

Piotr Kmieć

ROZPRAWA DOKTORSKA

**Czynniki środowiskowe i stan zaopatrzenia w witaminę D
w populacji osób dorosłych z województwa pomorskiego**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Sworczak

Katedra i Klinika Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych

Gdański Uniwersytet Medyczny

GDAŃSK 2015

Wydano za zgodą
Dziekana Wydziału Lekarskiego
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Medical University of Gdańsk 2015

Składam podziękowania mojemu Promotorowi, Panu Profesorowi Krzysztofowi Sworczakowi za pomoc i życzliwość przy powstawaniu rozprawy doktorskiej.

Serdecznie dziękuję Rodzicom za wsparcie i troskę.

Dziękuję wszystkim osobom zaangażowanym w uzyskanie materiału do badań będących podstawą publikacji składających się na niniejszą rozprawę doktorską i ich współautorom.

SPIS TREŚCI:

Streszczenie w języku polskim.....6

Streszczenie w języku angielskim.....25

Opublikowane artykuły wchodzące w skład rozprawy doktorskiej43

1) Kmieć Piotr, Żmijewski Michał, Waszak Przemysław, Sworczak Krzysztof, Lizakowska-Kmieć Maria. Vitamin D deficiency during winter months among an adult, predominantly urban, population in Northern Poland. *Endokrynologia Polska*. 2014; 65(2):105-13;

(punkty: Impact Factor – 0,993, MNiSW – 15)

2) Kmieć Piotr, Sworczak Krzysztof. Vitamin D deficiency in early autumn among predominantly non-elderly, urban adults in Northern Poland (54°N). *Postępy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*. 2015; 69: 918-924;

(punkty: Impact Factor – 0,573, MNiSW – 15)

3) Kmieć Piotr, Żmijewski Michał, Lizakowska-Kmieć Maria, Sworczak Krzysztof. Widespread vitamin D deficiency among adults from northern Poland (54°N) after months of low and high natural UVB radiation. *Endokrynologia Polska*. 2015; 66(1):30-8;

(punkty: Impact Factor – 0,993, MNiSW – 15)

4) Kmieć Piotr, Sworczak Krzysztof. Vitamin D in Thyroid Disorders. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. 2015; 123(7):386-93.

(punkty: Impact Factor – 1,555, MNiSW – 15)

(suma punktów: Impact Factor – 4,114, MNiSW – 60)

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Czynniki środowiskowe i stan zaopatrzenia w witaminę D
w populacji osób dorosłych z województwa pomorskiego

Skróty:

1,25(OH)₂D – 1,25-dihydroksy-witamina D, kalcitriol,

25(OH)D – 25-hydroksy-witamina D, kalcidiol,

ALP – fosfataza alkaliczna,

FGF-23 – czynnik wzrostu fibroblastów 23,

IU – jednostki międzynarodowe,

OS – odchylenie standardowe,

PTH – parathormon,

TSH – hormon tyreotropowy,

UVB – (promieniowanie) ultrafioletowe typu B.

Charakterystyka problemu naukowego

Określenie „witamina D” odnosi się do grupy hormonów sekosteroidowych, spośród których dwa związki są najczęściej wymieniane pod tą nazwą: cholekalcyferol (inaczej witamina D₃) i ergokalcyferol (witamina D₂), różniące się obecnością jednej grupy metylowej. Pierwszy z nich jest wytwarzany w skórze pod wpływem promieniowania ultrafioletowego typu B (UVB), a także uzyskiwany ze źródeł pokarmowych (głównie ryb), zaś drugi jest syntetyzowany przez rośliny i grzyby (które mogą stanowić źródło witaminy D z diety). Zarówno chole-, jak i ergokalcyferol podlegają hydroksylacji w wątrobie

do 25-hydroksy-witaminy D (inaczej kalcidiolu, 25(OH)D), która jest główną krążącą i zapasową formą witaminy D w organizmie. Powszechnie uznaje się, że stężenie tego związku odzwierciedla stan zaopatrzenia organizmu w witaminę D.

Metabolitem witaminy D prowadzącym do przeważającej większości efektów biologicznych tej grupy związków jest 1,25-dihydroksy-witamina D (1,25(OH)₂D), kalcitriol, czyli związek powstający przez hydroksylację kalcidiolu w pozycji 1. W kontekście gospodarki wapniowo-fosforanowej ta reakcja chemiczna zachodzi w nerkach i poddana jest ujemnemu sprzężeniu zwrotnemu zależnemu od stężeń kalcitriolu i czynnika wzrostowego fibroblastów 23 (FGF-23) [Prietl *et al.* 2013]. Synteza 1,25(OH)₂D zachodzi jednak także na poziomie auto- i parakrynnym bez wymienionego wyżej mechanizmu regulacji. Proponowanym czynnikiem warunkującym syntezę na poziomie tkankowym jest stężenie kalcidiolu [Jones 2013]. Chociaż obecnie nie są dostępne „silne” dane naukowe potwierdzające korzystne działanie zdrowotne witaminy D, a jej suplementacja jest zalecana tylko w celu zapobiegania i leczenia krzywicy, osteoporozy i zapobiegania upadkom u osób starszych, to liczne doniesienia naukowe wiążą efekty biologiczne lokalnej syntezy kalcitriolu z różnymi procesami fizjologicznymi, a hipowitaminozę D z patogenezą wielu chorób [Autier *et al.* 2014; Bouillon 2014; Holick *et al.* 2011; Pludowski *et al.* 2013a; Thacher and Clarke 2011; Theodoratou *et al.* 2014]. Należą do nich między innymi choroby infekcyjne, nowotworowe, autoimmunologiczne, układu sercowo-naczyniowego, metaboliczne i neurologiczne.

W kontekście plejotropowego działania witaminy D potencjalny związek z funkcją i chorobami tarczycy wydaje się mieć mocne podłoże. Dwie główne grupy schorzeń tego gruczołu to choroby autoimmunologiczne i nowotwory. Obie to istotny problem epidemiologiczny - pierwszy dotyczy kilku do kilkunastu procent populacji ogólnej, a roczna zapadalność na raka tarczycy w Polsce wynosi 9 przypadków/100 000 osób. Związek między działaniem

biologicznym witaminy D a zapadalnością i przebiegiem schorzeń autoimmunologicznych tarczycy, czyli przede wszystkim zapalenia typu Hashimoto i choroby Graves'a, zależy od wpływu tego hormonu na układ immunologiczny. Witamina D oddziałuje na większość komórek tego układu. Receptor witaminy D znajduje się na limfocytach, komórkach prezentujących antygen (np. dendrytycznych) i makrofagach. Kalcitriol zaangażowany jest w regulację syntezy wielu cytokin i hamuje proliferację komórek prozapalnych [Yin and Agrawal 2014]. Kalcitriol prowadzi do aktywacji odpowiedzi pierwotnej, zaś hamuje wtórną odpowiedź immunologiczną, a zatem zwiększa tolerancję układu odpornościowego [Bizzaro and Shoenfeld 2014]. Takie właśnie działanie immunomodulacyjne wiązane jest z rolą witaminy D w chorobach autoimmunologicznych. Z kolei przeciwnowotworowe działanie kalcitriolu zależne jest od jego wpływu na regulację cyklu komórkowego, indukcję apoptozy, różnicowanie się komórek, a także działanie przeciwzapalne w mikro-środowisku guza [Diaz *et al.* 2015]. Praca poglądowa wchodząca w skład niniejszej rozprawy doktorskiej omawia rolę witaminy D w chorobach tarczycy.

Nie ma obecnie konsensusu dotyczącego wartości stężeń kalcidiolu wskazanych do zapewnienia zarówno prawidłowego funkcjonowania gospodarki wapniowo-fosforanowej (t.j. przede wszystkim zapobieganiu wystąpienia krzywicy u dzieci oraz osteomalacji i osteoporozy u dorosłych), jak i plejotropowego działania biologicznego witaminy D. W tym streszczeniu, w artykułach wchodzących w skład niniejszej rozprawy doktorskiej, a także zgodnie z opinią większości autorów stężenie 25(OH)D wskazujące na niedobór witaminy D jest niższe niż 20 ng/ml (50 nmol/l), zakres stężeń 20-30 ng/ml (50-75 nmol/l) określany jest jako niewystarczające zaopatrzenie, 30-80 ng/ml (75-200 nmol/l) jako optymalny poziom, stężenia powyżej 100 ng/ml (250 nmol/l) uznawane są za ryzykowne dla zdrowia, zaś przekraczające 200 ng/ml (500 nmol/l) za toksyczne. Rekomendowane w Polsce dla osób dorosłych z

populacji ogólnej w miesiącach od września do kwietnia (a także w pozostałym okresie roku, o ile nie jest zapewniona wystarczająca synteza skórna) dzienne dawki suplementacyjne witaminy D wynoszą 800-2000 jednostek międzynarodowych (j.m.), co odpowiada 20-50 mikrogramom [Pludowski *et al.* 2013b].

Chociaż trwająca 5-30 minut ekspozycja nawet małej powierzchni skóry (np. kończyny) na światło słoneczne w miesiącach wysokiego natężenia promieniowania UVB (pozwalającego na skórą syntezę witaminy D) dwa razy w tygodniu między godziną 10 a 15 może zapewnić adekwatny stan zaopatrzenia w witaminę D dzięki magazynowaniu jej w tkance tłuszczowej, skąd jest uwalniana w miesiącach zimowych, wśród ludności większości krajów obserwowane są niskie stężenie witaminy D [Holick 2007]. Niedobór wynika głównie z niewystarczającej ekspozycji na światło słoneczne, coraz powszechniejszym stosowaniem kremów z filtrem UVB oraz niedostatecznej suplementacji [Holick 2007; Holick *et al.* 2011; Tukaj 2008].

W zakresie źródeł pokarmowych jedynie kilka produktów jest naturalnie bogatych w witaminę D i ma wpływ na jej podaż w diecie: ryby, tran i oleje rybne, a także – w znacznie mniejszym wymiarze – żółtka jajek. Jednakże z uwagi na niskie spożycie ryb w Polsce średnia podaż witaminy D z tego źródła jest bardzo niska (0,9 mikrogramów dziennie) [Malesa-Cieciewicz i Usyduś 2015]. Ponadto, w Polsce obligatoryjne jest wzbogacanie w witaminę D margaryn, masła o obniżonej zawartości tłuszczu oraz mieszaniny masła i oleju (7,5 mikrograma na 100 gramów tłuszczu). W opublikowanych niedawno pracach szacowana średnia podaż witaminy D w diecie 239 pacjentów poradni geriatrycznej w Łodzi wynosiła ok. 3,5 mikrograma [Guligowska *et al.* 2015], a wśród 25 mężczyzn w wieku 19-25 lat, trenujących sporty aerobowe ok. 3 mikrogramów na dobę [Wierniuk i Włodarek 2013]. Biorąc pod uwagę zalecaną dobową dawkę suplementacyjną 20-50 mikrogramów, wyraźnie widać, iż zapewnienie prawidłowego zaopatrzenia w witaminę D w warunkach

niepozwalających na syntezę skórną nie jest możliwe przy zastosowaniu diety bez suplementacji.

Dane mówiące o stanie zaopatrzenia w witaminę D wśród osób dorosłych z populacji polskiej są niewystarczające, szczególnie w odniesieniu do populacji osób w młodym i średnim wieku, nieobciążonych osteoporozą (w przypadku dorosłych w wieku ponad 65 lat przeprowadzone zostało badanie populacyjne PolSenior uwzględniające stan zaopatrzenia w witaminę D). Hoszowski i współpracownicy w 1993 r. wśród czynników ryzyka osteoporozy u 607 pacjentów powyżej 50 r.ż. badali stężenie witaminy D, jednak nie jest jasne, u ilu badanych oznaczono 25(OH)D [Hoszowski *et al.* 1993]. Niejednoznaczne są też wyniki - w jednym miejscu podano stężenie <11 ng/ml u ponad 90% badanych, w innym przytaczane jest stężenie powyżej tej wartości, przyjęte jako prawidłowe, u 84 kobiet, co z grupy 607 probantów stanowiłoby 13,8% przy założeniu badania tych samych osób. Kolejnym ograniczeniem omawianej pracy jest odmienna niż obecnie metoda oznaczeń [Pilz *et al.* 2011]. W innych doniesieniach u dorosłych z populacji polskiej stężenie witaminy D badano w grupach o liczebności nieprzekraczającej 274 osób [Marcinowska-Suchowierska *et al.* 1994; Napiorkowska *et al.* 2009]. W trzech artykułach oryginalnych wchodzących w skład przedłożonej rozprawy doktorskiej przedstawiono wyniki badań dotyczących czynników środowiskowych i stanu zaopatrzenia w witaminę D w populacji osób dorosłych z województwa pomorskiego.

Omówienie artykułów wchodzących w skład rozprawy doktorskiej

Artykuły oryginalne

Na niniejszą rozprawę składają się trzy artykuły oryginalne i jedna praca pogładowa. W ramach pracy pogładowej na podstawie aktualnego piśmiennictwa przeanalizowana została rola witaminy D w chorobach tarczycy [Kmieć and Sworczak 2015b]. Prace oryginalne omawiają wyniki dwóch badań o charakterze prekursorskim, wstępnym, które przeprowadzono na grupie nielosowej [Kmieć and Sworczak 2015a; Kmieć *et al.* 2015; Kmieć *et al.* 2014]. Na ich przeprowadzenie uzyskana została zgoda Niezależnej Komisji Bioetycznej do spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym (NKEBN/33/2012).

Podstawowym celem badań było określenie stanu zaopatrzenia w witaminę D osób dorosłych z województwa pomorskiego, ponadto założono zbadanie związku stanu zaopatrzenia witaminy D z czynnikami środowiskowymi, a także innymi parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej. Przeprowadzono badania laboratoryjne i ankietowe w dwóch okresach czasowych w 2012. r.: od lutego do połowy kwietnia, czyli po 4-5 miesiącach niewystarczającej ilości naturalnego promieniowania UVB dla skórnej syntezy witaminy D w województwie pomorskim, a także od 25. września do 8. listopada, a zatem po okresie letnim, w trakcie którego – przy zapewnieniu ekspozycji na światło słoneczne – efektywna jest skórna synteza witaminy D. W doniesieniach innych autorów, którzy wykonywali pomiary stężenia 25(OH)D u tych samych osób w ciągu roku, najwyższe wartości uzyskiwano w sierpniu i wrześniu [Kasahara *et al.* 2013; Webb *et al.* 2010]. Na podstawie pomiarów w jednym z doniesień wysunięto sugestię, że osiągnięcie stężenia 25(OH)D wynoszącego co najmniej 32 ng/ml przed okresem jesienno-zimowym zapobiega występowaniu niedoboru (stężeń niższych niż 20 ng/ml) w kolejnych miesiącach [Webb *et al.* 2010]. W przedstawianych pracach

oryginalnych czasookres badań uczestników został wybrany na podstawie tych danych. Okres od lutego do połowy kwietnia charakteryzuje długi czas od poprzedzającego lata, w trakcie którego potencjalnie zmagazynowana w tkance tłuszczowej witamina D była uwalniana, a zatem dostępna może być jedynie w minimalnym stopniu. Okres jesienny (25. września – 8. listopada) nie odpowiada maksymalnym stężeniom 25(OH)D w ciągu całego roku (wg piśmiennictwa), co oznacza, że niedobór witaminy D wykazany już w trakcie tych pierwszych tygodni jesieni (u osób niesuplementujących tego związku i niekorzystających z ekspozycji na światło UVB w kolejnych miesiącach) będzie nasilał się aż do maja kolejnego roku, a zatem trwał przez 7-8 miesięcy w roku.

Pierwszy z prezentowanych artykułów oryginalnych, zatytułowany „Niedobór witaminy D w przeważająco miejskiej populacji dorosłych z Województwa Pomorskiego w miesiącach zimowych”, odnosi się do okresu badania luty-połowa kwietnia [Kmieć *et al.* 2014]. Praca „Niedobór witaminy D w okresie wczesnej jesieni wśród dorosłych zamieszkujących tereny miejskie północnej Polski (54°N)” przedstawia wyniki uzyskane z badań w drugim z wymienionych okresów [Kmieć and Sworzak 2015a]. W trzecim artykule („Powszechny niedobór witaminy D u dorosłych z województwa pomorskiego po miesiącach niskiego i wysokiego promieniowania UVB”) przeanalizowane zostały dane uczestników, którzy zostali przebadani zarówno w okresie zimowo-wiosennym, jak i jesiennym [Kmieć *et al.* 2015]. W obu okresach, w ramach badań zrekrutowano osoby dorosłe, mieszkające na terenie województwa pomorskiego w ambulatoryjnym zakładzie opieki zdrowotnej. Uczestnikami byli dorośli korzystający z porad lekarskich, badań laboratoryjnych, pracownicy dwóch firm mechaniczno-inżynierskich, jednej drukarskiej, pracownicy zakładu opieki zdrowotnej i członkowie ich rodzin. Wszystkie osoby zrekrutowane do badania otrzymały informację na jego temat i wyraziły pisemną zgodę na udział w nim. Przeprowadzono badania laboratoryjne – oznaczono aktywność fosfatazy alkalicznej (ALP), stężenia

wapnia, fosforu, parathormonu (PTH) i 25-hydroksy-witaminy D. Uczestnicy badań otrzymywali wyniki badań laboratoryjnych osobiście, pocztą lub pocztą elektroniczną w terminie nieprzekraczającym 4 tygodni od pobrania materiału. Ponadto osoby biorące udział w badaniach wypełniały kwestionariusz dotyczący danych socjo-ekonomicznych, ekspozycji na promieniowanie UVB, nawyków dietetycznych i obciążeń chorobowych. W kwestionariuszu do pierwszego okresu badań zawarto pytania o:

- płeć, ciężar ciała, wzrost,
- miejsce zamieszkania (miasto albo wieś),
- średni miesięczny przychód na osobę w gospodarstwie domowym (więcej albo mniej niż 1000 złotych),
- częstotliwość i rodzaj stosowanych preparatów zawierających witaminę D,
- częstotliwość ekspozycji (źródło naturalne lub sztuczne) na promieniowanie UVB,
- stosowanie kremów z filtrem UVB,
- częstotliwość spożywania następujących pokarmów: śledzia, łososia, węgorza, dorsza, makreli i innych ryb, żółtka jajka, mleka, sera białego, sera żółtego, innych produktów mlecznych,
- ocenę stanu zdrowia,
- podejmowaną aktywność fizyczną,
- podatność na infekcje,
- przebycie złamań kości,
- występowanie chorób: osteoporozy, reumatoidalnego zapalenia stawów, cukrzycy typu 1, cukrzycy typu 2, astmy, stwardnienia rozsianego, sarkoidozy, chorób układu pokarmowego, choroby Crohna, zespołu jelita drażliwego, depresji, chorób wątroby, chorób nerek, łuszczycy i chorób nowotworowych (piersi, szyjki macicy, prostaty, płuc, wątroby, nerek i skóry),
- stosowane leki.

Kwestionariusz został zmodyfikowany przed drugim okresem badania –

pytania o stosowaną dietę zostały usunięte, rozbudowane zostały pytania dotyczące ekspozycji na światło słoneczne i sztuczne w zakresie UVB, zmodyfikowano pytania dotyczące chorób i sprawności fizycznej.

W badaniu przeprowadzonym w okresie zimowym, przedstawionym w pierwszej z omawianych prac, uczestniczyło 448 osób, 305 kobiet i 143 mężczyzn, w wieku od 19 do 86 lat (średnia 46,3 lat, odchylenie standardowe, OS: 14,5 roku). Przeważająca większość uczestników zamieszkiwała obszar aglomeracji trójmiejskiej (Gdańska, Sopotu i Gdyni wraz z przedmieściami). Średnie stężenie 25(OH)D wyniosło 14,3 ng/ml (OS 6,6 lat), mediana stężeń 12,9 ng/ml. Odsetek osób z niedoborem witaminy D (stężeniem 25(OH)D < 20 ng/ml) wyniósł 84,4%; 13,2% badanych miało niewystarczające stężenie witaminy D, a jedynie 2,5% osiągnęło prawidłowe stężenie (≥ 30 ng/ml). Wyższe stężenia 25(OH)D występowały u osób: suplementujących witaminę D, podających niedawne, a także częstsze opalanie (na słońcu i/lub na solarium) oraz deklarujących większą aktywność fizyczną. Wśród osób suplementujących witaminę D średnie stężenie 25(OH)D wyniosło 16,1 ng/ml, hipowitaminoza występowała u 86 z 119 tych uczestników badania. Najsilniejsze różnice statystyczne występowały w zakresie grup różniących się deklarowaną ekspozycją na promieniowanie UVB (t.j. wśród badanych, którzy podali, że opalają się co najmniej raz w tygodniu, a także wśród tych, którzy opalali się po 1. października w roku poprzedzającym badanie). Co ciekawe, osoby deklarujące mniejszą podatność na infekcje miały wyższe stężenia witaminy D. W wykonanych analizach jedno- i wieloczynnikowych prawdopodobieństwo wystąpienia stężenia 25(OH)D wyższego od 20 ng/ml związane było z suplementacją, deklarowaną datą ostatniego opalania się i częstością ekspozycji na UVB. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu 25(OH)D w zależności od deklarowanej częstości przyjmowania pokarmów, ani schorzeń wymienionych w kwestionariuszu. Przekraczające normę laboratoryjną stężenie PTH wykazano wśród 21% uczestników badania, występowała także ujemna

korelacja między logarytmem PTH i logarytmem 25(OH)D (współczynnik rang Spearmana -0,21, $p < 0,001$).

W drugiej z przedstawionych prac oryginalnych omówiono wyniki analogicznego badania przeprowadzonego w pierwszych tygodniach jesieni [Kmieć and Sworzak 2015a]. Zrekrutowano wówczas 304 osoby, 180 kobiet i 124 mężczyzn, o średniej wieku 46,1 lat (OS 14,1), także zamieszkujących w przeważającej większości aglomerację trójmiejską. Średnie stężenie 25(OH)D wyniosło 21,1 ng/ml (OS 9,3 ng/ml), ponad 50% badanych miało niedobór witaminy D, prawidłowe stężenie stwierdzono u 15,1% uczestników. Podobnie jak w przypadku danych uzyskanych w okresie zimowym, wyższe stężenia 25(OH)D występowały u osób stosujących suplementację i dłuższą ekspozycję na światło słoneczne w ciągu doby. Uzyskano także wyższe stężenia 25(OH)D u kobiet w porównaniu z mężczyznami (co może być związane z suplementacją, którą deklarowało 25% kobiet i tylko 7% mężczyzn). Negatywną liniową korelację między stężeniami 25(OH)D i PTH opisywał współczynnik -0,23 (współczynnik rang Spearmana).

W trzecim artykule oryginalnym („Powszechny niedobór witaminy D u dorosłych z województwa pomorskiego po miesiącach niskiego i wysokiego promieniowania UVB”) przeanalizowano dane 109 osób, które wzięły udział w obu powyższych badaniach, t.j. zarówno po okresie zimowym, jak i letnim [Kmieć *et al.* 2015]. Wśród nich było 69 kobiet i 40 mężczyzn, ich średni wiek wyniósł 48,5 lat (OS 15 lat). Stężenia 25(OH)D tej grupy osób w obu okresach czasowych były porównywalne z wymienionymi wyżej dla całych prób (bez statystycznie istotnych różnic): zimą 13,3 ng/ml (OS 6,6 ng/ml), a niedobór witaminy D wystąpił wśród 81% zbadanych dwukrotnie, jesienią 22,8 ng/ml (OS 7,9 ng/ml) – stężenia < 20 ng/ml dotyczyły 42,2% ze 109 uczestników badań. Zarówno mediany stężeń 25(OH)D (11,9 wobec 22,1 ng/ml odpowiednio zimą i jesienią), jak i PTH (zimą 46,2, jesienią 32 pg/ml) różniły się istotnie w zależności od okresu badania. Uzyskano dodatnią korelację między stężeniami

25(OH)D uzyskanymi jesienią i zimą: $r=0,37$ (współczynnik rang Spearmana), co - przy założeniu niezmiennego zachowania w zakresie ekspozycji na światło słoneczne w kolejnych latach (tzn. sezonu letniego poprzedzającego zimowe oznaczenia i tego przed oznaczeniami jesiennymi) – jest kolejnym dowodem na kluczowe znaczenie światła słonecznego dla stanu zaopatrzenia w witaminę D. W zakresie suplementacji witaminy D wyniki grupy 109 uczestników były porównywalne z ogółem przebadanych zimą i jesienią. Co ciekawe, mimo przekazania informacji o występowaniu niedoboru witaminy D osobom zrekrutowanym zimą, mniej uczestników deklaroowało suplementacją w okresie jesiennym (czyli po ok. 6-8 miesięcy od oznaczeń zimowych).

Jak już wspomniano, najważniejszym ograniczeniem przedstawionych danych jest nielosowa próba uczestników badań. Innymi negatywnymi aspektami były między innymi: brak oznaczeń surowiczego stężenia kreatyniny, co pozwoliłoby wykluczyć przewlekłą chorobę nerek jako podłoże wtórnej nadczynności przytarczyc, jakościowy charakter kwestionariusza w zakresie suplementacji witaminy D (nie uzyskano dawek stosowanych preparatów) czy składników diety, brak weryfikacji deklarowanych chorób i masy ciała.

Należy podkreślić jednakże istotne mocne strony przedstawionych artykułów oryginalnych. Przede wszystkim po raz pierwszy w Polsce na istotnej liczebnie grupie osób dorosłych, w większości w wieku młodym i średnim (a nie podeszłym), ukazano skalę niedoboru witaminy D. Uzyskane wyniki w tym zakresie są porównywalne z danymi innych badaczy. Dane dotyczą osób dorosłych z województwa pomorskiego, jednak w dużym stopniu można je najpewniej ekstrapolować na całą dorosłą populację Polski, ponieważ nawet południowe obszary kraju nie charakteryzują się istotnie dłuższym okresem promieniowania UVB o natężeniu potrzebnym do efektywnej skórnej syntezy witaminy D. Z uzyskanych danych hipowitaminoza u znacznego odsetka zbadanej populacji występuje co najmniej przez 7-8 miesięcy w roku. Stosowana suplementacja w wielu przypadkach jest niewystarczająca, na co wskazują

niedoborowe stężenia 25(OH)D u osób przyjmujących preparaty cholekalcyferolu. Konsekwencją niedoboru witaminy D jest wtórna nadczynność przytarczyc (prowadząca do osteomalacji). Konieczne jest zarówno zdobycie większej ilości danych, tzn. przebadanie próby reprezentatywnej dla całości populacji, a także wprowadzenie programu zapobiegania i leczenia niedoboru witaminy D. Jak wskazują liczne doniesienia naukowe, potencjalne korzyści zdrowotne z prawidłowego stanu zaopatrzenia w witaminę D najpewniej wykraczają daleko poza właściwe funkcjonowanie układu szkieletowo-mięśniowego.

Artykuł poglądowy

W skład przedkładanej rozprawy doktorskiej włączono pracę poglądową „Witamina D w schorzeniach tarczycy” („Vitamin D in Thyroid Disorders”) [Kmieć and Sworzak 2015b]. Artykuł został sporządzony na podstawie przeglądu piśmiennictwa wyszukanego w grudniu 2014. r. za pomocą bazy Pubmed. Zastosowano następujące (tu przetłumaczone na polski) wyrażenia w połączeniu z „witaminą D”: rak tarczycy, zapalenie tarczycy, Hashimoto, Graves, wole, nadczynność tarczycy, niedoczynność tarczycy, guzek. Uzyskane z wyszukiwania wyniki wybrano na podstawie tytułów i streszczeń. W kolejnych częściach pracy omówiono poszczególne doniesienia dotyczące roli witaminy D w kontekście funkcji, nowotworów złośliwych i chorób autoimmunologicznych tarczycy.

U ludzi nie są dostępne badania weryfikujące wpływ witaminy D na funkcję tarczycy, choć pewne wnioski można wysnuć na podstawie innych doniesień. W kohorcie szpitalnej, nieobejmującej osób z chorobami tarczycy, nie stwierdzono różnicy w stężeniu hormonu tyreotropowego (TSH) u osób ze stężeniem 25(OH)D niższym niż 10 ng/ml w porównaniu z osobami, u których

stężenia wynosiły co najmniej 40 ng/ml [Clinckspoor *et al.* 2013]. Z drugiej strony dane z kohortowych badań mężczyzn w Tajlandii i Chinach wskazują, że wyższe stężenia kalcidiol towarzyszą niższym wartościom TSH [Chailurkit *et al.* 2013; Zhang *et al.* 2014]. W artykule wspomniano także badania o mniejszej liczbie uczestników w hipo-, eu- i hipertyreozie, których wyniki nie są spójne. W odniesieniu do funkcji komórek okołopęcherzykowych tarczycy nie zaobserwowano różnic w stężeniu kalcytoniny w zależności od stanu zaopatrzenia w witaminę D we wspomnianym powyżej badaniu z 2013. r. autorstwa Clinckspoor i współpracowników [Clinckspoor *et al.* 2013].

W kontekście nowotworów tarczycy doniesienia naukowe także nie są jednoznaczne. Dostępnych jest szereg prac mówiących o niewystępowaniu istotnych statystycznie różnic w stężeniu 25(OH)D u osób z rakiem tarczycy w porównaniu z kontrolnymi uczestnikami badań, ale także przeciwnych im artykułów pokazujących związek między niedoborem witaminy D a występowaniem raka gruczołu tarczowego; opublikowano też pracę wskazującą na większy rozmiar guza i zajęcie węzłów chłonnych przez nowotwór w przypadku hipowitaminozy D [Kim *et al.* 2014]. W trzech badaniach surowicze stężenia kalcitriolu były niższe u osób z rakiem tarczycy w porównaniu z grupami kontrolnymi [Penna-Martinez *et al.* 2009; Penna-Martinez *et al.* 2012; Stepień *et al.* 2010]. Jednakże trudno jest bez wątpliwości interpretować te wyniki z uwagi na fakt, że w badaniach *in vitro* wartości stężeń konieczne do uzyskania przeciw-proliferacyjnego działania kalcitriolu są 2-3 rzędy wielkości wyższe niż w surowicy krwi [Clinckspoor *et al.* 2011; Liu *et al.* 2002]. Szereg danych dotyczących miejscowego działania witaminy D w raku tarczycy uzyskano na podstawie badań molekularnych materiału z tkanek chorych na raka tarczycy. Wskazują one, że ekspresja genu kodującego 24-hydroksylazę (CYP24A1) w guzach tarczycy może być traktowana jako marker wrażliwości na kalcitriol – niski poziom ekspresja wiąże się z łagodnym charakterem nowotworu (gruczolak), działaniem przeciw-nowotworowym czy mniejszą

agresywnością w przypadku raka.

W zakresie chorób autoimmunologicznych tarczycy u ludzi dostępne są dwie główne grupy badań naukowych związanych z potencjalnym wpływem witaminy D. Pierwsza to doniesienia na temat wariantów polimorficznych genów kodujących białka zaangażowane w działanie, transport i metabolizm witaminy D, czyli odpowiednio receptora witaminy D, białka wiążącego witaminę D, enzymów: 1-alfa-hydroksylazy, 25-hydroksylazy i 24-hydroksylazy. W artykule poglądowym przedstawiono dostępne obecnie dane dotyczące wariantów genetycznych mające związek z zachorowaniem na zapalenie tarczycy typu Hashimoto i chorobę Graves'a. Drugim zbiorem badań jest potencjalny związek tych chorób (potwierdzona diagnoza i/lub występowanie przeciwciał przeciwarczycowych) ze stanem zaopatrzenia w witaminę D. Podobnie jak w przypadku raków i funkcji tarczycy, dotychczas zgromadzone dane nie są jednoznaczne.

Wnioskiem, jakie można wyciągnąć na podstawie omawianej pracy poglądowej, jest konieczność przeprowadzenia dalszych badań naukowych dla określenia istotności roli witaminy D w kontekście chorób tarczycy. Obecnie kontrowersyjne jest zalecanie suplementacji witaminy D jako składowej leczenia autoimmunologicznych chorób tarczycy (w innych schorzeniach podstawy są jeszcze bardziej wątpliwe). Podobnie, obecnie dostępne dane dotyczące wariantów polimorficznych genów kodujących receptor witaminy D, białka transportującego witaminę D czy enzymów metabolizujących witaminę D nie mają przełożenia na praktykę kliniczną w kontekście chorób tarczycy.

Piśmiennictwo

- Autier, P., M. Boniol, C. Pizot, P. Mullie. Vitamin D status and ill health: a systematic review. *The Lancet. Diabetes & Endocrinology* 2.1 (2014): 76-89.
- Bizzaro, G., Y. Shoenfeld. Vitamin D and autoimmune thyroid diseases: facts and unresolved questions. *Immunologic Research* (2014).
- Bouillon, Roger. Vitamin D and extraskkeletal health. UpToDate May 8, 2014. Web. Accessed December 12, 2014.
- Chailurkit, L. O., W. Aekplakorn, B. Ongphiphadhanakul. High vitamin D status in younger individuals is associated with low circulating thyrotropin. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association* 23.1 (2013): 25-30.
- Clinckspoor, I., L. Verlinden, C. Mathieu, R. Bouillon, A. Verstuyf, B. Decallonne. Vitamin D in thyroid tumorigenesis and development. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* 48.2 (2013): 65-98.
- Clinckspoor, I., L. Verlinden, L. Overbergh, C. Korch, R. Bouillon, C. Mathieu, A. Verstuyf, B. Decallonne. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and a superagonistic analog in combination with paclitaxel or suberoylanilide hydroxamic acid have potent antiproliferative effects on anaplastic thyroid cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 124.1-2 (2011): 1-9.
- Diaz, L., M. Diaz-Munoz, A. C. Garcia-Gaytan, I. Mendez. Mechanistic Effects of Calcitriol in Cancer Biology. *Nutrients* 7.6 (2015): 5020-5050.
- Guligowska, A. R., M. Pigłowska, J. Smigielski, T. Kostka. Inappropriate pattern of nutrient consumption and coexistent cardiometabolic disorders in elderly people from Poland. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* 125.7-8 (2015): 521-531.
- Holick, M. F. Vitamin D deficiency. *The New England Journal of Medicine* 357.3 (2007): 266-281.

- Holick, M. F., N. C. Binkley, H. A. Bischoff-Ferrari, C. M. Gordon, D. A. Hanley, R. P. Heaney, M. H. Murad, C. M. Weaver. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 96.7 (2011): 1911-1930.
- Hoszowski, K., J. Gawron, P. Korczyk, T. Grabski, J. Jedrzejewska-Korczyk, J. Markiewicz, R. S. Lorenc. Analysis of risk factors and prevalence of spinal osteoporosis in a population sample of Warsaw residents over 50 years of age. *Polski Tygodnik Lekarski (Warsaw, Poland : 1960)* 48 Suppl 3 (1993): 31-35.
- Jones, G. Extrarenal vitamin D activation and interactions between vitamin D(2), vitamin D(3), and vitamin D analogs. *Annual Review of Nutrition* 33 (2013): 23-44.
- Kasahara, A. K., R. J. Singh, A. Noymer. Vitamin D (25OHD) Serum Seasonality in the United States. *PLoS One* 8.6 (2013): e65785.
- Kim JR, Kim BH, Kim SM et al. Low serum 25 hydroxyvitamin d is associated with poor clinicopathologic characteristics in female patients with papillary thyroid cancer. *Thyroid* 2014; 24.11: 1618–1624.
- Kmiec, P., K. Sworzak. Vitamin D deficiency in early autumn among predominantly non-elderly, urban adults in Northern Poland (54°N). *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej (Online)* 69 (2015a): 918-924.
- Kmiec, P., K. Sworzak. Vitamin D in Thyroid Disorders. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association* 123.7 (2015b): 386-393.
- Kmiec, P., M. Zmijewski, M. Lizakowska-Kmiec, K. Sworzak. Widespread vitamin D deficiency among adults from northern Poland (54 degrees N)

- after months of low and high natural UVB radiation. *Endokrynologia Polska* 66.1 (2015): 30-38.
- Kmiec, P., M. Zmijewski, P. Waszak, K. Sworczak, M. Lizakowska-Kmiec. Vitamin D deficiency during winter months among an adult, predominantly urban, population in Northern Poland. *Endokrynologia Polska* 65.2 (2014): 105-113.
- Liu, W., S. L. Asa, I. G. Fantus, P. G. Walfish, S. Ezzat. Vitamin D arrests thyroid carcinoma cell growth and induces p27 dephosphorylation and accumulation through PTEN/akt-dependent and -independent pathways. *The American Journal of Pathology* 160.2 (2002): 511-519.
- Malesa-Cieciewicz, M., Z. Usydus. Vitamin D: can fish food-based solutions be used for reduction of vitamin D deficiency in Poland? *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* 31.1 (2015): 187-192.
- Marcinowska-Suchowierska, E., R. Lorenc, R. Brzozowski. Vitamin D deficiency in patients with chronic gastrointestinal disorders: response to UVB exposure. *Materia Medica Polona. Polish journal of medicine and pharmacy* 26.2 (1994): 59-63.
- Napiorkowska, L., T. Budlewski, W. Jakubas-Kwiatkowska, V. Hamzy, D. Gozdowski, E. Franek. Prevalence of low serum vitamin D concentration in an urban population of elderly women in Poland. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej* 119.11 (2009): 699-703.
- Penna-Martinez, M., E. Ramos-Lopez, J. Stern, N. Hinsch, M. L. Hansmann, I. Selkinski, F. Grunwald, C. Vorlander, R. A. Wahl, W. O. Bechstein, S. Zeuzem, K. Holzer, K. Badenhop. Vitamin D receptor polymorphisms in differentiated thyroid carcinoma. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association* 19.6 (2009): 623-628.
- Penna-Martinez, M., E. Ramos-Lopez, J. Stern, H. Kahles, N. Hinsch, M. L. Hansmann, I. Selkinski, F. Grunwald, C. Vorlander, W. O. Bechstein, S. Zeuzem, K. Holzer, K. Badenhop. Impaired vitamin D activation and

- association with CYP24A1 haplotypes in differentiated thyroid carcinoma. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association* 22.7 (2012): 709-716.
- Pilz, S., A. Tomaschitz, W. Marz, C. Drechsler, E. Ritz, A. Zittermann, E. Cavalier, T. R. Pieber, J. M. Lappe, W. B. Grant, M. F. Holick, J. M. Dekker. Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clinical Endocrinology* 75.5 (2011): 575-584.
- Pludowski, P., M. F. Holick, S. Pilz, C. L. Wagner, B. W. Hollis, W. B. Grant, Y. Shoenfeld, E. Lerchbaum, D. J. Llewellyn, K. Kienreich, M. Soni. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-a review of recent evidence. *Autoimmunity Reviews* 12.10 (2013a): 976-989.
- Pludowski, P., E. Karczmarewicz, M. Bayer, G. Carter, D. Chlebna-Sokol, J. Czech-Kowalska, R. Debski, T. Decsi, A. Dobrzanska, E. Franek, P. Gluszko, W. B. Grant, M. F. Holick, L. Yankovskaya, J. Konstantynowicz, J. B. Ksiazek, K. Ksiezopolska-Orlowska, A. Lewinski, M. Litwin, S. Lohner, R. S. Lorenc, J. Lukaszewicz, E. Marciniowska-Suchowierska, A. Milewicz, W. Misiorowski, M. Nowicki, V. Povoroznyuk, P. Rozentryt, E. Rudenka, Y. Shoenfeld, P. Socha, B. Solnica, M. Szalecki, M. Talalaj, S. Varbiro, M. A. Zmijewski. Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe - recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynologia Polska* 64.4 (2013b): 319-327.
- Priehl, B., G. Treiber, T. R. Pieber, K. Amrein. Vitamin D and immune function. *Nutrients* 5.7 (2013): 2502-2521.
- Stepien, T., R. Krupinski, J. Sopinski, K. Kuzdak, J. Komorowski, H. Lawnicka, H. Stepien. Decreased 1-25 dihydroxyvitamin D3 concentration in

- peripheral blood serum of patients with thyroid cancer. *Archives of Medical Research* 41.3 (2010): 190-194.
- Thacher, T. D., B. L. Clarke. Vitamin D insufficiency. *Mayo Clinic Proceedings* 86.1 (2011): 50-60.
- Theodoratou, E., I. Tzoulaki, L. Zgaga, J. P. Ioannidis. Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *British Medical Journal* 348 (2014): g2035.
- Tukaj, C. Adequate level of vitamin D is essential for maintaining good health. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online)* 62 (2008): 502-510.
- Webb, A. R., R. Kift, M. T. Durkin, S. J. O'Brien, A. Vail, J. L. Berry, L. E. Rhodes. The role of sunlight exposure in determining the vitamin D status of the U.K. white adult population. *British Journal of Dermatology* 163.5 (2010): 1050-1055.
- Wierniuk, A., D. Wlodarek. Estimation of energy and nutritional intake of young men practicing aerobic sports. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny* 64.2 (2013): 143-148.
- Yin, Kai, Devendra K. Agrawal. Vitamin D and inflammatory diseases. *Journal of Inflammation Research* 7 (2014): 69-87.
- Zhang, Q., Z. Wang, M. Sun, M. Cao, Z. Zhu, Q. Fu, Y. Gao, J. Mao, Y. Li, Y. Shi, F. Yang, S. Zheng, W. Tang, Y. Duan, X. Huang, W. He, T. Yang. Association of High Vitamin D Status with Low Circulating Thyroid-Stimulating Hormone Independent of Thyroid Hormone Levels in Middle-Aged and Elderly Males. *International Journal of Endocrinology* 2014.631819 (2014).

SUMMARY OF THE DOCTORAL DISSERTATION

Environmental Factors and Vitamin D Status
in the Adult Population of the Pomeranian Province

Abbreviations:

1,25(OH)₂D – 1,25-dihydroxy-vitamin D, calcitriol,

25(OH)D – 25-hydroxy-vitamin D, calcidiol,

ALP – alkaline phosphatase,

FGF-23 – fibroblast growth factor 23,

IU – international units,

PTH – parathyroid hormone,

SD – standard deviation,

TSH – thyroid stimulating hormone,

UVB – ultraviolet B (radiation).

Review of the research question

The term "vitamin D" refers to a group of secosteroid hormones, among which two compounds are most frequently meant by this name: cholecalciferol (or vitamin D₃) and ergocalciferol (vitamin D₂); they differ by the presence of one methyl group. The former is produced in the skin under the influence of ultraviolet B (UVB) radiation and obtained from food sources (mainly fish), while the latter is synthesized by plants and fungi (which can be a source of vitamin D in the diet). Both cholecalciferol and ergocalciferol undergo hydroxylation in the liver to 25-hydroxy-vitamin D (or calcifediol, calcidiol, 25(OH)D), the main storage and circulating form of vitamin D in the body. It is universally acknowledged that the concentration of this compound reflects the

status of the organism's vitamin D supply.

1,25-dihydroxy-vitamin D (1,25(OH)₂D), calcitriol) is the vitamin D metabolite responsible for the vast majority of biological effects of this group of compounds. It is formed by hydroxylation of the 1-alpha position of calcidiol. In the context of the calcium-phosphate homeostasis this chemical reaction takes place in the kidney and is subjected to the negative feedback regulation mediated by the concentrations of calcitriol and fibroblast growth factor 23 (FGF-23) [Prietl *et al.* 2013]. The synthesis of 1,25(OH)₂D, however, also occurs at the auto- and paracrine level without the above-mentioned feedback mechanism. The proposed determining factor of the synthesis at the tissue level is the serum calcidiol concentration [Jones 2013]. Although currently no "strong" data are available to prove the beneficial health effects of vitamin D, and its supplementation is only recommended for the prevention and treatment of rickets and osteoporosis, as well as prevention of falls in the elderly, in numerous scientific reports biological effects of local synthesis of calcitriol have been associated with various physiological processes, and hypovitaminosis D in the pathogenesis of many diseases [Autier *et al.* 2014; Bouillon 2014; Holick *et al.* 2011; Pludowski *et al.* 2013a; Thacher and Clarke 2011; Theodoratou *et al.* 2014]. These include, among others, infectious, autoimmune, neoplastic, cardiovascular, metabolic and neurological diseases.

In the context of the pleiotropic effects of vitamin D a potential link with the thyroid function and disease seems to have a strong base. The two main groups of thyroid disorders are autoimmune diseases and cancers. Both are important epidemiological problems: the former concerns several (up to approximately 15) percent of the general population, while the incidence of thyroid cancer in Poland is 9 cases per 100,000 inhabitants per year. The relationship between the biological activity of vitamin D and the incidence and course of autoimmune diseases of the thyroid, primarily Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease, depends on the effect of this hormone on the immune

system. Vitamin D affects the majority of the cells of the system. Vitamin D receptor is located on lymphocytes, antigen presenting cells (eg. dendritic cells) and macrophages. Calcitriol is involved in the regulation of cytokine synthesis and inhibits the proliferation of inflammatory cells [Yin and Agrawal 2014]. Calcitriol leads to the activation of primary and inhibits the acquired immune system and thus increases the tolerance [Bizzaro and Shoenfeld 2014]. It is this immunomodulating effect that is associated with the role of vitamin D in autoimmune diseases. In turn, the antitumor effect of calcitriol depends on cell cycle regulation, induction of apoptosis, cell differentiation, and anti-inflammatory activity in the micro-environment of the tumor [Diaz *et al.* 2015]. The review paper, which is part of this dissertation, analyses the role of vitamin D in thyroid diseases.

There is no consensus on optimal calcidiol concentrations that ensure both calcium-phosphate homeostasis (i.e., primarily for prevention of rickets in children as well as osteomalacia and osteoporosis in adults) and pleiotropic biological actions of vitamin D. In this summary and articles comprising the dissertation, in accordance with the opinion of most authors, vitamin D deficiency is defined as 25(OH)D concentrations lower than 20 ng/ml (50 nmol/l), the concentration range of 20-30 ng/ml (50-75 nmol/l) is defined as insufficiency, 30-80 ng/ml (75-200 nmol/l) as optimum, while levels above 100 ng/ml (250 nmol/l) are considered a health risk, and greater than 200 ng/ml (500 nmol/l) toxic. Vitamin D supplementation doses recommended in Poland for adults of the general population from September to April (and also during remaining months of the year, unless there is sufficient skin exposure to sun) are 800-2000 international units (IU), which corresponds to 20-50 micrograms [Pludowski *et al.* 2013b].

Although an exposure to sunlight lasting 5-30 minutes during the months of high-intensity UVB radiation (allowing for skin synthesis of vitamin D) twice a week between 10 a.m. and 3 p.m. of even limited skin surface (eg.

extremities) can ensure adequate supply status of vitamin D thanks to its storage in adipose tissue, from where it is released during winter months, low levels of vitamin D among the populations of most countries have been observed [Holick 2007]. Hypovitaminosis D is mainly due to insufficient exposure to sunlight, increasing sunscreen use and insufficient supplementation [Holick 2007; Holick *et al.* 2011; Tukaj 2008].

In terms of food sources, only a few products are naturally rich in vitamin D to have an effect on its supply in the diet: fish, fish oils, as well as - to a much lesser extent - egg yolks. However, due to low fish consumption in Poland, the average intake of vitamin D from this source is very low (0.9 micrograms per day) [Malesa-Cieciewicz and Usydus 2015]. Further, in Poland margarine, butter, low fat butter and mixtures of butter and oil are obligatorily fortified with vitamin D (7.5 micrograms per 100 grams of fat). In the recently published articles the estimated intake of vitamin D in the diet of 239 geriatric clinic patients from Łódź amounted to approximately 3.5 micrograms [Guligowska *et al.* 2015], and of 25 men aged 19-25 years, training aerobic sports, to 3 micrograms a day [Wierniuk and Wlodarek 2013]. Given the recommended daily supplementation dose of 20-50 micrograms, it is clear that ensuring proper vitamin D status in conditions not allowing for the dermal synthesis is not possible without supplementation.

Data concerning vitamin D status in adults from the Polish population are insufficient, particularly in case of the younger and middle-aged persons, who do not have osteoporosis (among adults aged 65 years and older a population-based study PolSenior was conducted which, among others, investigated vitamin D status). Hoszowski and colleagues examined vitamin D concentrations and other risk factors of osteoporosis in 607 subjects, however, they did not clearly state in how many subjects 25(OH)D was determined [Hoszowski *et al.* 1993]. In addition, the reported results are ambiguous since at one point the authors mentioned concentrations lower than 11 ng/ml for 90% of

subjects, while a concentration higher than this value, which was considered normal, was mentioned for 84 women (13.8% of the assessed group assuming that the same subjects were examined). Moreover, vitamin D levels were determined differently from current methods which influences the results [Pilz *et al.* 2011]. In other reports involving the Polish population, vitamin D concentrations were examined on samples of up to 274 persons [Marcinowska-Suchowierska *et al.* 1994; Napiorkowska *et al.* 2009]. In three original articles comprising the submitted doctoral thesis research results on environmental factors and vitamin D status in the adult population of the province of Pomerania were presented.

Review of published articles comprising the doctoral dissertation

Original articles

As mentioned above this dissertation consists of three original articles and one review paper. The review article was based on current literature and analyzed the role of vitamin D thyroid diseases [Kmieć and Sworzak 2015b]. Original papers depict the results of two studies, pioneer and preliminary to further research in nature, conducted on convenience (non-random) samples [Kmieć and Sworzak 2015a; Kmieć *et al.* 2015; Kmieć *et al.* 2014]. The studies were conducted upon being approved by the Bioethical Committee for Scientific Research of the Medical University of Gdańsk (consent No NKEBN/33/2012).

The primary objective of these studies was to determine vitamin D status of adults of the Pomeranian province, and also to investigate the relationship between vitamin D status and environmental factors and other parameters of calcium-phosphate homeostasis. Laboratory and questionnaire examinations were performed in two time periods in 2012: from February to mid-April, i.e. after 4-5 months of insufficient natural UVB radiation for skin synthesis of vitamin D in Pomeranian province, and from September 25 to November 8, i.e. after summer months, during which – provided exposure to sunlight – cutaneous synthesis of vitamin D is effective. In reports of other authors who performed consecutive measurements of serum 25(OH)D in the same individuals during the year, highest levels were obtained in August and September [Kasahara *et al.* 2013; Webb *et al.* 2010]. On the basis of measurements in one of the reports, it was suggested that peak 25(OH)D levels of least 32 ng/ml prior to the autumn-winter period prevents deficiency (concentrations less than 20 ng / mL) in the following months [Webb *et al.* 2010]. In the presented original papers periods for examinations of study participants were selected on the basis of these data. The period from February to mid-April is characterized by a long time interval from the preceding summer, during which vitamin D potentially stored in the adipose tissue was released and, therefore, may only be available to a minimal extent. The autumn period (September 25 - November 8) does not correspond to the maximum concentrations of 25(OH)D throughout the year (according to literature), which means that vitamin D deficiency demonstrated already during these first weeks of autumn (in persons not supplementing this compound and not benefiting from exposure to ultraviolet B light in the ensuing months) would become even more severe up to May, and therefore would last for 7-8 months of the year.

The first original article, entitled "Vitamin D deficiency during winter months among an adult, predominantly urban, population in Northern Poland", refers to the study period from February to mid-April [Kmieć *et al.* 2014]. The

publication "Vitamin D deficiency in early autumn among predominantly non-elderly, urban adults in Northern Poland (54°N)" presents results of data obtained in the latter period [Kmieć and Sworzak 2015a]. In the third article ("Widespread vitamin D deficiency among adults from northern Poland (54°N) after months of low and high natural UVB radiation") data of participants who were tested both during the winter-spring and autumn periods were analyzed [Kmieć *et al.* 2015]. In both study periods adults living in the Pomeranian province were recruited in an outpatient healthcare center. The participants were individuals who presented for doctors' appointments, laboratory examinations, employees of two mechanical-engineering and one printing company, clinic's employees and members of their families. All persons recruited to the study acquired a written information sheet about and consented in writing to participate in it. Laboratory studies were performed: the activity of alkaline phosphatase (ALP), serum calcium, phosphorus, parathyroid hormone (PTH) and 25-hydroxy-vitamin D concentrations were determined. Study participants received the results of laboratory tests in person, by mail or e-mail not later than four weeks after collection of the samples. Further, individuals participating in the study filled a questionnaire on socio-economic data, exposure to UVB, dietary habits and diseases. The questionnaire for the first study period included questions about:

- sex, body weight, height,
- place of residence (town or village),
- mean monthly income per person in the household (more or less than 1000 zlotys)
- frequency of intake and type of vitamin D preparations,
- frequency and type of exposure (natural or artificial) to UVB radiation.
- UVB sunblock use,
- frequency of intake of the following foods: herring, salmon, eel, cod, mackerel and other fish, egg yolk, milk, curd, cheese, other dairy products,

- health status assessment,
- physical activity,
- susceptibility to infections,
- past fractures,
- diseases: osteoporosis, rheumatoid arthritis, type 1 diabetes, type 2 diabetes, asthma, multiple sclerosis, sarcoidosis, diseases of the gastrointestinal tract, Crohn's disease, irritable bowel syndrome, depression, liver disease, kidney disease, psoriasis, cancer (breast, cervical, prostate, lung, liver, kidney and skin),
- use of medicines.

The questionnaire was modified before the second study period: questions about the diet were removed, questions about exposure to sunlight and artificial UVB sources were expanded, different questions about diseases and physical fitness were asked.

In a study conducted during winter 448 individuals were recruited: 305 women and 143 men, aged 19 to 86 (mean 46.3 years, standard deviation, SD, 14.5 years). The vast majority of the participants resided in the Tri-City area (Gdansk, Sopot and Gdynia, including suburbs). The average 25(OH)D concentration was 14.3 ng/ml (SD 6.6 ng/ml), the median concentration 12.9 ng/ml. Vitamin D deficiency prevalence was 84.4%; 13.2% of participants had insufficient levels of vitamin D, and only 2.5% achieved normal levels (≥ 30 ng/ml). Higher concentrations of 25(OH)D occurred in people who: supplemented vitamin D, declared recent as well as more frequent sun and/or sunbed exposure, and physical activity. Among those who supplemented vitamin D, the mean 25(OH)D concentration was to 16.1 ng/ml, deficiency occurred in 86 out of 119 of these participants. The strongest statistical differences were recorded between groups that differed by declared UVB radiation exposure (i.e. subjects who reported to have tanned at least once a week and also those who sunbathed after October 1 of the year preceding the study versus respective counterparts). Interestingly, those who declared fewer infections had higher

levels of vitamin D. In univariate and multivariate analyses the predictors of serum 25(OH)D levels above 20 ng/ml were: supplementation, declared date of the last sunbathing, and frequency of exposure to UVB radiation. No statistically significant differences were obtained for 25(OH)D concentrations depending on the declared food intake frequencies, nor diseases listed in the questionnaire. PTH concentrations exceeding the upper reference range were found in 21% of study participants, there was also a negative correlation between the logarithms of PTH and 25(OH)D (Spearman's rank correlation coefficient: -0.21, $p < 0.001$).

In the second original article the results of an analogous study conducted in the first weeks of autumn were presented [Kmieć and Sworczak 2015a]. 304 participants were recruited, 180 women and 124 men, with a mean age of 46.1 years (SD 14.1 years), also in the vast majority inhabiting the Tri-City agglomeration. The average concentration of 25(OH)D was 21.1 ng/ml (SD 9.3 ng/ml), more than 50% of participants had vitamin D deficiency, sufficient concentrations were found in 15.1% of participants. As in the case of data winter, higher levels of 25(OH)D were recorded in persons taking vitamin D supplements and those declaring longer daily exposure to sunlight. Higher serum 25(OH)D levels were found in women compared to men (which may be associated with supplementation: it was reported by respectively 25% and 7%). A negative linear correlation between serum 25(OH)D and PTH was found, correlation coefficient: -0.23 (Spearman's rank correlation coefficient).

In the third original article, “Widespread vitamin D deficiency among adults from northern Poland (54°N) after months of low and high natural UVB radiation”, data of 109 persons were analyzed, who took part in both study periods [Kmieć *et al.* 2015]. Among them were 69 women and 40 men, their average age was 48.5 years (SD 15 years). The mean concentrations of 25(OH)D of this group in each of the two study periods were comparable to those mentioned in the first two original papers (no statistically significant differences): in winter 13.3 ng/ml (SD 6.6 ng/ml), vitamin D deficiency occurred

in 81%, in the fall 22.8 ng/ml (SD 7.9 ng/ml), concentrations lower than 20 ng/ml were found in 42.2% of the 109 participants. Both the median concentrations of 25(OH)D (11.9 to 22.1 ng/ml, respectively for winter and autumn), and PTH (46,2 in winter, 32 pg/ml in autumn) were significantly different between study periods. A positive correlation was found between autumn and winter 25(OH)D concentrations: Spearman rank order correlation coefficient equaled 0.37, $p < 0.05$ (Figure 2). Assuming participants' habits concerning UVB exposure in summer/early autumn was the same in 2011 and 2012, the correlation of winter vitamin D levels with those in autumn hints strongly at the importance of sunlight on 25(OH)D status. Concerning vitamin D supplementation, the results for 109 participants were comparable to the total number of subjects examined in autumn and winter. Interestingly, even though vitamin D deficiency was stated in patients recruited in the winter, fewer people declared supplementation in the autumn examinations (i.e. 6-8 months after the winter measurements).

As mentioned above, the most significant limitation of the data provided is the non-random sample of study participants. Other drawbacks, among others, are: lack of creatinine measurements, which would rule out chronic kidney disease as a cause of secondary hyperparathyroidism, the qualitative nature of the questionnaire in respect to vitamin D supplementation (doses were not obtained) as well as food intakes, declared weight was not verified.

However, strong points of the results presented in these original articles should be emphasized. Crucially, for the first time in Poland vitamin D status was examined among a considerably high number of mostly young and middle-aged adults (not elderly), the scope of vitamin D deficiency was shown. The data obtained illustrate widespread hypovitaminosis D for at least 7-8 months of the year. Results presented concern adults from the Pomeranian voivodship, but most probably can be extrapolated to a great extent on the entire Polish adult population, since even southern regions of the country are not

characterized by significantly longer periods of UVB radiation intensity required for cutaneous vitamin D synthesis. Acquired results are comparable with those of other researchers. A large percentage of participants supplemented with vitamin D remained deficient which suggests that the dose of cholecalciferol was too low. It was also shown that vitamin D deficiency leads to secondary hyperparathyroidism (that causes osteomalacia). It is necessary both to obtain more data, i.e. perform population representative studies, as well as to introduce programs for the prevention and treatment of vitamin D deficiency. As has been suggested in numerous scientific reports, the potential health benefits of proper vitamin D status go far beyond the proper functioning of the musculoskeletal system.

Review article

This doctoral dissertation includes the review paper "Vitamin D in Thyroid Disorders" [Kmieć and Sworczak 2015b]. The review is based on a literature search of the PubMed database performed in December 2014. The following expressions in conjunction with the "vitamin D" were used: thyroid cancer, thyroiditis, Hashimoto's thyroiditis, Graves, goiter, hyperthyroidism, hypothyroidism, thyroid nodule. Papers were included in the review based on screening of the titles and/or abstracts. In consecutive parts of the review paper reports on the role of vitamin D in the context of function, malignancies and autoimmune diseases of the thyroid were discussed.

In humans, there are no studies that verified the impact of vitamin D on the function of the thyroid gland, although some conclusions can be drawn from other reports. Basal serum TSH levels in subjects with calcidiol lower than or equal to 10 ng/ml were not significantly different versus subjects with 25(OH) of at least 40 ng/ml in a cohort study involving inpatients without thyroid disease

history [Clinckspoor *et al.* 2013]. On the other hand, data from cohort studies involving men from Thailand and China showed that higher calcidiol concentrations were associated with lower TSH [Chailurkit *et al.* 2013; Zhang *et al.* 2014]. In the review article studies were mentioned with fewer participants who were hypo-, eu, and hyperthyroid that gave inconsistent results. With respect to the function of the thyroid parafollicular cells there was no difference in the concentration of calcitonin depending on vitamin D status in the study mentioned above by Clinckspoor and co-workers [Clinckspoor *et al.* 2013].

Similarly, in the context of thyroid cancer, reports are not clear-cut. There is a number of studies showing that no significant differences were recorded in 25(OH)D levels in patients with thyroid cancer compared to controls, but contrasting findings were reported too, i.e. showing an association between vitamin D deficiency and thyroid cancer incidence, and also a report indicating larger tumor size and lymph node involvement in case of hypovitaminosis D [Kim *et al.* 2014]. In three studies serum calcitriol levels were lower in patients with thyroid cancer as compared to controls [Penna-Martinez *et al.* 2009; Penna-Martinez *et al.* 2012; Stepien *et al.* 2010]. However, the significance of decreased calcitriol concentrations is difficult to interpret taking into account the fact that antiproliferative effects of the hormone *in vitro* are observed with concentrations that are two to three orders of magnitude higher than those recorded *in vivo* in human blood sera [Clinckspoor *et al.* 2011; Liu *et al.* 2002]. A considerable amount of research data on local effects of vitamin D in thyroid cancer have been obtained from molecular examinations of thyroid cancer tissues acquired from patients. These indicate that in thyroid tumors cellular/tissue sensitivity to calcitriol depends on CYP24A1 expression, i.e. the expression of the gene encoding 24-hydroxylase (CYP24A1) can be regarded as a marker for susceptibility to calcitriol: low expression is associated with benign tumors (adenomas), anti-neoplastic activity and lower malignity.

In the context of autoimmune thyroid disease in humans, two main groups of research reports can be found concerning the potential impact of vitamin D. The first are data on polymorphic variants of genes encoding proteins involved in the action, transport and metabolism of vitamin D, i.e. - respectively - vitamin D receptor, vitamin D binding protein, and the enzymes 1-alpha-hydroxylase, 25-hydroxylase and 24-hydroxylase. The discussed review presents to date reports of associations between genetic variants and the prevalence of Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease. The second group of reports analyzes a potential relationship of these diseases (i.e. either a confirmed diagnosis and/or the presence of characteristic antibodies) and vitamin D status. Similarly to the cases of thyroid cancers and function, the data collected so far are inconclusive.

The conclusion that can be drawn from the review paper discussed here is the necessity for further research to determine the significance of vitamin D in the context of thyroid disease. Currently, it is controversial to recommend supplementing vitamin D as part of treatment of autoimmune thyroid disease (in other diseases the basis is even less certain). Similarly, current data on the polymorphic variants of genes encoding vitamin D receptor, vitamin D binding protein, and enzymes which metabolize vitamin D do not translate into clinical practice in the context of thyroid disease.

References

- Autier, P., M. Boniol, C. Pizot, P. Mullie. Vitamin D status and ill health: a systematic review. *The Lancet. Diabetes & Endocrinology* 2.1 (2014): 76-89.
- Bizzaro, G., Y. Shoenfeld. Vitamin D and autoimmune thyroid diseases: facts and unresolved questions. *Immunologic Research* (2014).
- Bouillon, Roger. Vitamin D and extraskkeletal health. UpToDate May 8, 2014. Web. Accessed December 12, 2014.
- Chailurkit, L. O., W. Aekplakorn, B. Ongphiphadhanakul. High vitamin D status in younger individuals is associated with low circulating thyrotropin. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association* 23.1 (2013): 25-30.
- Clinckspoor, I., L. Verlinden, C. Mathieu, R. Bouillon, A. Verstuyf, B. Decallonne. Vitamin D in thyroid tumorigenesis and development. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* 48.2 (2013): 65-98.
- Clinckspoor, I., L. Verlinden, L. Overbergh, C. Korch, R. Bouillon, C. Mathieu, A. Verstuyf, B. Decallonne. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and a superagonistic analog in combination with paclitaxel or suberoylanilide hydroxamic acid have potent antiproliferative effects on anaplastic thyroid cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 124.1-2 (2011): 1-9.
- Diaz, L., M. Diaz-Munoz, A. C. Garcia-Gaytan, I. Mendez. Mechanistic Effects of Calcitriol in Cancer Biology. *Nutrients* 7.6 (2015): 5020-5050.
- Guligowska, A. R., M. Pigłowska, J. Smigielski, T. Kostka. Inappropriate pattern of nutrient consumption and coexistent cardiometabolic disorders in elderly people from Poland. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej* 125.7-8 (2015): 521-531.
- Holick, M. F. Vitamin D deficiency. *The New England Journal of Medicine* 357.3 (2007): 266-281.

- Holick, M. F., N. C. Binkley, H. A. Bischoff-Ferrari, C. M. Gordon, D. A. Hanley, R. P. Heaney, M. H. Murad, C. M. Weaver. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 96.7 (2011): 1911-1930.
- Hoszowski, K., J. Gawron, P. Korczyk, T. Grabski, J. Jedrzejewska-Korczyk, J. Markiewicz, R. S. Lorenc. Analysis of risk factors and prevalence of spinal osteoporosis in a population sample of Warsaw residents over 50 years of age. *Polski Tygodnik Lekarski (Warsaw, Poland: 1960)* 48 Suppl 3 (1993): 31-35.
- Jones, G. Extrarenal vitamin D activation and interactions between vitamin D(2), vitamin D(3), and vitamin D analogs. *Annual Review of Nutrition* 33 (2013): 23-44.
- Kasahara, A. K., R. J. Singh, A. Noymer. Vitamin D (25OHD) Serum Seasonality in the United States. *PLoS One* 8.6 (2013): e65785.
- Kim JR, Kim BH, Kim SM et al. Low serum 25 hydroxyvitamin d is associated with poor clinicopathologic characteristics in female patients with papillary thyroid cancer. *Thyroid* 2014; 24.11: 1618–1624.
- Kmiec, P., K. Sworzak. Vitamin D deficiency in early autumn among predominantly non-elderly, urban adults in Northern Poland (54°N). *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej (Online)* 69 (2015a): 918-924.
- Kmiec, P., K. Sworzak. Vitamin D in Thyroid Disorders. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association* 123.7 (2015b): 386-393.
- Kmiec, P., M. Zmijewski, M. Lizakowska-Kmiec, K. Sworzak. Widespread vitamin D deficiency among adults from northern Poland (54 degrees N)

- after months of low and high natural UVB radiation. *Endokrynologia Polska* 66.1 (2015): 30-38.
- Kmiec, P., M. Zmijewski, P. Waszak, K. Sworczak, M. Lizakowska-Kmiec. Vitamin D deficiency during winter months among an adult, predominantly urban, population in Northern Poland. *Endokrynologia Polska* 65.2 (2014): 105-113.
- Liu, W., S. L. Asa, I. G. Fantus, P. G. Walfish, S. Ezzat. Vitamin D arrests thyroid carcinoma cell growth and induces p27 dephosphorylation and accumulation through PTEN/akt-dependent and -independent pathways. *The American Journal of Pathology* 160.2 (2002): 511-519.
- Malesa-Cieciewicz, M., Z. Usydus. Vitamin D: can fish food-based solutions be used for reduction of vitamin D deficiency in Poland? *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* 31.1 (2015): 187-192.
- Marcinowska-Suchowierska, E., R. Lorenc, R. Brzozowski. Vitamin D deficiency in patients with chronic gastrointestinal disorders: response to UVB exposure. *Materia Medica Polona. Polish journal of medicine and pharmacy* 26.2 (1994): 59-63.
- Napiorkowska, L., T. Budlewski, W. Jakubas-Kwiatkowska, V. Hamzy, D. Gozdowski, E. Franek. Prevalence of low serum vitamin D concentration in an urban population of elderly women in Poland. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej* 119.11 (2009): 699-703.
- Penna-Martinez, M., E. Ramos-Lopez, J. Stern, N. Hinsch, M. L. Hansmann, I. Selkinski, F. Grunwald, C. Vorlander, R. A. Wahl, W. O. Bechstein, S. Zeuzem, K. Holzer, K. Badenhop. Vitamin D receptor polymorphisms in differentiated thyroid carcinoma. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association* 19.6 (2009): 623-628.
- Penna-Martinez, M., E. Ramos-Lopez, J. Stern, H. Kahles, N. Hinsch, M. L. Hansmann, I. Selkinski, F. Grunwald, C. Vorlander, W. O. Bechstein, S. Zeuzem, K. Holzer, K. Badenhop. Impaired vitamin D activation and

- association with CYP24A1 haplotypes in differentiated thyroid carcinoma. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association* 22.7 (2012): 709-716.
- Pilz, S., A. Tomaschitz, W. Marz, C. Drechsler, E. Ritz, A. Zittermann, E. Cavalier, T. R. Pieber, J. M. Lappe, W. B. Grant, M. F. Holick, J. M. Dekker. Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clinical Endocrinology* 75.5 (2011): 575-584.
- Pludowski, P., M. F. Holick, S. Pilz, C. L. Wagner, B. W. Hollis, W. B. Grant, Y. Shoenfeld, E. Lerchbaum, D. J. Llewellyn, K. Kienreich, M. Soni. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-a review of recent evidence. *Autoimmunity Reviews* 12.10 (2013a): 976-989.
- Pludowski, P., E. Karczmarewicz, M. Bayer, G. Carter, D. Chlebna-Sokol, J. Czech-Kowalska, R. Debski, T. Decsi, A. Dobrzanska, E. Franek, P. Gluszko, W. B. Grant, M. F. Holick, L. Yankovskaya, J. Konstantynowicz, J. B. Ksiazek, K. Ksiezopolska-Orlowska, A. Lewinski, M. Litwin, S. Lohner, R. S. Lorenc, J. Lukaszewicz, E. Marciniowska-Suchowierska, A. Milewicz, W. Misiorowski, M. Nowicki, V. Povoroznyuk, P. Rozentryt, E. Rudenka, Y. Shoenfeld, P. Socha, B. Solnica, M. Szalecki, M. Talalaj, S. Varbiro, M. A. Zmijewski. Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe - recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynologia Polska* 64.4 (2013b): 319-327.
- Priehl, B., G. Treiber, T. R. Pieber, K. Amrein. Vitamin D and immune function. *Nutrients* 5.7 (2013): 2502-2521.
- Stepien, T., R. Krupinski, J. Sopinski, K. Kuzdak, J. Komorowski, H. Lawnicka, H. Stepien. Decreased 1-25 dihydroxyvitamin D3 concentration in

- peripheral blood serum of patients with thyroid cancer. *Archives of Medical Research* 41.3 (2010): 190-194.
- Thacher, T. D., B. L. Clarke. Vitamin D insufficiency. *Mayo Clinic Proceedings* 86.1 (2011): 50-60.
- Theodoratou, E., I. Tzoulaki, L. Zgaga, J. P. Ioannidis. Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *British Medical Journal* 348 (2014): g2035.
- Tukaj, C. Adequate level of vitamin D is essential for maintaining good health. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online)* 62 (2008): 502-510.
- Webb, A. R., R. Kift, M. T. Durkin, S. J. O'Brien, A. Vail, J. L. Berry, L. E. Rhodes. The role of sunlight exposure in determining the vitamin D status of the U.K. white adult population. *British Journal of Dermatology* 163.5 (2010): 1050-1055.
- Wierniuk, A., D. Wlodarek. Estimation of energy and nutritional intake of young men practicing aerobic sports. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny* 64.2 (2013): 143-148.
- Yin, Kai, Devendra K. Agrawal. Vitamin D and inflammatory diseases. *Journal of Inflammation Research* 7 (2014): 69-87.
- Zhang, Q., Z. Wang, M. Sun, M. Cao, Z. Zhu, Q. Fu, Y. Gao, J. Mao, Y. Li, Y. Shi, F. Yang, S. Zheng, W. Tang, Y. Duan, X. Huang, W. He, T. Yang. Association of High Vitamin D Status with Low Circulating Thyroid-Stimulating Hormone Independent of Thyroid Hormone Levels in Middle-Aged and Elderly Males. *International Journal of Endocrinology* 2014.631819 (2014).