontrolnej grupie zdrowej po suplementacji. Wyniki przedstawiono w tabeli nr 24.

Przeciętne stężenie witaminy D (25(OH)D) po zastosowanej suplementacji wynosiło 34,6 ng/ml u kobiet chorych na Hashimoto i 37,6 ng/ml u kobiet zdrowych. Różnice nie są istotne statystycznie, co prezentuje tabela nr 24.

Różnice istotne statystycznie (p<0,05), pomiędzy grupami wystąpiły dla przeciętnego stężenia 3-epi-25(OH)D3 oraz średniego stosunku 25(OH)D3 do epi-25(OH)D3.

W grupie chorych na Hashimoto mediana stężenie 3-epi-25(OH)D3 po suplementacji wyniosła Me= 2,2 ng/ml (Q1= 1,5; Q3= 2,5). W grupie kontrolnej mediana wyniosła Me=2,5 ng/ml (Q1=2,1; Q3=3,2). Różnice prezentuje rycina nr 12.

W grupie chorych na Hashimoto średni stosunek pomiędzy 25(OH)D3 a 3-epi-25(OH)D3 po suplementacji wyniósł 17,2, a w grupie kontrolnej 14,7. Różnice prezentuje rycina nr 13.

Różnice pomiędzy stężeniem innych metabolitów nie są istotne statystycznie, co przedstawiono w tabeli nr 24.

**Tabela 24.** Różnice stężeń metabolitów witaminy D podczas drugiego badania, przed suplementacją pomiędzy grupą Hashimoto a grupą zdrową.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Hashimoto | Zdrowe | p value |
| Total 25(OH)D (ng/ml)2 | 34,6 (29,8 ; 39,7) | 37,6 (32,6 ; 44,6 ) | 0,164 |
| 3-epi-25(OH)D3 (ng/ml)2 | 2,2 ( 1,5 ; 2,5) | 2,5 (2,1 ; 3,2) | 0,009 |
| 25(OH)D3 (ng/ml)2 | 34,3 (29 ; 39,7) | 37,4 (32,4 ; 44,5) | 0,157 |
| 24,25(OH)2D3 (ng/ml)2 | 3,7 ( 3,3 ; 5,2) | 4 (3,2 ; 4,8) | 0,839 |
| 25(OH)D2 (ng/ml)2 | 0,2 ( 0,1; 0,3) | 0,2 (0,2 ; 0,4) | 0,145 |
| Stosunek 25(OH)D3 do epi-25(OH)D31 | 17,2 ± 4.09 | 14,7 ± 4,77 | 0,020 |
| Stosunek 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D32 | 8,8 (7,4 ; 10,5) | 9,5 (8 ; 11,1) | 0,090 |
| 1,25(OH)2D3 (pg/mL) 2 | 34,9 (30 ; 42) | 39 (29,3 ; 51,3) | 0,282 |

1występuje normalność rozkładu, użyta średnia i odchylenie standardowe (Śr. ± odch.std).

2 brak normalności rozkładu, użyta mediana, dolny i górny kwartyl (Me (Q1 ; Q3)



**Rycina 12.** Mediana stężeń 3-epi-25(OH)D3 po suplementacji w grupie chorych na Hashimoto i grupie kontrolnej.



**Rycina 13.** Średnia stosunku stężenia 25(OH)D3 do 3-epi-25(OH)D3 po suplementacją pomiędzy grupą chorych na Hashimoto i grupą kontrolną.

Po 10 tygodniowej suplementacji w grupie badanej 12 z 41 kobiet nadal miało niedobór witaminy D3 (25(OH)D3 <30 ng/ml (29,27%). W grupie kontrolnej 6 kobiet miało niedobór tej witaminy po 10 tygodniowej suplementacji (20%). Rozkład procentowy został przedstawiony na rycinach nr 14 i 15.

**Rycina 14.** Ocena niedoboru witaminy D3 - 25(OH)D3 w grupie Hashimoto po suplementacji [%]

**Rycina 15.** Ocena niedoboru witaminy D3 - 25(OH)D3 w grupie kontrolnej po suplementacji [%]

Przy drugim badaniu krwi żadna kobieta z grupy chorych na Hashimoto nie miała stężenia kalcytriolu poniżej optymalnego (<20 pg/mL), natomiast dwie miały powyżej normy (>60 pg/mL) (4,88%). W grupie kontrolnej stężenie 1,25(OH)2D3 poniżej normy miała jedna kobieta (3,33%), a powyżej normy trzy (10%). Rozkład procentowy został przedstawiony na rycinach nr 16 i 17.

**Rycina 16.** Stężenie 1,25(OH)2D3 w surowicy u kobiet chorych na Hashimoto po suplementacji [%].

**Rycina 17.** Stężenie 1,25(OH)2D3 w surowicy u kobiet zdrowych po suplementacji [%].

Przy drugim badaniu, w grupie chorych na Hashimoto, u 4 kobiet (9,76%) wystąpiła nadmierna eliminacja 25(OH)D3 (stosunkowo duża produkcja katabolitu 24,25(OH)2D3). U pozostałych (n=37) kobiet w grupie badanej (90,24%) wykazano zrównoważoną eliminację 25(OH)D3. Natomiast w grupie kontrolnej 100% kobiet (n=30) wykazywało eliminację 25(OH)D3 na zrównoważonym poziomie. Rozkład procentowy został przedstawiony na rycinach nr 18 i 19.

**Rycina 18.** Ocena stopnia eliminacji witaminy D z krwiobiegu (katabolizmu) na podstawie stosunku 25(OH)D3 : 24,25(OH)2D3 u kobiet chorych na Hashimoto po suplementacji [%].

**Rycina 19.** Ocena stopnia eliminacji witaminy D z krwiobiegu (katabolizmu) na podstawie stosunku 25(OH)D3 : 24,25(OH)2D3 u kobiet zdrowych po suplementacji [%].

**Zmiany w stężeniach pomiędzy pierwszym badaniem a drugim badaniem po suplementacji w grupie Hashimoto i kontrolnej grupie zdrowej.**

Oceniono efekty suplementacji w grupie chorych na Hashimoto i w grupie kontrolnej. Różnice pomiędzy wynikami z pierwszego badania i drugiego po suplementacji w grupie chorych na Hashimoto przedstawiono w tabeli nr 25.

**Tabela 25.** Różnica stężeń metabolitów witaminy D pomiędzy pierwszym a drugim badaniem w grupie Hashimoto.

| Parametr | 1 pomiar | 2 pomiar | P value |
| --- | --- | --- | --- |
| Total 25(OH)D (ng/ml)1 | 18,3 ± 6,19 | 35,57 ±8,48 | <0,001 |
| 3-epi-25(OH)D3 (ng/ml) 2 | 0,64 (0.6 ; 0,8) | 2,2 ( 1,5 ; 2,5) | <0,001 |
| 25(OH)D3 (ng/ml)1 | 17,5 ± 6,21 | 35,3 ± 8,49 | <0,001 |
| 24,25(OH)2D3 (ng/ml)1 | 1,6 ± 0,8 | 4,3 ± 1,7 | <0,001 |
| 25(OH)D2 (ng/ml) 2 | 0,6 (0,5 ; 0,8) | 0,2 ( 0,1; 0,3) | <0,001 |
| Stosunek 25(OH)D3 do epi-25(OH)D31 | 25 ± 4,94 | 17,2 ± 4.09 | <0,001 |
| Stosunek 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D32 | 12,2 (10,2 ; 13,7) | 8,8 (7,4 ; 10,5) | <0,001 |
| 1,25(OH)D3 (pg/mL)1 | 39,6 ± 11,5 | 39,6 ± 12,1 | 0,225 |

1występuje normalność rozkładu, użyta średnia i odchylenie standardowe (Śr. ± odch.std).

2 brak normalności rozkładu, użyta mediana, dolny i górny kwartyl (Me (Q1 ; Q3)

Pomiędzy 1 a 2 badaniem u kobiet chorych na Hashimoto wystąpiły różnice ważne statystyczne dla wszystkich parametrów oprócz 1,25(OH)D3. Różnice ważne statystycznie zostały przedstawione na poniższych rycinach.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stężeniu Total 25(OH)D pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet chorych na Hashimoto. Średnia przed suplementacją wynosiła 18,3 ± 6,19 ng/ml, natomiast po suplementacji mediana wzrosła 35,57 ±8,48 ng/ml. Różnice prezentuje rycina nr 20.



**Rycina 20.** Różnica średnich stężeń pomiędzy pierwszym a drugim badaniem całkowitego 25(OH)D wraz z odchyleniem standardowym u kobiet chorych na Hashimoto.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stężeniu 3-epi-25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet chorych na Hashimoto. Mediana przed suplementacją wynosiła Me=0,64 ng/ml (Q1= 0,6; Q3= 0,8), natomiast po suplementacji średnia wzrosła Me=2,2 ng/ml (Q1= 1,5 Q3= 2,5). Różnice prezentuje rycina nr 21.



**Rycina 21.** Różnica mediany stężeń pomiędzy pierwszym a drugim badaniem metabolitu 3-epi-25(OH)D u kobiet chorych na Hashimoto.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stężeniu 25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet chorych na Hashimoto. Średnia przed suplementacją wynosiła 17,5 ± 6,21 ng/ml, natomiast po suplementacji średnia wzrosła 35,57 ±8,48 ng/ml. Różnice prezentuje rycina nr 22.



**Rycina 22.** Różnica średnich stężeń pomiędzy pierwszym a drugim badaniem 25(OH)D3 wraz z odchyleniem standardowym u kobiet chorych na Hashimoto.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stężeniu 24,25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet chorych na Hashimoto. Średnia przed suplementacją wynosiła 1,6 ± 0,8 ng/ml, natomiast po suplementacji średnia wzrosła 4,3 ± 1,7 ng/ml. Różnice prezentuje rycina nr 23.



**Rycina 23.** Różnica średnich stężeń pomiędzy pierwszym a drugim badaniem 24,25(OH)2D3 wraz z odchyleniem standardowym u kobiet chorych na Hashimoto.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stężeniu 25(OH)D2 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet chorych na Hashimoto. Mediana przed suplementacją wynosiła Me=0,6 ng/ml (Q1= 0,5; Q3= 0,8), natomiast po suplementacji mediana spadła Me=0,2 ng/ml (Q1= 0,1 Q3= 0,3). Różnice prezentuje rycina nr 24.



**Rycina 24.** Różnica mediany stężeń pomiędzy pierwszym a drugim badaniem 25(OH)D2 u kobiet chorych na Hashimoto.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stosunku stężeń 25(OH)D3 do 3-epi-25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet chorych na Hashimoto. Średnia przed suplementacją wynosiła 25 ± 4,94 ng/ml, natomiast po suplementacji średnia spadła do 8,8 ± 4,09 ng/ml. Różnice prezentuje rycina nr 25.



**Rycina 25.** Różnica średniego stosunku 25(OH)D3 do epi-25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem wraz z odchyleniem standardowym u kobiet chorych na Hashimoto.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stosunku stężeń 25(OH)D3 do 24,25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet chorych na Hashimoto. Mediana przed suplementacją wynosiła Me=12,2 (Q1= 10,2; Q3= 13,7), natomiast po suplementacji mediana spadła Me=8,8 (Q1= 7,4 ; Q3= 10,5). Różnice prezentuje rycina nr 26.



**Rycina 26.** Różnica mediany stosunku 25(OH)D3 do 24,25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet chorych na Hashimoto.

Oceniono również efekty suplementacji w grupie kontrolnej. Różnice pomiędzy wynikami z pierwszego badania i drugiego po suplementacji w grupie kontrolnej przedstawiono w tabeli nr 26.

**Tabela 26.** Różnica stężeń metabolitów witaminy D pomiędzy pierwszym a drugim badaniem w grupie kontrolnej.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Parametr | 1 pomiar | 2 pomiar | P value |
| Total 25(OH)D (ng/ml)1 | 16,5 ± 5,98 | 37,9 ± 7,59 | <0,001 |
| 3-epi-25(OH)D3 (ng/ml)2 | 0,7 (0,4 ; 0,9) | 2,5 (2,1 ; 3,2) | <0,001 |
| 25(OH)D3 (ng/ml)1 | 15,7 ± 6,13 | 37,6 ± 7,59 | <0,001 |
| 24,25(OH)2D3 (ng/ml)1 | 1,2 ± 0,74 | 4 ± 1,2 | <0,001 |
| 25(OH)D2 (ng/ml)2 | 0,8 (0,7 ; 1) | 0,2 (0,2 ; 0,4) | <0,001 |
| Stosunek 25(OH)D3 do epi-25(OH)D32 | 24,7 (21,2 ; 27,2) | 14,2 (12 ; 18) | <0,001 |
| Stosunek 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D32 | 13,2 (11,2 ; 17,6) | 9,5 (8 ; 11,1) | <0,001 |
| 1,25(OH)D3 (pg/mL)1 | 40,8 ± 10,7 | 40,4 ± 13,7 | 0,895 |

1występuje normalność rozkładu, użyta średnia i odchylenie standardowe (Śr. ± odch.std).

2 brak normalności rozkładu, użyta mediana, dolny i górny kwartyl (Me (Q1 ; Q3)

Pomiędzy 1 a 2 badaniem u kobiet zdrowych wystąpiły różnice statystyczne dla wszystkich parametrów oprócz 1,25(OH)D3.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stężeniach Total 25(OH)D pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet zdrowych. Średnia przed suplementacją wynosiła 16,5 ± 5,98 ng/ml, natomiast po suplementacji średnia wzrosła do 37,9 ± 7,59 ng/ml. Różnice prezentuje rycina nr 27.



**Rycina 27.** Różnica średnich stężeń pomiędzy pierwszym a drugim badaniem całkowitego 25(OH)D wraz z odchyleniem standardowym u kobiet zdrowych.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stężeniu 3-epi-25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet zdrowych. Mediana przed suplementacją wynosiła Me=0,7 ng/ml (Q1= 0,4; Q3= 0,9), natomiast po suplementacji mediana wzrosła Me= 2,5 ng/ml (Q1= 2,1 ; Q3= 3,2). Różnice prezentuje rycina nr 28.



**Rycina 28.** Różnica mediany stężeń pomiędzy pierwszym a drugim badaniem metabolitu 3-epi-25(OH)D3 u kobiet zdrowych.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stężeniach 25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet zdrowych. Średnia przed suplementacją wynosiła 15,7 ± 6,13 ng/ml, natomiast po suplementacji średnia wzrosła do 37,6 ± 7,59 ng/ml. Różnice prezentuje rycina nr 29.



**Rycina 29.** Różnica średnich stężeń pomiędzy pierwszym a drugim badaniem 25(OH)D3 wraz z odchyleniem standardowym u kobiet zdrowych.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stężeniach 24,25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet zdrowych. Średnia przed suplementacją wynosiła 1,2 ± 0,74 ng/ml, natomiast po suplementacji średnia wzrosła do 4 ± 1,2 ng/ml. Różnice prezentuje rycina nr 30.



**Rycina 30.** Różnica średnich stężeń pomiędzy pierwszym a drugim badaniem 24,25(OH)2D3 wraz z odchyleniem standardowym u kobiet zdrowych.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice w stężeniach 25(OH)D2 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet zdrowych. Mediana przed suplementacją wynosiła Me=0,8 ng/ml (Q1= 0,7; Q3= 1), natomiast po suplementacji mediana spadła Me= 0,2 ng/ml (Q1= 0,2 ; Q3= 0,4). Różnice prezentuje rycina nr 31.



**Rycina 31.** Różnica mediany stężeń pomiędzy pierwszym a drugim badaniem 25(OH)D2 u kobiet zdrowych.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice stosunku stężeń 25(OH)D3 do 3-epi-25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet zdrowych. Mediana przed suplementacją wynosiła Me=24,7 (Q1= 21,2 ; Q3=27,2), natomiast po suplementacji mediana spadła Me= 14,2 (Q1=12 ; Q3=18). Różnice prezentuje rycina nr 32.



**Rycina 32.** Różnica mediany stosunku 25(OH)D3 do 3-epi-25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet zdrowych.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,001) różnice stosunku stężeń 25(OH)D3 do 24,25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet zdrowych. Mediana przed suplementacją wynosiła Me=13,2 (Q1= 11,2 ; Q3=17,6), natomiast po suplementacji mediana spadła Me=9,5 (Q1=8 ; Q3=11,1). Różnice prezentuje rycina nr 33.



**Rycina 33.** Różnica mediany stosunku 25(OH)D3 do 24,25(OH)D3 pomiędzy pierwszym a drugim badaniem u kobiet zdrowych.

**Porównanie efektów suplementacji w czasie pomiędzy grupą Hashimoto a grupą kontrolną.**

Oceniono różnicę efektów suplementacji między grupą chorą na Hashimoto a grupą kontrolną. Sprawdzono wzrost lub spadek metabolitów witaminy D w każdej grupie po suplementacji. Sprawdzono różnice statystyczne między obiema grupami.

Stwierdzono różnice istotne statystycznie w efektach suplementacji w stężeniu Total 25(OH)D, 25(OH)D3, 3-epi-25(OH)D3 oraz 25(OH)D2. W innych parametrach nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie. Wyniki przedstawia tabela nr 27.

**Tabela 27.** Różnica przyrostów lub spadków stężeń metabolitów witaminy D u kobiet chorych na Hashimoto i u kobiet zdrowych.

|  | Hashimoto | Zdrowe | p value |
| --- | --- | --- | --- |
| Różnica Total 25(OH)D (ng/ml)1 | 17,3 ± 7,6 | 21,4 ± 9,0 | 0,044 |
| Różnica 3-epi-25(OH)D3 (ng/ml)2 | 1,4 (1,1 ; 1,7) | 2,1 (1,4 ; 2,5) | 0,007 |
| Różnica 25(OH)D3 (ng/ml)1 | 17,8 ±7,7 | 21,9 ± 9,1 | 0,039 |
| Różnica 24,25(OH)2D3 (ng/ml)1 | 2,7 ± 1,5 | 2,9 ± 1,3 | 1,27 |
| Różnica 25(OH)D2 (ng/ml)2 | -0,4 (-0,5 ; -0,3) | -0,5 (-0,7 ; -0,4) | 0,008 |
| Różnica stosunku 25(OH)D3 do epi-25(OH)D32 | -0,8 (-10,9 ; -5,4) | -9 ( -10,9 ; -5,7) | 0,481 |
| Różnica stosunku 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D32 | -3,3 (-4,8 ; -2,1) | -4,1 (-7,4 ; -2,5) | 0,115 |
| Różnica 1,25(OH)D3 (pg/mL)1 | -2,2 ± 11,3 | -0,4 ± 14,8 | 14,77 |

1występuje normalność rozkładu, użyta średnia i odchylenie standardowe (Śr. ± odch.std).

2 brak normalności rozkładu, użyta mediana, dolny i górny kwartyl (Me (Q1 ; Q3)

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,05) różnice w przyroście stężeń całkowitego 25(OH)D pomiędzy kobietami chorymi na chorobę Hashimoto a grupą kontrolną. Średnia przyrostu u grupy Hashimoto wynosiła 17,3 ± 7,6 ng/ml. W grupie kontrolnej średnia była wyższa i wynosiła 21,4 ± 9 ng/ml. Różnice prezentuje rycina nr 34.



**Rycina 34.** Różnica w przyroście stężenia całkowitego 25(OH)D jako efekt suplementacji dla grupy Hashimoto względem grupy kontrolnej, zdrowej.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,05) różnice przyroście stężeń 25(OH)D3 pomiędzy kobietami chorymi na chorobę Hashimoto a grupą kontrolną. Średnia przyrostu u grupy Hashimoto wynosiła 17,8 ± 7,7 ng/ml. W grupie kontrolnej średnia była wyższa i wynosiła 21,9 ± 9,1 ng/ml. Różnice prezentuje rycina nr 35.



**Rycina 35.** Różnica w przyroście stężenia 25(OH)3 jako efekt suplementacji dla grupy Hashimoto względem grupy kontrolnej, zdrowej.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,05) różnice przyroście stężeń 3-epi-25(OH)D3 pomiędzy kobietami chorymi na chorobę Hashimoto a grupą kontrolną. Mediana przyrostu u grupy Hashimoto wynosiła Me=1,4 ng/ml (Q1= 1,1 ; Q3=1,7). W grupie kontrolnej mediana była wyższa i wynosiła Me=2,1 ng/ml (Q1= 1,4 ; Q3=2,5). Różnice prezentuje rycina nr 36.



**Rycina 36.** Różnica w przyroście stężenia 3-epi-25(OH)D3 jako efekt suplementacji dla grupy Hashimoto względem grupy kontrolnej, zdrowej.

Stwierdzono istotne statystycznie (p<0,05) różnice w spadku stężeń 25(OH)D2 pomiędzy kobietami chorymi na chorobę Hashimoto a grupą kontrolną. Mediana przyrostu u grupy Hashimoto była ujemna i wynosiła Me= -0,4 ng/ml (Q1= -0,5 ; Q3= -0,3). W grupie kontrolnej mediana była również ujemna, ale jeszcze niższa i wynosiła Me=0,5 ng/ml (Q1= 1 -0,7 ; Q3= -0,4). Różnice prezentuje rycina nr 37.



**Rycina 37.** Różnica w spadku stężenia 25(OH)D2 po suplementacji w grupie chorej na Hashimoto względem grupy kontrolnej, zdrowej.

**Ocena zawartości witaminy D w diecie**

Średnie dzienne spożycie witaminy D (wspólnie, zarówno D3 jak i D2) w grupie Hashimoto wyniosło 82,5 IU/dzień. W grupie kontrolnej dzienne spożycie było niższe, wyniosło 73,4 IU/dzień. Wyniki obliczeń zostały przedstawione w tabeli nr 28.

**Tabela 28.** Dzienne spożycie witaminy D w grupie chorych na Hashimoto i w grupie kontrolnej.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Dzienne spożycie witaminy D w IU | Ilość osób | Średnia | Mediana | Minimum | Maksimum | Dolny kwartyl | Górny kwartyl |
| Grupa kontrolna | 30 | 73,4 | 53,6 | 2,0 | 279,9 | 17,4 | 108,8 |
| Grupa Hashimoto | 40 | 82,5 | 75,7 | 7,2 | 264,1 | 41 | 99,7 |

Stwierdzono brak różnic istotnych statystycznie (p= 0,198) pomiędzy spożyciem witaminy D w grupie Hashimoto a grupą kontrolną, zdrową. Wyniki przedstawiono na rycinie nr 38.



**Rycina 38.** Różnice dziennego spożycia witaminy D pomiędzy grupą badaną i kontrolną.

Następnie oceniano korelacje pomiędzy podażą witaminy D w diecie a jej stężeniem w surowicy krwi przed suplementacją. Stwierdzono istotną statystycznie (p<0,05), przeciętną (R=0,3) korelację dodatnią pomiędzy średnim dziennym spożyciem witaminy D a stężeniem całkowitym 25(OH)D w grupie badanej. Nie stwierdzono natomiast istotnej statystycznie (p<0,09), (R=0,3) korelacji pomiędzy średnim dziennym spożyciem witaminy D a stężeniem całkowitym 25(OH)D w grupie kontrolnej. Korelacje przedstawione zostały na rycinie nr 39.



**Rycina 39.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy średnim dziennym spożyciem witaminy D a stężeniem 25(OH)D we krwi przed suplementacją w grupie chorych na Hashimoto i zdrowej grupie kontrolnej.

Następnie ocenie poddano korelację pomiędzy stężeniem całkowitym 25(OH)D a BMI u kobiet chorych na Hashimoto oraz u kobiet zdrowych.

Stwierdzono brak istotnej statystycznie (p=0,1), korelacji pomiędzy stężeniem całkowitym 25(OH)D a BMI u kobiet chorych na Hashimoto. Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic (p=0,7), pomiędzy stężeniem całkowitym 25(OH)D a BMI u kobiet zdrowych. Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 40.



**Rycina 40.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy BMI a stężeniem metabolitu 25(OH)D we krwi przed suplementacją w grupie chorych na Hashimoto i zdrowej grupie kontrolnej.

Oceniono korelacje pomiędzy zawartością tkanki tłuszczowej a stężeniem 25(OH)D przed suplementacją u kobiet obu grup.

Stwierdzono brak istotnej statystycznie (p=0,1), korelacji pomiędzy stężeniem całkowitym 25(OH)D a zawartością tkanki tłuszczowej [%] u kobiet chorych na Hashimoto.

Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic (p=0,7), pomiędzy stężeniem całkowitym 25(OH)D a zawartością tkanki tłuszczowej [%] u kobiet zdrowych. Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 41.



**Rycina 41.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy zawartością tkanki tłuszczowej [%] a stężeniem metabolitu 25(OH)D we krwi przed suplementacją w grupie chorych na Hashimoto i zdrowej grupie kontrolnej.

Zbadano korelację pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 a 24,25(OH)2D3 przed suplementacją u kobiet obu grup w celu oceny stopnia eliminacji 25(OH)D3 z organizmu.

Stwierdzono istotną statystycznie (p<0,0001), bardzo silną (R=0,9) korelację dodatnią pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 i stężeniem 24,25(OH)2D3 przed suplementacją u kobiet chorych na Hashimoto i u kobiet zdrowych. Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 42.



**Rycina 42.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 i stężeniem 24,25(OH)2D3 przed suplementacją w grupie chorych na Hashimoto i zdrowej grupie kontrolnej.

Zbadano również korelację pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 a 24,25(OH)2D3 po suplementacji u kobiet obu grup w celu oceny stopnia eliminacji 25(OH)D3 z organizmu po 10 tygodniowej suplementacji.

Stwierdzono istotną statystycznie (p<0,0001), silną (R=0,52) korelację dodatnią pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 a stężeniem 24,25(OH)2D3 po suplementacji u kobiet chorych na Hashimoto. Podobnie, u kobiet zdrowych stwierdzono istotną statystycznie (p<0,0001), silną (R=0,7) korelację dodatnią pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 a stężeniem 24,25(OH)2D3 po suplementacji. Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 43.



**Rycina 43.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 i stężeniem 24,25(OH)2D3 po suplementacji w grupie chorych na Hashimoto i grupie kontrolnej.

Oceniono następnie korelację pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 a stężeniem aktywnego metabolitu witaminy D (1,25(OH)2D3) przed suplementacją i po suplementacji u kobiet chorych na Hashimoto i u grupy kontrolnej.

Stwierdzono brak istotnej statystycznie (p=0,63) korelacji pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 a stężeniem 1,25(OH)2D3 przed suplementacją w grupie badanej. Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic (p=0,26), pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 a stężeniem 1,25(OH)2D3 u kobiet zdrowych. Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 44.



**Rycina 44.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 i stężeniem 1,25(OH)2D3 przed suplementacją w grupie badanej i kontrolnej.

Stwierdzono brak istotnej statystycznie (p=0,059) korelacji pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 a stężeniem 1,25(OH)2D3 po suplementacji w grupie badanej. Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic (p=0,15), pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 a stężeniem 1,25(OH)2D3 w grupie kontrolnej. Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 45.



**Rycina 45.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 i stężeniem 1,25(OH)2D3 po suplementacji w grupie badanej i kontrolnej.

Oceniano również stosunek kalcytriolu do katabolitu 24,25(OH)2D3 przed suplementacją i po suplementacji u kobiet chorych na Hashimoto i u grupy kontrolnej.

Stwierdzono brak istotnej statystycznie (p=0,50) korelacji pomiędzy stężeniem 1,25(OH)2D3 a stężeniem 24,25(OH)2D3 przed suplementacją u kobiet chorych na Hashimoto. Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic (p=0,73), pomiędzy stężeniem 1,25(OH)2D3 a stężeniem 24,25(OH)2D3 u kobiet zdrowych. Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 46.



**Rycina 46.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy stężeniem 24,25(OH)2D3 i stężeniem 24,25(OH)2D3 przed suplementacją w grupie badanej i kontrolnej.

Stwierdzono również brak istotnej statystycznie (p=0,11) korelacji pomiędzy stężeniem 1,25(OH)2D3 a stężeniem 24,25(OH)2D3 po suplementacji u kobiet chorych na Hashimoto. Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic (p=0,79), pomiędzy stężeniem 1,25(OH)2D3 a stężeniem 24,25(OH)2D3 po suplementacji u kobiet zdrowych. Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 47.



**Rycina 47.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy stężeniem 1,25(OH)2D3 i stężeniem 24,25(OH)2D3 po suplementacji w grupie chorych na Hashimoto i zdrowej grupie kontrolnej.

Następnie oceniono korelację pomiędzy wiekiem badanych osób a stężeniem 3-epi-25(OH)D3 przed suplementacją i po suplementacji, zarówno u kobiet chorych na Hashimoto jak i u grupy kontrolnej.

Stwierdzono brak istotnej statystycznie (p=0,28) korelacji pomiędzy wiekiem a stężeniem 3-epi-25(OH)D3 przed suplementacją u kobiet chorych na Hashimoto. Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic (p=0,97), pomiędzy wiekiem a stężeniem 3-epi-25(OH)D3 przed suplementacją u kobiet zdrowych. Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 48.



**Rycina 48.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy wiekiem a stężeniem 3-epi-25(OH)D3 przed suplementacją w grupie chorych na Hashimoto i zdrowej grupie kontrolnej.

Stwierdzono brak istotnej statystycznie (p=039) korelacji pomiędzy wiekiem a stężeniem 3-epi-25(OH)D3 po suplementacji u kobiet chorych na Hashimoto. Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic (p=0,27), pomiędzy wiekiem a stężeniem 3-epi-25(OH)D3 u kobiet zdrowych. Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 49.



**Rycina 49.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy wiekiem a stężeniem 3-epi-25(OH)D3 po suplementacji w grupie chorych na Hashimoto i zdrowej grupie kontrolnej.

Stwierdzono istotną statystycznie (p=0,03), (R=-0,26) ujemną korelację pomiędzy wiekiem a stężeniem 3-epi-25(OH)D3 po suplementacji u kobiet bez podziału na grupy (n=71). Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 50. Korelacji prawdopodobnie nie stwierdzono osobno w grupach, ze względu na małą liczebność poszczególnych grup.



**Rycina 50.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy wiekiem a stężeniem 3-epi-25(OH)D3 po suplementacji u wszystkich kobiet bez podziału na grupy.

W celu oceny efektów suplementacji witaminą D3 zbadano również czy istnieje korelacja pomiędzy pierwszym a drugim badaniem stężenia 3-epi-25(OH)D3.

Stwierdzono istotną statystycznie (p<0,0001), silną (R=0,52) korelację dodatnią pomiędzy pierwszym a drugim (po suplementacji) stężeniem 3-epi-25(OH)D3 u kobiet chorych na Hashimoto. Stwierdzono również istotną statystycznie (p<0,05), przeciętną (R=0,44) korelację dodatnią pomiędzy pierwszym a drugim (po suplementacji) stężeniem 3-epi-25(OH)D3 u kobiet zdrowych. Korelacja przedstawiona została na rycinie nr 51.



**Rycina 51.** Wykres rozrzutu przedstawiający korelacje pomiędzy stężeniem 3-epi-25(OH)D3 przed i po suplementacji u kobiet zdrowych i chorych na Hashimoto.

# DYSKUSJA

Coraz większa ilość prowadzonych badań dowodzi coraz większej ilości plejotropowego działania witaminy D. Wykazano możliwy wpływ kalcytriolu na choroby autoimmunizacyjne, w tym na chorobę Hashimoto. Niższe stężenie 25(OH)D wiąże się z wyższym stężeniem przeciwciał TPO co bezpośrednio może korelować z obniżoną jakością życia pacjentów związaną z intensyfikacją objawów choroby (30).

Celem pracy było przeanalizowanie różnic w spożyciu witaminy D oraz w jej metabolizmie u kobiet chorych na Hashimoto względem kobiet zdrowych. Zastosowano interwencję w postaci 10 tygodniowej suplementacji witaminy D3 w celu wykazania różnic w stężeniach metabolitów witaminy D.

Pierwsze badanie przeprowadzone zostało na grupie 98 kobiet: 56 było chorych na chorobę Hashimoto, 42 kobiety były zdrowe. U części z tych kobiet w badaniu wykazano stężenie 25(OH)D3 >30 ng/ml oraz część kobiet nie zgłosiło się na badanie kontrolne, dlatego te kobiety nie zostały wzięte pod uwagę w dalszych analizach. Właściwe badania przeprowadzono na grupie 71 kobiet z województwa mazowieckiego: 41 kobiet chorych na chorobę Hashimoto i 30 kobiet zdrowych. Oceniono stężenie 25(OH)D, 25(OH)D3, 25(OHD2, 24,25(OH)D3, 3-epi-25(OH)D3 oraz 1,25(OH)D3 w kwietniu 2017 roku. Zastosowano 10 tygodniową suplementację dawką witaminy D3 ok 4000 IU/dzień, a następnie, po 10 tygodniach zbadano raz jeszcze te same parametry biochemiczne w grupie badanej i w grupie kontrolnej.

Tkanka tłuszczowa jest głównym magazynem witaminy D. W adipocytach witamina D jest przechowywana zarówno w formie witaminy jak i metabolitu 25(OH)D3 i 1,25(OH)2D3 (31). Wykazano, że otyłe osoby mają niższe stężenia D3, 25(OH)D3 oraz 1,25(OH)2D3 w surowicy niż osoby o prawidłowej masie ciała (31) (6) (32). Wortsman i wsp. (33) sugeruje, że witamina D jest sekwestrowana w tkance tłuszczowej, a zatem mogłaby mieć zmniejszoną biodostępność u osób otyłych. Zostało to jednak zakwestionowane przez Drincic’a i wsp., który sugeruje, że niższe stężenia 25(OH)D u otyłych osób spowodowane są rozcieńczeniem wolumetrycznym (34). Duża ilość badań sugeruje, że wyższe BMI jest związane z niższymi stężeniami witaminy D. Na przykład badanie z 2017 roku z udziałem hiszpańskiej populacji Amerykanów wykazało, że osoby z nadwagą i otyłością mają niższe stężenie 25(OH)D (35). Do odwrotnych wniosków doszedł Baradaran i wsp., ich badanie na grupie dorosłych kobiet i mężczyzn z Iranu nie wykazało korelacji pomiędzy BMI a stężeniem 25(OH)D w surowicy (36). Inne badania wykazały natomiast, że osoby z BMI <25 kg/m2 osiągają znacznie więk­szy przyrost stężenia 25(OH)D po suplementacji, niż osoby z BMI >35 kg/m2. Może się to wiązać bezpośrednio z daw­ką suplementowanej witaminy D na kilogram masy ciała (37).

W niniejszej pracy nie wykazano korelacji pomiędzy BMI a stężeniem 25(OH)D zarówno u kobiet zdrowych jak i u kobiet chorych na Hashimoto.

We wcześniej cytowanej literaturze (34) (35) (32) (31) badane były korelacje pomiędzy BMI, masą ciała a stężeniem 25(OH)D, nikt natomiast nie badał korelacji pomiędzy zawartością tkanki tłuszczowej (zbadanej metodą bioimpedancji) a stężeniem 25(OH)D. Często BMI nie jest dobrym wskaźnikiem otyłości, ze względu na to, że wskaźnik ten bierze pod uwagę tylko wzrost i masę ciała a parametry te mogą się różnić w zależności od tego czy na przykład dana osoba jest bardzo aktywna fizycznie i ma dużo tkanki mięśniowej, która powoduje wzrost masy ciała bez zwiększania masy tkanki tłuszczowej. W tej pracy uczestniczkom zbadano zawartość tkanki tłuszczowej i wyniki porównano ze stężeniami 25(OH)D. Nie wykazano korelacji istotnych statystycznie.

W niniejszym badaniu z przeprowadzonej analizy spożycia produktów zawierających witaminę D oszacowano, że zarówno średnie spożycie (podaż z dietą) wśród kobiet chorych na Hashimoto, jak i zdrowych (odpowiednio 82,5 IU i 73,4 IU) było niższe niż ich dzienne zapotrzebowanie (21). Różnice pomiędzy spożyciem nie były istotne statystycznie, ale u kobiet chorych na Hashimoto stwierdzono korelację pomiędzy spożyciem witaminy D a stężeniem 25(OH)D w surowicy krwi przed suplementacją. Nie wykazano takiej korelacji w grupie kontrolnej. Zbadano średnie spożycie witaminy D wśród studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego (38) i stwierdzono, że średnie spożycie u kobiet wynosiło 98 IU/dzień a u mężczyzn 159 IU/dzień. W niniejszej pracy średnie spożycie u kobiet było niższe niż w większości krajów europejskich. W badaniu Freisling’a i wsp. (39) u dorosłych w wieku 35-74 lat w 10 krajach: Grecji, Hiszpani, Włoszech, Francji, Niemczech, Holandii, Wielkiej Brytanii, Danii, Szwecji i Norwegii, obliczono średnie dzienne spożycie witaminy D, które wyniosło 190 IU dla mężczyzn i 130 IU dla kobiet (ale występowały znaczne różnice między krajami). Bardzo obszerne analiza Flynn’a i wsp. (40) porównująca spożycie różnych witamin i minerałów w krajach europejskich wykazała spożycie witaminy D (z diety i produktów spożywczych fortyfikowanych obowiązkowo) na poziomie 120 IU/dzień wśród kobiet w Polsce. W Hiszpanii wśród kobiet wykazano najmniejsze spożycie witaminy D, na poziomie jedynie 40 IU/dzień. W Wielkiej Brytanii oraz Niemczech wykazano spożycie tej witaminy u kobiet na poziomie 110 IU/dzień. Największa jej podaż w diecie była w Finlandii, blisko 200 IU/dzień. Wyższe spożycie obserwowane w Finlandii, związane jest z fortyfikowaniem witaminą D mleka (40).

W niniejszej pracy, przy pierwszym pobraniu krwi przebadano 98 kobiet (56 chorych na Hashimoto i 42 zdrowe). Średnie stężenie 25(OH)D w grupie Hashimoto wyniosło 19,9 ng/ml, stężenie 25(OH)D3 19,23 ng/ml. W grupie kontrolnej stężenie 25(OH)D było niższe i wyniosło 17,9 ng/ml a stężenie 25(OH)D3 17,1 ng/ml. W grupie Hashimoto 8,93% kobiet (n=6) miało stężenie 25(OH)D3 w zakresie normy, czyli >30 ng/ml. W grupie kontrolnej 7,14% (n=3) miało stężenie 25(OH)D3 >30 ng/ml. Osoby te nie zostały uwzględnione do dalszego etapu badań z włączoną suplementacją z uwagi na brak niedoboru witaminy D3. W badaniu Yesmeh i wsp. (41) grupa kobiet chorych na Hashimoto również miała wyższe stężenie 25(OH)D (30.8 ± 7.5 ng/mL) niż grupa kontrolna kobiet zdrowych (27.6 ± 8.1).

W literaturze wykazano niższe stężenia 25(OH)D u osób chorych na Hashimoto w porównaniu z osobami zdrowymi (26) (42). Ukazały się również badania, które zaprzeczają występowaniu związku pomiędzy niedoborem witaminy D a występowaniem Hashimoto. Yasmeh i wsp. wykazali, że osoby chore na Hashimoto nie mają niższego stężenia 25(OH)D niż osoby zdrowe (41). Do innych wniosków doszli Ucan i wsp. (43), którzy porównali stężenie 25(OH)D u osób z niedoborami witaminy D chorymi na Hashimoto oraz u osób zdrowych. W grupie Hashimoto średnie stężenie 25(OH)D wyniosło 9.37±0.69 ng/ml a w grupie kontrolnej 11.95±1.01 ng/ml. W niniejszej pracy średnie stężenie w surowicy krwi 25(OH)D (25(OH)D2 + 25(OH)D3) przed suplementacją było wyższe w grupie Hashimoto (18,3 ng/ml) w porównaniu do grupy kontrolnej (16,5 ng/ml). Podobnie 25(OH)D3 (17,5±6,21 ng/ml w grupie Hashimoto i 15,7±6,13 ng/ml w grupie kontrolnej). Różnice te nie są istotne statystycznie, jednakże wyniki nie wykazują większych niedoborów w grupie Hashimoto u osób niesuplementujących witaminy D. W badaniu Sewerynek i wsp. (44) na grupie zdrowych, młodych kobiet (n=106) w wieku 20-30 lat średnie stężenie 25(OH)D wyniosło 16,56 ng/ml, co stanowi wartość zbliżoną do średniego stężenia w grupie kontrolnej niniejszej pracy.

Po 10 tygodniowej suplementacji dawką 4000 IU dziennie nadal 29,27% (n=12) kobiet z grupy Hashimoto miało niedobór 25(OH)D3 (<30 ng/ml). W grupie kontrolnej procentowy rozkład niedoborów był niższy – 20% kobiet nadal miało stężenie 25(OH)D3 <30 ng/ml. Możliwe, że kobiety chore na Hashimoto charakteryzuje większy odsetek niedoborów witaminy D po suplementacji. Potrzeba jednak więcej badań, ponieważ grupa kontrolna, zdrowa stanowiła mniejszą ilość kobiet niż grupa badana (odpowiednio n=30 i n=41).

Optymalne stężenie kalcytrilu (1,25(OH)2D) mieści się w granicach 20-60 pg/mL (8). W grupie chorych na Hashimoto, w badaniu przed suplementacją prawidłowe stężenie kalcytriolu miało 92,7% kobiet, jedna kobieta miała stężenie poniżej a dwie powyżej optymalnego poziomu. W grupie kontrolnej 90% kobiet miało stężenie w granicach normy, dwie kobiety miały niedobór, a jedna stężenie 1,25(OH)2D3 powyżej normy. W drugim badaniu, po 10 tygodniowej suplementacji w grupie chorych na Hashimoto 95,12% kobiet miało stężenie kalcytriolu w granicach normy, dwie kobiety stężenie powyżej normy i żadna nie miała niedoboru. W grupie kontrolnej w drugim badaniu 86% kobiet miało stężenie kalcytriolu w granicach normy, 3 kobiety miały nadmiar, a jedna niedobór 1,25(OH)2D3. Stężenie 1,25(OH)2D3 (kalcytriolu) w osoczu zależy głównie od czynności nerek, stężenia PTH i zaopatrzenia organizmu w wapń i fosfor. Wysokie stężenie PTH, niski stężenie wapnia i fosforu są głównymi stymulatorami produkcji kalcytriolu. Aby sprawdzić zaopatrzenie organizmu w witaminę D, nie należy badać stężenia 1,25(OH)2D3, gdyż może to prowadzić do błędnej interpretacji statusu witaminy D. Kalcytriol ma krótki okres półtrwania i podlega ścisłej regulacji. Stężenie kalcytriolu jest często prawidłowe lub nawet podwyższone u pacjentów z niedoborem witaminy D w wyniku podwyższonego stężenia PTH (45). Obliczenia statystyczne w niniejszej pracy wykazały różnice statystyczne w stężeniach każdego metabolitu witaminy D oprócz 1,25(OH)2D3 (przy porównaniu stężeń przed i po suplementacji). Dodatkowo nie wykazano korelacji istotnych statystycznie pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 a stężeniem 1,25(OH)2D3, zarówno przed jak i po suplementacji. Wyniki te pokazują, że stężenie kalcytriolu w badaniach nie jest bezpośrednio zależne od stężenia 25(OH)D, które zdecydowanie wzrosło w drugim badaniu. Dlatego potwierdza się fakt, że najlepszym wskaźnikiem niedoborów witaminy D3 jest badanie stężenia 25(OH)D a nie kalcytriolu i kalcytriol nie powinien być stosowany do badania niedoborów witaminy D (17).

25-hydroksywitamina D (25(OH)D) jest metabolizowana do dwóch postaci metabolitów: kalcytriolu (1,25(OH)2D) w wyniku działania 1αhydroksylazy i 24,25-dihydroksywitaminy D (24,25(OH)2D) przez 24-hydroksylazę. Badania sugerują, że produkcja 24,25(OH)2D jest zależna od kalcytriolu. Wyższe stężenie 1,25(OH)2D indukuje wzrost aktywności enzymu 24-hydroksylazy i powstawanie nieaktywnego metabolitu jakim jest 24,25(OH)2D. Mechanizm ten stanowi ważny element przeciwdziałający zatruciu witaminą D (23) (11). Nadmiar 25(OH)D jest przekształcany do 24,25(OH)2D3 (1) (14). Faktycznie, w niniejszym badaniu stwierdzono silną korelację pomiędzy stężeniem 25(OH)D3 a 24,25(OH)2D3. Stężenie 24,25(OH)2D3 wzrasta wraz ze stężeniem 25(OH)D3 zarówno przed jak i po suplementacji w obu grupach kobiet. Nie wykazano różnic statystycznych pomiędzy stężeniem 24,25(OH)2D3 u grupy badanej i kontrolnej. Nie wykazano również korelacji pomiędzy stężeniem kalcytriolu a 24,25(OH)2D3. Kalcytriol nie korelował z żadnym metabolitem witaminy D.

Stopień eliminacji witaminy D można ocenić na podstawie stosunku 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3. Większe stężenie witaminy D w surowicy generuje uaktywnienie szlaku katabolizmu witaminy D (14) (1). Zahamowana eliminacja występuje wówczas, gdy powstaje mało 24,25(OH)2D3 w stosunku do stężenia 25(OH)D3. Nadmierna eliminacja następuje wówczas, gdy wzrasta stężenie 24,25(OH)2D3 w stosunku do stężenia 25(OH)D3. Podczas pierwszego badania, przed suplementacją nie wystąpiła nadmierna eliminacja 25(OH)D3 u żadnej kobiety z obu grup(z uwagi na to, że każda z kobiet miała niedobór 25(OH)D3). 7,32% (n=3) kobiet z grupy Hashimoto miało zahamowaną eliminację 25(OH)D3, a w grupie kontrolnej 26,57% (n=8) wykazywało zahamowany szlak katabolizmy 25(OH)D3 przed suplementacją. Reszta, czyli 92,86% kobiet chorych (38) oraz 73,33% (n=22) wykazywało zrównoważoną eliminację 25(OH)D3.  Po suplementacji żadna z kobiet obu grup nie wykazywała zahamowanej eliminacji 25(OH)D3 (jest to związane z wyższym stężeniem 25(OH)D3). 10% (n=4) kobiet chorych na Hashimoto wykazywało nadmierną eliminację 25(OH)D3. Wśród kobiet z grupy kontrolnej – 100% (n=30) wykazywało zrównoważoną eliminację 25(OH)D3. Przeciętny stosunek 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 przed suplementacją wynosił 12,2 (10,2 ; 13,7) u kobiet z grupy badanej i 13,2 (11,2 ; 17,6) w grupie kontrolnej. Po suplementacji przeciętny stosunek 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 wynosił 8,8 (7,4 ; 10,5) u kobiet z grupy badanej i 9,5 (8 ; 11,1) w grupie kontrolnej. Tang i wsp. (46) przebadali stosunek 25(OH)D3 do 24,25(OH)2D3 w grupie dorosłych osób zdrowych i pacjentów (z różnymi schorzeniami) uniwersyteckiego szpitala Norfolk i Norwich. W grupie osób zdrowych średni stosunek 25(OH)Ddo 24,25(OH)2D wyniósł 13±4,3, a w grupie osób chorych 17±7,4.

Metabolit epi-25(OH)D3 powstaje w wyniku epimeryzacji 25(OH)D3. Epimeryzacji podlegają również inne metabolity witaminy D (jak już było przedstawione w tej pracy). Epimery są metabolitami aktywnymi w ten sam sposób jak jego prekursory, ale mają mniejsze powinowactwo do receptora VDR i do wiązania z DBP. Stężenie epi-25(OH)D3 maleje z wiekiem (14). W niniejszej pracy wykazano, że stężenie epi-25(OH)D3 wzrosło istotnie statystycznie po suplementacji witaminą D3, prawdopodobnie ze względu na dostępność substratu. Po suplementacji stężenie metabolitu epi-25(OH)D3 wzrosło zdecydowanie bardziej, istotnie statystycznie (p=0,007) w grupie kontrolnej niż w grupie Hashimoto. W drugim badaniu grupa Hashimoto miała statystycznie wyższy stosunek stężenia 3-epi-25(OH)D3 do 25(OH)D3 niż grupa kontrolna, co oznacza stosunkowo niższe stężenie 3-epi-25(OH)D3 w stosunku do 25(OH)D3 niż w grupie kontrolnej. Nie wykazano natomiast korelacji między wiekiem a stężeniem epi-25(OH)D3 ani w grupie badanej ani w grupie kontrolnej. Być może gdyby grupy były większe, można by było wyniki byłyby inne, ponieważ zauważono ujemną korelację pomiędzy wiekiem a stężeniem epi-25(OH)D3 bez podziału na grupy. Prawdopodobnie dlatego, że grupa miała większą liczebność (n=71).

Po 10 tygodniowej suplementami przeciętne stężenie 25(OH)D było wyższe w grupie kontrolnej (37,6 (32,6 ; 44,6 ) ng/ml) niż w grupie Hashimoto (34,6 (29,8 ; 39,7) ng/ml). Jednakże stwierdzono istotne statystycznie (p<0,05) różnice w przyroście stężeń (między pierwszym a drugim badaniem) całkowitego 25(OH)D pomiędzy kobietami chorymi na chorobę Hashimoto a grupą kontrolną. Średnia przyrostu u grupy Hashimoto wynosiła 17,3 ± 7,6 ng/ml. W grupie kontrolnej średnia była wyższa i wynosiła 21,4 ± 9 ng/ml. Stwierdzono również istotne statystycznie (p<0,05) różnice przyroście stężeń 25(OH)D3 pomiędzy kobietami chorymi na chorobę Hashimoto a grupą kontrolną. Średnia przyrostu u grupy Hashimoto wynosiła 17,8 ± 7,7 ng/ml. W grupie kontrolnej średnia była wyższa i wynosiła 21,9 ± 9,1 ng/ml. Wyniki te mogą świadczyć o tym, że osoby chorujące na Hashimoto potrzebują wyższych dawek suplementacji niż osoby zdrowe, aby osiągnąć to samo stężenie 25(OH)D w surowicy.

# WNIOSKI

1. W analizie wyników przed suplementacją nie wykazano różnic istotnych statystycznie pomiędzy stężeniem w surowicy krwi witaminy D oraz jej metabolitów u kobiet z chorobą Hashimoto i kobiet z grupy kontrolnej, poza istotnie statystycznie wyższym stężeniem 25(OH)D2 u kobiet zdrowych.
2. U wszystkich badanych kobiet podaż witaminy D w diecie była znacznie niższa niż dzienne zapotrzebowanie na tę witaminę. Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy spożyciem tej witaminy w grupie kobiet z Hashimoto a grupą kontrolną.
3. Po 10 tygodniowej suplementacji 4000 IU/dzień witaminy D3 nie wykazano różnic istotnych statystycznie w średnim/przeciętnym stężeniu w surowicy krwi 25(OH)D, 25(OH)D3, 25(OH)D2, 24,25(OH)2D3, 1,25(OH)D3 pomiędzy grupą badaną a grupą kontrolną, jednak stwierdzono, iż większy odsetek kobiet chorych na Hashimoto niż kobiet zdrowych nadal miał niskie stężenie 25(OH)D3 (<30 ng/ml).
4. Kobiety z grupy Hashimoto, po okresie suplementacji miały statystycznie niższe stężenie 3-epi-25(OH)D3 niż grupa kontrolna i mniejszy przyrost 3-epi-25(OH)D3.
5. Wykazano, że po suplementacji witaminy D3 kobiety chorujące na Hashimoto osiągają słabszy przyrost stężenia 25(OH)D (w tym 25(OH)D3). Być może świadczy to tym, że kobiety chorujące na Hashimoto potrzebują wyższych dawek suplementacji niż kobiety zdrowe, aby osiągnąć to samo stężenie we krwi.

# BIBLIOGRAFIA

1. Płudowski P. i wsp.: Profilaktyka i leczenia niedoboru witaminy D – wybór właściwych rekomendacji, Postępy Nauk Medycznych 2016, XXIX 10: 738-746.

2. Płudowski P., Kryśkiewicz E., Kaczmarewicz E.: Zasady suplementacji i standardy oceny zaopatrzenia organizmu w witaminę D w świetle jej działania plejotropowego, Postępy Nauk Medycznych 2012,3: 265-272.

3. Hossein-nezhad A., Spira A., Holick M.F.: Influence of vitamin D status and vitamin D-3 supplementation on genome wide expression of white blood cells: a randomized double-blind clinical trial, PLoS One 2013, 8 (3).

4. Norman A.W.: From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health The American Journal of Clinical Nutrition, 2008, 88, 2: 491–499.

5. Wikipedia [online]. Dostępne: https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin\_D. Data pobrania: 10.04.2018.

6. Bikle D.: Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications, Chemistry & Biology 2014 21, 3: 319-329.

7. Dohee K.: The Role of Vitamin D in Thyroid Diseases, International Journal of Molecular Science, 2017, 18, 9: 1949.

8. Marcinowska-Suchowierska E., Walicka M., Tałałaj M., Horst-Sikorska W., Ignaszak-Szczepaniak M., Sewerynek E.: Suplementacja witaminy D u ludzi dorosłych – wytyczne. Postępy Nauk Medycznych 2010, 2:160-166.

9. Hintzpeter B., Scheidt-Nave C., Müller M.J., Schenk L., Mensink G.B.: Higher prevalence of vitamin D deficiency is associated with immigrant background among children and adolescents in Germany, The Journal of Nutrition, 2008, 138(8): 1482-1490.

10. Nair R., Maseeh A.: Vitamin V: The „sunshine” vitamin, Journal od Pharmacology and Pharmacotherapeutics, 2012, 3 (2): 118-126.

11. Jarosz M.: Normy żywienia dla populacji Polski, IŻŻ, 2017.

12. Napiórkowska L., Franek E.: Rola oznaczania witaminy D w praktyce klinicznej, Choroby Serca i Naczyń 2009, 6 (4): 203–210.

13. Holick M.F.: Vitamin D status: Measurement, interpretation, and clinical application, Annals of Epidemiology, 2009, 19: 74-78.

14. Holick M.F., Chen T.C.: Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences, The American Journal of Clinical Nutrition, 2008, 87, 4: 1080S-1086S.

15. Alshahrani F.M., Almalki Mh, Aljohani N., Alzahrani A., Alsaleh Y., Holick M.F.: Vitamin D Light side and best time of sunshine in Riyadh, Saudi Arabia, Dermato-Endocrinology 2013, 5 (1): 177-180.

16. Holick M.F., Chen T.C., Lu Z., Sauter E.: Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story, Journal of Bone and Mineral Research, 2007, 22, 2: V28-33.

17. Hall L.M., Kimlin M.G., Aronow P.A. et al.: Vitamin D intake needed to maintain target serum 25-hydroxyvitamin C concentrations in participants with low sun exposure and dark skin pigmentation is substantially higher than current recommendations. The Journal of Nutrition 2010, 140, 3: 542.

18. Aloia J.F., Patel M., Dimaano R. i wsp.: Vitamin D intake to attain a desired serum 25-hydroxyvitamin D concentration, The American Journal of Clinical Nutrition 2008, 87: 952-958.

19. Krzyścin J.W., Jarosławski J., Sobolewski P.S.: A mathematical model for seasonal variability of vitamin D due to solar radiation, Journal od Photochemistry and Photobiology B, 2011; 105(1): 106-12.

20. Hall L.M, Kimlin M.G., Aronov P.A., Hammock B.D., Slusser J.R., Woodhouse L.R., Stephensen C.B.: Vitamin D Intake Needed to Maintain Target Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations in Participants with Low Sun Exposure and Dark Skin Pigmentation Is Substantially Higher Than Current Recommendations. The Journal of Nutrition, 2010, 140, 3:542-550.

21. Iruzbieta P., Teran A., Crespo J., Fabrega E.: Vitamin D deficiency in chronic liver disease, World Journal of Hepatology, 2014, 6, 12: 901–915.

22. Wacker M., Holick M.F.: Sunlight and Vitamin D, a global perspective for health, Dermato-Endocrinology 2013, 5, 1: 51-108.

23. Walsh J., Bowles S., Evans A.L.: Vitamin D in obesity. Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity 2017, 24, 6: 389-394.

24. Kmieć P., Sworczak K.: Vitamin D in Thyroid Disorders, Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes, 2015. 123(7): 386-93.

25. Houghton L.A., Vieth R.: The case against ergocalciferol (vitamin D2) as a vitamin supplement. American Journal of Clinical Nutrition, 2006, 84: 694–697.

26. Tukaj C.: Właściwy poziom witaminy D warunkiem zachowania zdrowia. Postepy Higieny i Medycyny Doświadczajlej. (online), 2008; 62: 502-510.

27. Gruber B.: Fenomen witaminy D, Postepy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (online), 2015; 69: 127-139.

28. Dirks N.F., Ackermans M.T., Lips P., de Jongh R.T., Vervloet M.: The When, What & How of Measuring Vitamin D in Clinical Medicine, Nutrients, 2018, 10: 482.

29. Tang J.C.Y., Nicholls H., Piec I., Washbourne C.J., Dutton J.J., Jackson S., Greeves J., Fraser W.D.: Reference intervals for serum 24,25-dihydroxyvitamin D and the ratio with 25-hydroxyvitamin D established using a newly developed LC-MS/MS method. The Journal of Nutritional Biochemistry 2017, 46: 21-29.

30. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA): Scientific opinion on Dietary Reference Values for vitamin D. EFSA Journal 2016, 14, 10: 4547: 1:145.

31. Prosser D.E., Jones G.: Enzymes involved in the activation and inactivaion of vitamin D, 2004, Trends in Biochemical Science, 19, 12: 664-673.

32. Odrowąż-Sypniewska G., Kaczmarewicz E., Paprotny Ł., Płudowski P.: 3-epi-25(OH)D – nowy metabolit, potencjalne działanie biologiczne, problematyka interferencji w oznaczeniach, Standardy Medyczne, Pediatria, 9: 680-686.

33. Müller M.J., Volmer D.A.: Mass spectrometric profiling of vitamin D metabolites beyond 25-hydroxyvitamin D. Clinical Chemistry 2015, 61, 8: 1033-1048.

34. Ramagopalan S.V., Heger A., Berlanga A.J., Maugeri N.J., Lincoln M.R., Burrell A., Handunnetthi L., Handel A.E., Disanto G., Orton S.M., Watson C.T., Morahan J.M., Giovannoni G., Ponting C.P., Ebers G.C., Knight J.C.: A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution, Genome Research, 2010, 20: 1352–1360.

35. Płudowski P., Holick M.F. i wsp.: Vitamin D suplementatin guidelines, Journal of Sterois Biochemistry & Molecular Biology, 2018, 175, 125-135.

36. Jones G., Prosser D.E., Kaufmann M.: 25-Hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (CYP24A1): Its important role in the degradation of vitamin D, Archives of Biochemistry and Biophysics, 2012, 523, 1: 9–18.

37. Sajkowska J., Paradowska K.: Wielokierunkowe działanie witaminy D. Biul. Wydz. Farm. WUM, 2014, 1: 1-6.

38. Bjelakovic G., Gluud L.L., Nikolova D., i wsp.: Vitamin D supplementation for prevention of mortality in adults. Cochrane Database Systematic Review, 2014, 1: CD007470.

39. Bolland M.J., Grey A., Gamble G.D., Reid I.R.: The effect of vitamin D supplementation on skeletal, vascular, or cancer outcomes: a trial sequential meta-analysis. The Lancet Diabetes & Endocrinology, 2014, 2: 307–20.

40. Autier P., Mullie P., Macacu A., Dragomir M., Boniol M., Coppens K., Pizot C., Boniol M.: Effect of vitamin D supplementation on non-skeletal disorders: a systematic review of meta-analyses and randomised trials. Landet Diabetes Endocrinal 2017, 5, 12: 986-1004.

41. Sabetta J.R., DePetrillo P., Cipriani R.J., Smardin J., Burns L.A., Landry M.L.: Serum 25-hydroxyvitamin D and the incidence of acute viral respiratory tract infections in healthy adults, PLoS One 2010, 5, 6: e11088.

42. Autier P., Mullie P., Macacu A., Dragomir M., Boniol M., Coppens K., Pizot C., Boniol M.: Effect of vitamin D supplementation on non-skeletal disorders: a systematic review of meta-analyses and randomised trials. Lancet Diabetes Endocrinol, 2017, 5, 12: 986-100.

43. Booth D.R., Ding N., Parnell G.P., Shahijanian F., Coulter S., Schibeci S.D., Atkins A.R., Stewart G.J., Evans R.M., Downes M., Liddle C.: Cistromic and genetic evidence that the vitamin D receptor mediates susceptibility to latitude-dependent autoimmune diseases, Genes & Immunity, 2016, 17(4): 213–219.

44. Khalili H., Huang E.S., Ananthakrishnan A.N., Higuchi L., Richter J.M., Fuchs C.S., Chan A.T.: Geographical variation and incidence of inflammatory bowel disease among US women, Gut Online First, 2012: 1-7.

45. Schwalfenberg G.K.: Solar Radiation and Vitamin D: Mitigating Environmental Factors in Autoimmune Disease, Journal of Environmental and Public Health, 2012: 619381.

46. Heaney R.P.: Vitamin D in Health and Disease. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 2008, 3, 5: 1535–1541.

47. McDonnell S.L., Baggerly C., French C.B. i wsp.: Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations ≥ 40 ng/ml Are Associated with > 65% Lower Cancer Risk: Pooled Analysis of Randomized Trial and Prospective Cohort Study. PLoS One 2016, 11, 4: e0152441.

48. Slinin Y., Paudel M.L., Taylor B.C. i wsp.: Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Research Group: 25-Hydroxyvitamin D levels and cognitive performance and decline in elderly men. Neurology 2010, 5, 74, 1: 33-41.

49. Haines S.T., Park S. K.: Vitamin D Supplementation: Wtat's Known, What to Do, and What's Needed. Pharmacotherapy, 2012, 32, 4: 354-382.

50. Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych i potraw. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2017. Wydanie IV rozszerzone i uaktualnione.

51. Kutner A., Paszkowska-Reymer T., Wietrzyk J.: Aktywne metabolity i analogi witamin D - aktualne wskazania i potencjalne terapie, Standardy medyczne/Pediatria, 2011, 8: 183-194.

52. Rutkowski P., Małyszko J., Stompór T., Nowicki M., Ciechanowski K., Durlik M., Wiecek A., Rutkowski B.: Witamina D - komu, jaka i dlaczego?, Forum Nefrologiczne, 2011, 4, 4: 356–361.

53. Sollid S. T., Hutchinson M. Y., Fuskevåg O. M., Joakimsen R. M., Jorde R..: Large Individual Diﬀerences in Serum 25-Hydroxyvitamin D Response to Vitamin D Supplementation: Eﬀects of Genetic Factors, Body Mass Index, and Baseline Concentration. Hormone and Metabolic Research, 2016, 48, 1: 27-34.

54. Liss Y., Frishman W.H.: Vitamin D: a cardioprotective agent? Cardiology in Review, 2012, 20, 1: 38-44.

55. Ketha H., Kumar R., Singh R. J..: LC-MS/MS for Identifying Patients with CYP24A1 Mutations, Clinical Chemistry 2016, 62, 1: 236-242.

56. Płudowski P., Kaczmarewicz K. i wsp.: Witamina D: Rekomendacje dawkowania w populacji osób zdrowych oraz w grupach ryzyka deficytów - wytyczne dla Europy Środkowej 2013 r., Standardy Medyczne/ Pediatria, 2013, 10: 573-578.

57. Owens D. J., Tang J. C. Y., Bradley W. J., Sparks S. A., Fraser W. D., Morton J. P. And Close G. L.: Eﬃcacy of High-Dose Vitamin D Supplements for Elite Athletes. Medicine and Science in Sports and Exercise, 2017, 49, 2: 349–356.

58. Tang J., Nicholls H., DuttonJ., Piec I., Washbourne C., Saleh L., Novak A., Close G., Macdonald H., Fraser W.: Changes in serum 25-hydroxyvitamin D, 24,25-dihydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D in response to three vitamin D3 supplementation regimens. Endocrine Abstracts 2016, 44: 72.

59. Wagner D., Hanwell H.E., Schnabl K., Yazdanpanah M., Kimball S., Fu L., Sidhom G., Rousseau D., Cole D.E., Vieth R.: The ratio of serum 24,25-dihydroxyvitamin D(3) to 25-hydroxyvitamin D(3) is predictive of 25-hydroxyvitamin D(3) response to vitamin D(3) supplementation, The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2011, 126, 3-5: 72-77.

60. Laboratorium Masdiag [online]. Dostępne: http://masdiag.pl/wp-content/uploads/2018/01/Wzor\_wyniku.pdf. Data pobrania: 14.06.2018.

61. Gołkowski F.: Aktualne spojrzenie na etiopatogenezę i aspekty kliniczne choroby Hashimoto. Państwo i Społeczeństwo 2016, 16, 4: 101-115.

62. Liontiris M.i., Mazokopakis E.E.: A concise review of Hashimoto thyroiditis (HT) and the importance of iodine, selenium, vitamin D and gluten on the autoimmunity and dietary management of HT patients. Hellenic Journal of Nuclear Medicine 2017, 20, 1: 51-61.

63. Zaletel K., Gaberšček S.: Hashimoto's Thyroiditis: From Genes to the Disease. Current Genomics 2011, 12, 8: 576–588.

64. Antonelli A., Ferrari S.M., Corrado A., Di Domenicantonio A., Fallahi P.: Autoimmune thyroid disorders. Autoimmunity Reviews 2014, 14, 2: 174-180.

65. McLeod D.S.A., Cooper D.S..: The incidence and prevalence of thyroid autoimmunity. Endocrine 2012, 42: 252-265.

66. Vanderpump M.P.: The epidemiology of thyroid disease. British Medical Bulletin 2011, 99: 39–51.

67. Hollowell J.G., Staehling N.W., Flanders W.D., Hannon W.H., Gunter E.W., Spencer C.A., Braverman L.E.: Serum TSH, T4 and thyroid antibodies n the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2002, 87,2: 489-499.

68. Tunbridge W.M., Evered D.C., Hall R., Appleton D., Brewis M., Clark F., Evans J.G., Young E., Bird T., Smith P.A.: The spectrum of thyroid disease in a community: the Whickham survey. Clinical Endocrinology 1977, 7, 6: 481-493.

69. Hiromatsu Y., Satoh H., Amino N.: Hashimoto’s Thyroiditis: History and Future Outlook. Hormones 2013, 12, 1: 12-18.

70. Pearce S.H.D., Leech N.J.: Toward Precise Forecasting of Autoimmune Endocrinopathy. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2004, 89, 2: 544–547.

71. Tomer Y., Huber A.: The etiology of autoimmune thyroid disease: A story of genes and environment. Journal od Autoimmunity 2009, 32: 231-239.

72. Popko K., Górska E.: The role of natural killer cells in pathogenesis of autoimmune diseases. Central European Journal of Immunology 2015, 40, 4: 470–476.

73. Krysiak R., Szkróbka W., Okopień B.: The Effect of Vitamin D on Thyroid Autoimmunity in Levothyroxine-Treated Women with Hashimoto's Thyroiditis and Normal Vitamin D Status. Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes 2017, 125, 4: 229-233.

74. Bozkurt N.C., Karbek B., Ucan B., Sahin M., Cakal E., Ozbek M., Delibasi T.: The association between severity of vitamin D deficiency and Hashimoto’s thyroiditis. Endocrine Practice 2013, 19: 479–484.

75. Shin D.Y., Kim K.J., Kim D., Hwang S., Lee E.J.: Low serum vitamin D is associated with anti-thyroid peroxidase antibody in autoimmune thyroiditis. Yonsei Medical Journal 2014, 55, 2: 476-481.

76. Wang J., Lv S., Chen G., Gao C., He J., Zhong H., Xu Y.: Meta-analysis of the association between vitamin D and autoimmune thyroid disease. Nutrients 2015, 3, 7, 4: 2485-2498.

77. Gietka-Czernel M..: Postępy w rozpoznawaniu i leczeniu zapaleń tarczycy. Postępy Nauk Medycznych 2008, 2: 92-104.

78. Łącka K., Maciejewski A..: Współczesne poglądy na temat etiopatogenezy autoimmunologicznego zapalenia tarczycy (choroby Hashimoto). Polski Merkuriusz Lekarski 2011, 30: 133-138.

79. Özen S., Berk Ö., Şimşek D.G., Darcan S.: Clinical course of Hashimoto's thyroiditis and effects of levothyroxine therapy on the clinical course of the disease in children and adolescents. Journal Of Clinical Research İn Pediatric Endocrinology 2011, 3, 4: 192-197.

80. Garber J.R., Cobin R.H., Gharib H., Hennessey J.V., Klein I., Mechanick J.I., Pessah-Pollack R., Singer P.A., Woeber K.A.: Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. Endocrine Practice 2012, 18(6):988-1028.

81. Caturegli P., De Remigis A., Rose N.R.: Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. Autoimmunity Reviews 2014, 13, 4-5: 391-397.

82. Kostoglou-Athanassiou I., Ntalles K.: Hypothyroidism - new aspects of an old disease. Hippokratia Medical Journal 2010, 14, 2: 82–87.

83. Radetti G.: Clinical aspects of Hashimoto's thyroiditis. Endocrine Development 2014, 26: 158-170.

84. Sanyal D.: Spectrum of Hashimoto's thyroiditis: Clinical, biochemical & cytomorphologic profile. Indian Journal of Medical Research 2014, 140, 6: 710–712.

85. Gietka-Czernel M.: Postępy w laboratoryjnej diagnostyce czynności tarczycy. Postępy Nauk Medycznych 2008, 2: 83-91.

86. Płaczkiewicz-Jankowska E.: Leczenie niedoczynności tarczycy: podsumowanie wytycznych American Thyroid Association Task Force on Thyroid Hormone Replacement 2014. Medycyna Praktyczna 2015, 5: 12–26.

87. Kim D.: Low vitamin D status is associated with hypothyroid Hashimoto's thyroiditis. Hormones (Athens), 2016, 15, 3: 385-393.

88. Ucan B., Sahin M., Sayki A.M., Colak B.N., Kizilgul M., Güngünes A., Cakal E., Ozbek M.: Vitamin D Treatment in Patients with Hashimoto's Thyroiditis may Decrease the Development of Hypothyroidism. International Journal for Vitamin and Nutrition Research, 2017, 12: 1-9.

89. Ott J., Promberger R., Kober F., Neuhold N., Tea M., Huber J.C., Hermann M.: Hashimoto’s Thyroiditis Affects Symptom Load and Quality of Life Unrelated to Hypothyroidism: A Prospective Case–Control Study in Women Undergoing Thyroidectomy for Benign Goiter. Thyroid 2011, 21, 2: 161-167.

90. Malmberg P., Karlsson T., Svensson H., Lönn M., Carlsson N-G., Sandberg A.S., Jennische E., Osmancevic A., Holmäng A.: A new approach to measuring vitamin D in human adipose tissue using time-of-flight secondary ion mass spectrometry: a pilot study. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 2014, 138: 295-301.

91. Mutt S.J., Hyppönen E., Saarnio J., Järvelin M.R., Herzig K.H.: Vitamin D and adipose tissue-more than storage. Frontiers in Physiology 2014, 24, 5: 228.

92. Wortsman J., Matsuoka L.Y., Chen T.C, Lu Z., Holick M.F.: Decreased bioavailability of vitamin D in obesit. American Journal of Clinical Nutrition 2000, 72: 690–693.

93. Drincic A.T., Armas L.A., Van Diest E.E., Heaney R.P.: Volumetric dilution, rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. Obesity 2012, 20, 7: 1444–1448.

94. Kumaratne M., Early G., Cisneros J.: Vitamin D Deficiency and Association With Body Mass Index and Lipid Levels in Hispanic American Adolescents. Global Pediatric Health 2017, 4: 1-6.

95. Baradaran A., Behradmanesh S., Nasri H.: Association of body mass index and serum vitamin D level in healthy Iranian adolescents. Endokrynologia Polska 2012, 63, 1: 29-33.

96. Sollid S.T., Hutchinson M.Y., Fuskevåg O.M., Joakimsen R.M., Jorde R.: Large Individual Differences in Serum 25-Hydroxyvitamin D Response to Vitamin D Supplementation: Effects of Genetic Factors, Body Mass Index, and Baseline Concentration. Results from Randomised Trial. Hormone and Metabolic Research 2016, 48, 1: 27-34.

97. Gil M., Głodek E., Rudy M.: ocena dziennego spożycia witamin i składników mineralnych w całodziennych racjach pokarmowych studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego. Roczniki Państwowego Zakładu Higieny 2012, 63, 4, 441-446.

98. Freisling H., Fahey MT, Moskal A, Ocké MC, Ferrari P, Jenab M, Norat T, Naska A, Welch AA, Navarro C, Schulz M, Wirfält E, Casagrande C, Amiano P, Ardanaz E, Parr C, Engeset D, Grioni S, Sera F, Bueno-de-Mesquita B, van der Schouw YT, Touvier M, Boutron-R. Region-specific nutrient intake patterns exhibit a geographical gradient within and between European countries. Journal of Nutrition 2010, 140, 7: 1280-1286.

99. Flynn A., Hirvonen T., Mensink G.B., Ocké M.C., Serra-Majem L., Stos K., Szponar L., Tetens I., Turrini A., Fletcher R., Wildemann T.: Intake of selected nutrients from foods, from fortification and from supplements in various European countries. Food & Nutrition Research 2009, 12, 53: 1-52.

100. Mithal A., Wahl D.A., Bonjour J.P., Burckhardt P., Dawson-Hughes B., Eisman J.A., El-Hajj Fuleihan G., Josse R.G., Lips P., Morales-Torres J.: Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. Osteoporosis International 2009, 20, 11:1807-1820.

101. van Schoor N.M., Lips P.: Worldwide vitamin D status. Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism 2011, 25, 4, :671-80.

102. Yasmeh J., Farpour F., Rizzo V., Kheradnam S., Sachmechi I.: HASHIMOTO THYROIDITIS NOT ASSOCIATED WITH VITAMIN D DEFICIENCY. Endocrine Practice 2016, 22, 7: 809-813.

103. Tamer G., Arik S., Tamer I., Coksert D.: Relative vitamin D insufficiency in Hashimoto's thyroiditis. Thyroid 2011, 21, 8: 891-896.

104. Ucan B., Sahin M., Sayki Arslan M., Colak Bozkurt N., Kizilgul M., Güngünes A., Cakal E., Ozbek M.: Vitamin D Treatment in Patients with Hashimoto’s Thyroiditis may Decrease the Development of Hypothyroidism. International Journal for Vitamin and Nutrition Research 2017, 12: 1-9.

105. Sewerynek E., Cieślak K., Janik M., Gowin E., Stuss M.: Evaluation of vitamin D concentration in a population of young, healthy women — the effects of vitamin D supplementation. Endokrynologia Polska 2017, 68, 5: 533-540.

106. Kennel K.A., Drake M.T., Hurley D.L.: Vitamin D Deficiency in Adults: When to Test and How to Treat. Mayo Clinic Proceedings 2010, 85, 8: 752–758.

107. Tang J.C.Y., Nicholls H., Pieca I., Washbourne C.J., Dutton J.J., Jackson S., Greeves J., Frasera W.D.: Reference intervals for serum 24,25-dihydroxyvitamin D and the ratio with 25-hydroxyvitamin D established using a newly developed LC–MS/MS method. Journal of Nutritional Biochemistry 2017, 46: 21–29.

108. Olędzka R.: Witamina D w świetle badań ostatnich lat. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2013, 2: 121-131.

109. Malmberg P., Karlsson T., Svensson H., Lönn M., Carlsson N-G., Sandberg A.S., Jennische E., Osmancevic A., Holmäng A.: A new approach to measuring vitamin D in human adipose tissue using. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 2014, 138: 295-301.