

Mgr Aleksandra Królczyk

Nietolerancje pokarmowe u pacjentów z chorobą Hashimoto

**Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. Marian Grzymisławski

Promotor pomocniczy: dr n. med. Małgorzata Kałużna

Katedra i Klinika Gastroenterologii, Dietetyki i Chorób Wewnętrznych



Kolegium Nauk Medycznych

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2021

Składam serdeczne podziękowania mojemu promotorowi, prof. dr hab. Marianowi Grzymisławskiemu za wprowadzenie i ukierunkowanie w świecie nauki, a także przewodnictwo w prowadzeniu pracy badawczej. Dziękuję za gotowość do służenia radą, dzielenia się wiedzą i doświadczeniem, przy prowadzeniu mnie przez meandry naukowe oraz życzliwą pomoc.

Chciałabym złożyć podziękowania dr n. med. Małgorzacie Kałużnej za cierpliwe objaśnianie złożoności i niuansów endokrynologicznych oraz bardzo cenne, merytoryczne uwagi. Dziękuję za nieustające wsparcie i zachęcanie do dalszej pracy w chwilach zwątpienia, a także za wszystkie wartościowe wskazówki.

Pragnę również podziękować prof. dr hab. Katarzynie Ziemnickiej i dr n. med. Bartłomiejowi Budnemu za nieocenioną, ogromną pomoc w przeprowadzeniu badań genetycznych, jak również Pani Urszuli Szymańskiej za asystę w rekrutowaniu pacjentów do udziału w badaniach.

Dziękuję dr hab. Jackowi Karczewskiemu oraz dr n. med. Ewelinie Swora-Cwynar, których wiara w moje możliwości niejednokrotnie je przekraczała, mobilizujących mnie do zdwojonego wysiłku, dzięki któremu pokonywałam własne ograniczenia.

I wreszcie, ogromne podziękowania należą się moim Rodzicom, Rodzeństwu i wszystkim bliskim, którzy bez słowa skargi znosili fakt, że w ciągu ostatnich 4 lat praktycznie każdy poruszony temat sprowadzał się do niniejszej rozprawy doktorskiej. Stanowiliście ogromne wsparcie w chwilach zwątpienia - dziękuję!

Słowa kluczowe: choroba Hashimoto; nietolerancje pokarmowe; gluten; laktoza; fruktoza

Key words: Hashimoto disease; food intolerances; gluten; lactose; fructose

WYKAZ SKRÓTÓW

25[OH]D - 25-hydroksywitamina D, kalcydiol (ang. calcifediol, calcediol)

ALA - kwas alfa-linolenowy (ang. alpha-linolenic acid)

anty-TG, ATg - przeciwciała przeciw tyreoglobulinie (ang. antithyroglobulin antibody, TgAb)

anty-TPO, ATPO - przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (ang. anti-thyroid peroxidase antibodies, TPOAb)

APC - komórki prezentujące antygen (ang. antigen-presenting cells)

ATP - adenozy-5'-trifosforan (ang. adenosine triphosphate)

AZT - przewlekłe autoimmunologiczne zapalenie tarczycy (ang. autoimmune thyroiditis)

BMI - wskaźnik wzrostowo-wagowy (ang. body mass index)

CTLA-4 - antygen-4 cytotoksycznych limfocytów T (ang. cytotoxic T cell antigen 4)

CD - celiakia (ang. coeliac disease)

DIO1 - dejodynaza typu 1 (ang. type 1 iodothyronine deiodinase)

DIO2 - dejodynaza typu 2 (ang. type 2 iodothyronine deiodinase)

DIO3 - dejodynaza typu 3 (ang. type 3 iodothyronine deiodinase)

DHA - kwas dokozaheksaenowy (ang. docosahexaenoic acid)

EAR - średnie zapotrzebowanie dla grupy (ang. estimated average requirement)

EPA - kwas eikozapentaenowy (ang. eicosapentaenoic acid)

fT3 - wolna trójjodotyronina (ang. free triiodothyronine)

fT4 - wolna tyroksyna (ang. free thyroxine)

GFD - dieta bezglutenowa (ang. gluten-free diet)

GLUT - transporter glukozy (ang. glucose transporter)

GPx - peroksydaza glutationu (ang. glutathione peroxidase)

HFI - wrodzona nietolerancja fruktozy (ang. hereditary fructose intolerance)

HLA - ludzkie antygeny leukocytarne (ang. human leukocyte antigen)

HPT - oś podwzgórze-przysadka-tarczyca (ang. hypothalamic–pituitary–thyroid axis)

HT - hormon tarczycy (ang. thyroid hormone)

IL - interleukina (ang. interleukin)

LDL - lipoproteina o małej gęstości (ang. low-density lipoprotein)

MAF - częstość allelu rzadszego (ang. minor allele frequency)

MHC - główny kompleks zgodności tkankowej (ang. major histocompatibility complex)

NCGS - nieceliakalna nadwrażliwość na gluten (ang. non-coeliac gluten sensitivity)

NIS - symporter sodowo-jodowy (ang. sodium-iodide symporter)

NKT - nasycone kwasy tłuszczowe (ang. saturated fatty acids, SFA)

NNKT - niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (ang. essential fatty acids, EFAs)

RDA - zalecane spożycie (ang. Recommended Dietary Allowances)

RT3- odwrotna 3,3,5-trójiodotyronina (ang. reverse triiodothyronine)

Sel - selenoproteiny(ang. selenoproteins)

SIBO - zespół przerostu bakteryjnego jelita cienkiego (ang. small intestinal bacterial overgrowth)

SNP - polimorfizm pojedynczego nukleotydu (ang. single nucleotide polymorphism)

T3 - 3,5,3-trójiodotyronina (ang. triiodothyronine)

T4 - 3,5,3,5-tyroksyna (ang. thyroxine)

TBII - immunoglobulina hamująca wiązanie TSH (ang. thyrotropin binding inhibitory immunoglobulin)

TG - tyreoglobulina (ang. thyroglobulin)

TPO - peroksydaza tarczycowa (ang. thyroid peroxidase)

Treg - limfocyty T regulatorowe (ang. regulatory T-cells)

TRH- tyreoliberyna (ang. thyrotropin-releasing hormone)

TrxR1 - izoforma 1 reduktazy tioredoksyny (ang. thioredoxin reductase 1)

TSH - hormon tyreotropowy (ang. thyroid-stimulating hormone)

TSH-r - receptor hormonu tyreotropowego (ang. thyroid-stimulating hormone receptor)

TTF-1 - tarczycowy czynnik transkrypcyjny 1 (ang. thyroid transcription factor 1, NKX2-1)

WNKT - wielonienasycone kwasy tłuszczowe (ang. polyunsaturated fatty acids, PUFAs)

VDBP - białko wiążące witaminę D (ang. vitamin D binding protein, DBP)

VDR - receptor witaminy D (ang. vitamin D receptor)

Spis treści

WYKAZ SKRÓTÓW	4
I. WSTĘP	9
1. AUTOIMMUNOLOGICZNE ZAPALENIE TARCZYCY TYPU HASHIMOTO	9
1.1. <i>Epidemiologia i etiologia</i>	9
1.2. <i>Patogeneza</i>	11
1.3. <i>Obraz kliniczny</i>	13
1.4. <i>Diagnostyka i leczenie</i>	14
2. POSTĘPOWANIE DIETETYCZNE W AUTOIMMUNOLOGICZNYM ZAPALENIU TARCZYCY	17
2.1 <i>Głodówka</i>	19
2.2 <i>Jod</i>	20
2.3 <i>Selen</i>	22
2.4 <i>Żelazo</i>	24
2.5 <i>Witamina D</i>	25
2.6 <i>Inne witaminy i składniki odżywcze</i>	27
2.7 <i>Goitrogeny</i>	34
2.8 <i>Mikrobiota</i>	35
3. NIETOLERANCJE POKARMOWE	38
3.1 <i>Gluten</i>	39
3.2 <i>Laktoza</i>	40
3.3 <i>Fruktoza</i>	41
II. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY	42
III. MATERIAŁ I METODY	43
1. KRYTERIA WŁĄCZENIA I WYŁĄCZENIA	43
2. IZOLACJA GENOMOWEGO DNA METODĄ GTC I OCENA JAKOŚCIOWA I ILOŚCIOWA	44
3. GENOTYPOWANIE PRZY UŻYCIU TECHNOLOGII TAQMAN®	46
4. AMPLIFIKACJA POSZCZEGÓLNYCH GENÓW TECHNIKĄ PCR I ICH SEKWENCJONOWANIE	47
5. BADANIA ANKIETOWE	48
6. ANALIZA STATYSTYCZNA	48
IV. WYNIKI	49
1. ANALIZA STYSTYCZNA SPOSOBU ODŻYWIANIA W GRUPIE BADANEJ I PORÓWNAWCZEJ	49
1.1 <i>Diagnoza alergii, nietolerancji pokarmowych, występowanie objawów klinicznych i rodzaj reakcji alergicznej</i>	49
1.1.1. <i>Gluten</i>	50
1.1.2. <i>Laktoza</i>	52
1.1.3. <i>Fruktoza</i>	54

1.2	<i>Stosowanie diety restrykcyjnej i jej efektywność</i>	56
1.2.1.	Dieta wykluczająca gluten	56
1.2.2.	Dieta wykluczająca laktozę	57
1.2.3.	Dieta wykluczająca fruktozę	58
1.3	<i>Częstość spożywania produktów potencjalnie problematycznych</i>	59
1.4	<i>Urozmaicenie pożywienia a przynależność do grupy</i>	63
1.5	<i>Urozmaicenie pożywienia a częstość stosowania produktów spożywczych</i>	64
2.	ANALIZA STATYSTYCZNA CHOROÓB PRZEWLEKŁYCH	67
3.	PREDYSPOZYCJE GENETYCZNE DO NIETOLERANCJI POKARMOWYCH	68
V.	DYSKUSJA	73
1.	GLUTEN	73
2.	LAKTOZA	77
3.	FRUKTOZA	79
4.	UROZMAICENIE POŻYWIENIA	81
5.	SŁABE I MOCNE STRONY BADAŃ	82
VI.	WNIOSKI	83
VII.	STRESZCZENIE/SUMMARY	85
1.	STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM	85
2.	SUMMARY	86
VIII.	PIŚMIENNICTWO	87
	SPIS TABEL	100
	SPIS RYSUNKÓW	101
	ZAŁĄCZNIKI	102

I. Wstęp

1. AUTOIMMUNOLOGICZNE ZAPALENIE TARCZYCY TYPU HASHIMOTO

Zapalenie tarczycy typu Hashimoto, nazywane również przewlekłym autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy lub przewlekłym limfocytarnym zapaleniem tarczycy, jest chorobą autoimmunologiczną, w której komórki pęcherzykowe tarczycy są niszczone drogą odpowiedzi humoralnej bądź komórkowej. Patofizjologia zapalenia tarczycy typu Hashimoto dotyczy tworzenia przeciwciał przeciwciwotarczycowych, które atakują tkankę tarczycy w konsekwencji uruchamiając mechanizmy powodujące postępujące włóknienie. Zapalenie to prowadzi często do jawnej niedoczynności tarczycy, czyli podwyższenia stężenia hormonu tyreotropowego (TSH) i obniżenia stężenia tyroksyny (T₄), bądź subklinicznej niedoczynności tarczycy, którym towarzyszy zwiększone stężenie przeciwciał przeciwko peroksydazie tarczycy (anty-TPO) i/lub przeciwciał przeciwko tyreoglobulinie (anty-Tg) (1).

1.1. EPIDEMIOLOGIA I ETIOLOGIA

Choroby autoimmunologiczne tarczycy stanowią 30% wszystkich chorób z autoagresji i są kwalifikowane jako narządowo-specyficzne, z których najczęstszą jest choroba Hashimoto (2,3). Choroba ta około 10 razy częściej dotyczy kobiet niż mężczyzn. Diagnozowana jest zazwyczaj między 30 a 50 rokiem życia, najczęściej w piątej dekadzie. Częstość występowania szacuje się rocznie na 0,8 na 1000 u mężczyzn i 3,5 na 1000 u kobiet. Na obszarach o wystarczającym spożyciu jodu (EAR=95µg/dzień, RDA=150µg/dzień (4)), choroba Hashimoto jest najczęstszą przyczyną niedoczynności tarczycy u osób powyżej 6 roku życia (1). U około 10-20% populacji można stwierdzić obecność autoprzeciwciał tarczycowych, ale częstość występowania autoprzeciwciał może się różnić w zależności od wieku, płci i pochodzenia etnicznego (5,6). Częstość występowania chorób tarczycy wzrasta wraz z wiekiem (1).

Etiologia autoimmunologicznego zapalenia tarczycy jest wciąż przedmiotem badań. Ostatnie lata pokazały, że rozwój choroby Hashimoto zależy od defektu tolerancji immunologicznej u osoby z podatnością genetyczną wraz z czynnikami środowiskowymi (3). Prowadzone badania dotyczące genetycznych czynników etiologicznych w zapaleniu tarczycy typu Hashimoto wykazały, że region ludzkiego antygeny leukocytów (HLA), który odgrywa główną rolę w innych chorobach autoimmunologicznych, jest powiązany także z tą chorobą (7,8). Ludzkie antygeny leukocytarne HLA-DR3 i HLA-DR5 są związane z tym zaburzeniem, przy czym HLA-DR3 jest ściślej powiązany z typem zanikowym, a HLA-DR5 z postacią z wolem (9). Związek zapalenia tarczycy Hashimoto z różnymi innymi chorobami autoimmunologicznymi dodatkowo wzmocnił prawdopodobny udział czynników

genetycznych w jego etiologii. Główny kompleks zgodności tkankowej (MHC), antygen-4 cytotoksycznych limfocytów T (CTLA-4) i HLA to czynniki genetyczne, które jak się podejrzewa, odgrywają główną rolę w patogenezie choroby. Selekcja komórek tarczycy w grasicy i prezentacja antygenów na obwodzie są modulowane przez ludzki analog MHC - HLA. Czułość i specyficzność powinowactwa do wiązania peptydów i rozpoznawania komórek T jest w dużej mierze zdeterminowana przez polimorfizmy genetyczne cząsteczki MHC. Możliwe polimorfizmy w cząsteczkach MHC odgrywają kluczową rolę w predyspozycjach do chorób autoimmunologicznych (8,10). Stwierdzono, że różne podgrupy genów HLA wykazują różny stopień powiązań z zapaleniem tarczycy Hashimoto u różnych ras. Geny HLA klasy 1 i 2 wykazywały związek z zapaleniem tarczycy Hashimoto w populacjach azjatyckich, podczas gdy tylko HLA klasy 1 wykazał związek u rasy białej (11). W znacznej liczbie przypadków odnotowano związek między CTLA-4 a zapaleniem tarczycy Hashimoto (12). CTLA-4 odgrywa istotną rolę w utrzymywaniu immunologicznej tolerancji organizmu wobec samego siebie i uważa się, że zmniejszenie jego ekspresji może być początkiem patogenezy zapalenia tarczycy Hashimoto, a także innych zaburzeń autoimmunologicznych, takich jak choroba Gravesa-Basedowa (13)

Współczynnik ryzyka nawrotu u rodzeństwa jest ponad 20-krotny, a współczynnik zgodności u bliźniaków jednojajowych wynosi od 30 do 60% (14). Badania bliźniąt wykazały zwiększoną zgodność autoimmunologicznego zapalenia tarczycy u bliźniąt jednojajowych w porównaniu z bliźniętami dwuzygotycznymi. Duńskie badania wykazały 55% współczynnik zgodności u bliźniąt jednojajowych, w porównaniu z zaledwie 3% współczynnikiem u bliźniąt dwuzygotycznych (15). Krewni osób chorych na AZT mają 9-krotnie większe ryzyko rozwoju tej choroby w porównaniu do populacji ogólnej (16). Dane te sugerują, że nawet 79% predyspozycji jest związana z czynnikami genetycznymi, przy czym 21% przypisuje się wpływom środowiskowym i wpływom hormonów płciowych (1).

Infekcja, stres, hormony płciowe, ciąża, nadmierne spożycie jodu, niedobór selenu i narażenie na promieniowanie zostały opisane jako możliwe czynniki predysponujące do wystąpienia zapalenia tarczycy. U osób predysponowanych genetycznie czynniki środowiskowe mogą przyspieszać autoimmunizację tarczycy poprzez indukowanie immunogenności antygenów tarczycy, zwłaszcza tyreoglobuliny i peroksydazy tarczycowej, zwiększając prezentację antygenów i zmniejszając tolerancję własną. Również wiele leków może mieć związek z indukcją zapalenia tarczycy. Na przykład interferon-alfa, stosowany w leczeniu zapalenia wątroby typu C, oraz kilka nowych przeciwciał monoklonalnych stosowanych w leczeniu m.in. czerniaka (ipilimumab, niwolumab i pembrolizumab) mogą wywoływać AZT, dlatego wskazane jest monitorowanie czynności tarczycy u pacjentów leczonych tymi lekami. Amiodaron i lit są znanymi induktorami lub czynnikami przyspieszającymi niedoczynność tarczycy u pacjentów z zapaleniem tarczycy typu Hashimoto (6).

U większości pacjentów powstają przeciwciała przeciwko różnym antygenom tarczycy, z których najczęstszym jest peroksydaza przeciwtarczycowa (anty-TPO). Wiele z nich tworzy również przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie (anty-Tg) i blokujące receptor TSH (TBII). Przeciwciała te wiążą się ze swoistym antygenem, co może uruchomić mechanizmy niszczące gruczoł i prowadzące najczęściej do niewystarczającej produkcji hormonu tarczycy. Warto jednak zauważyć, że niewiele jest dowodów wskazujących na rolę przeciwciał anty-TPO w patogenezie autoimmunologicznej choroby tarczycy. Istnieje niewielka podgrupa pacjentów, nie więcej niż 10–15% z klinicznie jawną chorobą, u których w surowicy nie wykazuje się przeciwciał. Ich poziom może również wahać się w nieprzewidywalny sposób, mogą stać się niewykrywalne, by w późniejszej fazie choroby znów się pojawić. Zapalenie tarczycy może być również powiązane z innymi chorobami autoimmunologicznymi, takimi jak niedokrwistość złośliwa, niewydolność kory nadnerczy czy celiakia. (1,6,17). Morfologicznie choroba polega na stopniowym zaniku tkanki tarczycy w następstwie inwazji komórek limfocytarnych, inwolucji pęcherzyków i onkocytarnej metaplazji komórek pęcherzykowych (18).

1.2. PATOGENEZA

Patogeneza autoimmunologicznego zapalenia tarczycy typu Hashimoto jest wieloczynnikowa i złożona, a zaangażowane są w nią zarówno czynniki genetyczne, jak i immunologiczne oraz środowiskowe. W skrócie można powiedzieć, że utrata tolerancji immunologicznej swoistych antygenów tyreocytów prowadzi do produkcji przeciwciał skierowanych przeciwko tarczycy, co powoduje zniszczenie tarczycy. Początkowe procesy zapalne są wyzwalane pod wpływem czynnika środowiskowego u osób predysponowanych genetycznie. Komórki prezentujące antygen klasy 2 MHC, które obejmują komórki dendrytyczne i makrofagi, atakują tarczycę po początkowym procesie zapalnym. Komórki te przedstawiają autoantygeny tarczycy układowi odpornościowemu w celu przetworzenia. Uważa się, że wśród niezliczonych potencjalnych autoantygenów tyreoglobulina, główne białko wytwarzane w tkance tarczycy, odgrywa centralną rolę w patogenezie tej choroby. Posiada ona około 40 różnych rodzajów epitopów, które u zdrowych osobników rozpoznawane są na podstawie odpowiedniego wzorca. W autoimmunologicznej chorobie tarczycy wzorzec rozpoznawania epitopów przez przeciwciała jest zmieniony, wyzwalając procesy immunologiczne i zapalne (8,19,20). Krytycznym elementem akumulacji limfocytów w tarczycy w AZT jest ekspresja selektyn i integryn na śródbłonku (21,22).

Peroksydaza tarczycowa, enzym katalizujący utlenianie jodu, również odgrywa znaczącą rolę jako autoantygen w patogenezie choroby. Ponadto, do tej pory zidentyfikowano 180 różnych typów przeciwciał przeciwko peroksydazie tarczycowej. Badania potwierdziły, że pomimo obecności

przeciwciał przeciw receptorowi tyreotropiny i symporterowi sodowo-jodowemu, które również są wykrywane u pacjentów z autoimmunologiczną chorobą tarczycy, nie odgrywają one istotnej roli w patogenezie tego schorzenia (8).

Najważniejszym etapem patogenezy jest tworzenie się autoreaktywnych komórek skierowanych przeciwko tyreocytom, co może wynikać z defektów tolerancji centralnej lub defektów tolerancji obwodowej. Utrata tolerancji immunologicznej jest powiązana z genetycznie uwarunkowanymi defektami odpornościowymi lub z brakiem regulatorowych komórek T, które narzucają funkcję supresyjną (23). Dojrzewanie limfocytów T pomocniczych CD4⁺ zachodzi w grasicy po aktywacji pod wpływem ekspozycji na określone antygeny i cytokiny. Zwykle aktywacja i proliferacja komórek T reagujących na własne antygeny jest uprzednio hamowana w grasicy przez mechanizmy ośrodkowej tolerancji immunologicznej. Jednak u niektórych osób, autoreaktywne limfocyty T wymykają się kontrolującym mechanizmom regulacji odporności i mogą aktywować, proliferować i różnicować się, prowadząc do rozwoju odpowiedzi autoimmunologicznej (21). Uważa się, że właśnie aktywacja limfocytów Th CD4⁺ specyficznych dla antygenów tarczycy rozpoczyna proces autoimmunologiczny (9). Limfocyty Th CD4⁺ pod wpływem IL-12, IFN- γ , IL-2 i ekspresji czynnika transkrypcyjnego T-bet różnicują się do komórek Th1, które wywołują silny naciek zapalny tarczycy przez limfocyty, co skutkuje zapaleniem tarczycy i zniszczeniem tarczycy oraz pod wpływem IL-4 do komórek Th2, które oddziałują z głównie z limfocytami B i komórkami plazmatycznymi, prowadząc do zwiększonej produkcji przeciwciał pośredniczących w humoralnej odpowiedzi immunologicznej (21,24). Kolejnym krokiem jest tworzenie, ekspansja klonalna i dojrzewanie autoreaktywnych limfocytów T i limfocytów B w drenujących węzłach chłonnych. Po tym etapie następuje centralna faza autoimmunizacji, charakteryzująca się niekontrolowaną produkcją autoreaktywnych komórek i autoprzeciwciał w odpowiedzi na przedstawione antygeny. Proces ten początkowo zachodzi w węzłach chłonnych, ale w miarę postępu choroby proces produkcji przenosi się do tarczycy, gdzie następuje rozwój tkanki limfatycznej. Stymulowane limfocyty B wytwarzają przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie (TGAB) i przeciwtarczycowej peroksydazie (ATPO), które są skierowane przeciwko komórkom tarczycy. Wytwarzane w procesie chorobowym autoreaktywne limfocyty T cytotoksyczne infiltrują tarczycę i pośredniczą w jej niszczeniu przy udziale cząsteczek CD8. Stymulowane w tym procesie makrofagi wytwarzają liczne cytokiny, które wraz z przeciwciałami inicjują proces niszczenia tkanek na drodze apoptozy. W ostatnim etapie, kaspazy (enzymy z grupy proteaz cysteinowych), samoczynnie aktywowane przez rozszczenie proteolityczne indukują enzymy, które są bezpośrednio zaangażowane w niszczenie tarczycy. W prawidłowo funkcjonującej tarczycy, wytwarzanie nowych i niszczenie starych komórek jest ściśle regulowane, tak aby odsetek funkcjonujących komórek był zawsze na stałym poziomie. W przebiegu choroby dochodzi do utraty kontroli nad tym procesem, do

czego w dużym stopniu przyczyniają się czynniki genetyczne. Ciężkość przebiegu choroby ma ścisły związek z szybkością apoptozy, a wraz ze wzrostem jej tempa, zmniejsza się masa hormonalnie aktywnej tkanki tarczycy, co prowadzi do zmniejszonej produkcji hormonów tarczycy i bardziej znaczących objawów chorobowych (3,8,9,25).

1.3. OBRAZ KLINICZNY

W badaniu przedmiotowym stwierdza się początkowo rozlane, symetryczne powiększenie tarczycy. W badaniu histopatologicznym, po przecięciu powierzchnia tarczycy z zapaleniem Hashimoto jest podobna do powierzchni węzłów chłonnych, w kolorze jasnobrązowym do żółtego. Zwłóknienie międzyzrazikowe może, ale nie musi, występować. Może również wystąpić atrofia, a u niektórych pacjentów gruczoł może stać się guzowaty lub asymetryczny. Nie powinna występować martwica i zwapnienie (1). Powiększenie tarczycy waha się od minimalnego do masywnego (do 350 g), ale w większości przypadków tarczyca ma masę około 40 g (2-3 x więcej niż fizjologicznie) (9). Pojawia się rozlany naciek limfocytarny, sporadycznie ze zwłóknieniem oraz z ośrodkami rozmnażania, pęcherzykami tarczycy o zmniejszonej wielkości, zawierającymi rzadki koloid. Chociaż pęcherzyki są małe, pojedyncze komórki tarczycy często wydają się powiększone i zawierają cytoplazmę ziarnistą i różową (zmiana oksyfilna); takie komórki są znane jako komórki Hürthle'a lub Askanazy'ego (9,26). Gdy naciek limfocytarny jest jedyną zmianą histologiczną, przewlekłe zapalenie autoimmunologiczne tarczycy można stwierdzić tylko wtedy, gdy pacjent ma wysokie miano przeciwciał przeciw-tarczycowych (9).

Objawy zapalenia tarczycy typu Hashimoto są zróżnicowane ze względu na charakter choroby. Początkowo objawy niedoczynności tarczycy mogą mieć charakter napadowy, ponieważ zniszczenie komórek tarczycy może prowadzić do zwiększonego uwalniania hormonów tarczycy do krwiobiegu. Ostatecznie, gdy odpowiedź przeciwciał powoduje znaczne zniszczenie, u pacjentów pojawiają się objawy niedoczynności tarczycy. Klasycznym, choć obecnie rzadko spotykanym objawem skórny jest obrzęk śluzowaty, którego nazwa prawdopodobnie odnosi się do obrzękopodobnego stanu skóry spowodowanego zwiększonym odkładaniem glikozaminoglikanów. Skóra może być też sucha i łuszcząca się, zwłaszcza na dłoniach i stopach. Badanie histologiczne ujawnia ścieńczenie naskórka. Zwiększone ilości mukopolisacharydów skórnych powodują zatrzymywanie wody, co z kolei powoduje błądliwość skóry. Spada tempo wzrostu włosów, które mogą być suche, szorstkie, matowe i łamliwe. Rozlane lub częściowe łysienie również nie jest rzadkością. Niedoczynność tarczycy może zwiększyć obwodowy opór naczyniowy o 50-60%, zmniejszając rzut serca nawet o 30-50%. Bradykardia może wynikać z utraty chronotropowego działania hormonu tarczycy bezpośrednio na komórki zatokowo-przedsionkowe.

Zmęczenie, duszność wysiłkowa i nietolerancja wysiłku są prawdopodobnie związane z ograniczoną rezerwą płucną i sercową oraz zmniejszoną siłą i wytrzymałością mięśni (1). Choć występuje niezwykle rzadko u dzieci, autoimmunologiczne zapalenie tarczycy typu Hashimoto, może niekorzystnie wpływać na wzrost i dojrzewanie płciowe, a także funkcje poznawcze (8).

Wczesne objawy mogą obejmować zaparcia, zmęczenie, suchość skóry i przyrost masy ciała. W bardziej zaawansowanym stadium może wystąpić: nietolerancja zimna, zmniejszone pocenie się, głuchota, neuropatia obwodowa, obniżenie poziomu energii, depresja, demencja, utrata pamięci, skurcze mięśni, ból stawów, wypadanie włosów, bezdech, krwotok miesięczkowy i objawy ucisku w szyi spowodowane powiększeniem wola takie jak chrypka. Kiedy tempo przemiany materii spada do poziomu krytycznego, pojawia się stan zagrożenia życia zwany śpiączką z obrzękiem śluzowatym. Śpiączka w przebiegu obrzęku śluzowatego jest najpoważniejszym objawem klinicznym i należy ją intensywnie leczyć jako nagły stan zagrożenia życia (1,8).

W przeciwieństwie do pacjentów z niedoczynnością tarczycy, pacjenci w stanie eutyreozy nie odczuwają żadnych dolegliwości ani nie wykazują objawów klinicznych choroby i w większości przypadków rozpoznanie jest u nich przypadkowe. U niektórych osób mogą nie występować inne objawy kliniczne poza powiększeniem tarczycy, a rozpoznanie ustala się na podstawie badania przedmiotowego. Wole samo w sobie może powodować kosmetyczne zniekształcenia w początkowej fazie, a wraz ze wzrostem jego rozmiaru może prowadzić do objawów ucisku, w tym bólu szyi, dysfagii i w niektórych przypadkach duszności. Guzy gruczołu tarczowego, które czasami pojawiają się na tle zapalenia tarczycy typu Hashimoto, manifestują się jako pojedyncze lub liczne zmiany ogniskowe, które zwykle są wykrywane przypadkowo podczas regularnego badania przedmiotowego i ultrasonograficznego (8).

1.4. DIAGNOSTYKA I LECZENIE

Zapalenie tarczycy typu Hashimoto związane jest z niewystarczającą produkcją hormonów tarczycy. Obraz biochemiczny wskazuje na podwyższony poziom hormonu tyreotropowego w odpowiedzi na niski poziom fT4. Niskie całkowite stężenie T4 lub fT4 przy podwyższonym stężeniu TSH potwierdza rozpoznanie pierwotnej jawnej niedoczynności tarczycy. Praktycy medycyny integracyjnej i funkcjonalnej mogą również oceniać poziomy fT3 i rT3, jednak medycyna zachodnia nie zaleca takich oznaczeń. Obecność przeciwciał przeciwko peroksydazie tarczycowej i przeciwko tyreoglobulinie sugeruje zapalenie tarczycy typu Hashimoto, jednak u 10% pacjentów z cechami tego zapalenia można stwierdzić ujemne wyniki przeciwciał. U części pacjentów wyniki laboratoryjne mogą wskazywać

również na niedokrwistość, zmniejszenie współczynnika przesączania kłębuszkowego (GFR), nerkowego przepływu osocza, podwyższony poziom kinazy kreatynowej, cholesterolu całkowitego, LDL i trójglicerydów czy prolaktyny. USG tarczycy ocenia rozmiar tarczycy, echogenność, jednorodność i obecność zmian ogniskowych tarczycy (1).

Diagnostyka autoimmunologicznego zapalenia tarczycy wymaga oznaczenia TSH, fT4 i przeciwciał tarczycowych. Badanie USG nie jest rutynowo wymagane, ale hipoechogeniczna lub niejednorodna struktura tarczycy może wskazać na wczesną autoimmunizację tarczycy, jeszcze zanim zostaną wykryte krążące przeciwciała (6). TSH w surowicy najdokładniej odzwierciedla stan tyreometyaboliczny pacjenta.

Wytczne dotyczące diagnostyki zapalenia tarczycy typu Hashimoto są następujące:

1. Kryterium kliniczne: Rozlany obrzęk tarczycy bez innej przyczyny (np. choroba Gravesa-Basedowa)
2. Kryterium laboratoryjne:
 - a. Dodatni wynik na obecność przeciwciał mikrosomalnych przeciw tarczycy lub przeciwciał przeciwko peroksydazie tarczycowej (TPO)
 - b. Dodatni wynik na obecność przeciwciał przeciw tyreoglobulinie (TG)
 - c. Nacieki limfocytarne w tarczycy potwierdzone badaniem cytologicznym (27).

Uznaje się, że u pacjenta występuje autoimmunologiczne zapalenie tarczycy typu Hashimoto, jeśli spełnił kryterium kliniczne i którekolwiek z kryteriów laboratoryjnych. Podejrzewa się takie rozpoznanie, jeśli występuje pierwotna niedoczynność tarczycy bez jakiegokolwiek innej przyczyny wywołującej niedoczynność tarczycy lub jeśli u pacjenta wykrywa się przeciwciała przeciwtarczycowe mikrosomalne i/lub przeciwciała przeciw tyreoglobulinie bez zaburzeń czynności tarczycy czy tworzenia wola. Jeśli pacjent z nowotworem tarczycy ma stwierdzone przeciwciała przeciwtarczycowe, również należy uznać, że występuje zapalenie tarczycy typu Hashimoto. Zapalenie tarczycy Hashimoto może wystąpić u pacjenta, jeśli w badaniu ultrasonograficznym tarczycy obserwuje się hipoechogeniczny i/lub niejednorodny wzorzec (27).

Podstawowe leczenie obejmuje stosowanie substytucji hormonów tarczycy. Lekiem z wyboru jest doustna lewotyroksyna sodowa. Konwencjonalne leczenie jawnej niedoczynności tarczycy obejmuje stosowanie lewotyroksyny w dawce 1,6-1,8 mcg/kg mc/dobę (28). Ma okres półtrwania równy 7 dni, może być podawana codziennie, ale nie należy jej łączyć z suplementami żelaza, wapnia, wodorotlenkiem glinu i inhibitorami pompy protonowej, aby uniknąć interakcji i zaburzeń wchłaniania. Najlepiej jest przyjmować lewotyroksynę wcześnie rano na czczo, około 30-60 minut przed posiłkiem,

aby zapewnić optymalne wchłanianie. Pacjenci w wieku poniżej 50 roku życia powinni rozpoczynać leczenie od standardowej, pełnej dawki. U pacjentów z chorobami układu krążenia i osób starszych powinna być stosowana niższa dawka. U pacjentów w wieku powyżej 50 lat zalecana dawka początkowa to 25 mcg/dobę z ponowną oceną po sześciu do ośmiu tygodni. Natomiast w okresie ciąży dawkę tyroksyny należy zwiększyć o 30%, zaś u pacjentek z zespołem krótkiego jelita do utrzymania eutyreozy potrzebne są zwiększone dawki lewotyroksyny (1,9). U nawet 24% pacjentów z niedoczynnością tarczycy z przyczyn autoimmunologicznych, leczonych tyroksyną ponad rok, może wystąpić remisja choroby w postaci utrzymującej się eutyreozy po odstawieniu leku przez średni okres 8 lat (29,30).

Objawy kliniczne zazwyczaj ustępują w ciągu kilku tygodni, ale całkowity powrót do zdrowia może zająć kilka miesięcy. Stężenie TSH stabilizuje się co najmniej 6 tygodni, zatem na ogół najlepiej nie powtarzać oznaczenia TSH wcześniej niż po 6 tygodniach po rozpoczęciu leczenia lewotyroksyną lub po zmianie dawki. Celem leczenia jest uzyskanie stężeń TSH w zakresie referencyjnym. Kontrolę stężenia TSH po ustabilizowaniu dawki, należy powtarzać raz na rok (31). Operacja tarczycy może być wskazana u pacjentów z dużym wolem niereagującym na leczenie farmakologiczne, powodującym objawowe uciskanie szyi lub z podejrzeniem lub potwierdzonym współistniejącym nowotworem tarczycy (6).

2. POSTĘPOWANIE DIETETYCZNE W AUTOIMMUNOLOGICZNYM ZAPALENIU TARCZYCY

Ze względu na wpływ hormonów tarczycy na regulację metabolizmu, spoczynkowe tempo przemiany materii spada wraz ze spadkiem czynności tarczycy (32). Stąd u pacjentów możliwy jest przyrost masy ciała związany z nadmierną (względem zmniejszonego zapotrzebowania) podażą energetyczną. Ze względu na silny związek między nadmiernie rozwiniętą tkanką tłuszczową a nasileniem stresu oksydacyjnego, procesów zapalnych i autoimmunologicznych (33) oraz często występującą nadwagę lub otyłość w chorobie Hashimoto (34), istotnym elementem terapii dietetycznej jest zindywidualizowane ustalenie wartości kalorycznej, które będzie uwzględniało aktywność fizyczną i styl życia. Rekomendowane jest raczej zwiększenie aktywności fizycznej, a nie ograniczanie podaży kalorycznej w diecie (32). Dieta w przypadku autoimmunologicznego zapalenia tarczycy typu Hashimoto powinna opierać się o zalecenia dla osób zdrowych i uwzględniać indywidualne potrzeby związane z wiekiem, płcią, stanem fizjologicznym oraz ewentualnymi współistniejącymi zaburzeniami metabolicznymi i innymi chorobami. Nie ma potrzeby wprowadzania diet eliminacyjnych, o ile nie ma określonych wskazań medycznych (35).

Z uwagi na często występujące zaburzenia w gospodarce węglowodanowej, wskazane jest ograniczenie węglowodanów prostych na rzecz węglowodanów złożonych. Zalecane są produkty z niskim indeksem glikemicznym, które zmniejszają poposiłkową hiperglikemię i normalizują krzywą cukrową (36,37). Niedoczynność tarczycy może wpływać na zaburzenia pasażu jelitowego, prowadząc do problemów z defekacją w wyniku występujących zaparć (34). Z tego względu konieczne jest zwrócenie uwagi na odpowiednią podaż błonnika oraz wody w diecie. Chociaż suplementacja błonnikiem pokarmowym jest wygodnym rozwiązaniem terapeutycznym dla niektórych pacjentów, to jednak jest nieporównywalnie gorsza od konwencjonalnej podaży z produktów roślinnych. Niekiedy jednak jej zastosowanie może być wskazane jako działanie wspomagające regulację masy ciała w przypadku niewystarczającej podaży błonnika w diecie (<30g/dobę) (32). Wprowadzenie do diety produktów zawierających duże ilości beta-glukanów, jak na przykład błonnik owsiany, może wpłynąć korzystnie na regulację metabolizmu glukozy-insuliny, zawartości lipidów we krwi, na mikrobiotę jelitową, immunomodulację i inne (38).

W diecie osób chorych na autoimmunologiczne zapalenie tarczycy typu Hashimoto zalecane jest zwiększenie podaży białka nawet do 25% dziennego zapotrzebowania energetycznego. Wpływa ono korzystnie na zwiększenie tempa metabolizmu, przez co może odgrywać rolę w stabilizowaniu masy ciała do wartości prawidłowych (BMI w przedziale 20-25 kg/m²) (39). Diety wysokobiałkowe charakteryzują się wywoływaniem zwiększonego odczucia sytości mimo zmniejszonej energetyczności diety. Taki

sposób żywienia implikuje również wysoką termogenezę, przy czym białko zwierzęce wykazuje wyższą termogenezę niż białko roślinne. W dłuższej perspektywie ta wysoka termogeneza przyczynia się do niskiej efektywności energetycznej białka. Oznacza to, że straty metaboliczne wynikające z przemian metabolicznych białka są wyraźnie wyższe niż te wynikające z przemian glukozy i kwasów tłuszczowych. Większy udział białka w diecie może zatem bezpośrednio wpływać na redukcję masy ciała (40). Podstawową rolą, jaką odgrywają proteiny w AZT jest dostarczanie aminokwasów niezbędnych do syntezy hormonów tarczycy oraz białek związanych z regulacją tego procesu, tj. TPO i TG, takich jak tyrozyna, czy fenyloalanina, która pod wpływem przemian w organizmie może być przekształcona do tyrozyny (41). Często występujące z niedożywieniem kalorycznym, niedożywienie białkowe potęguje niedobór jodu i uszkodzenia tarczycy. Podobnie jak restrykcje kaloryczne, również zawartość białka w diecie wpływa na zmiany w osi podwzgórze-przysadka-tarczyca (HPT). Zmniejszenie zawartości protein w diecie zmienia aktywność osi HPT, zarówno na poziomie centralnym, jak i obwodowym z efektem podobnym do tego wywoływanego głodem (42,43), powodując zaburzenia w sprzężeniu zwrotnym ujemnym, wpływając na aktywność dejodynaz i w efekcie obniżając stężenie TRH i TSH (44). Niedobór białka indukuje również silniejsze wiązanie T3 poprzez transport białek we krwi, co skutkuje spadkiem poziomu fT3 (42). Również sposób odżywiania się matki w trakcie ciąży, a przede wszystkim podaż białka, może mieć wpływ na funkcjonowanie tarczycy u potomstwa (45). Niedożywienie białkowe w okresie ciąży może wpływać na budowę tarczycy u płodów i noworodków, prowadząc do opóźnienia organizacji pęcherzyków i zmniejszenia objętości tarczycy, co jest wynikiem zmniejszonej liczby pęcherzyków i wielkości tarczycy (46). W diecie zalecane jest pełnowartościowe białko pochodzące z produktów nieprzetworzonych, takich jak mięsa, ryby, jaja, mleko i produkty mleczne. Odpowiednio wysokie spożycie białka pełnowartościowego może również przyczynić się do ograniczenia problemu wypadających włosów, który często występuje u osób chorych na zapalenie tarczycy typu Hashimoto (32,44). Zalecane jest również białko rybne, które cechuje się wysoką strawnością, zaś skład aminokwasowy może nawet przewyższać zawartość białka wzorcowego (47). Największą zawartość białka mają świeże ryby, takie jak halibut, sardynka i tuńczyk. Znaczną zawartość białka i jakość odżywczą wykazują również ryby pochodzące z kultur narodowych, takie jak sandacz, szczupak, pstrąg tęczowy, okoń oraz większość gatunków z rodziny Cyprinidae. Dobrym źródłem tyrozyny i fenyloalaniny są: sandacz, płóc, leszcz, okoń, śledź i łosoś (35).

Aktywność osi HPT odpowiada również na zmiany zarówno zawartości tłuszczu w diecie, jak i jego rodzaju. Kwasy tłuszczowe wielonienasycone (WNKT), szczególnie z rodziny omega-3 (n-3), stymulują syntezę hormonów tarczycy, zaś kwasy tłuszczowe nasycone (NKT) wykazują działanie zmniejszające aktywność tarczycy, wpływając na zwiększenie pęcherzyków tarczycowych i spłaszczenie komórek

pęcherzykowych (44,48). NKT odgrywają również rolę w zmniejszeniu aktywności białek związanych z syntezą hormonów tarczycy, takich jak tarczycowy czynnik transkrypcyjny 1 (TTF-1), tyreoperoksydaza (TPO) i symporter sodowo-jodowy (NIS) (49). Kwasy n-3 wpływają odwrotnie, zwiększając aktywność tych białek, poprawiając tym samym wychwyt jodu przez tarczycę oraz potencjał syntetyczny i wydzielniczy gruczołu (35). Tłuszcz jako składnik diety odgrywa też ważną rolę w aktywności dejodynaz - kwas dokozaheksaenowy (DHA) zwiększa aktywność DIO1 w wątrobie, zaś kwas stearynowy ją hamuje. Ponadto, kwasy tłuszczowe konkurują z hormonami tarczycy o miejsce wiązania w osoczowych białkach transportujących, wpływając tym samym na zwiększenie stężenia wolnych HT w osoczu, co przy pomocy mechanizmu sprzężenia zwrotnego ujemnego obniża wydzielanie TSH i TRH, stymulując tym samym pracę tarczycy - takie działanie jest specyficzne przede wszystkim dla WNKT (44,48). Wśród WNKT najsilniejsze działanie immunomodulujące mają n-3, a wśród nich te pochodzące z oleju rybiego - kwas eikozapentaenowy (EPA) i DHA. Są one silniejsze biologicznie niż kwas alfa-linolenowy (ALA) i wykazują właściwości przeciwzapalne, dzięki czemu są polecane w diecie osób z chorobami autoimmunologicznymi. Stymulują syntezę cytokin przeciwzapalnych i hamują prozapalnych, przyczyniając się do łagodzenia objawów skórnych w przypadku AZT typu Hashimoto, jak również mogą przyczynić się do opóźnienia autodestrukcji gruczołu (50). Z tego względu w diecie powinno ograniczyć się do minimum NKT (do 10% dziennego zapotrzebowania energetycznego zgodnie z wytycznymi IŻŻ 2020), zaś zwiększyć podaż WNKT, ze szczególnym uwzględnieniem n-3, głównie poprzez zwiększenie spożycia ryb w diecie. W tkance mięśniowej wielu gatunków ryb słodkowodnych i słonowodnych przeważają WNKT, które podobnie jak w przypadku całkowitej zawartości tłuszczu oraz kwasów n-3 są bardziej obfite w mięsie ryb morskich niż słodkowodnych. Szczególnie polecany u osób z AZT jest łosoś atlantycki, ale również makrela, tuńczyk, jesiotr atlantycki, śledź, sardela i pstrąg tęczowy. Stosowanie diet z niedoborem omega-3 PUFA i bogatych w NKT skutkuje spadkiem: aktywności osi HPT, zdolności syntezy gruczołu tarczowego, wątrobowej konwersji T4 do T3 i wiązania T3 z receptorem jądrowym (35).

2.1 GŁODÓWKA

Głodówka wywołuje zmiany w osi podwzgórze-przysadka-tarczyca, wpływając na obniżenie ekspresji genu hormonu uwalniającego TRH. Ogólnym rezultatem tych złożonych zmian osi HPT podczas postu jest zaburzenie mechanizmu ujemnego sprzężenia zwrotnego i obniżenie wydzielania zarówno T3, T4, jak i TSH (51,52). Istotny wpływ na hamowanie aktywności HPT odgrywa leptyna, której obniżone na skutek głodówki stężenie w osoczu, wpływa na zahamowanie ekspresji TRH w jądrze przykomorowym

podwzgórza. Wpływa ona również na ekspresję oraz aktywność dejodynaz znajdujących się w podwzgórzu i przysadce, zwiększając aktywność mRNA dejodynazy typu 2 i zwiększając tym samym miejscową produkcję T3, które na zasadzie sprzężenia zwrotnego ujemnego obniża ekspresję THR (52,53). Na obniżone wydzielanie TSH wpływ może mieć poza obniżonym stężeniem THR, podwyższone stężenie neuromedyny B, które jest obserwowane w przypadku głodówki (54), jak również niższa aktywność DIO1 oraz DIO2 przy zwiększeniu aktywności DIO3 (55). Zmiany stężeń hormonów tarczycy mogą również wynikać z ograniczenia dostępności białek transportujących: transtyrektyny i globuliny wiążącej hormony tarczycy. Powoduje to zmniejszenie transportu T4 do komórek organizmu, a zatem zmniejszonego działania T3 na tkanki docelowe (56). Niewielkie restrykcje kaloryczne, na poziomie około 20% nie wpływają na wychwyt hormonów tarczycy przez tkanki docelowe, jak również na ich poziom wewnątrzkomórkowy. Restrykcje na poziomie 40% mogą jednak przyczynić się do zmniejszenia transportu HT do tkanek i w efekcie wywołać hipotyreozę (57). Stąd restrykcje kaloryczne, nawet w przypadku pacjentów z nadwagą, bądź otyłych, nie powinny być znaczne, a jedynie na poziomie 10-20%. Nadmierna restrykcja kaloryczna mogłaby się również przyczynić do jeszcze większego spadku, i tak już spowolnionej przemiany materii (58).

2.2 JOD

Jod jest podstawowym składnikiem hormonów tarczycy i odgrywa kluczową rolę we wzroście, rozwoju i metabolizmie. Jod pobierany jest z krwi przez komórki nabłonkowe tarczycy, aby pod wpływem peroksydazy tarczycowej przyłączyć się do cząsteczek tyrozyny, tworząc mono- i diiodotyrozyny, które następnie w wyniku sprzężenia ponownie katalizowanego TPO tworzą hormony tarczycy - T3 i T4. Skutkiem jego niedoboru jest nadmierna stymulacja osi HPT, podniesienie stężenia TSH oraz zmniejszenie poziomu T3 i T4. Podwyższone stężenie TSH, zwłaszcza w warunkach niedoboru jodu sprzyja wytwarzaniu H₂O₂ w nadmiarze, co może przyczynić się do włóknienia i destrukcji komórek tarczycy. Minimalne dzienne zapotrzebowanie na utrzymanie prawidłowej czynności tarczycy wynosi 150 µg. Prawidłowy poziom jodu w osoczu wynosi 0,3 µg/dl. Standardowa dieta zawiera około 500 µg jodu (41,44,59–61). Jod usuwany jest z krążenia głównie przez tarczycę i nerki. Chociaż nerkowy klirens jodu jest dość stały, klirens tarczycowy zmienia się w zależności od spożycia jodu. W obszarach, w których występuje wystarczająca ilość jodu, tarczyca osoby dorosłej wychwytuje około 60 µg jodu/dobę, aby zrównoważyć straty i utrzymać syntezę hormonów tarczycy. Organizm zdrowej osoby dorosłej zawiera od 10 do 20 mg jodu, z czego 70 do 80% znajduje się w tarczycy (62).

Ciężki niedobór jodu powoduje wole i niedoczynność tarczycy, ponieważ pomimo zwiększenia aktywności tarczycy w celu maksymalizacji wychwytu jodu i jego ponownego wykorzystania w tej sytuacji, stężenie jodu jest nadal zbyt niskie, aby umożliwić produkcję hormonu tarczycy. W przypadku łagodnego do umiarkowanego niedoboru jodu zwiększona aktywność tarczycy może zrekompensować niskie spożycie jodu i utrzymać eutyreozę u większości osób, ale przewlekła stymulacja tarczycy powoduje wzrost częstości występowania wola guzkowego toksycznego i nadczynności tarczycy (63). Od czasu wprowadzenia powszechnego jodowania soli poczyniono znaczne postępy w zapobieganiu i kontrolowaniu zaburzeń związanych z niedoborem jodu. Jednak nadmierne spożycie jodu, wynikające z dodatkowej suplementacji bądź nadmiernego stosowania soli jodowanej zwiększa ryzyko wystąpienia kilku schorzeń tarczycy, w tym autoimmunologicznego zapalenia tarczycy. Mechanizmy wywoływania AZT przez jod są wciąż niejasne, uważa się jednak, że nadmiar jodu indukuje produkcję cytokin i chemokin, które mogą rekrutować komórki immunokompetentne do tarczycy oraz może osłabiać obwodową tolerancję poprzez hamowanie limfocytów T regulatorowych. Przetwarzanie nadmiaru jodu w komórkach nabłonka tarczycy może skutkować podwyższonym poziomem stresu oksydacyjnego, prowadzącym do szkodliwego utleniania lipidów i uszkodzeń tkanki tarczycy, zaś włączenie jodu do łańcucha białkowego tyreoglobuliny może zwiększyć immunogenność tej cząsteczki (61,64). Nadmiar jodu ogranicza wychwyt aminokwasów przez tyreocyty, a także wytwarzanie peroksydazy tarczycowej oraz tyreoglobuliny (44) i może wywołać efekt Wolffa-Chaikoffa (37), który utrzymując się patologicznie może stanowić przyczynę niedoczynności tarczycy indukowanej jodem (65). Z tego względu spożycie jodu powinno się mieścić w stosunkowo wąskim zakresie zalecanych poziomów (tabela 1).

Tabela 1. Rekomendacje dotyczące spożycia jodu

Wiek	IŻŻ 2020 (4) (µg/dobę)		EFSA 2014 (66) (µg/dobę)	CCIDD/UNICEF/WHO (67) (µg/dobę)
	EAR	RDA	AI	RNI
0-6 miesięcy	110 (AI)			90
7-12 miesięcy	130 (AI)		70	90
1-6 lat	65	90	90	90
7-9 lat	70	100	90	120
10-11 lat	-	-	90	120

10-12 lat	75	120	-	-
11-14 lat	-	-	120	120-150
13-18 lat	95	150	-	-
15-17 lat	-	-	130	150
Dorośli	95	150	150	150
Ciąża	160	220	200	250
Laktacja	210	290	200	250

2.3 SELEN

Brak spójności w badaniach dotyczących skuteczności suplementacji jodu, a także różnice w stanie tarczycy w zależności od spożycia jodu wskazują na istnienie dodatkowego czynnika, jakim jest selen. Jednym z niekorzystnych skutków nadmiernej podaży jodu w diecie jest blokada enzymów z resztami selenocysteiny, tj. glutationu i peroksydaz tarczycowych, co prowadzi do obniżenia ich aktywności, dlatego oprócz możliwego działania prooksydacyjnego jod może również hamować aktywność enzymów antyoksydacyjnych. Selen jednakże może odwracać zmiany spowodowane nadmierną podażą jodu, a nawet zatrzymać i cofnąć procesy autoimmunologiczne (68).

Selenocysteina, analog cysteiny wchodzi w skład 25 selenoprotein (Sel, SELENO), które mają szeroki zakres funkcji, od działania przeciwutleniającego i przeciwzapalnego, po produkcję aktywnej formy hormonu tarczycy (69). Wiele selenoprotein ulega ekspresji w tyreocytach np. dejodynazy jodotyroninowe (DIO1, DIO2, DIO3), izoformy peroksydazy glutationu (GPx), reduktazy tioredoksynowe (TxnRd1 i TxnRd2), selenoproteina 15, selenoproteina P (SELENOP), M (SELENOM) i S (SELENOS) (61). Peroksydazy 1, 3 i 4 glutationu (GPx1, GPx3 i GPx4) oraz izoformy 1 reduktazy tioredoksyny (TrxR1), chronią przed stresem oksydacyjnym, a którego nasilenie jest nierozzerwalnie związane z syntezą hormonów tarczycy. Poziom GPx3 jest czynnikiem decydującym o stężeniu w tarczycy nadtlenku wodoru - kofaktora TPO. GPx1 chroni kompartmenty wewnątrzkomórkowe przed nadmiarem H₂O₂, który może dyfundować do tyreocytów, podczas gdy GPx4 może usuwać nadmierne lipidowe wodoronadtlenki w mitochondriach. W związku z tym selen jest mikroskładnikiem chroniącym tarczycę przed toksycznym działaniem nadtlenku wodoru. Znajduje to bezpośrednie odzwierciedlenie w poziomie syntezy HT i zapobiega nadmiernej stymulacji tarczycy (35,61,70). Dejodynazy DIO1 i DIO2

mogą aktywować T4 poprzez przekształcenie go w T3, podczas gdy DIO1 i DIO3 mogą uniemożliwić aktywację T4 poprzez przekształcenie jej w nieaktywne rT3 (71). Poza tarczycą DIO2 jest w dużej mierze odpowiedzialny za lokalną konwersję T4 do T3 w tkankach docelowych. DIO3 znajduje się w tkance płodowej, łożysku i ośrodkowym układzie nerwowym, gdzie chroni wrażliwe komórki przed tyreotoksycznymi stężeniami aktywnej T3 (61,72). Ponadto selen jest składnikiem selenoprotein, które regulują funkcje układu odpornościowego, hamując cytokiny prozapalne i wzmacniając aktywność komórek Th2 i limfocytów T regulatorowych, chroniąc tarczycę przed autoagresją (35,73). Dodatkowo, korzystny wpływ selenu w AZT typu Hashimoto można również tłumaczyć potencjałem do obniżania poziomu ekspresji antygenów HLA-DR na powierzchni tyreocytów i poziomu przeciwciał przeciwtarczycowych oraz do hamowania syntezy cytokin prozapalnych i innych prozapalnych mediatorów, takich jak prostaglandyny i leukotrieny (74,75).

Stężenie selenu we krwi poniżej 60 µg/l zwiększa ryzyko chorób takich jak choroby autoimmunologiczne, w tym choroba Hashimoto czy nowotwory, zaś stężenie powyżej 140 µg/l powiązane jest z hiperlipidemią i cukrzycą typu 2 (76). Selen pobudza aktywność komórek regulatorowych do blokowania uwalniania interleukiny (IL-2), która stymuluje autoreaktywne limfocyty T i limfocyty B do produkcji przeciwciał przeciwko tarczycy (32,77). Zaangażowany jest w regulację osi podwzgórze-przysadka-tarczyca, bierze udział w budowie centrum aktywnego dejodynaz i enzymów warunkujących przemianę HT. Skutkiem niedoboru selenu jest nasilenie produkcji wolnych rodników tlenowych, a w konsekwencji włóknienia tarczycy, procesów apoptozy i destrukcji tyreocytów oraz zaburzenia w konwersji T4 do T3 (44,65). Wydaje się również, że suplementacja selenu może zmniejszać poziom przeciwciał przeciwtarczycowych u pacjentów z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto (70). Wielokrotnie podkreślany wpływ selenu na dejodynazy i selenoproteiny biorące udział w regulacji nadmiernej reaktywności tarczycy, jak również na samą aktywność tarczycy, spowodował zwiększone zainteresowanie suplementacją selenu w AZT typu Hashimoto. Liczne badania nie wykazały jednak jednoznacznie skuteczności takiego postępowania, zaś nadmiar selenu wiąże się z jego znaczną toksycznością i niekorzystnym działaniem na komórki tarczycy (44).

Selen może być dostępny zarówno w lepiej przyswajalnych związkach organicznych (selenometionina i selenocysteina), jak i nieorganicznych (selenin i selenian). Selenometionina znajduje się w źródłach roślinnych (zwłaszcza w zbożach), drożdżach selenowych i innych suplementach selenu. Z kolei selenocysteina, selenowy analog aminokwasu cysteiny, występuje głównie w pokarmach pochodzenia zwierzęcego. Większość selenu jest wchłaniana w jelicie cienkim (50–80%) i wydalana przez nerki (60%). Jelitowe wydalanie selenu wynosi około 35%, a tylko 5% jest wydalone z potem lub ze śliną (76,77). Zapotrzebowanie dzienne na selen nie różni się w zależności od płci i wynosi 55µg/dobę dla

osób dorosłych. W ciąży i laktacji zapotrzebowanie wzrasta odpowiednio do 60 i 70 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ (4). Przeprowadzone w Polsce badania epidemiologiczne wykazały występowanie niedoborów selenu u pacjentów z chorobą Hashimoto w porównaniu do zdrowej populacji, jednakże były one w nieznacznym stopniu powiązane z nawykami żywieniowymi (78). Selen tylko w wąskim zakresie wykazuje korzystny wpływ na organizm, a jego nadmierne spożycie prowadzi do wystąpienia działań niepożądanych. Konsekwencją nadmiaru selenu są zaburzenia syntezy hormonów tarczycy oraz nasilenie stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego tarczycy. Dzielne spożycie selenu przekraczające 400–700 μg może mieć działanie toksyczne (74). Jeśli wydaje się, że w diecie pacjenta jest niewiele źródeł bogatych w selen lub nie ma ich wcale, sugeruje się suplementację niskimi dawkami (50–100 $\mu\text{g}/\text{dzień}$) (61). Orzechy brazylijskie są powszechnie uważane za najlepsze źródło selenu, chociaż nie są często spożywane. Nie można ich jednak polecać jako główne źródło selenu ze względu na bardzo zmienną zawartość selenu wahającą się od 0,03 do 512 $\mu\text{g}/\text{g}$ oraz dużą zawartość boru (nawet do 4000 $\mu\text{g}/\text{g}$), który może spowodować zapalenie żołądka i jelit, porażenie mięśni, niedobór potasu, spowolnienie tętna, migotanie komór i dodatkowe skurcze serca (79). Dobrym źródłem selenu są podroby i owoce morza oraz ryby, a w następnej kolejności mięsa i zboża (61), grzyby oraz nasiona słonecznika (65).

2.4 ŻELAZO

Żelazo jest jednym z podstawowych składników mineralnych, niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Dzięki obecności w hemoglobinie, mioglobinie i wielu enzymach zawierających żelazo, bierze udział w wielu procesach metabolicznych w organizmie. Obejmują one transport i magazynowanie tlenu, syntezę DNA, wytwarzanie ATP, reakcje utleniania i redukcji, przenoszenie elektronów i regulację cyklu komórkowego. U zdrowych dorosłych osób metabolizm żelaza jest ściśle regulowany, aby utrzymać zawartość żelaza w organizmie w ograniczonym zakresie. Dzieje się tak, ponieważ niedobór żelaza prowadzi do zmniejszonego transportu tlenu i upośledzonej aktywności enzymów zawierających żelazo, a nadmiar żelaza może predysponować do chorób związanych z nadmiernym obciążeniem żelazem (80). TPO, enzym niezbędny do organizacji i reakcji sprzęgania w syntezie hormonów tarczycy uaktywnia się dopiero po związaniu centrum aktywnego z grupą hemową. Stąd odpowiedni poziom żelaza jest niezbędny do produkcji hormonów tarczycy T3 i T4 (61,81). Żelazo odgrywa również rolę w zwiększaniu aktywności DIO1 w wątrobie, dlatego w przypadku stwierdzonego niedoboru żelaza występuje spadek aktywności TPO i syntezy HT oraz konwersji T4 do T3 przy jednoczesnym zwiększeniu wydzielania TSH (32).

Jako specyficzna, narządowa choroba autoimmunologiczna, choroba Hashimoto często wiąże się ze współwystępowaniem innych chorób autoimmunologicznych, które uważane są za główną przyczynę częstszego występowania niedoboru żelaza stwierdzanego u osób z AZT w porównaniu do populacji zdrowej (61,82). Niedokrwistość z niedoboru żelaza jest najczęstszą pozajelitową manifestacją celiakii, która upośledza wchłanianie żelaza i prowadzi do jego niedoboru, zaś odsetek pacjentów z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto i współistniejącą celiakią jest znaczny (83,84). Wydaje się jednak, że sama niedoczynność tarczycy w przebiegu AZT może upośledzać wchłanianie żelaza z przewodu pokarmowego (61). Zalecane są rutynowe badania przesiewowe w kierunku niedoboru żelaza. W przypadku stwierdzenia niedoboru lub stężenia ferrytyny w surowicy $<70 \mu\text{g/l}$, należy podejrzewać współistniejącą chorobę trzewną lub autoimmunologiczne zapalenie żołądka jako potencjalną przyczynę (61).

2.5 WITAMINA D

Witamina D jest sekosteroidem o plejotropowej roli w wielu procesach fizjologicznych. Oprócz dobrze znanego działania na homeostazę kości, ostatnie badania sugerują szczególną rolę witaminy D w różnych szlakach pozaszkieletowych, w tym kluczową rolę w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej (85). Ma dwie główne formy, z których witamina D₂ pochodzi wyłącznie z pożywienia, a witamina D₃ jest w znacznym stopniu syntetyzowana w ludzkiej skórze pod wpływem światła słonecznego. Pomimo różnicy w budowie łańcuchów bocznych, oba są hydroksylowane w wątrobie przez 25-hydroksylazę do 25-hydroksywitaminy D (25[OH]D, kalcydiol), która jest przenoszona przez białko wiążące witaminę D (VDBP) (61,86). W klasycznej ścieżce 25(OH)D jest następnie przekształcany w nerce do 1 α , 25-dihydroksywitaminy D (1 α ,25[OH]₂D, kalcytriol) przez 1- α -hydroksylazę. Jest to forma hormonalnie aktywna i wywiera działanie endokrynologiczne poprzez wiązanie się z receptorem witaminy D (VDR) i regulację genów reagujących na VDR (87).

Badania wskazują na częste występowanie niedoborów witaminy D we krwi u pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi w każdej grupie wiekowej, u których miano przeciwciał i czynność tarczycy ulegają poprawie wraz ze zwiększoną podażą cholekalcyferolu (65,88,89). Witamina D może odgrywać rolę immunosupresyjną poprzez hamowanie wielu części odpowiedzi immunologicznej w AZT (202,203), na przykład wpływając na wydzielanie cytokin prozapalnych, proliferację limfocytów, czego efektem jest zmniejszenie liczby komórek prezentujących antygen (90), wydzielanie immunoglobulin, które mogą uszkodzić komórki tarczycy i wywołać AZT typu Hashimoto czy wpływając na ekspresję genów HLA klasy II (91). Część badań wykazała również korelację między suplementacją witaminy D a

obniżeniem stężenia przeciwciał anti-TPO (92–96) oraz anti-TG (97–99), jednakże wnioski nie są jednoznaczne w tym zakresie.

Witamina D odgrywa rolę w regulacji osi HPT zarówno na poziomie przysadki (100), jak i tarczycy, wpływając na obniżanie stężenia TSH (101). Moduluje układ odpornościowy, wzmacniając wrodzoną odpowiedź immunologiczną, jednocześnie wywierając działanie hamujące na adaptacyjny układ odpornościowy (102,103). Większość komórek odpornościowych, w tym limfocyty T, limfocyty B i komórki prezentujące antygen (APC), takie jak komórki dendrytyczne (DC) i makrofagi zawiera receptory witaminy D. Na poziomie APC 1,25(OH)₂D hamuje powierzchniową ekspresję antygenów i cząsteczek kostymulujących głównego kompleksu zgodności tkankowej klasy II oraz zapobiega różnicowaniu i dojrzewaniu DC, a także ich aktywacji i przeżyciu, prowadząc do obniżenia prezentacji antygenów i aktywacji komórek T. Ponadto moduluje również ekspresję cytokin pochodzących z DC poprzez hamowanie produkcji interleukiny IL-12 i IL-23, cytokin różnicujących limfocyty w kierunku fenotypu Th1, oraz zwiększanie uwalniania IL-10. Tym samym witamina D pośrednio przesuwając polaryzację limfocytów T z fenotypu Th1 i Th17, związanego z chorobami autoimmunologicznymi, na fenotyp Th2 (102,104). Hamuje proliferację, różnicowanie i produkcję cytokin, komórek Th1, a także cytokin pochodzących z Th17 oraz wspomaga produkcję przeciwzapalnych cytokin Th2 i sprzyja rozwojowi limfocytów T regulatorowych (Treg) (105). Ponadto aktywuje proliferację monocytów i ich różnicowanie do makrofagów, które wykazują bardziej efektywne zdolności fagocytarne (35). Zdolność witaminy D do tłumienia adaptacyjnego układu odpornościowego sprzyja tolerancji immunologicznej i wydaje się być korzystna w przypadku wielu chorób autoimmunologicznych (105).

Chociaż wiele badań sugeruje związek niskiego poziomu witaminy D z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto, badania epidemiologiczne wskazują na związki korelacyjne, których nie można wykorzystać do określenia przyczyny i skutku. Niski poziom witaminy D może nie być przyczyną, ale raczej konsekwencją choroby, a kontrowersyjne i różniące się wyniki mogą wynikać ze zmienności wartości referencyjnych w różnych badaniach, z sezonowych wahań poziomu witaminy D we krwi, pochodzenia etnicznego czy ograniczeń w badaniach (102). Biorąc jednakże pod uwagę potencjalny wpływ witaminy D nie tylko na funkcję tarczycy, ale całego organizmu, niski koszt i minimalne ryzyko efektów ubocznych suplementowania witaminy D, uwzględnione badania przesiewowe pod kątem niedoborów witaminy D oraz ostrożna suplementacja powiązana z kontrolą stężeń, zarówno witaminy D, jak i wapnia, mogłaby być rekomendowana u pacjentów z AZT typu Hashimoto (65). Niedobór witaminy D jest powszechny na całym świecie, zatem zalecana byłaby suplementacja do wartości referencyjnych pozwalająca na uniknięcie jawnego niedoboru (61).

2.6 INNE WITAMINY I SKŁADNIKI ODŻYWCZE

Cynk bierze udział w produkcji hormonów tarczycy, a jego niedobór prowadzi do ich zaburzeń i wzrostu miana przeciwciał przeciwko antygenom tarczycy. Wystąpienie niedoboru cynku może zmniejszyć aktywność tarczycy i spoczynkowe tempo przemiany materii. Suplementacja przywraca normalną funkcję tarczycy spowodowaną niedoborem tego pierwiastka (32,34,44,89). Korelacja tego mikroelementu z chorobą Hashimoto wynika z jego właściwości przeciwzapalnych i przeciwutleniających. Cynk reguluje funkcje wyższych poziomów osi HPT, syntezę hormonów tarczycy i metabolizm pozatarczycowy poprzez wzrost aktywności DIO2. Jest składnikiem receptorów jądrowych specyficznych dla aktywacji T3. Niedobór cynku jest jedną z subklinicznych przyczyn niedoczynności tarczycy. Ponadto taki stan upośledza wydzielanie TRH i TSH, przemianę T4 w T3 i wiązanie T3 z receptorem jądrowym. Poziom cynku w osoczu u pacjentów dotkniętych chorobą Hashimoto jest zwykle mniejszy w porównaniu do osób zdrowych (35,106). Bierze udział w tworzeniu tzw. “palców cynkowych” oddziałujących z trójjodotyroniną (107). Charakterystyczną cechą niedoboru cynku w niedoczynności tarczycy może być wypadanie włosów, które będzie hamowane poprzez poprawę odżywiania i dostarczenie odpowiedniej jego ilości (108).

Magnez jest czwartym najbardziej rozpowszechnionym niezbędnym minerałem w ludzkim organizmie po sodzie, potasie i wapniu, którego niedobory na świecie występują bardzo często. Jest kofaktorem ponad 300 enzymów regulujących różne procesy biochemiczne, takie jak synteza DNA/RNA, synteza białek, fosforylacja oksydacyjna, i glikoliza (109). W wyniku jego szerokiego udziału w metabolizmie człowieka, w tym udziału w funkcjach kilkuset białek enzymatycznych, niedobór magnezu jest skorelowany z większym ryzykiem wielu chorób i ich progresją. Magnez ma działanie przeciwzapalne, w tym obniża poziom reaktywnego białka C oraz poziom przeciwciał przeciwko tyreoglobulinie. Silny niedobór magnezu zwiększa ryzyko wystąpienia choroby Hashimoto, a u pacjentów może zaostrzać objawy choroby w wyniku zaburzeń układu odpornościowego (110).

Witamina A jest niezastąpiona w regulacji: procesu widzenia, podziału i różnicowania komórek, rozwoju, wzrostu, rozmnażania i prawidłowego funkcjonowania układu odpornościowego. Odgrywa ważną rolę w dojrzewaniu i różnicowaniu komórek układu odpornościowego, np. limfocytów, monocytów i neutrofilów. Co więcej wpływa na subpopulację limfocytów T i makrofagową aktywność fagocytarną. Niedobór witaminy A upośledza funkcje układu odpornościowego, zmniejszając fagocytozę makrofagów i zaburzając prawidłowe proporcje Th1 do Th2 na korzyść Th1 (35,111). Znaczenie witaminy A w chorobie Hashimoto ma również swoje źródło w jej działaniu przeciwzapalnym i przeciwutleniającym. Jest to istotne ze względu na fakt, że w tarczycy dochodzi do silnego stresu oksydacyjnego a zarówno

tyreocyty, jak i komórki immunokompetentne są wrażliwe na to zjawisko. Z tego względu prawidłowa podaż witaminy A może opóźniać proces autodestrukcji w komórkach tarczycy i wywierać korzystny wpływ na syntezę hormonów tarczycy (35,44). Wydaje się, że metabolizm witaminy A jest dość ściśle powiązany z czynnością osi podwzgórze-przysadka-tarczyca. Niedobór witaminy A może być związany ze zmniejszonym wychwytem jodu przez tarczycę, ograniczoną syntezą i wydzielaniem hormonów, a także z wolem. Jej niedobór zmniejsza również szybkość wątrobowej konwersji tyroksyny do trójiodotyroniny. Normalnie wydzielanie TSH jest regulowane przez receptor aktywowany hormonem tarczycy i receptor retinoidu X. Ten ostatni po związaniu liganda (witaminy A) wiąże się ze swoim regionem promotorowym DNA kodującym podjednostkę beta TSH, ograniczając jej ekspresję. Niedobór witaminy A może być więc związany ze zwiększonym wydzielaniem TSH, jednakże konieczne jest w tym zakresie przeprowadzenie większej ilości badań na ludziach (35,112). Bardzo ważną kwestią dotyczącą witaminy A i metabolizmu tarczycy jest możliwe współistnienie niedoborów jodu i witaminy A, szczególnie w krajach rozwijających się, gdzie częstość wystąpienia niedoborów tych składników odżywczych (113).

Witamina C poprawia nieprawidłowości w stężeniach wolnej T4, T3 i TSH w surowicy (114). Wpływa również korzystnie na wchłanianie lewotyroksyny oraz zwiększa absorpcję selenu (75,114). Niedobór w diecie witamin antyoksydacyjnych, do jakich zaliczają się witamina A, E i C wpływa niekorzystnie, nasilając stres oksydacyjny, co wiąże się z przyspieszonym niszczeniem komórek tarczycy i wyższym ryzykiem autoimmunologicznego zapalenia tarczycy typu Hashimoto (44,89).

Flawonoidy, zarówno syntetyczne, jak i naturalne, mogą wpływać na metabolizm hormonów tarczycy w sposób tak korzystny, jak i niekorzystny. Pozytywne działanie flawonoidów na funkcjonowanie tarczycy wiąże się z ich potencjałem antyoksydacyjnym i przeciwzapalnym, zaś negatywne z blokowaniem wychwytu jodu, hamowaniem syntezy i przemian HT oraz wpływem na aktywność symportera sodowo-jodowego, TPO i dejodynazy typu 1 oraz typu 2. Flawonoidy konkurują z tyrozyną i wiążą jod, uniemożliwiając jego wbudowanie w tyreoglobulinę, jak również wypierają tyroksynę z miejsc wiązania transtyretyn, zwiększając stężenie fT4 we krwi. Wpływają na oś HPT, zwiększając wydzielanie TSH, zmniejszając stężenie T4 w surowicy i hamując zarówno konwersję T4 do T3, jak i klirens metaboliczny rT3 przez selen. Izoflawony stanowią alternatywne substraty dla TPO. Zatem spożycie tych flawonoidów może prowadzić do obniżenia poziomu hormonów tarczycy w surowicy, a w konsekwencji do wzrostu poziomów TSH w wyniku mechanizmu negatywnego sprzężenia zwrotnego. Co więcej, duża podaż flawonoidów w diecie może sprzyjać nadmiernemu usuwaniu H₂O₂, które jest niezbędnym kofaktorem dla aktywności TPO. Najsilniejszy wpływ na funkcjonowanie tarczycy wywierają izoflawonoidy i tioglikozydy. (42,44,70,115). Jeżeli jednak podaż jodu w diecie jest na prawidłowym poziomie, zalecane

jest spożycie produktów bogatych w flawonoidy 3-4 x w tygodniu ze względu na działanie antyoksydacyjne i bogactwo innych składników odżywczych (44).

Wpływ poszczególnych składników odżywczych na funkcjonowanie tarczycy został przedstawiony w tabeli 2.

Tabela 2. Znaczenie składników pożywienia w chorobie Hashimoto i skutki ich niedoboru/nadmiaru (44).

Składnik odżywczy	Znaczenie w AZT	Skutki niedoboru	Skutki nadmiaru
Białko	★ Źródło aminokwasów do syntezy hormonów tarczycy ★ Zwiększenie podstawowej przemiany materii ★ Hamowanie wypadania włosów	★ Zahamowanie wydzielania TRH i TSH ★ Zaburzenie syntezy i wydzielania T3 i T4 ★ Zaburzenie mechanizmu ujemnego sprzężenia zwrotnego w obrębie osi HPT ★ Zwiększenie wiązania hormonów tarczycy z białkami transportującymi we krwi	
WNKT n-3	★ Zwiększenie aktywności NIS i TPO w tarczycy ★ Zwiększanie aktywności DIO1 w wątrobie ★ Zwiększanie ekspresji receptora dla T3 ★ Łagodzenie skórnych dolegliwości niedoczynności tarczycy	★ Zmniejszenie aktywności osi HPT ★ Zmniejszenie syntezy i wydzielania hormonów tarczycy ★ Zaburzenie przemian i działania na poziomie komórkowym hormonów tarczycy	
Jod	★ Substrat do syntezy hormonów tarczycy	★ Zmniejszenie syntezy hormonów tarczycy ★ Zwiększenie wydzielania TSH ★ Zmiany morfologiczne w tarczycy ★ Niedoczynność tarczycy	★ Zmniejszenie wychwytu jodu przez tarczycę ★ Zmniejszenie transportu aminokwasów do tyreocytów ★ Zmniejszenie syntezy TPO i TG ★ Spadek jodowania TG

			★ Zmniejszenie syntezy i wydzielania T4 i T3 ★ Zwiększenie wytwarzania RFT ★ Nasilenie procesu zapalnego w tarczycy ★ Zwiększenie produkcji anty-TPO i anty-TG ★ Hamowanie autofagii i nasilenie apoptozy tyreocytów ★ Nasilenie destrukcji tyreocytów
Selen	★ Składnik centrum aktywnego dejodynaz ★ Składnik enzymów antyoksydacyjnych (GPx i TrxR1) w tarczycy ★ Składnik selenopeptydów (SELENOs) zaangażowanych w odpowiedź przeciwzapalną	★ Zmiany aktywności DIO i zmniejszenie konwersji T4 do T3 ★ Zmniejszone usuwanie nadmiaru toksycznego nadtlenu wodoru z komórek tarczycy ★ Nasilenie procesu zapalnego w tarczycy ★ Nasilenie produkcji przeciwciał przeciw tarczycowym ★ Nasilenie destrukcji tyreocytów ★ Nasilenie stresu oksydacyjnego w tarczycy	★ Działanie cytotoksyczne ★ Zaburzenie syntezy hormonów tarczycy
Żelazo	★ Składnik grupy hemowej stanowiącej centrum aktywne TPO ★ Zwiększanie aktywności DIO1 w wątrobie	★ Zmniejszenie aktywności TPO ★ Zmniejszenie syntezy T4 i T3 ★ Zwiększenie wydzielania TSH ★ Zmniejszenie konwersji T4 do T3	
Cynk	★ Składnik receptorów jądrowych dla T3	★ Zmniejszenie aktywności tarczycy ★ Zaburzenie wydzielania TRH przez	

	★ Zwiększanie aktywności DIO1 w wątrobie ★ Regulacja podstawowej przemiany materii ★ Działanie antyoksydacyjne ★ Działanie przeciwzapalne	- podwzgórze i TSH przez przysadkę ★ Zaburzenie wiązania T3 z receptorem ★ Zmniejszenie konwersji T4 do T3 ★ Zmniejszenie podstawowej przemiany materii ★ Zwiększenie wytwarzania przeciwciał przeciwgruczołowych	
Witamina D	★ Zmniejszenie nadmiernej reakcji immunologicznej na własne antygeny – ochrona przed autoagresją ★ Działanie przeciwzapalne	★ Zwiększenie poziomu RFT w komórkach tarczycy i nasilenie stresu oksydacyjnego ★ Zwiększenie aktywności czynników prozapalnych i nasilenie procesu zapalnego w tarczycy	★ Działanie prooksydacyjne ★ Działanie prozapalne
Witamina A i E	★ Działanie antyoksydacyjne i przeciwzapalne ★ Zwiększenie wchłaniania selenu	★ Nasilenie apoptozy i destrukcji tyreocytów ★ Wzrost ryzyka rozwoju choroby Hashimoto	
Witamina C	★ Działanie antyoksydacyjne i przeciwzapalne ★ Zwiększenie wchłaniania selenu ★ Zwiększenie wchłaniania lewotyroksyny		
Witamina A	★ Regulacja syntezy hormonów tarczycy ★ Regulacja aktywności dejodynaz ★ Regulacja wydzielania TSH	★ Hamowanie wychwytu jodu przez tarczycę ★ Hamowanie syntezy TG i hormonów tarczycy ★ Spadek konwersji T4 do T3 ★ Spadek wychwytu T3 ★ Spadek wiązania T3 z receptorem	

Flawonoidy	★ Działanie antyoksydacyjne i przeciwzapalne ★ Działanie antytarczycowe	★ Zwiększenie poziomu reaktywnych form tlenu w komórkach tarczycy i nasilenie stresu oksydacyjnego ★ Zwiększenie aktywności czynników prozapalnych i nasilenie procesu zapalnego w tarczycy	★ Zmniejszenie aktywności TPO, NIS, DIO1 ★ Nadmierne obniżenie poziomu nadtlenu wodoru w tyreocycie ★ Zaburzenie syntezy i aktywacji hormonów tarczycy ★ Współzawodnictwo z hormonami tarczycy o wiązanie z białkami transportowymi we krwi
------------	--	--	--

HPT – oś podwzgórze-przysadka-tarczyca, TRH – tyreoliberyna, TSH – tyreotropina, TPO – tyreoperoksydaza, TG – tyreoglobulina, T4 – tyroksyna, NIS – symporter sodowo-jodowy, DIO1 – dejodynaza typu 1, anti-TPO – przeciwciała przeciwko tyreoperoksydazie, anti-TG – przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie, GPx – peroksydazy glutationowe, TrxR1 – izoforma 1 reduktazy tioredoksynowej, RFT – reaktywne formy tlenu

2.7 GOITROGENY

Substancje goitrogenne mają negatywny wpływ na funkcje tarczycy. Goitrogeny to substancje antyodżywcze, które występują w różnego rodzaju produktach spożywczych. Glukozynolany, prekursory izotiocyjanianów, zróżnicowana klasa ponad 120 związków, to goitrogeny występujące w diecie, zawarte głównie w roślinach kapustowatych, ale także w innych produktach roślinnych (116,117). Związki te zakłócają metabolizm jodu i hamują syntezę hormonów tarczycy, ponieważ zachodzi interakcja między glukozynolanami a enzymem myrozynazą, który katalizuje tworzenie tiocyjanianu, izotiocyjanianu i nitrylu. Tiocyjanian i izotiocyjanian konkurują z jodem, aby dostać się do pęcherzyków tarczycy, co może osłabić syntezę hormonów tarczycy i wywołać wystąpienie wola i niedoczynności tarczycy. Szczególnie wrażliwi na nie są pacjenci z niedoborem jodu. Zarówno pobieranie jodu, jak i jego magazynowanie przez tarczycę mogą być zakłócane przez tiocyjaniany, izotiocyjaniany, azotyny, związki tiooksazolidonowe i cyjanogenne występujące głównie w roślinach krzyżowych. Aktywność goitrogenną przejawiają glikozydy cyjanogenne zawarte w ziemniakach i kukurydzy oraz dwusiarczki n-propylu obecne w cebuli i czosnku, które hamują wychwyt jodu i wpływają na metabolizm tyreoglobuliny. Jednakże produkty wykazujące właściwości goitrogenne zmniejszają swoją aktywność nawet o 30% podczas gotowania. Substancji tych nie należy spożywać z produktami o wysokiej zawartości jodu, ponieważ zmniejszają jego biodostępność. Nie ma jednak potrzeby całkowitego eliminowania tych produktów z codziennej diety, ponieważ zawierają one inne niezbędne mikroelementy i witaminy (34,70,118). Wykazano, że odmiany jarmużu (*Brassica oleracea acephala* i *B. napus*) i brukselki (*B. oleracea gemmifera*) zawierają największe ilości glukozynolanów indolu i progoitryny, odpowiednio 840 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ i 400,33 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$, ale wartości te są zmienne (119). Oprócz glukozynolanów resweratrol, izoflawony i flawonoidy mogą również mieć działanie goitrogenne, chociaż większość badań opiera się na modelach zwierzęcych *in vitro* lub *in vivo* (116,120–122). Większość badań na ludziach sprawdzających wpływ żywności goitrogennej na fizjologię tarczycy wykazuje neutralne skutki goitrogenów, chociaż nadal pojawiają się sprzeczne wyniki. Dowody wydają się sugerować, że suboptymalny poziom jodu może nasilać negatywny wpływ goitrogenów w diecie na zdrowie tarczycy. W rzeczywistości spożywanie tych produktów w ramach zróżnicowanej, kolorowej diety opartej na roślinach nie powinno stanowić znaczącego ryzyka dla zdrowych osób i, z drugiej strony, może być bardzo korzystne, jeśli zachowana zostanie odpowiednia podaż jodu w diecie, aby przeciwdziałać zmniejszonemu wchłanianiu tego pierwiastka (116).

2.8 MIKROBIOTA

Do utrzymania homeostazy jelit wymagana jest złożona interakcja między układem odpornościowym gospodarza a mikrobiotą komensalną. W tej symbiotycznej relacji mikrobiota zapewnia fermentację i trawienie węglowodanów, syntezę witamin (witaminy K, kwasu foliowego, witamin B2, B3, B5, B6, B7 i B12) i rozwój tkanki limfoidalnej związanej z jelitami (ang. *gut-associated lymphatic tissue*, GALT), bierze udział w trawieniu błonnika pokarmowego, a także zapobiega kolonizacji przez patobionty, podczas gdy gospodarz zapewnia niszę i składniki odżywcze umożliwiające przetrwanie mikrobioty. Jednakże, gdy ten wzajemny związek jest zagrożony i zachodzi zmieniona interakcja między komórkami odpornościowymi a mikroorganizmami, mikroflora jelitowa może powodować lub przyczyniać się do powstawania chorób zakaźnych i wyzwalania chorób autoimmunologicznych (123–125).

Same wahania poziomu hormonów tarczycy mogą wpływać na skład mikrobioty jelitowej i jej ilość, a pacjenci z zapaleniem tarczycy typu Hashimoto mają większe ryzyko rozwoju bakteryjnego przerostu jelit. Działa to w obie strony, ponieważ zaburzenia mikrobiologiczne prowadzą również do zmian w metabolizmie, gdyż uczestniczą w krążeniu i dekonjugacji hormonów tarczycy (32). Mikrobiota jelitowa w dużym stopniu reguluje homeostazę oraz rozwój komórek odpornościowych. Moduluje zarówno wrodzony, jak i adaptacyjny układ odpornościowy, nawet poza jelitami, i ma fundamentalne znaczenie w rozwoju tkanki limfatycznej związanej z jelitami, w której znajduje się ponad 70% całego układu odpornościowego (125,126). Istnieje dodatnia korelacja między stężeniem maślanów kwasów tłuszczowych o krótkich łańcuchach (ang. *short-chain fatty acids*, SCFA), produkowanych przez mikrobiotę jelitową, a liczbą Treg, które są kluczowymi mediatorami tolerancji immunologicznej, podobnie jak w przypadku niższych stężeń prozapalnych komórek Th-17 (127). SCFA są zdolne do wzmacniania ścisłych połączeń międzykomórkowych wraz z hormonami tarczycy. Dzięki mimikrze molekularnej *Lactobacillus spp.* i *Bifidobacterium spp.* może indukować reakcje krzyżowe przeciwciał z tyroperoksydazą i tyreoglobuliną (128). Aktywność dejodynazy została również stwierdzona w ścianie jelita i może przyczynić się do wzrostu wartości całkowitego poziomu T3 w organizmie. Badanie przeprowadzone na szczurach wykazało wiązanie hormonów tarczycy przez bakterie jelitowe, a nawet konkurowanie z albuminą. Mikrobiota wpływa również na wydzielanie dopaminy, która może hamować TSH (125,129,130). Drobnoustroje, np. *Escherichia coli*, mogą służyć jako rezerwuar dla T3 dzięki silnemu wiązaniu z białkiem wiążącym tarczycę bakteryjną i są w stanie zapobiegać fluktuacjom hormonu tarczycy, a tym samym prawdopodobnie zmniejszyć potrzebę suplementacji T4 (125,131). Wydaje się, że probiotyki są w stanie gromadzić pierwiastki śladowe, takie jak selen, cynk i miedź, i włączać je do związków organicznych. Biorąc pod uwagę, że selen, cynk i probiotyki działają różnymi mechanizmami i wszystkie z nich są korzystne dla tarczycy, włączenie ich wszystkich może działać

synergistycznie, zwłaszcza w stanach niedoboru. Należy jednak wziąć pod uwagę, że dotychczasowe badania prowadzone były jedynie na zwierzętach (132).

Mikrobiota wpływa na wchłanianie minerałów istotnych dla pracy tarczycy, w tym jodu, selenu, cynku i żelaza. Poza tym wydaje się, że istnieje ujemna korelacja między *Lactobacillaceae* i *Bifidobacterium spp.* a stężeniem żelaza w diecie i dodatnia korelacja z poziomem selenu i cynku. Ilość tych bakterii spada w zapaleniu tarczycy Hashimoto, zatem sugeruje się, że skład mikrobioty jelitowej i regulacja składników mineralnych mogą mieć wpływ na te choroby. Udowodniono, że jod - przynajmniej stosowany podczas procedur medycznych w dużych dawkach - wpływa na mikroflorę jelitową. Podanie środków kontrastowych zawierających jod może mieć szkodliwy wpływ na mikrobiotę poprzez wiązanie ich z aminokwasami tyrozyny i histydyny na błonie bakteryjnej, a także przez utlenianie składników cytoplazmatycznych i błonowych. Żelazo jest niezbędne do wzrostu bakterii, a jego dostępność wpływa na skład mikrobioty, ponieważ niektóre bakterie rozwinęły lepsze mechanizmy wychwytywania hemu. Z drugiej strony mikrobiota jest w stanie zwiększyć biodostępność żelaza w okrężnicy poprzez obniżenie pH produkując krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe. Bakterie posiadają siderofory, takie jak enterobaktyna, które są białkami o wysokim powinowactwie do żelaza i pozyskują Fe^{3+} , szczególnie w środowiskach ubogich w żelazo. Rola cynku w modulowaniu składu mikrobioty została wykazana tylko w przypadku kurcząt, gdzie zauważono zmienioną równowagę między Proteobacteria i Firmicutes w niedoborze Zn, a także zmniejszenie różnorodności drobnoustrojów (128). Selen wpływa na skład i kolonizację mikroflory jelitowej. Kasaikina i wsp. odkryli, że selen zwiększa różnorodność mikrobioty u myszy, zaobserwowane zostały zróżnicowane efekty Se w wielu filotypach należących do gromady *Bacteroidetes*. Zróżnicowana wrażliwość różnych drobnoustrojów na Se z pożywienia jest prawdopodobnie spowodowana różnicami w ich zdolności do pobierania, przechowywania, wykorzystywania i usuwania Se z komórki. Mikrobiota jelitowa w szczególności jest w stanie sekwestrować selen w celu ekspresji własnych selenoprotein i ograniczać jego dostępność dla żywiciela. Z tych danych wynika, że selen wpływa zarówno na skład mikroflory jelitowej, jak i kolonizację przewodu pokarmowego, co z kolei wpływa na poziom selenu u gospodarza i ekspresję selenoproteomu (133).

Pomimo trudności w badaniu indywidualnego wpływu makroskładników odżywczych, istnieją dowody na to, że spożycie tłuszczu i białka w diecie wywołuje zarówno zmiany w składzie, jak i czynności w mikrobiomie jelitowym. Wydaje się, że podział osób na enterotypy jest spowodowany tym, czy ich podstawowe wzorce żywieniowe obejmują wysokie spożycie węglowodanów złożonych (*Prevotella*), czy też wysokie spożycie tłuszczu/białka (*Bacteroides*) (134). W celu poprawy jakości mikrobioty pacjenci powinni spożywać odpowiednią ilość warzyw i owoców. Należy również zwrócić uwagę na rodzaj

spożywanego tłuszczu. Nadmierne spożycie nasyconych kwasów tłuszczowych może prowadzić do zmian w mikrobiocie w kierunku sprzyjającym zespołowi nieszczelnego jelita i wzorcom molekularnym związanym z patogenami. Natomiast spożycie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych sprzyja poprawie jakości mikrobioty i jej funkcji metabolicznych. Szczególnie kwasy omega-3 wykazują działanie immunomodulujące i przeciwzapalne (134,135). Korzystne jest również zwiększenie spożycia pokarmów bogatych w wtórne metabolity roślinne, w tym związki fenolowe. Modulują one skład mikrobioty jelitowej lub wspomagają równowagę w stanie dysbiozy (134). Związki te można znaleźć na przykład w kakao (136), miodzie (137), owocach i warzywach. Istotne jest spożycie minimum 25 g/dzień błonnika pokarmowego. Niedożywione bakterie jelitowe przyczyniają się do zmian w funkcjonowaniu układu odpornościowego, w tym do pobudzenia procesów autoimmunologicznych i zmniejszenia ekspresji białek związanych z przepuszczalnością jelit (32). Błonnik pokarmowy jako połączona grupa chemiczna reprezentuje jedną z najbardziej różnorodnych klas chemicznych, dzięki czemu ma ogromny potencjał w zakresie modulacji mikroflory jelitowej w oparciu o właściwości chemiczne i dostępność określonych błonników pokarmowych dla odpowiednich grup drobnoustrojów (134).

3. NIETOLERANCJE POKARMOWE

Białka w diecie mają taką samą homologię sekwencji aminokwasów i mogą odgrywać rolę w reaktywności krzyżowej z docelowymi miejscami tarczycy. Zidentyfikowano reaktywność immunologiczną między przeciwciałami wytwarzanymi przeciwko różnym antygenom docelowym tarczycy i białkami pokarmowym a miejscami docelowymi w różnych lokalizacjach osi tarczycy. To odkrycie sugeruje, że niektóre białka dietetyczne mogą odgrywać rolę w autoimmunologicznej chorobie tarczycy (138). Należy mieć na uwadze możliwy pozytywny efekt eliminacji potencjalnie szkodliwych produktów u pacjentów z zapaleniem tarczycy Hashimoto. Pacjenci z alergią na lateks związaną z zespołem lateksowo-owocowym powinni zwrócić uwagę na produkty potencjalnie szkodliwe jak np. banany, kiwi, awokado, brzoskwinie, ziemniaki i pomidory, jadalne kasztany i rzadziej wywołujące reakcje krzyżowe: melon, mango, ananas (139) ze względu na możliwość wystąpienia reaktywności krzyżowej z tyreoglobuliną. Badanie ponad 200 różnych produktów spożywczych przeprowadzone przez Kharraziana i wsp. wykazały reakcje krzyżowe kilkudziesięciu z nich z hormonami tarczycy. Chociaż bezpośrednie reakcje pokarmowe nie występowały w przypadku receptora TSH (TSH-r) i TPO, najczęściej związanych z chorobą Gravesa-Basedowa i Hashimoto, stwierdzono znaczną reaktywność krzyżową między hormonami T4 i T3. Nie zidentyfikowano również reakcji immunologicznych na TBG, co sugeruje, że reaktywność immunologiczna pożywienia nie wydaje się odgrywać roli w zaburzeniu transportu hormonów tarczycy ani na proporcje HT związanych z białkami, a zatem żywność nie powinna wpływać na stosunek niezwiązanych hormonów tarczycy lub biomarkerów, takich jak wychwyty T3. Gryka była jedynym produktem, który reagował krzyżowo z DIO2, co może sugerować, że gryka wpływa na przemianę hormonów tarczycy. Większość reakcji krzyżowych wystąpiła z T4 i T3, a wiele pokarmów reaktywnych krzyżowo nakładało się z obydwojema hormonami. Zidentyfikowano pewne typowe wzorce tych reakcji, w tym reakcje krzyżowe na wiele produktów spożywczych zawierających gluten i ziaren oraz żywności, która zawiera sekwencje strukturalne jodu podobne do hormonów tarczycy, takie jak wodorosty, białe ziemniaki, orzechy (migdały, nerkowce, orzechy laskowe i orzeszki ziemne), owoce morza i inne. Wystąpiło również nakładanie się pokarmów T4 i T3 niezwiązanych z jodem, takich jak gotowana brukselka, cytryna i limonka, rzodkiewka, tofu, bezglutenowy sos sojowy i gotowana cukinia. Niektóre z tych białek pokarmowych zostały sklasyfikowane jako goitrogeny; jednakże ich wpływ na czynność tarczycy może wynikać z immunologicznej reaktywności krzyżowej zamiast interferencji z wychwytem jodu, jak opisano w modelu goitrogennym (138).

Wątpliwe jest jednak, aby spożywanie samych potencjalnie reaktywnych białek pokarmowych wywoływało reakcję zapalną wpływającą na funkcjonowanie osi tarczycowej. Spożycie białek w diecie w połączeniu z innymi czynnikami, takimi jak enzymy trawienne, jest niezbędne do wywołania reakcji

immunologicznych. Białka w diecie nie mogą mieć wpływu na modele antygen-przeciwciała, jeśli są odpowiednio trawione, chyba że osoba jest immunologicznie reaktywna na te pokarmy i tym samym produkuje przeciwciała na te specyficzne białka dietetyczne z powodu braku tolerancji doustnej (138,140). Same reakcje antygen-przeciwciała nie są odpowiedzialne jako jedyne za reakcje patogenne. Odporność komórkowa, tolerancja immunologiczna, HLA i inne czynniki są zaangażowane w nieprawidłowe reakcje immunologiczne na białka pokarmowe. Jednakże zdolność specyficznych przeciwciał monoklonalnych i poliklonalnych do wiązania się z oczyszczonymi białkami sugeruje potencjał immunologicznej reaktywności krzyżowej w podgrupie osób podatnych (138). W przypadku nieskutecznej terapii dietetycznej warto wziąć to pod uwagę.

3.1 GLUTEN

Z chemicznego punktu widzenia gluten zdefiniowano jako białkową masę, która pozostaje po wymyciu ciasta pszennego wodą i składa się głównie z frakcji prolaminy i gluteliny z białek magazynowych pszenicy. Określenia gliadyna i glutenina określają frakcje prolaminy i gluteliny w pszenicy, natomiast sekalina, hordeina i awenina opisują frakcję prolaminiową odpowiednio żyta, jęczmienia i owsa. Podobnie frakcje gluteliny żyta i jęczmienia są powszechnie określane jako sekalina i hordenina, jednak podobna terminologia nie dotyczy glutelin owsianych (141,142). Gluten jest obecnie uważany za powszechne określenie dla frakcji prolaminy i gluteliny pszenicy, żyta, jęczmienia i, w niektórych przypadkach, owsa (143).

Gluten jest szczególnie interesującym czynnikiem ze względu na jego związek z chorobami autoimmunologicznymi, w tym Hashimoto. Przyczyn tego upatruje się w występujących reakcjach krzyżowych między gliadyną a antygenami tarczycy, ze względu na jej budowę zbliżoną do tkanki tarczycowej (32,37). Gluten jest składnikiem najczęściej eliminowanym z diety pacjentów z limfocytarnym zapaleniem tarczycy ze względu na częste współistnienie innych chorób autoimmunologicznych, wiążących się ze spożyciem glutenu, w tym celiakii (ang. *coeliac disease*, CD) i nieceliakalnej nietolerancji glutenu (ang. *non-coeliac gluten sensitivity*, NCGS). CD u pacjentów z zapaleniem tarczycy Hashimoto występuje od kilku do 10 razy częściej niż w populacji zdrowej (144,145). Z tego względu chorzy z zapaleniem tarczycy bez objawów, ale z problemami z uzyskaniem odpowiedniego stanu odżywienia i regulacji hormonów tarczycy, powinni być profilaktycznie przebadani w kierunku celiakii. Wynika to z mimikry molekularnej prowadzącej do krzyżowej reaktywności układu odpornościowego, w której przeciwciała skierowane przeciwko antygenom pokarmowym mają strukturalne podobieństwo do tkanek organizmu. Zatem określone produkty spożywcze, aktywując układ

odpornościowy, mogą prowadzić do zaostrzenia choroby lub jej zapoczątkowania, ponieważ u osób z dodatnimi przeciwciałami na antygeny pokarmowe ponad dwukrotnie częściej obserwuje się dodatni wynik przeciwciał skierowanych przeciwko tkankom własnego organizmu (146).

W niewielu badaniach oceniano, czy dieta bezglutenowa może przyczynić się do złagodzenia patologii związanych z tarczycą u pacjentów ze współistniejącą celiakią. Jest tylko jedno badanie pilotażowe, w którym zastosowano taką dietę bez współistniejącej objawowej CD (możliwe jest jednak, że grupa badana miała subkliniczną celiakię). Badanie to przeprowadzono na 34 kobietach w stanie eutyreozy, u części których wdrożono dietę bezglutenową na 6 miesięcy. Zaobserwowano spadek poziomu anty-TPO i anty-TG, zmiany w poziomie FT3 i FT4 oraz wzrost 25-hydroksyvitaminy D (147). Część badań oceniających czynność tarczycy u pacjentów z celiakią wykazuje, że dieta bezglutenowa może odwrócić nieprawidłowości tarczycy (148–150), ale równie wiele wskazuje na dokładnie przeciwny wniosek (151–153).

Jak dotąd nie ma zaleceń dotyczących eliminacji glutenu w dietoterapii Hashimoto. Komisja Ekspertów Sekcji Dietetyki Lekarskiej Polskiego Towarzystwa Żywienia Pozajelitowego, Dojelitowego i Metabolizmu (POLSPEN) wskazuje, że przestrzeganie diety bezglutenowej przez pacjentów z zapaleniem tarczycy Hashimoto jest uzasadnione tylko w przypadku współistnienia z celiakią. Nie należy zachęcać do diety bezglutenowej w chorobie Hashimoto bez współwystępującej CD lub innej formy nietolerancji glutenu, gdyż długotrwałe stosowanie niewłaściwie zbilansowanej diety bezglutenowej może być potencjalnie szkodliwe ze względu na wiele niekorzystnych skutków zdrowotnych, w tym zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe, niedobory żywieniowe czy zaburzenia mikrobioty jelitowej (154).

3.2 LAKTOZA

Dieta ukierunkowana na leczenie choroby Hashimoto może wymagać wyeliminowania produktów mlecznych zawierających laktozę. Nietolerancję laktozy rozpoznaje się nawet u 75,9% chorych na zapalenie tarczycy typu Hashimoto. U osób chorych gromadzenie się laktozy prowadzi do przerostu bakterii, tworzenia się gazów i zmiany środowiska jelitowego, co może powodować uszkodzenie kosmków jelitowych (155). Obecność niestrawionej laktozy zwiększa ilość płynu w świetle jelita, a ta zmiana osmotyczna przyspiesza czas pasażu jelitowego i zmniejsza wiązanie między laktozą a resztkowym enzymem (156,157). Według aktualnej wiedzy, wchłanianie doustnej T4 pod wpływem nietolerancji laktozy może ulec zmianie na co najmniej trzy sposoby. Może być absorbowana i uwięziona

przez zmodyfikowaną treść jelitową, podobnie jak to opisano w przypadku kilku leków (158) i CD (159). Szybszy pasaż jelitowy może skrócić czas ekspozycji na interakcję T4 z błoną śluzową jelit, zmniejszając tym samym biodostępność T4, jak również zmiana w mikrobiocie pacjentów z nietolerancją laktozy może zaburzać architekturę kosmków jelitowych, niezbędną do prawidłowego wchłaniania leków i składników odżywczych (156,157,160). Z tych względów nietolerancja laktozy może zaburzać wchłanianie jelitowe i zakłócać krążenie jelitowo-wątrobowe lewotyroksyny, zmniejszając biodostępność leku i wymuszając stosowanie większych dawek. W takim przypadku stosowanie diety bezlaktozowej sprzyja obniżaniu TSH oraz może wpływać na poziom fT4 (155,161).

3.3 FRUKTOZA

Nietolerancja fruktozy jest wrodzonym błędem metabolizmu węglowodanów z szerokim spektrum objawów, od subtelnych objawów po śmiertelne powikłania. Chorobę tę tłumaczy się niedoborem aldolazy fosforanowej fruktozy 1, enzymu, który bierze udział w metabolizmie fruktozy, bezpośrednio po fruktokinazie (162).

Metabolizm węglowodanów i ich asymilacja ulegają zmianie w zaburzeniach czynności tarczycy: podwyższony poziom glukozy we krwi, zmieniony komórkowy wychwyt glukozy za pośrednictwem transporterów glukozy (GLUT) i insulinooporność są przykładowymi zmianami metabolicznymi podczas niedoczynności, jak również nadczynności tarczycy (163). Na ekspresję transportera fruktozy GLUT5 może wpływać poziom hormonów tarczycy, co wykazano w doświadczeniach z komórkami ludzkimi gruczolaka okrężnicy linii Caco-2 (ang. *colon carcinoma cell line II*) (164,165) oraz w doświadczeniach na szczurach (166). Niedoczynność tarczycy jest związana z rozwojem zespołu przerostu bakteryjnego jelita cienkiego (ang. *small intestinal bacterial overgrowth*, SIBO). Hormony tarczycy mogą wpływać na motorykę jelit, modulując funkcję komórek nerwowych i mięśni gładkich, a niedoczynność tarczycy może wiązać się ze zmniejszeniem częstości rytmicznej czynności okrężnicy i wolniejszym czasem pasażu ustno-jelitowego. Nadmiar bakterii związanych z SIBO może również zakłócać wchłanianie wielu substancji, takich jak węglowodany, w tym fruktoza, białka i lipidy (167,168). U pacjentów z zapaleniem tarczycy typu Hashimoto zaobserwowano również często występujące zaburzenia metabolizmu węglowodanów. Ekspresja transportera fruktozy GLUT5 jest zmniejszona w obecności cytokin zapalnych i uogólnionym stanie zapalnym organizmu. Stąd zaburzenia we wchłanianiu fruktozy u pacjentów z AZT typu Hashimoto mogą być konsekwencją procesów zapalnych leżących u podstaw tej choroby autoimmunologicznej (168).

II. Założenia i cel pracy

Celem prowadzonych badań jest ustalenie współwystępowania predyspozycji genetycznych do nietolerancji pokarmowych wśród pacjentów z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto w porównaniu do populacji ogólnej. Istnieje stwierdzony związek niektórych chorób autoimmunologicznych z występowaniem nietolerancji pokarmowych. Ocena współwystępowania nietolerancji pokarmowych uwarunkowanych genetycznie wśród pacjentów z chorobą Hashimoto pozwoli na ustalenie nowych i/lub uzupełnienie dotychczasowych standardów leczenia dietetycznego. Wczesne uwzględnienie potencjalnych nietolerancji pozwoli na eliminację pokarmów powodujących dolegliwości, co może przyczynić się do ustąpienia niektórych objawów klinicznych. Jednocześnie przeprowadzone badanie pozwoli również na uniknięcie lub przynajmniej ograniczenie procedur nieuzasadnionego ograniczania produktów spożywczych, co skutkuje zmniejszeniem urozmaicenia żywności i niedoborami pokarmowymi.

Hipotezy badawcze:

- ❖ Czy u osób z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto częściej niż w populacji ogólnej występują warianty genów związane z nietolerancją laktozy, fruktozy i glutenu?
- ❖ Czy osoby z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto częściej niż osoby zdrowe wprowadzają diety eliminacyjne bez odpowiedniej diagnostyki?
- ❖ Czy dieta osób z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto jest mniej urozmaicona niż w populacji ogólnej?

III. Materiał i metody

1. KRYTERIA WŁĄCZENIA I WYŁĄCZENIA

Badanie zostało przeprowadzone w dwóch grupach pacjentek: grupie badanej złożonej z 93 pacjentek z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto potwierdzonym podwyższonym mianem przeciwciał aTPO/aTG oraz/lub obrazem USG charakterystycznym dla AZT; drugą grupę stanowiły 93 pacjentki z prawidłową czynnością i morfologią tarczycy (wykluczono limfocytarne zapalenie tarczycy). Liczebność w obu grupach podyktowana była m.in. wielkością płytki do badań genetycznych z uwzględnieniem miejsca na wprowadzenie odczynników kontrolnych. Pacjentki poddane badaniom znajdowały się pod opieką Katedry i Kliniki Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu i były rekrutowane od marca 2019 r. do maja 2021 r.

Kryteria włączenia do grupy badanej:

- ❖ Osoby dorosłe powyżej 18 roku życia
- ❖ Udokumentowane rozpoznanie choroby Hashimoto oparte o obecność przeciwciał przeciwtarczycowych w surowicy krwi i typowy dla tego schorzenia obraz USG tarczycy
- ❖ Pełna zdolność do czynności prawnych
- ❖ Brak zależności służbowej z prowadzącym badania
- ❖ Uzyskanie świadomej zgody na badania

Kryteria włączenia do grupy porównawczej:

- ❖ Osoby dorosłe powyżej 18 roku życia
- ❖ Wykluczona diagnoza AZT typu Hashimoto w momencie włączenia do badania
- ❖ Pełna zdolność do czynności prawnych
- ❖ Brak zależności służbowej z prowadzącym badania
- ❖ Uzyskanie świadomej zgody na badania

Kryteria wyłączenia:

- ❖ Wiek poniżej 18 lat
- ❖ Brak zgody na udział w badaniach
- ❖ Brak jednoznaczności w diagnozie choroby
- ❖ Inne zdiagnozowane choroby autoimmunologiczne i choroby autoimmunologiczne w wywiadzie rodzinnym

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej nr 69/19 (Aneks 2).

2. IZOLACJA GENOMOWEGO DNA METODĄ GTC I OCENA JAKOŚCIOWA I ILOŚCIOWA

Genomowy DNA izolowany z limfocytów krwi obwodowej osób badanych stanowił wyjściowy materiał do badań. W celu izolacji DNA pobrano 10 ml krwi obwodowej do probówki z antykoagulantem na EDTA (stężenie końcowe 0,1%). Z uwagi na długi czas rekrutacji pacjentów, krew była przechowywana w temperaturze -20°C do czasu wykonania badań. Dodatkowo pobrane zostało 5-10 ml krwi obwodowej celem przeprowadzenia podstawowych badań laboratoryjnych: morfologii krwi z rozmazem, TSH, FT3, FT4, anty-TPO i anty-TG, które zostały wykonane w laboratorium Szpitala Klinicznego im. H. Święcickiego UM w Poznaniu.

Izolacja DNA została przeprowadzona stosując metodę GTC (ang. *Guanidine Thiocyanate*) z 2-10 ml krwi (169,170). Izolacja DNA odbywała się etapami. Pierwszy to wstępna liza erytrocytów polegająca na dodaniu 25 ml buforu do lizy. W drugim etapie mieszanina została inkubowana w temperaturze 0°C przez 30 minut, a następnie wirowana przez 15 minut w temperaturze 4°C przy prędkości 2500 rpm. Supernatant usunięto, pozostawiając na dnie probówki zawiesinę leukocytów. Otrzymany osad w trzecim etapie został zawieszony w 500 μl buforu, dokładnie wymieszany i ponownie inkubowany w temperaturze 0°C przez 10 minut. W czwartym etapie do mieszaniny dodano zostało 2 ml 4M izotiocyanianu guanidyny, 34 mM cytrynianu sodu, 0,5% sarkosylu, 0,78% 2-merkaptioetanolu o $\text{pH}=7.0$. Całość dokładnie wymieszano stosując tzw. pipetowanie i ponownie inkubowano w temperaturze 0°C przez 15 minut. W piątym etapie zostało dodane 2,5 ml mieszaniny fenol-chloroform-alkohol izoamylowy, w stosunku 25:24:1 i dokładnie wymieszano celem usunięcia zanieczyszczeń. Próbkę następnie była wirowana przez 15 minut w 4°C przez 15 minut przy prędkości 3000 rpm, a po wirowaniu zebrany został supernatant. Czynność powtórzono. W ostatnim etapie dodano 5 ml etanolu o temperaturze -20°C , co spowodowało wytrącenie DNA, który następnie był przemyty 1 ml 75% etanolu. Uzyskane DNA suszono (termomikser, 37°C , 30 min, 500 rpm) i rozpuszczono w 300 μl dejonizowanej i sterylnej wody (171).

Kolejną istotną kwestią jest ocena jakościowa i ilościowa wyizolowanego w powyższych etapach DNA. Została ona przeprowadzona poprzez rozdział elektroforetyczny wysokocząsteczkowego DNA rozpuszczonego w wodzie. Do elektroforezy o napięciu 40V, trwającej 3 godziny, wykorzystano 0,8% żel agarozowy zawierający bromek etydyny (1 mg/ml) oraz bufor 1x TAE w obecności standardu wielkości (Lambda DNA/HindIII, Fermentas). Ocena rozdziału elektroforetycznego została przeprowadzona z zastosowaniem systemu dokumentacji żeli Maestrogen SMU-01 Slider UV Imager (MaestroGen). Dodatkowo oceniono rozpuszczone w wodzie DNA za pomocą pomiaru fluorescencji przez pomiar absorbancji fal o długości: 260 nm, 280 nm oraz 320 nm w aparacie Nano (Syngen). Stosunek absorbancji A_{260}/A_{280} pozwolił na określenie stopnia zanieczyszczenia roztworu DNA białkami (169).

Stosunek mieszczący się między 1,8-2,0 wskazywał, że preparaty są wystarczająco oczyszczone, z kolei A_{260}/A_{280} mniejsze lub równe 1,5 świadczyło o zawartości 50% białka w badanym preparacie i wskazywało na konieczność jego dodatkowego oczyszczenia. Jeżeli próbki DNA po izolacji wykazały wysoki stopień zanieczyszczeń białkami poddawane były oczyszczaniu przy użyciu fenolu i chloroformu oraz ponownej precypitacji DNA etanolem. Pobierano wówczas 250 ml wodnego roztworu DNA i przenoszono do nowej probówki. Następnie dodawano równą objętość mieszaniny fenol-chloroform-alkohol izoamylowy w stosunku objętościowym 25:24:1 i dokładnie mieszano. Próbki te następnie wirowano przez 3 minuty w temperaturze pokojowej, przy prędkości 4000 rpm (2840 g) i zbierano fazę wodną, przenosząc ją do nowej probówki. Do fazy wodnej dodawano 3M roztwór octanu sodu w takiej ilości, by jego stężenie końcowe w próbce wynosiło 0,3M, a następnie DNA precypitowano schłodzonym 96% etanolem, w stosunku objętościowym próbka/etanol 1:2,5. Osad DNA suszono (termomikser, 37°C, 30 min., 500 rpm, 10 g), a następnie rozpuszczano w 250 ml dejonizowanej sterylnej wody. Po oczyszczeniu DNA przechowywano w lodówce (4°C) w celu jego rozpuszczenia.

Analizie zostały poddane geny: *ADLOB A150P/A149P*, *ADLOB A175D/A174D*, *LCT C/T-13907*, *LCT G/A-22018*, *HLA DQ2* oraz *HLA DQ8* (tabela 3)

Tabela 3. Zestawienie badanych genotypów i ich koordynaty genomowe.

Nazwa	<i>LCT</i> <i>13907</i>	<i>C/T-</i> <i>LCT</i> <i>22018</i>	<i>G/A-</i> <i>LCT</i> <i>22018</i>	<i>ADLOB</i> <i>A150P/ A149P</i>	<i>ADLOB</i> <i>A175D/ A174D</i>	<i>HLA DQ2</i>	<i>HLA DQ8</i>
SNP ID	rs4988235	rs182549	rs1800546	rs76917243	rs2187668	rs7454108	
Koordynaty genomowe	chr2:1358510 76 (GRCh38.p13)	chr2:13585918 4 (GRCh38.p13)	chr9:10142757 4 (GRCh38.p13)	chr9:10142749 8 (GRCh38.p13)	chr6:32638107 (GRCh38.p13)	chr6:32713706 (GRCh38.p13)	
Nomenklatura HGVS	NC_000002.1 2:g.13585107 6G>A	NC_000002.12 :g.135859184C >T	NC_000009.12 :g.101427574C >G	NC_000009.12 :g.101427498G >T	NC_000006.12 :g.32638107C> T	NC_000006.12 :g.32713706T> C	
	NG_008104.2 :g.9094C>T	NG_008104.2: g.986G>A	NG_012387.1: g.13207G>C	NG_012387.1: g.13283C>A	NG_032876.1: g.5702C>T		

HGVS - Human Genome Variation Society

3. GENOTYPOWANIE PRZY UŻYCIU TECHNOLOGII TAQMAN®

Do analizy genów *ADLOB A150P/A149P* (SNP ID: rs1800546), *ADLOB A175D/A174D* (SNP ID: rs76917243) oraz *LCT C/T-13907* (SNP ID: rs4988235) wykorzystano 3 zestawy markerów pojedynczo-nukleotydowych SNP (Assays-on-Demand™ SNP Genotyping Products, Applied Biosystems), opierających się na technologii TaqMan®. Każdy zestaw służący wykrywaniu specyficznych alleli w genotypie badanej osoby opiera się na aktywności 5' nukleazowej polimerazy. Testy zaprojektowane zostały na podstawie informacji z Celera Genomics oraz ogólnodostępnych baz genetycznych. W skład każdego z testów wchodzi:

- ❖ startery umożliwiające amplifikację sekwencji zawierającej dany marker SNP,
- ❖ sondy typu TaqMan® MGB do wykrywania obydwu alleli charakterystycznych dla markera SNP:
 - sonda znakowana fluorochromem VIC, do detekcji sekwencji pierwszego allelu
 - sonda znakowana fluorochromem FAM, do detekcji drugiego allelu

Sondy zostały chemicznie zmodyfikowane, aby zwiększyć czułość metody, jak również umożliwić wykrycie poszczególnych alleli. Koniec 5' został oznakowany fluorochromem, zaś na końcu 3' został umieszczony tzw. wygaszacz (*nonfluorescent quencher*, NFQ) oraz substancja zwiększająca temperaturę topnienia sondy (*minor groove binder*, MGB), dzięki czemu możliwe było zastosowanie krótszego fragmentu jako sondy (172,173). W trakcie reakcji PCR, starter wraz z sondą mogą stworzyć charakterystyczne wiązanie lub tak zwane niesparowanie (*mismatch*). Polimeraza DNA wycina i degraduje taką sondę, która jest całkowicie sparowana. Powoduje to oddzielenie cząsteczki fluorochromu od wygaszacza, dzięki czemu zwiększa się emisja sygnału dla danego fluorochromu, która jest interpretowana jako obecność specyficznego allelu. W przypadku utworzenia niesparowania, czyli w obecności odmiennych alleli, polimeraza wycina sondę nie naruszając jej. Zachowane jest więc bliskie sąsiedztwo cząsteczki fluorochromu i wygaszacza co skutkuje brakiem sygnału (174). Sygnał od jednej sondy, świadczy o homozygotyczności, zaś od obydwu - o heterozygotyczności markera SNP. Sondy typu TaqMan® wymagają zastosowania wysokiej jakości matrycy DNA, stąd próby do badań musiały być oceniane spektrofotometrycznie. Dla każdej próby ustalono stężenie wyjściowe 20 ng/ml. Reakcje PCR prowadzone były w płytkach optycznych o formacie 96, w objętości 10 µl. Skład mieszaniny dla każdej próby to:

- | | |
|---|---------|
| ❖ 2X TaqMan Universal PCR Master Mix, No AmpErase UNG, zawierający polimerazę AmpliTaq Gold | 5,00 µl |
| ❖ 40X SNP Genotyping Assay Mix | 0,25 µl |
| ❖ DNA preparat | 1,00 µl |

❖ H₂O (wolna od DNaz)

3,75 µl

Całkowita objętość: 10,00 µl

Następnie płytką z naniesionymi próbkami z mieszaniną reakcyjną została poddana wirowaniu przez 30 sekund przy prędkości 4000 rpm (2840g). Reakcję cykliczną prowadzono przez 40 cykli, (termocykler StepONE Plus, Applied Biosystems) w następujących warunkach:

- ❖ denaturacja wstępna 95°C – 10 min.
- ❖ denaturacja cykliczna 92°C - 15 sek.
- ❖ wiązanie starterów 60°C - 30 sek.
- ❖ synteza nici DNA 60°C - 30 sek.

Płytkę przechowywano była bez ekspozycji na światło dzienne ze względu na obecność fluorochromów wrażliwych na światło. Odczyty zostały przeprowadzone przy użyciu urządzenia StepONE Plus Sequence Detection System (Applied Biosystems, Thermo), zaś ich analizę i interpretację wykonano stosując StepONE software (v.2.2.2). Każda płytka zawierała co najmniej trzy kontrole negatywne (ang. no template control, NTC), jak również kontrole pozytywne, czyli próbki o znanej sekwencji i znanym wariancie allelicznym dla poszczególnych polimorfizmów. Sygnały przekraczające próg dyskryminacji na poziomie 95%, a zatem posiadające odpowiednią emisję, identyfikowane były automatycznie, zaś sygnały słabsze, zlokalizowane poza skupiskami alleli, podlegały analizie indywidualnej. Uzyskane genotypy poszczególnych osób badanych wprowadzane były do arkusza Microsoft Excel.

4. AMPLIFIKACJA POSZCZEGÓLNYCH GENÓW TECHNIKĄ PCR I ICH SEKWENCJONOWANIE

W przypadku analizy genów *HLA DQ2* (SNP ID: rs2187668), *HLA DQ8* (SNP ID: rs 7454108) oraz *LCT G/A-22018* (SNP ID: rs182549) zastosowano amplifikację przy użyciu polimerazy Titanium (Clontech) do fragmentów o długości do 1000 pz. Stosowane były odpowiednie bufony do reakcji oraz stężenie MgCl₂, zgodnie z zaleceniami producenta. W niektórych przypadkach skorzystano z gotowego premiksu buforu z dodatkiem mieszaniny dNTP (2x FailSafe Premix J, Epicentre). Startery zaprojektowano przy użyciu ogólnodostępnego programu Primer3 (Rozen i Skaletsky 2000). Startery składały się z 18-27 zasad, przy zawartości par GC między 20 a 80% oraz temperaturze topnienia w granicach 57-63°C. Temperatura elongacji wynosiła 72°C. Przed sekwencjonowaniem konieczne było sprawdzenie jakości próbek w 1,6% żelu agarozowym w buforze 1x TAE. Jeżeli w produktach PCR były obecne niespecyficzne fragmenty, wycinano je z żelu i przeprowadzano elucję przy użyciu zestawu QIAquick® (Qiagen), zgodnie z instrukcją dostarczoną od producenta. Po przeprowadzeniu amplifikacji, kodujące fragmenty genów zostały poddane bezpośredniemu sekwencjonowaniu z użyciem startera, mieszaniny

deoksyrybonukleotydów, BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) z polimerazą AmpliTaq®:

- ❖ BD Terminator Mix 1 µl
- ❖ matryca 1-8 µl
- ❖ starter (10 pmol/ml) 1 µl
- ❖ H₂O do objętości 10 µl

Każda reakcja sekwencjonowania przebiegała z wykorzystaniem ok. 1-3 ng DNA/100 pz długości matrycy w 25 cyklach przy zachowaniu następujących warunków:

- ❖ denaturacja wstępna 96°C – 2 min.
- ❖ denaturacja 96°C - 10 sek.
- ❖ wiązanie starterów 55-60°C - 5 sek.
- ❖ synteza 68°C - 4 min.

Uzyskany produkt został poddany analizie przy użyciu automatycznego sekwenatora 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems) oraz programu BioEdit (Hall 1999).

5. BADANIA ANKIETOWE

Dodatkowo pacjentki zostały poproszone o wypełnienie kwestionariuszy ankiet: autorski kwestionariusz ogólnego stanu zdrowia i sposobu żywienia (Aneks 1), kwestionariusz urozmaicenia spożycia (FiveQ) i kwestionariusz częstości spożycia FFQ-6. Zebrano w ten sposób przede wszystkim informacje dotyczące stosowania diet wykluczających gluten, laktozę i fruktozę oraz urozmaicenia i częstości spożycia określonych grup produktów.

Podczas badań korzystano z ogólnodostępnych baz danych takich jak: NCBI, Ensembl, Genome Browser, OMIM, PubMed, Pfam oraz z oprogramowania: Primer3, ExonPrimer i SDS v.2.1.

6. ANALIZA STATYSTYCZNA

Analizy statystyczne przeprowadzono przy użyciu programu IBM SPSS Statistics 26.0. Za pomocą programu przeprowadzono analizy częstości odpowiedzi osób badanych przy uwzględnieniu podziału na grupę porównawczą i badaną. W celu oceny różnic między grupami zastosowano test χ^2 niezależności bądź test dokładny Fishera (gdy liczebność oczekiwana była mniejsza niż 5). W celu ustalenia związku między zmiennymi porządkowymi/iłościovymi, ze względu na brak rozkładu normalnego, przeprowadzono analizę korelacji Spearmana. Jako poziom istotności przyjęto $\alpha = 0,05$.

IV. Wyniki

1. ANALIZA STYSTYCZNA SPOSOBU ODŻYWIANIA W GRUPIE BADANEJ I PORÓWNAWCZEJ

W tej części skupiono się na analizie sposobu żywienia osób badanych. Charakterystyka grupy badanej i porównawczej została przedstawiona w tabeli 4. W analizie brano pod uwagę: diagnozę alergii i nietolerancji, częstość występowania objawów klinicznych nietolerancji, a także stosowanie restrykcyjnej diety, częstość spożywania produktów potencjalnie problematycznych i ich związek z urozmaicheniem pożywienia.

Tabela 4. Charakterystyka antropologiczna grupy badanej i porównawczej.

	Grupa badana	Grupa porównawcza
Liczebność grupy	N = 93	N = 93
Płeć	Żeńska (100%)	Żeńska (100%)
Średni wiek	32,1 ± 8,3	28,7 ± 6,9

1.1 DIAGNOZA ALERGII, NIETOLERANCJI POKARMOWYCH, WYSTĘPOWANIE OBJAWÓW KLINICZNYCH I RODZAJ REAKCJI ALERGICZNEJ

Za pomocą testu dokładnego Fishera, przeprowadzono analizę dotyczącą związku pomiędzy przynależnością do grupy a występowaniem alergii bądź nietolerancji. Analiza wyników nie wykazała istotnych różnic pomiędzy grupą badaną i porównawczą pod względem częstości występowania poszczególnych rodzajów alergii czy nietolerancji ($p > 0,05$). 23,7% osób z grupy badanej i 10,8% z grupy porównawczej wskazało, że posiada jakiekolwiek alergię bądź nietolerancje pokarmowe, a ok. 3% badanych w grupach było w trakcie diagnostyki.

Zarówno w grupie badanej jak i porównawczej, nie wystąpiła celiakia, zespół złego wchłaniania laktozy czy nietolerancja fruktozy. Ok. 2-5% badanych w każdej z grup choroby te były w trakcie diagnostyki. NCGS wystąpił u 4,3% osób z grupy badanej i 2,2% osób z grupy porównawczej, alergia na pszenicę wystąpiła u 5,4% osób z grupy badanej i u żadnej osoby z grupy porównawczej, a nietolerancja laktozy odpowiednio u 8,6% osób z grupy badanej i 3,2% osób z grupy porównawczej. Wyniki analiz zestawiono w tabeli 5.

Tabela 5. Analiza częstości wraz z testem dokładnym Fishera dla występowania alergii i nietolerancji w zależności od przynależności do grupy.

Alergia	Odpowiedź	Grupa badana		Grupa porównawcza		p	V
		n	%	n	%		
Alergia, nietolerancja	Nie	68	73,1	81	87,1	0,054	0,18
	Tak	22	23,7	10	10,8		
	W trakcie diagnozy	3	3,2	2	2,2		
Celiakia	Nie	89	95,7	90	96,8	1,000	-0,03
	Tak	0	0	0	0		
	W trakcie diagnozy	4	4,3	3	3,2		
NCGS	Nie	85	91,4	88	94,6	0,691	0,07
	Tak	4	4,3	2	2,2		
	W trakcie diagnozy	4	4,3	3	3,2		
Alergia – pszenica	Nie	84	90,3	90	96,8	0,070	0,17
	Tak	5	5,4	0	0		
	W trakcie diagnozy	4	4,3	3	3,2		
Nietolerancja laktozy	Nie	81	87,1	88	94,6	0,206	0,13
	Tak	8	8,6	3	3,2		
	W trakcie diagnozy	4	4,3	2	2,2		
Zespół złego wchłaniania laktozy	Nie	88	94,6	91	97,8	0,444	0,08
	Tak	0	0	0	0		
	W trakcie diagnozy	5	5,4	2	2,2		
Nietolerancja fruktozy	Nie	88	94,6	91	97,8	0,444	0,08
	Tak	0	0	0	0		
	W trakcie diagnozy	5	5,4	2	2,2		

1.1.1. GLUTEN

Za pomocą testu χ^2 niezależności bądź testu dokładnego Fishera sprawdzono czy istnieje związek pomiędzy częstością występowania poszczególnych objawów nietolerancji glutenu a przynależnością do grupy badanej. Przeprowadzona analiza wykazała istotny związek z objawami ze strony skóry, zmęczeniem oraz innymi objawami nieujętych w pytaniu. Wśród osób z grupy badanej istotnie częściej obserwowano objawy skórne niż w grupie porównawczej (18,3% vs. 7,5%). W istotnie większym stopniu osoby te odczuwały zmęczenie (32,3% vs. 14,0%), częściej też wskazywały odpowiedź „nie wiem” na pytanie związane z odczuwaniem zmęczenia (19,4% vs. 6,5%) oraz z innymi objawami wskazywanymi przez respondentów (16,1% vs. 6,5%). Wśród innych objawów w grupie badanej wskazano aurę migrenową, hipoglikemię, problemy z pamięcią i koncentracją, problemy ze snem oraz wahania nastroju. Osoby z grupy porównawczej częściej niż te z grupy badanej wskazywały na brak występowania objawów związanych ze skórą (87,1% vs. 71,0%), zmęczeniem (79,6% vs. 48,4%) oraz innych objawów (93,5% vs. 80,6%). Do najczęściej wskazywanych objawów zaliczono objawy ze strony układu pokarmowego (20-30% badanych w obu grupach) oraz zmęczenie (32,3% osób w grupie badanej oraz

14% w grupie porównawczej). Pozostałe objawy występowały nie częściej niż u 20% badanych. Szczegółowe dane zaprezentowano w tabeli 6.

Tabela 6. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania objawów nietolerancji glutenu wśród osób z grupy badanej i porównawczej

Objawy – Gluten	Odpowiedź	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	p	V
		n	%	n	%			
Układ pokarmowy	Nie	52	55,9	65	69,9	3,90	0,143	0,14
	Tak	28	30,1	19	20,4			
	Nie wiem	13	14,0	9	9,7			
Układ oddechowy	Nie	80	86,0	86	92,5		0,227*	0,13
	Tak	5	5,4	1	1,1			
	Nie wiem	8	8,6	6	6,5			
Skóra	Nie	66 _a	71,0	81 _b	87,1	7,36	0,025	0,20
	Tak	17 _a	18,3	7 _b	7,5			
	Nie wiem	10 _a	10,8	5 _a	5,4			
Wstrząs anafilaktyczny	Nie	89	95,7	90	96,8		1,000*	0,03
	Tak	0	0	0	0			
	Nie wiem	4	4,3	3	3,2			
Zmęczenie	Nie	45 _a	48,4	74 _b	79,6	19,79	<0,001	0,33
	Tak	30 _a	32,3	13 _b	14,0			
	Nie wiem	18 _a	19,4	6 _b	6,5			
Bóle, zawroty głowy	Nie	69	74,2	76	81,7	2,30	0,317	0,11
	Tak	16	17,2	9	9,7			
	Nie wiem	8	8,6	8	8,6			
Inne	Nie	75 _a	80,6	87 _b	93,5		0,012*	0,20
	Tak	3 _a	3,2	0 _a	0			
	Nie wiem	15 _a	16,1	6 _b	6,5			

*- wartość p testu dokładnego Fishera.

Kolumny niepodzielające indeksu literowego różnią się między sobą na poziomie $p < 0,05$ (korekta Bonferroniego).

Dodatkowo zapytano badanych o szybkość pojawienia się reakcji po spożyciu produktów zawierających badany związek. 40,9% osób z grupy badanej i 57% z porównawczej nie odnotowało występowania reakcji mogących sugerować objawy nietolerancji. U ok. 5-6% badanych w każdej grupie jakakolwiek reakcja wystąpiła natychmiast po spożyciu pokarmu, a u 10-20% badanych po kilku-kilkunastu godzinach. Związek między szybkością występowania reakcji alergicznej a przynależnością do grupy okazał się statystycznie nieistotny. Wyniki analiz zaprezentowano w tabeli 7.

Tabela 7. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności dla szybkości występowania reakcji alergicznej na gluten w zależności od przynależności do grupy.

Odpowiedzi	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	<i>p</i>	<i>V</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
Brak	38	40,9	53	57,0	6,90	0,075	0,19
Natychmiast	6	6,5	5	5,4			
Po kilku- kilkunastu godzinach	20	21,5	9	9,7			
Nie wiem	29	31,2	26	28,0			

1.1.2. LAKTOZA

Następnie analogicznej analizie poddano częstość występowania objawów nietolerancji laktozy. Analiza nie wykazała istotnych różnic między grupą badaną i porównawczą w tym zakresie dla żadnego z omawianych objawów klinicznych ($p > 0,05$). W obu grupach najczęściej występującymi objawami były wzdęcia (33,3-47,3% badanych), dyskomfort jamy brzusznej (29-38,7%) oraz kruczenie (19,4-25,9%). U żadnej z badanych osób nie zaobserwowano występowania wymiotów. Szczegóły przeprowadzonej analizy zaprezentowano w tabeli 8.

Tabela 8. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania objawów nietolerancji laktozy wśród osób z grupy badanej i porównawczej

Objawy – Laktoza	Odpowiedzi	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	<i>p</i>	<i>V</i>
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
Dyskomfort jamy brzuszej	Nie	52	55,9	62	66,7		0,338*	0,11
	Tak	36	38,7	27	29,0			
	Nie wiem	5	5,4	4	4,3			
Kruczenie	Nie	60	64,5	64	68,8	1,19	0,553	0,08
	Tak	24	25,8	18	19,4			
	Nie wiem	9	9,7	11	11,8			
Przelewanie	Nie	64	68,8	71	76,3	3,74	0,154	0,14
	Tak	23	24,7	13	14,0			
	Nie wiem	6	6,5	9	9,7			
Wzdęcia	Nie	40	43,0	56	60,2	5,52	0,063	0,17
	Tak	44	47,3	31	33,3			
	Nie wiem	9	9,7	6	6,5			
Ból brzucha	Nie	70	75,3	66	71,0	0,52	0,772	0,05
	Tak	18	19,4	22	23,7			
	Nie wiem	5	5,4	5	4,5			
Biegunka	Nie	68	73,1	77	82,8	4,86	0,088	0,16
	Tak	21	22,6	10	10,8			
	Nie wiem	4	4,3	6	6,5			
Wymioty	Nie	91	9,8	90	96,8		1,000*	0,03
	Tak	0	0	0	0			
	Nie wiem	2	2,2	3	3,2			
Inne	Nie	80	86,0	86	92,5		0,387*	0,11
	Tak	5	5,4	2	2,2			
	Nie wiem	8	8,6	5	5,4			

*- wartość *p* testu dokładnego Fishera.

Sprawdzono również różnice między grupą badaną i porównawczą pod względem szybkości wystąpienia reakcji alergicznej. Analiza nie wykazała istotnego związku między szybkością pojawienia się objawów klinicznych a przynależnością do grupy ($p > 0,05$). W obu grupach u ok. 40% badanych nie wystąpiły żadne objawy, a u ok. 20% pojawiły się one od razu po spożyciu. Wyniki analiz zaprezentowano w tabeli 9.

Tabela 9. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności dla szybkości występowania reakcji alergicznej na laktozę w zależności od przynależności do grupy.

Odpowiedzi	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	p	V
	n	%	n	%			
Brak	34	37,0	39	41,9	2,63	0,453	0,12
Natychmiast	21	22,8	19	20,4			
Po kilku- kilkunastu godzinach	19	20,7	12	12,9			
Nie wiem	18	19,6	23	24,7			

1.1.3. FRUKTOZA

Kolejny związek, który poddano analizie, to częstość występowania objawów niepożądanych po spożyciu fruktozy. Analiza wykazała istotne związki między dyskomfortem jamy brzusznej oraz bólem brzucha a przynależnością do grupy. Szczegółowa analiza testem Z dla proporcji kolumn wykazała, że wśród osób z grupy badanej odsetek osób nieodczuwających dyskomfortu jamy brzusznej był niższy niż w grupie porównawczej (73,1% vs. 86,0%), przy czym częstość wskazań odczuwania dyskomfortu w obu grupach była zbliżona (12,9-18,3%). Większy odsetek w grupie badanej wskazał odpowiedź „nie wiem” niż w grupie porównawczej (8,6% vs. 1,1%). Ból brzucha występował istotnie częściej w grupie porównawczej niż badanej (12,9% vs. 3,2%), natomiast w grupie badanej częściej wskazywano odpowiedź „nie wiem” niż w grupie porównawczej (7,5% vs. 1,1%). W żadnej z analizowanych grup nie odnotowano występowania wymiotów.

Do najczęściej występujących objawów zaliczono w obu grupach wzdęcia – występowały one u 24,7% osób z grupy badanej oraz 20,4% osób z grupy porównawczej, a także dyskomfort jamy brzusznej występujący u 12,9-18,3% badanych. Pozostałe objawy występowały u 10% bądź mniej badanych w każdej z grup. Wyniki analiz zamieszczono w tabeli 10.

Tabela 10. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania objawów nietolerancji laktozy wśród osób z grupy badanej i porównawczej.

Objawy – Fruktoza	Odpowiedzi	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	p	V
		n	%	n	%			
Dyskomfort jamy brzuszej	Nie	68 _a	73,1	80 _b	86,0	0,023*	0,20	
	Tak	17 _a	18,3	12 _a	12,9			
	Nie wiem	8 _a	8,6	1 _b	1,1			
Kruczenie	Nie	75	80,6	82	88,2	2,81	0,246	0,12
	Tak	10	10,8	8	8,6			
	Nie wiem	8	8,6	3	3,2			
Przelewanie	Nie	78	83,9	84	90,3	3,82	0,148	0,14
	Tak	7	7,5	7	7,5			
	Nie wiem	8	8,6	2	2,2			
Wzdęcia	Nie	64	68,8	72	77,4	0,269*	0,12	
	Tak	23	24,7	19	20,4			
	Nie wiem	6	6,5	2	2,2			
Ból brzucha	Nie	83 _a	89,2	80 _a	86,0	0,007*	0,23	
	Tak	3 _a	3,2	12 _b	12,9			
	Nie wiem	7 _a	7,5	1 _b	1,1			
Biegunka	Nie	82	88,2	86	92,5	0,192*	0,14	
	Tak	5	5,4	6	6,5			
	Nie wiem	6	6,5	1	1,1			
Wymioty	Nie	89	95,7	92	98,9	0,368*	0,10	
	Tak	0	0	0	0			
	Nie wiem	4	4,3	1	1,1			
Inne	Nie	85	91,4	89	95,7	0,495*	0,09	
	Tak	2	2,2	1	1,1			
	Nie wiem	6	6,5	3	3,2			

*- wartość p testu dokładnego Fishera.

Kolumny niepodzielające indeksu literowego różnią się między sobą na poziomie $p < 0,05$ (korekta Bonferroniego).

Następnie sprawdzono różnice między grupą badaną i porównawczą pod względem szybkości wystąpienia reakcji alergicznej. Analiza nie wykazała istotnego związku między szybkością pojawienia się objawów a przynależnością do grupy ($p > 0,05$). W obu grupach u ponad połowy badanych (52,7-61,3%) nie wystąpiły żadne z wymienionych objawów, a u ok. 10% pojawiły się one od razu po spożyciu bądź po kilku-kilkunastu godzinach. Wyniki analiz zaprezentowano w tabeli 11.

Tabela 11. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności dla szybkości występowania reakcji alergicznej na fruktozę w zależności od przynależności do grupy.

	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	<i>p</i>	ϕ
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
Brak	49	52,7	57	61,3	2,43	0,489	0,11
Natychmiast	10	10,8	7	7,5			
Po kilku- kilkunastu godzinach	7	7,5	9	9,7			
Nie wiem	27	29,0	20	21,5			

1.2 STOSOWANIE DIETY RESTRYKCYJNEJ I JEJ EFEKTYWNOŚĆ

W kolejnej części zebrano informacje od badanych dotyczące stosowania diet restrykcyjnych oraz ich efektywności. Sprawdzone czy wśród osób, które stosowały dietę zaobserwowano zmniejszenie objawów oraz jak długo stosowano daną dietę. Szczegółowe wyniki omówione zostały w dalszej części.

1.2.1. DIETA WYKLUCZAJĄCA GLUTEN

W tabeli 12 zamieszczono wyniki analizy testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla ustalenia związku między przynależnością do grupy a stosowaniem diety wykluczającej gluten, jej efektywności oraz długości stosowania. Analiza wykazała, że wśród osób z grupy badanej częściej stosowano dietę całkowicie wykluczającą gluten niż w grupie porównawczej (16,1% vs. 5,4%), tym samym odsetek osób niestosujących takiej diety w grupie badanej był mniejszy niż w grupie porównawczej (65,6% vs. 83,9%). W obu grupach zbliżony odsetek osób stosował dietę z częściowym wykluczeniem glutenu (18,3% z grupy badanej i 10,8% z grupy porównawczej). Obecnie jedynie 6,5% badanych w grupie porównawczej i 10,8% z grupy badanej stosuje dietę z częściowym wykluczeniem glutenu (różnica statystycznie nieistotna).

Nie odnotowano różnic między grupami w częstości zmniejszenia objawów nietolerancji glutenu oraz długości stosowania diety. Zmniejszenie objawów zaobserwowało 46,9% osób z grupy badanej i 70,6% z grupy porównawczej. Rozkład częstości stosowania diety w obu grupach wynosił po ok. 30% osób stosujących dietę mniej niż 3 miesiące, 3-6 miesięcy oraz > 6 miesięcy.

Tabela 12. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla stosowania diety wykluczającej gluten, jej efektywności i czasu trwania w zależności od przynależności do grupy.

	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	p	V
	n	%	n	%			
Czy stosowana kiedykolwiek?							
Nie	61 _a	65,6	78 _b	83,9	8,89	0,012	0,22
Tak, z częściowym wykluczeniem	17 _a	18,3	10 _a	10,8			
Tak, z całkowitym wykluczeniem	15 _a	16,1	5 _b	5,4			
Czy zmniejszone objawy?							
Nie	10	31,3	3	17,6	0,363*	0,23	
Tak	15	46,9	12	70,6			
Nie wiem	7	21,9	2	11,8			
Jak długo stosowana?							
Mniej niż 3 miesiące	11	34,4	6	37,5	0,20	0,904	0,06
3-6 miesięcy	10	31,3	4	25,0			
>6 miesięcy	11	34,4	6	37,5			
Czy stosowana obecnie?							
Nie	83	89,2	87	93,5	1,09	0,296	0,08
Tak, z częściowym wykluczeniem	10	10,8	6	6,5			

*- wartość p testu dokładnego Fishera.

Kolumny niepodzielające indeksu literowego różnią się między sobą na poziomie $p < 0,05$ (korekta Bonferroniego).

1.2.2. DIETA WYKLUCZAJĄCA LAKTOZĘ

Za pomocą testu dokładnego Fishera sprawdzono związek pomiędzy stosowaniem diety wykluczającej laktozę, jej efektywności i czasem trwania a przynależnością do grupy. Analiza nie wykazała istotnego związku pomiędzy zmiennymi. W każdej z grup 5,4% badanych stosował dietę z częściowym wykluczeniem laktozy, a w grupie badanej dodatkowo 2,2% z całkowitym wykluczeniem. Po zastosowaniu diety 57,1% osób z grupy badanej i 37,5% z grupy porównawczej zaobserwowało zmniejszenie objawów nietolerancji laktozy. Większość badanych w obu grupach stosowała dietę 3-6 miesięcy bądź dłużej (ok. 80%). Obecnie ten rodzaj diety stosuje 4,3% osób z grupy badanej i 3,2% z grupy porównawczej. Szczegółowe dane zaprezentowano w tabeli 13.

Tabela 13. Analiza częstości wraz z testem dokładnym Fishera dla stosowania diety wykluczającej laktozę, jej efektywności i czasu trwania w zależności od przynależności do grupy.

	Grupa badana		Grupa porównawcza		p	φ
	n	%	n	%		
Czy stosowana kiedykolwiek?						
Nie	86	92,5	88	94,6	0,663	0,10
Tak, z częściowym wykluczeniem	5	5,4	5	5,4		
Tak, z całkowitym wykluczeniem	2	2,2	0	0		
Czy zmniejszone objawy?						
Nie	1	14,3	1	12,5	0,782	0,22
Tak	4	57,1	3	37,5		
Nie wiem	2	28,6	4	50,0		
Jak długo stosowana?						
Mniej niż 3 miesiące	1	14,3	1	20,0	0,773	0,24
3-6 miesięcy	3	42,9	1	20,0		
>6 miesięcy	3	42,9	3	60,0		
Czy stosowana obecnie?						
Nie	89	95,7	90	96,8	1,000	0,03
Tak, z częściowym wykluczeniem	4	4,3	3	3,2		

1.2.3. DIETA WYKLUCZAJĄCA FRUKTOZĘ

Podobnie jak w przypadku stosowania diety wykluczającej laktozę, analiza testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera nie wykazała istotnego związku między przynależnością do grupy a stosowaniem diety wykluczającej fruktozę, jej efektywnością i długością stosowania. 16,1% osób z grupy porównawczej i 18,3% z grupy badanej stosowało kiedykolwiek ten rodzaj diety z częściowym wykluczeniem, a 10,8-18,3% z całkowitym wykluczeniem. 60-70% badanych w obu grupach zaobserwowało zmniejszone objawy nietolerancji fruktozy. Największy odsetek w obu grupach stosował dietę powyżej 6 miesięcy – 40% w grupie badanej i 52% w grupie porównawczej. Obecnie 19,4% osób z grupy badanej i 15,1% z grupy porównawczej stosuje ten rodzaj diety z częściowym wykluczeniem a po 3,2% w obu grupach – z całkowitym wykluczeniem. Wyniki zaprezentowano w tabeli 14.

Tabela 14. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla stosowania diety wykluczającej fruktozę, jej efektywności i czasu trwania w zależności od przynależności do grupy.

	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	p	φ
	n	%	n	%			
Czy stosowana kiedykolwiek?							
Nie	59	63,4	68	73,1	2,58	0,276	0,12
Tak, z częściowym wykluczeniem	17	18,3	15	16,1			
Tak, z całkowitym wykluczeniem	17	18,3	10	10,8			
Czy zmniejszone objawy?							
Nie	10	27,8	5	20,0	0,613*	0,13	
Tak	23	63,9	19	76,0			
Nie wiem	3	8,3	1	4,0			
Jak długo stosowana?							
Mniej niż 3 miesiące	11	31,4	5	20,0	1,18	0,554	0,14
3-6 miesięcy	10	28,6	7	28,0			
>6 miesięcy	14	40,0	13	52,0			
Czy stosowana obecnie?							
Nie	72	77,4	76	81,7	0,860*	0,06	
Tak, z częściowym wykluczeniem	18	19,4	14	15,1			
Tak, z całkowitym wykluczeniem	3	3,2	3	3,2			

*- wartość p testu dokładnego Fishera.

1.3 CZĘSTOŚĆ SPOŻYWANIA PRODUKTÓW POTENCJALNIE PROBLEMATYCZNYCH

W pierwszym etapie przeprowadzono analizę częstości odpowiedzi związanych ze spożywaniem produktów potencjalnie problematycznych, tj. zawierających gluten, laktozę czy fruktozę. Skorzystano z wybranych grup produktów kwestionariusza FFQ-6: produktów mlecznych i jaj, produktów zbożowych i owoców. Analizę przeprowadzono testem χ^2 niezależności oraz testem Fishera. Dla większości produktów analiza nie wykazała istotnego związku pomiędzy częstością spożywania a przynależnością do grupy (tabela 15). Wyjątkiem są słodzone napoje mleczne oraz gotowe śniadaniowe produkty zbożowe.

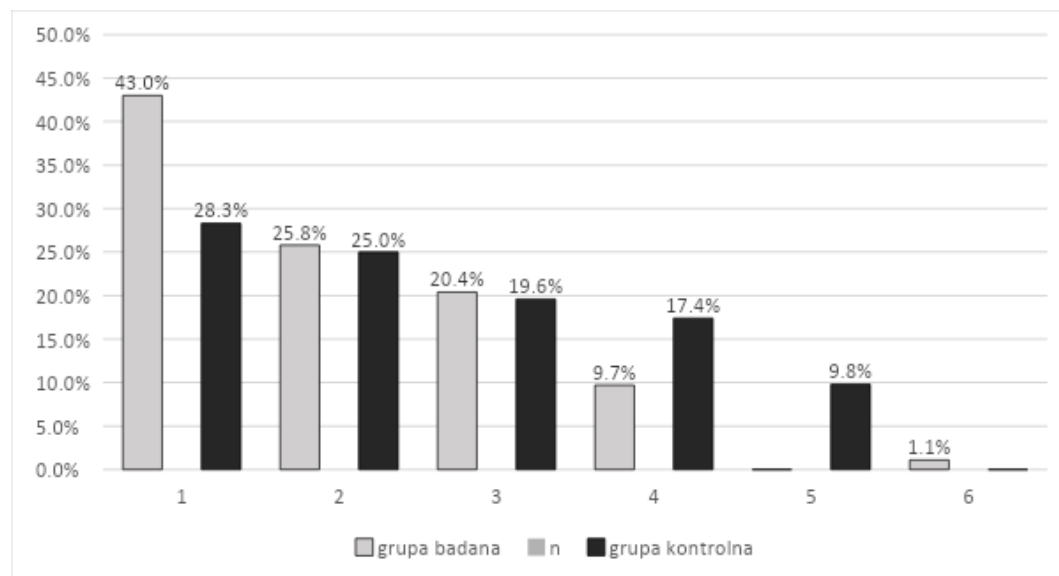
Tabela 15. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera spożycia produktów potencjalnie problematycznych w zależności od przynależności do grupy

Produkt	Nigdy lub prawie nigdy		Raz w miesiącu lub rzadziej		Kilka razy w miesiącu		Kilka razy w tygodniu		Codziennie		Kilka razy dziennie		χ^2	p	V
	Gr. bad. [%]	Gr. kontr. [%]	Gr. bad. [%]	Gr. kontr. [%]	Gr. bad. [%]	Gr. kontr. [%]	Gr. bad. [%]	Gr. kontr. [%]	Gr. bad. [%]	Gr. kontr. [%]	Gr. bad. [%]	Gr. kontr. [%]			
Mleko, naturalne napoje mleczne	5,4	5,4	10,8	15,1	20,4	14,0	30,1	31,2	25,8	30,1	7,5	4,3	2,94	0,710	0,13
Napoje mleczne słodzone	43,0	28,3	25,8	25,0	20,4	19,6	9,7	17,4	0,0	9,8	1,1	0,0	0,005*	0,28	
Twarogi naturalne	3,2	5,4	15,1	15,2	26,9	29,3	39,8	28,3	12,9	18,5	2,2	3,3		0,614*	0,14
Twarożki smakowe	68,8	63,0	20,4	14,1	2,2	10,9	8,6	8,7	0,0	3,3	0,0	0,0		0,614*	0,14
Sery	4,3	8,7	9,7	12,0	38,7	30,4	30,1	32,6	16,1	13,0	1,1	3,3	3,93	0,559	0,15
Jaja i potrawy z jaj	1,1	4,3	9,7	9,8	33,3	40,2	43,0	35,9	11,8	8,7	1,1	1,1		0,638*	0,14
Pieczywo razowe lub z ziarnami	3,2	4,3	11,8	15,2	18,3	22,8	31,2	27,2	29,0	22,8	6,5	7,6	2,04	0,843	0,10
Pieczywo rafinowane	16,1	17,4	23,7	9,8	21,5	29,3	20,4	20,7	17,2	19,6	1,1	3,3	7,64	0,177	0,20
Kasze gruboziarniste	7,5	8,7	19,4	26,1	40,9	38,0	25,8	22,8	6,5	4,3	0,0	0,0	1,64	0,801	0,09
Kasze drobnoziarniste	8,6	9,8	23,7	20,7	40,9	45,7	21,5	21,7	4,3	2,2	1,1	0,0		0,83*	0,11
Gotowe śniadaniowe produkty zbożowe	45,2	30,4	33,3	23,9	15,1	29,3	5,4	12,0	1,1	4,3	0,0	0,0	12,5	0,014	0,26
Owoce, wszystkie rodzaje	0,0	0,0	5,4	5,4	19,4	14,0	39,8	37,6	26,9	30,1	8,6	12,9	1,83	0,767	0,10
Owoce pestkowe	0,0	6,5	25,8	18,3	48,4	45,2	18,3	19,4	6,5	9,7	1,1	1,1		0,123*	0,21
Kiwi i cytrusy	0,0	2,2	16,1	23,7	40,9	33,3	33,3	28,0	7,5	10,8	2,2	2,2		0,452*	0,16

Owoce tropikalne	11,8	18,3	43,0	34,4	29,0	26,9	12,9	15,1	2,2	5,4	1,1	0,0		0,467*	0,16
Owoce jagodowe	6,5	5,4	32,3	25,8	24,4	27,6	22,6	26,9	3,2	4,3	1,1	0,0		0,849*	0,11
Banany	6,5	3,3	14,0	6,5	34,3	31,5	32,2	45,7	11,8	12,0	1,1	1,1		0,301*	0,18
Jabłka i gruszki	6,5	4,3	6,5	6,5	30,1	26,1	40,9	42,4	14,0	18,5	2,2	2,2		0,94*	0,08
Awokado	36,6	35,5	18,3	16,1	29,0	30,01	12,9	14,0	3,2	4,3	0,0	0,0	0,34	0,987	0,04
Oliwki	45,2	48,9	18,3	13,0	24,7	21,7	10,8	14,1	1,1	2,2	0,0	0,0	1,89	0,755	0,10
Owoce suszone	48,4	39,1	30,1	28,3	15,1	25,0	4,3	6,5	2,2	1,1	0,0	0,0		0,413*	0,15
Słodkie przetwory owocowe i owoce kandyzowane	37,6	27,2	33,3	31,5	23,7	32,6	4,3	7,6	1,1	1,1	0,0	0,0	3,78	0,437	0,013

*- wartość p testu dokładnego Fishera.

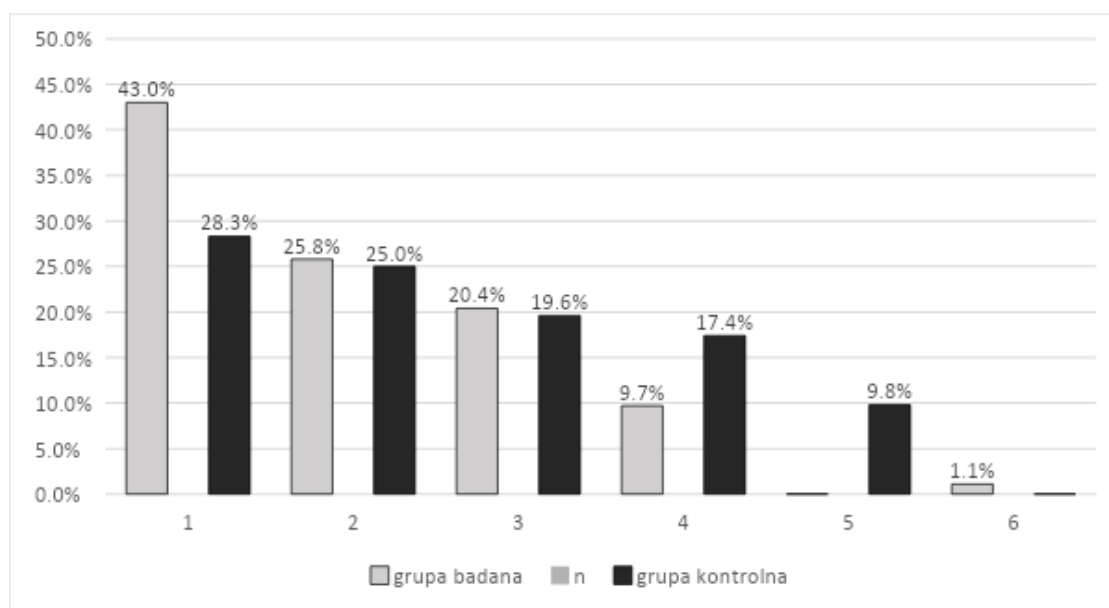
Słodzone napoje mleczne. Analiza testem dokładnym Fishera wykazała istotny związek pomiędzy częstością spożycia napojów mlecznych słodzonych a przynależnością do grupy, $p = 0,005$; $V = 0,28$. Szczegółowa analiza post hoc testem proporcji Z dla kolumn wykazała, że w grupie badanej istotnie częściej, nigdy lub prawie nigdy, nie spożywano napojów słodzonych w porównaniu do grupy porównawczej (43,0% vs. 28,3%), ponadto w grupie porównawczej odsetek osób spożywających te napoje codziennie był większy niż w grupie badanej (9,8% v. 0%). Na ryc. 1. zilustrowano częstość odpowiedzi w obu grupach.



Rysunek 1. Analiza częstości spożycia napojów mlecznych słodzonych w grupie badanej i porównawczej.

- 1 - nigdy lub prawie nigdy
- 2 - raz w miesiącu lub rzadziej
- 3 - kilka razy w miesiącu
- 4 - kilka razy w tygodniu
- 5 - codziennie
- 6- kilka razy dziennie

Gotowe śniadaniowe produkty zbożowe. Analiza testem χ^2 niezależności wykazała istotny związek pomiędzy częstością spożywania gotowych śniadaniowych produktów zbożowych a przynależnością do grupy, $\chi^2(5) = 12,50$; $p = 0,014$; $V = 0,26$. Analiza testem Z dla proporcji kolumn wykazała, że osoby z grupy badanej istotnie częściej niż osoby z grupy porównawczej wskazywały, że nigdy lub prawie nigdy nie spożywają tego typu produktów (45,2% vs. 30,4%). Z kolei osoby z grupy porównawczej częściej niż z grupy badanej wskazywały na spożycie tych produktów kilka razy w miesiącu (29,3% vs. 15,1%). Wyniki zilustrowano na ryc. 2.



Rysunek 2. Analiza częstości spożycia gotowych śniadaniowych produktów zbożowych w grupie badanej i porównawczej.

- 1 - nigdy lub prawie nigdy
- 2 - raz w miesiącu lub rzadziej
- 3 - kilka razy w miesiącu
- 4 - kilka razy w tygodniu
- 5 - codziennie
- 6- kilka razy dziennie

1.4 UROZMAICENIE POŻYWIENIA A PRZYNALEŻNOŚĆ DO GRUPY

Przeprowadzono również analizy sprawdzające związek pomiędzy przynależnością do grupy a urozmaicheniem pożywienia. Analiza testem dokładnym Fishera nie wykazała istotnego związku między zmiennymi. W obu grupach największy odsetek badanych (46-57%) stosował urozmaichenie pożywienia na wystarczającym poziomie. Około 30% badanych w obu grupach stosowało dobre urozmaichenie pożywienia, a jedynie 2-4% - bardzo dobre. Nieodpowiedni poziom urozmaichenia pożywienia stosowało 10,8% osób z grupy badanej i 15,1% z grupy porównawczej. Wyniki analiz zamieszczono w tabeli 16.

Tabela 16. Analiza częstości wraz z testem dokładnym Fishera dla oceny urozmaicenia pożywienia w zależności od przynależności do grupy.

Urozmaicenie pożywienia	Grupa badana		Grupa porównawcza		<i>p</i>	ϕ
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
Urozmaicenie nieodpowiednie	10	10,8	14	15,1	0,476	0,12
Urozmaicenie wystarczające	53	57,0	43	46,2		
Urozmaicenie dobre	28	30,1	32	34,4		
Urozmaicenie bardzo dobre	2	2,2	4	4,3		

1.5 UROZMAICENIE POŻYWIENIA A CZĘSTOŚĆ STOSOWANIA PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH

W celu ustalenia związku między częstością spożywania wybranych produktów a urozmaiceniem pożywienia przeprowadzono analizę korelacji przy użyciu współczynnika korelacji Spearmana. Analizy przeprowadzono dla całej próby (tabela 17) oraz dla każdej z grup oddzielnie (tabela 18).

Analiza wykazała, że im częściej spożywano mleko, twarogi naturalne i smakowe, jaja, owoce pestkowe, cytrusy, owoce tropikalne i banany, a także awokado i owoce suszone, tym wyższy był poziom urozmaicenia pożywienia. Korelacje te były dodatnie i słabe zarówno z wynikiem surowym kwestionariusza FIVEQ jak i interpretacją jakościową.

Tabela 17. Korelacje Spearmana dla związku między częstością spożywania produktów a urozmaicheniem pożywienia w całej próbie.

Produkty	FIVEQ - wynik		FIVEQ - interpretacja	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Mleko, naturalne napoje mleczne	0,20	0,007	0,17	0,023
Napoje mleczne słodzone	0,10	0,165	0,04	0,575
Twarogi naturalne	0,18	0,012	0,14	0,060
Twarożki smakowe	0,22	0,002	0,17	0,020
Sery	0,11	0,155	0,04	0,624
Jaja i potrawy z jaj	0,23	0,002	0,20	0,008
Pieczywo razowe lub z ziarnami	0,03	0,684	0,06	0,417
Pieczywo rafinowane	0,08	0,284	0,01	0,940
Kasze gruboziarniste	-0,02	0,789	-0,01	0,847
Kasze drobnoziarniste	0,08	0,285	0,00	0,959
Gotowe śniadaniowe produkty zbożowe	0,13	0,091	0,08	0,272
Owoce, wszystkie rodzaje	0,03	0,658	0,07	0,363
Owoce pestkowe	0,20	0,006	0,22	0,002
Kiwi i cytrusy	0,19	0,008	0,22	0,003
Owoce tropikalne	0,24	0,001	0,23	0,002
Owoce jagodowe	0,12	0,096	0,07	0,37
Banany	0,15	0,038	0,18	0,014
Jabłka, gruszki	0,12	0,111	0,12	0,1
Awokado	0,22	0,002	0,24	0,001
Oliwki	0,13	0,073	0,07	0,374
Owoce suszone	0,20	0,005	0,20	0,006
Słodkie przetwory owocowe i owoce kandyzowane	0,05	0,536	0,02	0,805

W grupie badanej odnotowano jedynie dwa istotne związki między częstością spożywania produktów a urozmaicheniem pożywienia – im częściej spożywano twarożki smakowe oraz im częściej spożywano awokado, tym urozmaichenie pożywienia było większe (korelacje dodatnie i słabe). W grupie porównawczej odnotowano pozytywne korelacje na poziomie od słabego do umiarkowanego z częstością spożycia mleka, twarogów naturalnych, jaj, owoców pestkowych, cytrusów, owoców tropikalnych, bananów, awokado, oliwek i suszonych owoców – im częściej spożywano te produkty, tym bardziej urozmaicone było pożywienie.

Tabela 18. Korelacje Spearmana dla związku między częstością spożywania produktów a urozmaicheniem pożywienia w grupie badanej i porównawczej.

Produkty	grupa badana				grupa porównawcza			
	FIVeQ - wynik		FIVeQ - interpretacja		FIVeQ - wynik		FIVeQ - interpretacja	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Mleko, naturalne napoje mleczne	0,16	0,139	0,12	0,246	0,24	0,021	0,21	0,045
Napoje mleczne słodzone	0,02	0,852	0,02	0,824	0,14	0,183	0,04	0,679
Twarogi naturalne	0,11	0,316	0,09	0,371	0,25	0,015	0,18	0,092
Twarożki smakowe	0,25	0,015	0,19	0,074	0,20	0,055	0,17	0,116
Sery	0,06	0,564	0,07	0,518	0,14	0,176	0,01	0,905
Jaja i potrawy z jaj	0,19	0,072	0,11	0,280	0,31	0,003	0,29	0,005
Pieczywo razowe lub z ziarnami	0,05	0,639	0,12	0,240	0,03	0,753	0,02	0,825
Pieczywo rafinowane	0,01	0,926	0,00	0,978	0,11	0,297	0,00	0,984
Kasze gruboziarniste	-0,03	0,787	-0,04	0,708	0,01	0,954	0,02	0,889
Kasze drobnoziarniste	0,11	0,286	0,08	0,440	0,04	0,723	-0,07	0,511
Gotowe śniadaniowe produkty zbożowe	0,12	0,239	0,14	0,170	0,11	0,317	0,02	0,839
Owoce, wszystkie rodzaje	0,02	0,858	0,09	0,381	0,06	0,589	0,05	0,632
Owoce pestkowe	0,11	0,292	0,16	0,119	0,29	0,005	0,28	0,007
Kiwi i cytrusy	0,06	0,570	0,08	0,426	0,31	0,002	0,32	0,002
Owoce tropikalne	0,18	0,087	0,13	0,210	0,31	0,002	0,31	0,003
Owoce jagodowe	0,07	0,495	0,00	0,967	0,18	0,080	0,13	0,228
Banany	-0,03	0,758	0,03	0,811	0,32	0,002	0,32	0,002
Jabłka, gruszki	0,09	0,412	0,07	0,536	0,16	0,125	0,16	0,117
Awokado	0,22	0,034	0,25	0,014	0,23	0,027	0,23	0,025
Oliwki	0,05	0,669	-0,05	0,660	0,21	0,043	0,16	0,124
Owoce suszone	0,11	0,281	0,14	0,185	0,29	0,005	0,25	0,014
Słodkie przetwory owocowe i owoce kandyzowane	0,07	0,525	0,09	0,411	0,02	0,886	-0,05	0,664

2. ANALIZA STATYSTYCZNA CHOROÓB PRZEWLEKŁYCH

W przedostatnim etapie analizie poddano występowanie chorób przewlekłych. Za pomocą testu χ^2 niezależności sprawdzono związek między występowaniem chorób przewlekłych a przynależnością do grupy. Istotny związek odnotowano z występowaniem insulinooporności, PCOS, a także otyłości. W grupie badanej wyższy odsetek chorował na insulinooporność, PCOS oraz większy odsetek badanych był otyłych. W obu grupach zbliżony odsetek badanych chorował na nadciśnienie, kamicę, NAFLD, hipertriglicydemię, hiperlipidemię mieszaną i hipercholesterolemię. U żadnej z osób z grupy badanej bądź porównawczej nie odnotowano występowania cukrzycy typu 1 i 2. Wyniki analiz zestawiono w tabeli 19.

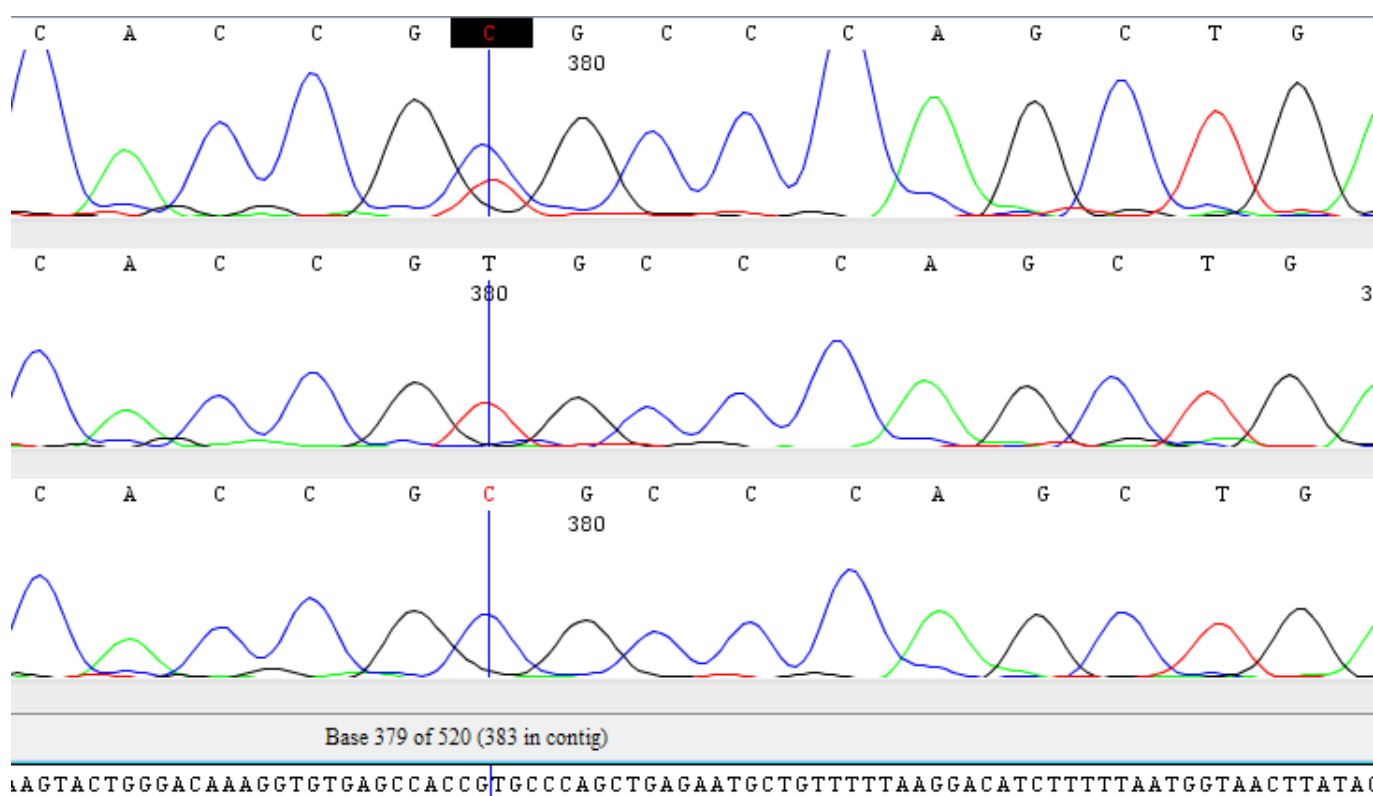
Tabela 19. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania chorób przewlekłych w zależności od przynależności do grupy.

	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	<i>p</i>	φ
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
Insulinooporność	32	34,4	10	10,8	14,88	<0,001	-0,28
PCOS	32	34,4	13	14,0	10,58	0,001	-0,24
Otyłość	27	29,0	7	7,5	14,40	<0,001	-0,28
Nadciśnienie	3	3,2	2	2,2	0,21	0,650	-0,03
Kamica	5	5,4	1	1,1		0,211*	-0,12
NAFLD	2	2,2	1	1,1		1,000*	-0,04
Hipercholesterolemia	4	4,3	3	3,2		1,000*	-0,03
Hipertriglicydemia	4	4,3	0	0		0,121*	-0,15
Hiperlipidemia mieszana	2	2,2	0	0		0,497*	-0,10

*- wartość *p* testu dokładnego Fishera.

3. PREDYSPOZYCJE GENETYCZNE DO NIETOLERANCJI POKARMOWYCH

Po przeprowadzeniu sekwencjonowania (ryc. 3) DNA, otrzymane wyniki zapisano przy pomocy Microsoft Excel. Uzyskane warianty badanych genów w obu grupach zestawiono w tabeli 20. Nazewnictwo zostało ustalone na podstawie danych w SNPedii. W piśmiennictwie często można zaobserwować odmienny zapis dla *LCT* 22018 - G/A zamiast C/T. Różnica ta wynika z negatywnej orientacji nici DNA podczas odczytu. Orientacje nici przedstawiono w tabeli 21.



Rysunek 3. Przykładowe sekwencjonowanie wariantu LCT G/A-22018 (SNP ID: rs182549) w orientacji nici + (C/T) kolejno dla: heterozygoty i homozygot. Fragment sekwencji referencyjnej przedstawiono pod chromatogramami. Miejsce wariantu oznaczono pionową kreską.

Tabela 20. Występowanie wariantów poszczególnych genów.

Nazwa	<i>LCT</i> <i>13910</i>	<i>C/T-</i> <i>LCT</i> <i>22018</i>	<i>G/A-</i> <i>ADLOB</i> <i>A150P/ A149P</i>	<i>ADLOB</i> <i>A175D/ A174D</i>	<i>HLA DQ2</i>	<i>HLA DQ8</i>
Grupa badana n = 93	CC* = 19 TC = 45 TT = 29	CC* = 27 CT = 44 TT = 22	GG* = 0 CG* = 0 CC = 93	TT* = 0 GT* = 0 GG = 93	AA* = 2 GA* = 13 GG = 78	CC* = 0 TC* = 17 TT = 76
Grupa porównawcza n = 93	CC* = 22 TC = 43 TT = 28	CC* = 28 CT = 43 TT = 22	GG* = 0 CG* = 0 CC = 93	TT* = 0 GT* = 0 GG = 93	AA* = 1 GA* = 17 GG = 75	CC* = 0 TC* = 19 TT = 74
Całość n=186	CC* = 41 TC = 88 TT = 57	CC* = 55 CT = 87 TT = 44	GG* = 0 CG = 0 CC = 186	TT* = 0 GT* = 0 GG = 186	AA* = 3 GA* = 30 GG = 153	CC* = 0 TC* = 36 TT = 150

*predyspozycja do wystąpienia nietolerancji

Tabela 21. Zestawienie nazewnictwa polimorfizmów w zależności od orientacji nici.

Gen	Orientacja negatywna	Orientacja pozytywna
<i>LCT C/T-13910</i>	C/T*	G/A
<i>LCT G/A-22018</i>	G/A	C/T*
<i>ALDOB A150P</i>	G/C*	C/G
<i>ALDOB A175P</i>	A/C	T/G*
<i>HLA DQ2</i>	A/G*	T/C
<i>HLA DQ 8</i>	G/A	C/T*

* Zgodna ze SNPeią

Za pomocą testu χ^2 niezależności bądź testu dokładnego Fishera, przeprowadzono analizę sprawdzającą związek pomiędzy przynależnością do grupy a występowaniem wariantów predysponujących do wystąpienia nietolerancji pokarmowych. Analiza nie wykazała istotnych różnic pomiędzy grupą badaną i porównawczą dla częstości występowania wariantów predysponujących do nietolerancji laktozy (CC), czy nietolerancji glutenu (Dla *HLA DQ-2*: AA, AG; dla *HLA DQ-8*: CC, TC). Dla wariantów związanych z tolerancją/nietolerancją fruktozy obliczeń nie wykonano ze względu na to, że u żadnej z badanych osób (zarówno w grupie badanej jak i porównawczej) nie wystąpiły warianty predysponujące do tej nietolerancji.

Odsetek osób, u których wystąpił wariant nietolerancji laktozy dla genu *LCT-13910(C/T)* wynosił około 20%, natomiast dla *LCT G/A-22018* odsetek ten wynosił ok. 30%. W przypadku wariantów związanych z nietolerancją glutenu odsetek osób badanych w obu grupach wynosił ok. 20% zarówno dla *HLA DQ2* jak i dla *HLA DQ8*. Wyniki analiz zaprezentowano w tabeli 22.

Tabela 22. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania wariantów predysponujących do nietolerancji pokarmowej w zależności od przynależności do grupy.

	Polimorfizm predysponujący	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	<i>p</i>	ϕ
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
<i>LCT C/T-13910</i>	Nie	74	79,6	71	76,3	0,28	0,596	0,04
	Tak	19	20,4	22	23,7			
<i>LCT G/A-22018</i>	Nie	66	71,0	65	69,9	0,03	0,872	0,01
	Tak	27	29,0	28	30,1			
<i>ALDOB A150P</i>	Nie	93	100,0	93	100,0	-	-	-
	Tak	0	0	0	0			
<i>ALDOB A175P</i>	Nie	93	100,0	93	100,0	-	-	-
	Tak	0	0	0	0			
<i>HLA DQ2</i>	Nie	78	83,9	75	80,6	0,33	0,565	0,04
	Tak	15	16,1	18	19,4			
<i>HLA DQ 8</i>	Nie	76	81,7	74	79,6	0,14	0,711	0,03
	Tak	17	18,3	19	20,4			

Za pomocą testu χ^2 niezależności bądź testu dokładnego Fishera porównano częstość występowania poszczególnych wariantów w grupie badanej i porównawczej. Analiza nie wykazała istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych wariantów zarówno dla genów związanych z laktozą (tabela 23), jak i glutenem (tabela 24). Dla *LCT C/T-13910* oraz *LCT G/A-22018* najczęściej w obu grupach występował wariant TC (niepełna 50% badanych). Dla *HLA DQ2* najczęściej odnotowano występowanie GG (ponad 80% w każdej grupie), a dla *HLA DQ8* – TT. U około 80% badanych w każdej grupie wykryto wariant genu TT.

Tabela 23. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania wariantów predysponujących do nietolerancji laktozy w zależności od przynależności do grupy.

	Polimorfizm	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	<i>p</i>	<i>V</i>
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
<i>LCT C/T-13910</i>	CC	19	20,4	22	23,7	0,28	0,868	0,04
	TC	45	48,4	43	46,2			
	TT	29	31,2	28	30,1			
<i>LCT G/A-22018</i>	CC	27	29,0	28	30,1	0,03	0,985	0,01
	TC	44	47,3	43	46,2			
	TT	22	23,7	22	23,7			

Tabela 24. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania wariantów predysponujących do nietolerancji glutenu w zależności od przynależności do grupy.

	Polimorfizm predysponujący	Grupa badana		Grupa porównawcza		χ^2	<i>p</i>	<i>V</i>
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
<i>HLA DQ2</i>	AA	2	2,2	1	1,1	0,661*	0,661*	0,07
	GA	13	14,0	17	18,3			
	GG	78	83,9	75	80,6			
<i>HLA DQ8</i>	TC	17	18,3	19	20,4	0,14	0,711	0,03
	TT	76	81,7	74	79,6			

*- wartość *p* testu dokładnego Fishera.

Na podstawie uzyskanych wyników obliczono przy pomocy prawa Hardy'ego-Weinberga częstość występowania allelu rzadkiego (MAF) dla grupy badanej oraz dla grupy porównawczej (tabela 25). Uzyskane wyniki są zgodne z MAF dla populacji ogólnej oraz dla populacji Europejskiej (według GnomAD).

Tabela 25. Uzyskane MAF dla alleli poszczególnych genów.

Nazwa	<i>LCT</i> <i>13910</i>	<i>C/T-</i> <i>LCT</i> <i>22018</i>	<i>G/A-</i> <i>ADLOB</i> <i>A150P/ A149P</i>	<i>ADLOB</i> <i>A175D/ A174D</i>	<i>HLA DQ2</i>	<i>HLA DQ8</i>
MAF globalne	MAF (T)Eur=0,54	MAF (T)Eur=0,55	MAF (G)Eur=0,0045	MAF (T)Eur=0,0005 5	MAF (A)Eur=0,11	MAF (C)Eur=0,1
MAF Europa	MAF (T)Global=0,5	MAF (T)Global=0,51	MAF (G)Global=0,0 04	MAF (T)Global=0,00 058	MAF (A)Global=0,1 1	MAF (C)Global=0,1
MAF grupa badana	MAF (T)=0,55	MAF (T)=0,47	MAF (G)=0	MAF (T)=0	MAF (A)=0,1	MAF (C)=0,091
MAF grupa porównawcza	MAF (T)=0,53	MAF (T)=0,46	MAF (G)=0	MAF (T)=0	MAF (A)=0,1	MAF (C)=0,091

Dokonano również zestawienia występowania wariantów nietolerancji laktozy oraz glutenu w obydwu grupach, gdyż często w piśmiennictwie można się spotkać z zapisem w tej formie (tabela 26).

Tabela 26. Zestawienie wariantów dla poszczególnych nietolerancji.

Genotyp	Grupa badana n=93	Grupa porównawcza n=93	Całość n=186
LCT 13910/LCT 22018:			
CC/CC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
CC/CT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
CC/TT	19 (20%)	22 (24%)	41 (22%)
TC/CC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
TC/CT	44 (47%)	43 (46%)	87 (47%)
TC/TT	1 (1%)	0 (0%)	1 (0,5%)
TT/CC	27 (29%)	28 (30%)	55 (29,5%)
TT/CT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
TT/TT	2 (2%)	0 (0%)	2 (1%)
HLA DQ2/HLA DQ8:			
AA/CC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
AA/TC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
AA/TT	2 (2%)	1 (1%)	3 (2%)
GA/CC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
GA/TC	2 (2%)	2 (2%)	4 (2%)
GA/TT	11 (12%)	15 (16%)	26 (14%)
GG/CC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
GG/TC	15 (16%)	17 (18%)	32 (17%)
GG/TT	63 (68%)	58 (62%)	121 (65%)

V. Dyskusja

Badania zostały zaplanowane w szeroki sposób mający na celu znalezienie związków łączących trzy odrębne dziedziny - genetykę, endokrynologię i dietetykę. Skupiono się na występowaniu wariantów predysponujących do wystąpienia nietolerancji glutenu, laktozy i fruktozy. Starano się uzyskać odpowiedź na pytanie, czy w grupie pacjentów z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto takie warianty współwystępują częściej niż w populacji ogólnej. Odpowiedź na to pytanie stanowi próbę zapełnienia luki w badaniach naukowych dotyczących odpowiedniego postępowania żywieniowego w tej, coraz bardziej rozpowszechnionej, jednostce chorobowej. W przeprowadzonych badaniach weryfikowano również zasadność stosowania diet eliminujących spożywanie glutenu, laktozy i fruktozy. W tym celu skorzystano z autorskiego kwestionariusza ankiet, w którym grupa badana i porównawcza odpowiadała na pytania dotyczące stosowania diet restrykcyjnych, czasu ich trwania i wpływu na obserwowane objawy po spożyciu produktów zawierających dany związek spożywczy. Niepokojące doniesienia o wprowadzaniu diet restrykcyjnych przez pacjentów bez uprzedniej konsultacji z lekarzem i/lub dietetykiem sprawiają, że konieczność odpowiedzi na pytania dotyczące najbardziej kontrowersyjnych związków żywieniowych staje się coraz bardziej istotnym problemem przede wszystkim ze względu na możliwość obniżenia jakości spożywanego pożywienia i zmniejszenie jego urozmaicenia, co może rzutować nie tylko na pogorszenie parametrów związanych z AZT, ale na ogólny stan zdrowia.

1. GLUTEN

Zgodnie z przewidywaniami, grupa badana statystycznie częściej stosowała dietę wykluczającą spożycie glutenu (częściowo bądź całkowicie). Warto jednocześnie podkreślić, że zgodnie z odpowiedziami respondentów, nie było ku temu odpowiedniej podstawy medycznej - różnica w częstości potwierdzonych badaniami alergii bądź nietolerancji glutenu była statystycznie nieistotna, co więcej, większość respondentów deklarowała brak takiej diagnozy. Jest to niezwykle interesujące, biorąc pod uwagę fakt, że mimo braku jednoznacznych wskazań do eliminacji glutenu w postaci diagnozy NCGS, alergii na pszenicę lub celiakii u większości pacjentek, to jednak $\frac{1}{3}$ badanych deklarowała stosowanie diety z wykluczeniem tego składnika odżywczego. Podstawą do stosowania takiej diety mogły być objawy zgłaszane przez pacjentki, które statystycznie częściej występowały w grupie badanej: objawy skórne i zmęczenie. Istotny jest jednak fakt, że chociaż respondenci wiązali występowanie objawów ze spożyciem produktów zawierających gluten, to jednak większość z nich nie była w stanie jednoznacznie wskazać, jak szybko pojawiały się objawy, co może sugerować, że objawy mogły być mylnie wiązane ze spożyciem konkretnego produktu. Zdawałby się to potwierdzać fakt, że w grupie badanej wśród osób,

które deklarowały stosowanie diety bezglutenowej, ponad połowa respondentów nie wskazała korzystnych efektów jej stosowania, a więc wyraźnego ustąpienia deklarowanych objawów.

Choroba trzewna związana jest z determinantą genetyczną w układzie HLA w postaci genotypu *HLA DQ-2* u 95% pacjentów oraz *HLA DQ-8* u pozostałych 5%. Sama obecność odpowiedniego polimorfizmu nie jest jednak jedynym uwarunkowaniem wystąpienia choroby. Stwierdza się, że nawet 20-40% osób z populacji ogólnej może być nosicielem allelu odpowiadającego za zachorowanie, zaś częstość faktycznego zachorowania na CD jest zdecydowanie niższa (175). Przeprowadzone badania wykazały brak różnicy we współwystępowaniu predyspozycji genetycznych do nietolerancji na gluten u pacjentów ze stwierdzoną chorobą Hashimoto w porównaniu do grupy porównawczej, można nawet stwierdzić, że wariant związany z nietolerancją nieznacznie rzadziej obserwowano w grupie badanej niż w grupie porównawczej (*HLA DQ-2*: 16% vs. 19%, *HLA DQ-8*: 18% vs. 20%) . Uzyskane wyniki pozostają w zgodzie z wynikami szeroko zakrojonych badań populacyjnych, mających na celu ustalić częstość występowania allelu rzadkiego (MAF) dla populacji ogólnej. Zbliżony MAF uzyskano dla niniejszych badań (tabela 20), co pozwala stwierdzić, że zebrana grupa pacjentów była reprezentatywna. Uzyskane wyniki nie pozwalają na potwierdzenie hipotezy o współwystępowaniu predyspozycji genetycznych do nietolerancji glutenu u pacjentów z AZT typu Hashimoto. Interesujące wydają się w tym świetle badania Guliter i in. (176), Marwahy i in. (177) oraz Ravaglii i in. (178), zgodnie z którymi u pacjentów z AZT można zaobserwować częstsze występowanie przeciwciał przeciwko transglutaminazie tkankowej IgA-tTG, a także badania Riseh i in., w których stwierdzono częstsze występowanie przeciwciał IgA-tTG, IgG-tTG oraz IgA-AGA u pacjentów z chorobą Hashimoto (179). Inne spojrzenie przedstawiają także badania Jiskry i in. (180), w których stwierdzono statystycznie częstsze występowanie przeciwciał antygliadynowych IgA-AGA oraz IgG-AGA u pacjentów z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy w porównaniu do zdrowych kontroli. Taka rozbieżność w wynikach badań może wynikać z faktu, że część osób posiadających wariant genu predysponujący do nietolerancji glutenu oraz celiakii pozostanie zdrowa (181). Podobne wyniki uzyskano w badaniu Hadithi i in., gdzie u ponad 50 pacjentów z chorobą Hashimoto stwierdzono występowanie jednego bądź dwóch heterodimerów *HLA-DQ*, jednakże diagnozę celiakii postawiono jedynie w 5 przypadkach (182). Można zatem podejrzewać, że choroba autoimmunologiczna tarczycy może być czynnikiem inicjującym, który przy występowaniu predyspozycji genetycznej do celiakii, powoduje jej wystąpienie. Badania Naiyer i in. (183) oraz Duntasa (184) wskazują również odwrotną możliwą korelację, zgodnie z którą to obecność przeciwciał IgA-tTG może przyczyniać się do wystąpienia dysfunkcji tarczycy poprzez przyłączanie się do tkanki tarczycy. Badania przeglądowe Passali i in. zdają się wskazywać z kolei na częstsze współwystępowanie celiakii z hipertyreozą niż z chorobą Hashimoto (142). Występowanie przeciwciał AGA może również sugerować

występowanie nieceliakalnej nadwrażliwości na gluten, która może, ale nie musi być związana z wystąpieniem wariantu nietolerancji genu *HLA DQ-2* bądź *HLA DQ-8*. Biorąc jednakże pod uwagę stwierdzony związek między występowaniem autoimmunologicznych chorób tarczycy a celiakią (181,185–188), należałoby przeprowadzić badania nad innymi potencjalnie wspólnymi czynnikami mogącymi łączyć te dwie choroby.

Stosowanie diety bezglutenowej przy braku odpowiednich wskazań stoi w sprzeczności z przeprowadzonymi badaniami (130). W odróżnieniu od celiakii, żadne spożycie składników pokarmowych nie wyzwała odpowiedzi immunologicznej w AZT typu Hashimoto. Wśród żywieniowych czynników ryzyka rozwoju choroby Hashimoto są niedobór i nadmiar jodu, niedobór selenu i witaminy D, ale nie spożycie glutenu (32). Jak wykazuje Ihnatowicz i in. (2021), większość badań opisujących stosowanie diety bezglutenowej w AZT dotyczy pacjentów ze stwierdzoną celiakią lub NCGS. Bez wątpienia, stosowanie GFD (ang. gluten-free diet) ma uzasadnienie przy współistniejącej celiakii czy NCGS i może wpływać na polepszenie parametrów związanych z AZT, co wykazały badania Sategna-Guidetti'ego i in. (149) oraz Oderdy i in. (189). Jednak badania te nie są do końca jednoznaczne, na co z kolei wskazują prace Metso i in. (152), i Rasheeda i in. (150). Przeprowadzone zostały dwa badania kontrolne weryfikujące zasadność stosowania tak restrykcyjnej diety przy występującym samodzielnie autoimmunologicznym zapaleniu tarczycy (190). Badania Krysiaka i in. (147) dotyczące wpływu eliminacji glutenu na poziom przeciwciał przeciwciarczycowych u kobiet z eutyreozą, są badaniami weryfikującymi wpływ diety bezglutenowej na AZT u pacjentek z wykluczoną celiakią. Badanie to jednak ma kilka wad, wśród których można wyróżnić małą liczebność grupy i krótki czas trwania interwencji - 6 miesięcy. Również nieprawidłowe poziomy witaminy D i selenu, obserwowane u pacjentów biorących udział w badaniu, budzą zastrzeżenia, co do faktycznego wpływu glutenu samego w sobie na parametry przeciwciał przeciwciarczycowych. Przeprowadzone niedawno badanie Velija i in. (191) również poruszyły kwestię stosowania GFD u pacjentek z AZT, jednakże tym razem w połączeniu z suplementacją selenem. Uczestników podzielono na dwie grupy - w jednej pacjenci otrzymywali suplementację selenu w połączeniu z dietą bezglutenową, zaś w drugiej wyłącznie suplementowano selen bez dodatkowej interwencji dietetycznej. Suplementacja selenem doprowadziła ponad połowę uczestników do stanu eutyreozy oraz obniżyła stężenia anty-TPO. Wpływ ten bardziej zaznaczył się w grupie pacjentów stosujących dodatkowo dietę bezglutenową, co sugeruje, że dieta bezglutenowa z suplementacją selenu może być bardziej skuteczna w obniżaniu stężeń TSH, TPOAb i TgAb, porównując samą suplementację selenem u kobiet z chorobą Hashimoto. Odmienne efekty stosowania GFD u pacjentów na podstawie case study wskazują Avard i in. (192), Abbott i in. (193) oraz Valentino i in. (194), gdzie interwencja dietetyczna i wykluczenie glutenu nie wpłynęły na czynność tarczycy bądź też

jego rola była niemożliwa do określenia ze względu na stosowanie większej ilości interwencji medycznych. Przeprowadzone dotychczas badania kliniczne nie uzasadniają wprowadzania GFD u pacjentów z izolowanym autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto bez współistniejących chorób glutenozależnych, co zgodne jest ze stanowiskiem POLSPEN. Nie wiadomo, czy eliminacja glutenu u pacjentów bez dodatniego miana anty-TPO może być korzystna, natomiast wiadomo, że jest potencjalnie szkodliwa poprzez bezpośredni wpływ na występowanie niedoborów żywieniowych u pacjentów ją stosujących bez odpowiedniego zbilansowania składników. Najbardziej istotna jest częsta eliminacja produktów zbożowych zawierających gluten, ale również bogatych w selen, co może stanowić podstawowe ryzyko rozwoju AZT typu Hashimoto i zwiększenie miana przeciwciał p/tarczycowych. Produkty bezglutenowe różnią się od konwencjonalnych pod kątem zawartości kalorii, makroskładników, błonnika, sodu, soli i cholesterolu, zatem ich stosowanie może skutkować znacznymi odstępstwami od zalecanej zrównoważonej diety. Takie produkty zawierają więcej tłuszczu, w tym nasyconych, przy jednoczesnej mniejszej podaży białka i błonnika (195). Badania Martina i in. wykazują wyższą konsumpcję tłuszczu, przy jednoczesnym istotnie niższym spożyciu kwasu foliowego, witamin C, B1, B2, B6 i B12, żelaza, magnezu oraz błonnika u pacjentów na diecie bezglutenowej (196), co zostało potwierdzone przez szereg innych badań, wskazując jednocześnie inne składniki potencjalnie niedoborowe, takie jak: selen, mangan, cynk (197), wapń, witamina D (198,199), foliany czy witamina A (200). GFD może również wiązać się ze spożyciem większej ilości produktów o wyższym indeksie glikemicznym, a co za tym idzie może sprzyjać otyłości i wystąpieniu zespołu metabolicznego (201–203). Ze względu na zmniejszenie różnorodności pożywienia poprzez konieczność ograniczenia dużej grupy produktów, zwiększa się również ryzyko częstszego spożycia produktów zawierających substancje szkodliwe. O ile przy konwencjonalnym spożyciu ich zawartość w diecie nie powoduje szkodliwego wpływu na organizm, o tyle przy kompensowaniu braku innych produktów, narażenie na takie substancje może przekroczyć granicę normy. Konieczność wykluczenia dużej grupy produktów zbożowych przy wysokiej cenie ich zamienników, do jakich można na przykład zaliczyć amarantus czy quinoę, powoduje zwiększone spożycie produktów naturalnie bezglutenowych jakimi na przykład są ryż czy kukurydza. Wiąże się to ze zwiększonym spożyciem rakotwórczego, nieorganicznego arsenu obecnego w ryżu i jego przetworach (204–206) bądź mykotoksyn zawartych w kukurydzy (207,208).

Podsumowując przeprowadzone badania, można stwierdzić, że obecność autoimmunologicznego zapalenia tarczycy typu Hashimoto, nie jest związana ze współistnieniem badanych genetycznych predyspozycji do celiakii i nietolerancji glutenu. Biorąc pod uwagę ryzyko wynikające ze stosowania GFD bez wskazań wynikających z chorób glutenozależnych oraz wyniki niniejszego badania wskazujące na zwiększoną częstość samowolnego wprowadzania takiej diety restrykcyjnej przez pacjentki z chorobą

Hashimoto, należałoby przeprowadzić szeroko zakrojone badania dotyczące stosowania diety bezglutenowej u pacjentów bez celiakii, NCGS czy alergii na pszenicę, u których występuje AZT typu Hashimoto i określić jej wpływ na stan zdrowia pacjentów. Do tego czasu niezbędne jest uświadamianie pacjentów o potencjalnie szkodliwym wpływie tak restrykcyjnej diety i zapobieganie nieuzasadnionym incydentom wykluczania produktów spożywczych zawierających ten związek.

2. LAKTOZA

Dieta bezlaktozowa nie cieszyła się dużą popularnością - była stosowana przez mniej niż 10% respondentów. Wartość ta jest zgodna z częstością diagnozy nietolerancji laktozy wśród pacjentów, co może sugerować, że dieta ta nie jest stosowana, gdy nie ma ku temu medycznych podstaw. Jednocześnie w grupie badanej nie zaobserwowano statystycznie istotnego zwiększenia częstości występowania objawów charakterystycznych dla nietolerancji laktozy. Są to interesujące wyniki, biorąc pod uwagę fakt, że zgodnie z badaniami Heckla i in. (168) nietolerancja laktozy występuje niemal 2 razy częściej u pacjentów z AZT typu Hashimoto w porównaniu do grupy porównawczej. Również objawy we wspomnianych wcześniej badaniach, zwłaszcza ze strony przewodu pokarmowego, występowały zdecydowanie częściej w grupie pacjentów z chorobą Hashimoto. Różnica między badaniami może wynikać z faktu, że w badaniach Heckla i in. grupa pacjentów była diagnozowana pod kątem występowania nietolerancji laktozy przy pomocy testów oddechowych, zaś w niniejszych badaniach oparto się o istniejącą diagnozę. Może to świadczyć o tym, że diagnostyka nietolerancji laktozy nie jest rutynowo przeprowadzana u pacjentów z nietolerancją laktozy, co skutkuje tym, że większość pacjentów jest nieświadoma jej istnienia. Występowanie objawów u około $\frac{1}{3}$ do nawet $\frac{1}{2}$ osób badanych po spożyciu produktów zawierających laktozę, może wskazywać, że nietolerancja ta jest obecna u większej części pacjentów, niż zadeklarowana. Jak wskazują badania Asik i in. (155), stosowanie diety bezlaktozowej u pacjentów, u których nie występuje nietolerancja laktozy, nie wpływa w żaden sposób na parametry związane z AZT, to jednak pacjenci, u których taka nietolerancja zostałaby stwierdzona, mogliby liczyć na poprawę TSH. Wyniki niniejszych badań sugerują, że pacjenci z chorobą Hashimoto rzadko są diagnozowani pod kątem nietolerancji laktozy, chociaż przeprowadzanie takich badań byłoby korzystne dla wyrównania choroby autoimmunologicznej.

Badania Kerbera i in. wskazują na dużą zbieżność wyników badań genetycznych z testami oddechowymi (209), z drugiej strony badania Mądry i in. sugerują, że chociaż badania genetyczne stanowią dobry wskaźnik predyspozycji do nietolerancji laktozy, to jednak nie determinują jej występowania, jak to robią testy oddechowe (210). Interesujący jest fakt, że chociaż to *LCT -13910* jest zazwyczaj wskazywany jako

gen z bardziej rozpowszechnionym wariantem związanym z predyspozycją do wystąpienia nietolerancji laktozy (211–213), to jednak w niniejszych badaniach, zarówno w grupie badanej, jak i porównawczej, częściej obserwowano wariant predysponujący do nietolerancji laktozy w genie *LCT* -22018. Może to wynikać z faktu, że *LCT* -13910 jest zdecydowanie najczęściej badanym genem, występującym w wielu narodowościach i kulturach w wariantie predyspozycji do nietolerancji (214). Analizując występowanie polimorfizmów predysponujących do nietolerancji laktozy oddzielnie, można zauważyć, że około 22–30% respondentów wykazuje taką tendencję. Jeżeli jednak zestawione zostaną obydwa geny i przeanalizowany zostanie zestaw wariantów (tabela 26), podobnie jak w badaniu Bulhøesa i in. (213), to można zauważyć, że około 48,5% pacjentów ma wariant TT/TT, TC/CT bądź TC/TT (tolerancja laktozy), zaś aż 51,5% respondentów charakteryzuje się wariantem CC/TT lub TT/CC (predyspozycja do nietolerancji laktozy), z przewagą tego drugiego. Pozostałe warianty nie zostały stwierdzone w badaniu. Co ciekawe, nie został między innymi stwierdzony wariant CC/CC (w publikacjach często pod nazwą CC/GG), który zazwyczaj jest charakterystyczny dla pacjentów z nietolerancją laktozy (215–218). Również genotyp TT/CC zwraca uwagę, ponieważ praktycznie nie występuje w publikacjach dotyczących badań nad genem *LCT* -13910 w połączeniu z *LCT* -22018, zaś w niniejszych badaniach jest to wariant dominujący w obydwu grupach, jeżeli weźmie się pod uwagę wyłącznie warianty powiązane z nietolerancją laktozy. Warto jednakże zaznaczyć, że we wspomnianych badaniach, analizie poddano inne populacje niż środkowoeuropejską, kaukaską. Zgodnie z doniesieniami Anguita-Ruiz i in., *LCT* -22018 chociaż jest wskazywany jako drugi gen związany z nietolerancją laktozy, to w dużej mierze zależy od regionu *LCT* -13910. Geny te mogą oddziaływać na siebie epistatycznie, zaś *LCT* -22018 nie tylko nie jest w stanie samodzielnie utrzymać zdolności organizmu do trawienia laktozy, ale również w słabym stopniu tłumi aktywność utrzymywaną przez *LCT* -13910, jak wykazały badania *in vitro* (214,219,220). Nasuwa się zatem wniosek, że *LCT* -22018 chociaż związany z wystąpieniem nietolerancji laktozy, może sam w sobie nie przyczyniać się do wystąpienia tej nietolerancji. Stąd wariant TT/CC, zaskakująco, mógłby okazać się fenotypem tolerancji laktozy. Aby jednak wyciągnąć taki wniosek, niezbędne są dalsze badania uwzględniające poziom laktazy oraz występowania objawów u pacjentów posiadających taki wariant.

Chociaż predyspozycja do nietolerancji laktozy jest stosunkowo często występującym wariantem w populacji europejskiej, co potwierdziły również niniejsze badania, to jednak nie zaobserwowano współwystępowania z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto - częstość występowania polimorfizmu była zbliżona w obu grupach. W przeciwieństwie do badań Heckla i in. w niniejszych badaniach nie można potwierdzić związku między genetyczną predyspozycją do nietolerancji laktozy a chorobą Hashimoto. Na szczególną uwagę natomiast zasługuje rozkład wariantów związanych z

nietolerancją laktozy, który wystąpił w zarówno badanej, jak i porównawczej grupie, tak odmienny od standardowo występujących i wymaga dalszych badań w populacji polskiej.

3. FRUKTOZA

W badanych grupach u ani jednej osoby nie wystąpiła zdiagnozowana nietolerancja fruktozy. Jednocześnie można zauważyć, że w odniesieniu do objawów, statystycznie częściej osoby z grupy badanej nie były pewne, czy takie dolegliwości jak ból brzucha lub dyskomfort w jamie brzusznej mogą powiązać ze spożyciem produktów bogatych we fruktozę, zaś ból brzucha po spożyciu takich produktów statystycznie częściej wskazywany był w grupie porównawczej, nie w badanej. Niezwykle interesujący jest fakt, że mimo braku diagnozy oraz braku pewności odnośnie występujących objawów, respondenci stosunkowo często deklarowali stosowanie diety bez fruktozy - zdecydowanie częściej niż stosowali dietę bez laktozy, a nawet częściej niż była stosowana dieta bezglutenowa. Chociaż między grupami badaną i porównawczą nie było statystycznej różnicy w częstości stosowania takiej diety, to jednak ogólny udział osób deklarujących stosowanie diety bezfruktozowej budzi obawy. W przypadku grupy badanej częstość była zbliżona do częstości stosowania GFD, a nawet nieznacznie wyższa, zaś w przypadku grupy porównawczej różnica jest bardziej zauważalna - około 16% vs około 27%. Co więcej, w ponad 60% przypadków respondenci stosujący taką dietę deklarowali ustąpienie objawów i w dalszym ciągu ją kontynuują. Niepokojący może być fakt, że mimo braku diagnozy, pacjenci samodzielnie wdrażają dietę wykluczającą spożywanie produktów zawierających fruktozę, do których również zaliczają się owoce - niezwykle ważne dla zbilansowanej diety.

Wyniki badań genetycznych w sposób nie pozostawiający złudzeń wskazują, że u wszystkich badanych respondentów nie ma ani jednej osoby z fruktozemią. Wybrane do badań geny *ADLOB A150P/A149P* oraz *ADLOB A175D/A174D* zlokalizowane są na chromosomie 9 w obrębie genu aldolazy B bifosforanu fruktozy. *ADLOB A150P/A149P* w wariancie GG wiązany jest z około 65% przypadków wystąpienia wrodzonej nietolerancji fruktozy (HFI) u osób pochodzenia europejskiego, zaś *ADLOB A175D/A174D* wskazywany jest jako druga najczęstsza mutacja genu *ADLOB* (221). Aldolaza B bifosforanu fruktozy katalizuje odwracalną reakcję fruktozo-1-fosforanu do aldehydu glicerynowego i fosforanu dihydroksyacetonu. Dalsza konwersja tych produktów 3-węglowych pozwala produktom ubocznym metabolizmu fruktozy wejść na szlak glikolizy. Homozygotyczna utrata funkcji aldolazy B prowadzi do niezdolności organizmu do rozkładania fruktozy na produkty uboczne przeznaczone do spożycia przez ludzi. Chociaż badania identyfikujące i charakteryzujące szkodliwy charakter mutacji we wspomnianych genach były prowadzone niejednokrotnie, jak na przykład badania Crossa i in. (222), Esposito i in. (223), Davit-Spraul i in. (224), Malay i in. (225), czy też Kim i in. (226), to jednak należy również wziąć pod uwagę, że wariant niosący nietolerancję fruktozy zaliczany jest do bardzo rzadko występujących (MAF

dla populacji europejskiej to ok. 0.005 dla rs1800546 oraz ok. 0.002 dla drugiego SNP). Wynik badań genetycznych z tego względu nie stanowi zaskoczenia i nie daje podstaw do potwierdzenia hipotezy o częstszym występowaniu wariantów nietolerancji fruktozy u pacjentów z chorobą Hashimoto. Chociaż jednak nie ma statystycznej różnicy w częstości występowania mutacji w grupie badanej i grupie porównawczej, nie można też jednoznacznie wykluczyć takiej możliwości ze względu na małą grupę badaną. Fakt, że allel sprawczy jest allelem tak rzadkim sprawia, iż grupa badana musiałaby być wielokrotnie większa, co przy ograniczeniach czasowych oraz finansowych nie było możliwe w ramach niniejszego badania.

Częstość występowania objawów, nie powinna jednak budzić wątpliwości, gdyż zgodnie z badaniami Heckla i in. (168) częstość występowania nietolerancji fruktozy w postaci zespołu złego wchłaniania fruktozy, zarówno w grupie badanej, jak i w grupie porównawczej, była większa nawet niż częstość występowania nietolerancji laktozy. Zespół złego wchłaniania nie jest uwarunkowany genetycznie, zatem mógł wystąpić u pacjentów pomimo braku genetycznych predyspozycji do nietolerancji fruktozy. W przypadku niedoboru GLUT5 występują zaburzenia wchłaniania fruktozy w jelicie oraz dysfunkcje jelit. Zdolność zdrowego dorosłego do dziennego wchłaniania fruktozy mieści się w zakresie od 5 do 50 g. Niewchłonięta fruktoza w jelicie może zostać wydalona z kałem lub wykorzystana przez florę jelitową; ta ostatnia może prowadzić do upośledzenia homeostazy flory jelitowej i funkcji bariery jelitowej, powodując w ten sposób objawy żołądkowo-jelitowe (227,228). Wśród najczęściej zgłaszanych objawów w obydwu grupach występowały wzdęcia i dyskomfort w jamie brzusznej i chociaż kwestia powiązania innych objawów ze spożyciem produktów bogatych we fruktozę nastroczała respondentom trudności, to temat ten wymaga dalszych badań. Istnieją tylko jedno badania poruszające temat nietolerancji fruktozy w AZT typu Hashimoto, a pacjenci zauważalnie często wprowadzali dietę pozbawioną fruktozy bez odpowiedniej diagnozy. Biorąc pod uwagę wyniki Heckla i in. oraz częstość deklarowania ustąpienia dokuczliwych objawów po zastosowaniu diety bezfruktozowej przez respondentów w niniejszym badaniu, można przypuszczać istnienie pewnego związku między chorobą Hashimoto a nietolerancją fruktozy, jednakże zbyt mała liczba danych nie pozwala na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków. Stosowanie diety restrykcyjnej pozbawionej fruktozy jest delikatną kwestią, która wymaga dokładnych badań i w chwili obecnej nie ma podstaw do jej wprowadzania u pacjentów z AZT typu Hashimoto.

4. UROZMAICENIE POŻYWIENIA

U większości respondentów urozmaicenie pożywienia było na wystarczającym bądź dobrym poziomie - zarówno w grupie badanej, jak i w grupie porównawczej. Pomiedzy grupami nie zaobserwowano pod tym względem większych różnic. W nieznacznym stopniu na poziom urozmaicenia pożywiania wpływało częstsze spożywanie produktów trudniej dostępnych w Polsce i egzotycznych, jednakże korelacja ta była zaznaczona w słabym stopniu. Nie zaobserwowano również między grupami większych różnic w częstości spożywania poszczególnych produktów spożywczych, za wyjątkiem słodzonych napojów mlecznych oraz gotowych zbożowych produktów śniadaniowych, które istotnie rzadziej spożywane były w grupie badanej. Kwestionariusz FFQ-6 na potrzeby niniejszego badania został ograniczony do grup produktów jednoznacznie związanych z zawartością składników takich jak gluten, laktoza czy fruktoza, a zatem do produktów zbożowych, nabiałowych oraz owoców. Biorąc pod uwagę fakt, że w grupie badanej statystycznie częściej stosowano dietę bezglutenową, brak różnicy w częstości spożywania produktów zawierających gluten może budzić zastrzeżenia. Taka sytuacja wynikać może z dwóch przyczyn: respondenci stosujący dietę bezglutenową, korzystali z produktów zbożowych bezglutenowych, ale nie mieli możliwości oznaczenia tego faktu w kwestionariuszu ankiety bądź też dieta stosowana przez respondentów nie była w istocie tak restrykcyjna, jak to deklarowali, co wpłynęło korzystnie na poziom urozmaicenia spożywanych produktów. Korzystniejsze dla badań byłoby zmodyfikowanie istniejącego kwestionariusza FFQ-6 podobnie jak w badaniu Krupy-Kozak i in. (229) poprzez dodanie do wyboru również produktów bezglutenowych oraz bezlaktozowych. Zastanawiający jest również fakt, że chociaż blisko $\frac{1}{3}$ ankietowanych stosowała kiedykolwiek dietę bez fruktozy, zaś ponad 20% deklaruje jej aktualne stosowanie, to jednak na pytanie o częstość spożywania owoców ogółem, większość respondentów wskazywała spożycie kilka razy w tygodniu bądź codziennie, zaś ani jedna osoba nie wskazała odpowiedzi "nigdy lub prawie nigdy". Są to dość sprzeczne wnioski, zatem można podejrzewać, że albo pacjenci nie stosują się do narzuconej sobie diety w sposób restrykcyjny i często pozwalają na odstępstwa, bądź też zdając sobie sprawę z wartości odżywczych, jakie niesie spożywanie owoców - odpowiadają w kwestionariuszu zawyżając rzeczywistą częstość spożywania tych produktów. W porównaniu do badań Jarocho i in. (230) u respondentów rzadziej stwierdzany był dobry poziom urozmaicenia pożywienia, a częściej nieodpowiedni. Różnica ta może wynikać z faktu, że w przytoczonych badaniach grupę badaną tworzyły osoby niepełnoletnie, które zazwyczaj nie odżywiają się samodzielnie, a korzystają z produktów dostarczanych przez rodziców. W niniejszych badaniach rekrutowane były wyłącznie osoby pełnoletnie, a zatem takie, które samodzielnie wybierają spożywane produkty żywnościowe. Podkreślają to również badania Malary i in. (231) gdzie badano młodzież między

13 a 15 rokiem życia. Ankietowani uzyskali jeszcze lepsze wyniki dotyczące urozmaicenia spożywania, gdyż większość z nich miała spożycie na poziomie dobrym, a nie tylko wystarczającym.

Przeprowadzone badania nie potwierdziły hipotezy o mniejszym urozmaiceniu diety osób z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto. Konieczne byłoby jednak przeprowadzenie szerzej zakrojonych badań skupiających się na podziale pacjentów na grupy znajdujące się na dietach restrykcyjnych oraz konwencjonalnych. Zbyt mała liczba osób w niniejszym badaniu, znajdująca się aktualnie na diecie z wykluczeniem glutenu, laktozy bądź fruktozy, nie pozwoliła na przeprowadzenie wiarygodnych badań weryfikujących taką zależność.

5. SŁABE I MOCNE STRONY BADAŃ

Zauważone zostały słabe strony badania, jakimi mogła być zbyt mała grupa badana pacjentów, zwłaszcza w kontekście badania występowania genetycznych predyspozycji do nietolerancji fruktozy, które występują niezmiernie rzadko. Dodatkowo, interesujące wyniki mogłoby dać poszerzenie badania o wprowadzenie badań serologicznych przeciwciał związanych z nietolerancją glutenu, poziomu laktazy, jak również przeprowadzenie testów oddechowych. Wspomniane ograniczenia badania wynikały przede wszystkim z ograniczeń finansowych. Wśród mocnych stron badania można przede wszystkim wyróżnić zebraną, reprezentatywną grupę pacjentów oraz grupę porównawczą, jak również odpowiednio dobrane metody diagnostyki genetycznej. Badania są innowacyjne i dostarczają interesujących obserwacji.

VI. Wnioski

Przeprowadzone badania nie potwierdziły hipotezy o współwystępowaniu wariantów związanych z predyspozycją do nietolerancji glutenu, laktozy czy fruktozy u pacjentów z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto. Nie ma zatem podstaw do ogólnego wprowadzania diety bezglutenowej, bezlaktozowej bądź z wykluczeniem fruktozy u pacjentów z AZT typu Hashimoto. Interesującą obserwacją jest obecność wariantów genów *LCT* -13910 oraz -22018, które do tej pory nie pojawiły się w innych badaniach: TT/CC (inny zapis: TT/GG), zaś w tym badaniu stanowiły dominujący wariant wśród predysponujących do nietolerancji laktozy. Przyczyną może być fakt, że w badaniach wzięły udział wyłącznie Polki, a zatem osoby prawdopodobnie podobnego pochodzenia etnicznego. Konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań, jednakże obserwacja ta może sugerować odmienny genotyp u osób rasy kaukaskiej pochodzącej z Polski, w porównaniu do reszty populacji europejskiej.

Nie stwierdzono, aby pacjentki z grupy badanej częściej stosowały diety restrykcyjne z wykluczeniem laktozy czy fruktozy w porównaniu do grupy porównawczej, jednakże badania potwierdziły częstsze stosowanie diety bezglutenowej. Mimo braku postawionej diagnozy o nietolerancji wspomnianych związków odżywczych, niezależnie od przynależności do grupy, można stwierdzić, że istnieje tendencja do samodzielnego wprowadzania diet restrykcyjnych. Zgłaszane przez pacjentki objawy związane ze spożyciem konkretnych produktów powinny stanowić przesłankę do dalszych badań występowania nietolerancji glutenu, laktozy i fruktozy. Fakt, że genetyczna predyspozycja do nietolerancji laktozy występuje stosunkowo często w populacji, zaś uzasadnione stosowanie diety bezlaktozowej może przyczynić się do poprawy parametrów w autoimmunologicznym zapaleniu tarczycy typu Hashimoto, stanowi przesłankę do wprowadzenia oddechowych testów na nietolerancję laktozy u pacjentów bądź badania poziomu laktazy. Z uwagi na istniejące związki między chorobą Hashimoto a celiakią, warto również uświadamiać pacjentów, aby nie wprowadzali GFD samodzielnie, a poddali się najpierw badaniom przesiewowym na obecność choroby trzewnej, NCGS bądź alergii na pszenicę.

Badania nie potwierdziły również hipotezy o mniejszym urozmaiceniu diety pacjentek z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto, jednakże należy pamiętać, że każde stosowanie diety restrykcyjnej niesie za sobą takie ryzyko.

Podsumowanie wniosków:

- ❖ U osób z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto warianty genów związane z nietolerancją laktozy, fruktozy i glutenu nie występują częściej niż w populacji ogólnej. Należy przeprowadzić dalsze badania nad wariantem genów *LCT* -13910 oraz -22018: TT/CC, który może być charakterystyczny dla osób rasy kaukaskiej pochodzącej z Polski.
- ❖ Osoby z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto częściej niż osoby zdrowe wprowadzają dietę eliminującą gluten bez odpowiedniej diagnostyki
- ❖ Dieta osób z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto nie jest mniej urozmaicona niż w populacji ogólnej

VII. Streszczenie/Summary

1. STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Wstęp. Przewlekłe zapalenie tarczycy typu Hashimoto jest coraz częściej diagnozowaną jednostką chorobową. Aktualne zalecenia dietetyczne dla pacjentów nie różnią się znacząco od zaleceń dla osób zdrowych. Często jednakże podejmowany jest temat stosowania diety bezglutenowej czy bezlaktozowej w AZT. Celem prowadzonych badań jest ustalenie współwystępowania predyspozycji genetycznych do nietolerancji pokarmowych na gluten, laktozę i fruktozę wśród pacjentów z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto w porównaniu do populacji ogólnej.

Materiał i metody. U 93 pacjentek ze stwierdzonym AZT typu Hashimoto oraz u 93 osób z grupy porównawczej przeprowadzono genotypowanie *ADLOB A150P/A149P* (SNP ID: rs1800546), *ADLOB A175D/A174D* (SNP ID: rs76917243) oraz *LCT C/T-13907* (SNP ID: rs4988235) przy pomocy markerów pojedynczo-nukleotydowych SNP opierających się na technologii TaqMan®. W przypadku analizy genotypów *HLA DQ2* (SNP ID: rs2187668), *HLA DQ8* (SNP ID: rs 7454108) oraz *LCT G/A-22018* (SNP ID: rs182549) zastosowano amplifikację przy użyciu polimerazy Titanium (Clontech) do fragmentów o długości do 1000 pz. Dodatkowo pacjentki zostały poddane badaniu przy użyciu kwestionariuszy ankiet: autorski kwestionariusz ogólnego stanu zdrowia i sposobu żywienia, kwestionariusz urozmaicenia spożycia (FiveQ) i kwestionariusz częstości spożycia FFQ-6.

Wyniki. Nie zaobserwowano statystycznie istotnej różnicy w częstości występowania polimorfizmów związanych z nietolerancją glutenu, laktozy ani fruktozy w grupie badanej w porównaniu do grupy porównawczej ($p > 0,05$). Test χ^2 niezależności wykazał, że wśród osób z grupy badanej częściej stosowano dietę całkowicie wykluczającą gluten niż w grupie porównawczej ($p = 0,012$). Podobnego związku nie zaobserwowano w przypadku diety bezlaktozowej i bez fruktozy, ale dieta z wykluczeniem fruktozy była stosowana u około 32% respondentek ogółem. Nie wykazano, aby w grupie badanej częściej występowało nieodpowiednie zróżnicowanie pożywienia.

Wnioski. Nietolerancje pokarmowe na gluten, laktozę i fruktozę nie współwystępują z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto. Chociaż pacjenki stosują urozmaiconą dietę, to osoby chore częściej decydują się na wprowadzenie diety bezglutenowej niż osoby zdrowe, bez odpowiednich wskazań klinicznych. Interesującą obserwacją jest występujący w badaniu wariant *LCT - 13910* i *-22018*: TT/CC (inaczej TT/GG), który nie był obserwowany w innych badaniach, a może być charakterystyczny dla populacji kaukaskiej.

2. SUMMARY

Food intolerances among patients with Hashimoto's disease

Background: Hashimoto's thyroiditis is an increasingly frequently diagnosed disease entity. The current dietary recommendations for patients do not differ significantly from those for healthy people. Often, however, the topic of gluten-free or lactose-free diet in AZT is raised. The research aims to determine the coexistence of genetic predisposition to food intolerance to gluten, lactose, and fructose in patients with HT compared to the general population.

Methods: *ADLOB A150P / A149P* (SNP ID: rs1800546), *ADLOB A175D / A174D* (SNP ID: rs76917243), and *LCT C / T-13907* (SNP ID: rs4988235) genotyping was performed in 93 patients diagnosed with HT and 93 controls using single-nucleotide SNP markers based on TaqMan® technology. For the analysis of *HLA DQ2* (SNP ID: rs2187668), *HLA DQ8* (SNP ID: rs 7454108) and *LCT G/A-22018* (SNP ID: rs182549) genotypes, amplification using Titanium polymerase (Clontech) was applied. Additionally, the patients were examined using the proprietary general health and dietary questionnaire (Annex 1), the dietary diversification questionnaire (FiveQ), and the FFQ-6 consumption questionnaire.

Results: There was no statistically significant difference in the incidence of polymorphisms associated with gluten, lactose, or fructose intolerance in the HT group compared to the control group ($p > 0.05$). The χ^2 independence test showed that the patients used a diet excluding gluten more often than the control group ($p = 0.012$). A similar relationship was not observed with the lactose-free and fructose-free diets, but the fructose-excluded diet was used by approximately 32% of the total respondents. It has not been shown an inadequate differentiation of food in the HT group.

Conclusion: Food intolerances to gluten, lactose, and fructose do not coexist with Hashimoto thyroiditis. Although patients follow an appropriately varied diet, patients more often decide to introduce a gluten-free diet than healthy people, without appropriate clinical indications. An interesting observation is the *LCT -13910* and *-22018* variant: TT/CC (or TT/GG) present in the study, which was not observed in other studies and may be characteristic of the Slavic population.

VIII. Piśmiennictwo

1. Mincer DL, Jialal I. Hashimoto Thyroiditis. W: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cytowane 26 luty 2021]. Dostępne na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459262/>
2. Brown RS. Autoimmune thyroid disease: unlocking a complex puzzle. *Curr Opin Pediatr*. sierpień 2009;21(4):523–8.
3. Pyzik A, Grywalska E, Matyjaszek-Matuszek B, Roliński J. Immune Disorders in Hashimoto's Thyroiditis: What Do We Know So Far? *J Immunol Res* [Internet]. 2015 [cytowane 26 styczeń 2019];2015. Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4426893/>
4. Jarosz M, Rychlik E, Stoś K, Charzewska J, redaktorzy. Normy żywienia dla populacji Polski i ich zastosowanie. Warszawa: Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny; 2020. 465 s.
5. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, i in. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab*. luty 2002;87(2):489–99.
6. Hughes K, Eastman C. Hashimoto's thyroiditis: How to spot the diagnosis and how to manage it. *Medicine Today*. 1 wrzesień 2017;18:27–32.
7. Tandon N, Zhang L, Weetman AP. HLA associations with Hashimoto's thyroiditis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. maj 1991;34(5):383–6.
8. Parvathaneni A, Fischman D, Cheriya P. Hashimoto's Thyroiditis. W: *A New Look at Hypothyroidism*. 2012. s. 47–68.
9. Dayan CM, Daniels GH. Chronic Autoimmune Thyroiditis. *The New England Journal of Medicine*. 1996;11.
10. Gebe JA, Swanson E, Kwok WW. HLA class II peptide-binding and autoimmunity. *Tissue Antigens*. luty 2002;59(2):78–87.
11. Wu Z, Stephens HAF, Sachs JA, Biro PA, Cutbush S, Magzoub MMA, i in. Molecular analysis of HLA-DQ and -DP genes in caucasoid patients with Hashimoto's thyroiditis. *Tissue Antigens*. 1994;43(2):116–9.
12. Einarsdottir E, Söderström I, Löfgren-Burström A, Haraldsson S, Nilsson-Ardnor S, Penha-Goncalves C, i in. The CTLA4 region as a general autoimmunity factor: An extended pedigree provides evidence for synergy with the HLA locus in the etiology of type 1 diabetes mellitus, Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease. *European Journal of Human Genetics*. styczeń 2003;11(1):81–4.
13. Chistiakov DA, Turakulov RI. CTLA-4 and its role in autoimmune thyroid disease. *Journal of Molecular Endocrinology*. 1 sierpień 2003;31(1):21–36.
14. Villanueva R, Greenberg DA, Davies TF, Tomer Y. Sibling Recurrence Risk in Autoimmune Thyroid Disease [Internet]. <https://home.liebertpub.com/thy>. Mary Ann Liebert, Inc.; 2004 [cytowane 2 marzec 2021]. Dostępne na: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/105072503768499653>
15. Brix TH, Hegedüs L, Gardas A, Banga JP, Nielsen CH. Monozygotic twin pairs discordant for Hashimoto's thyroiditis share a high proportion of thyroid peroxidase autoantibodies to the immunodominant region A. Further evidence for genetic transmission of epitopic „fingerprints”. *Autoimmunity*. maj 2011;44(3):188–94.
16. Bothra N, Shah N, Goroshi M, Jadhav S, Padalkar S, Thakkar H, i in. Hashimoto's thyroiditis: relative recurrence risk ratio and implications for screening of first-degree relatives. *Clinical*

- Endocrinology. 2017;87(2):201–6.
17. Leung AKC, Leung AAC. Evaluation and management of the child with hypothyroidism. *World J Pediatr.* 1 kwiecień 2019;15(2):124–34.
 18. Pearce EN, Farwell AP, Braverman LE. Thyroiditis. *N Engl J Med.* 26 czerwiec 2003;348(26):2646–55.
 19. Dietrich G, Piechaczyk M, Pau B, Kazatchkine MD. Evidence for a restricted idiotypic and epitopic specificity of anti-thyroglobulin autoantibodies in patients with autoimmune thyroiditis. *Eur J Immunol.* marzec 1991;21(3):811–4.
 20. Champion BR, Page KR, Parish N, Rayner DC, Dawe K, Biswas-Hughes G, i in. Identification of a thyroxine-containing self-epitope of thyroglobulin which triggers thyroid autoreactive T cells. *J Exp Med.* 1 sierpień 1991;174(2):363–70.
 21. Ramos-Leví AM, Marazuela M. Pathogenesis of thyroid autoimmune disease: the role of cellular mechanisms. *Endocrinol Nutr.* 1 październik 2016;63(8):421–9.
 22. Marazuela M. Lymphocyte traffic and homing in autoimmune thyroid disorders. *Eur J Endocrinol.* kwiecień 1999;140(4):287–90.
 23. Martin A, Davies TF. T cells and human autoimmune thyroid disease: emerging data show lack of need to invoke suppressor T cell problems. *Thyroid.* 1992;2(3):247–61.
 24. Ajjan RA, Weetman AP. The Pathogenesis of Hashimoto's Thyroiditis: Further Developments in our Understanding. *Hormone and Metabolic Research.* 12 wrzesień 2015;47:702–10.
 25. Machała E, Redynk M, Iavorska I, Machała P. Hashimoto's thyroiditis. *World Scientific News.* 2019;128(2):302–14.
 26. LiVOLSI VA. The Pathology of Autoimmune Thyroid Disease: A Review. *Thyroid.* 1 styczeń 1994;4(3):333–9.
 27. Akamizu T, Amino N. Hashimoto's Thyroiditis. W: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dungan K, i in., redaktorzy. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000 [cytowane 8 marzec 2021]. Dostępne na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285557/>
 28. Eghtedari B, Correa R. Levothyroxine. W: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cytowane 26 luty 2021]. Dostępne na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539808/>
 29. Takasu N, Komiya I, Asawa T, Nagasawa Y, Yamada T. Test for recovery from hypothyroidism during thyroxine therapy in Hashimoto's thyroiditis. *Lancet.* 3 listopad 1990;336(8723):1084–6.
 30. Takasu N, Yamada T, Takasu M, Komiya I, Nagasawa Y, Asawa T, i in. Disappearance of thyrotropin-blocking antibodies and spontaneous recovery from hypothyroidism in autoimmune thyroiditis. *N Engl J Med.* 20 luty 1992;326(8):513–8.
 31. Overview | Thyroid disease: assessment and management | Guidance | NICE [Internet]. NICE; [cytowane 12 marzec 2021]. Dostępne na: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng145>
 32. Ihnatowicz P, Drywień M, Wątor P, Wojsiat J. The importance of nutritional factors and dietary management of Hashimoto's thyroiditis. *Ann Agric Environ Med.* 19 czerwiec 2020;27(2):184–93.
 33. Manna P, Jain SK. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metab Syndr Relat Disord.* 1 grudzień 2015;13(10):423–44.
 34. Kawicka A, Regulska-Ilow B. Metabolic disorders and nutritional status in autoimmune thyroid diseases. *Postępy Hig Med Dosw (Online).* 2 styczeń 2015;69:80–90.
 35. Lachowicz K, Stachoń M, Kołota A. The role of ingredients contained in fish and fish products in hashimoto disease®. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego* [Internet]. 2020 [cytowane 16 marzec 2021];nr 1. Dostępne na: <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.baztech-c35a8c12-c6f4-4b3c-add8-45b54b881c96>
 36. Zakrzewska E, Zegan M, Michota-Katulska E. Zalecenia dietetyczne w niedoczynności tarczycy przy współwystępowaniu choroby Hashimoto. *BROMAT CHEM TOKSYKOL.*

- 2015;XLVIII,(2):117–27.
37. Ratajczak AE, Moszak M, Grzymisławski M. Dietary recommendations for hypothyroidism and Hashimoto's disease. *Nursing and Public Health*. 29 grudzień 2017;7:305–11.
 38. Gibiński M. β -glukany owsa jako składnik żywności funkcjonalnej. *ŻYWNÓŚĆ Nauka Technologia Jakość*. 2008;2(57):15–29.
 39. Omeljaniuk WJ, Dziemianowicz M, Naliwajko SK, Bartosiuk E, Markiewicz-Żukowska R, Borawska MH. Ocena sposobu żywienia pacjentek z chorobą Hashimoto. *BROMAT CHEM TOKSYKOL*. 2011;XLIV(3):428–33.
 40. Westerterp-Plantenga MS, Luscombe N, Lejeune MP, Diepvens K, Nieuwenhuizen A, Engelen M, i in. Dietary protein, metabolism, and body-weight regulation: Dose-response effects. *International Journal of Obesity*. 1 grudzień 2006;30:S16–23.
 41. Mansourian AR. Metabolic pathways of tetraiodothyronine and triiodothyronine production by thyroid gland: a review of articles. *Pak J Biol Sci*. 1 stycznia 2011;14(1):1–12.
 42. Pałkowska-Goździk E, Lachowicz K, Rosołowska-Huszcz D. Effects of Dietary Protein on Thyroid Axis Activity. *Nutrients* [Internet]. 22 grudzień 2017 [cytowane 17 marzec 2021];10(1). Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5793233/>
 43. Shi ZX, Levy A, Lightman SL. The effect of dietary protein on thyrotropin-releasing hormone and thyrotropin gene expression. *Brain Res*. 19 marzec 1993;606(1):1–4.
 44. Lachowicz K, Stachoń M, Pałkowska-Goździk E, Lange E. Fizjologiczne aspekty postępowania dietetycznego w chorobie Hashimoto. *Kosmos*. 8 lipiec 2019;68(2):201–14.
 45. Passos MC, da Fonte Ramos C, Dutra SCP, Mouço T, de Moura EG. Long-term effects of malnutrition during lactation on the thyroid function of offspring. *Horm Metab Res*. styczeń 2002;34(1):40–3.
 46. Shrader RE, Hastings-Roberts MM, Ferlatte MI, Zeman FJ. Effect of prenatal protein deprivation on fetal and neonatal thyroid morphology in the rat. *J Nutr*. luty 1977;107(2):213–20.
 47. Januszko O, Kałuża J. Znaczenie ryb i przetworów rybnych w żywieniu człowieka ? analiza korzyści i zagrożeń. *Kosmos*. 8 lipiec 2019;68(2):269–81.
 48. Rosołowska-Huszcz D, Lachowicz K, Pałkowska E. Lipidy w interakcjach z hormonami tarczycy. *Kosmos*. 2016;65(3):361–70.
 49. Shao S, Zhao Y, Song Y, Xu C, Yang J, Xuan S, i in. Dietary high-fat lard intake induces thyroid dysfunction and abnormal morphology in rats. *Acta Pharmacol Sin*. listopad 2014;35(11):1411–20.
 50. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr*. grudzień 2002;21(6):495–505.
 51. Boelen A, Wiersinga WM, Fliers E. Fasting-induced changes in the hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Thyroid*. luty 2008;18(2):123–9.
 52. Lachowicz K, Pałkowska-Goździk E, Rosołowska-Huszcz D. Aktywność osi podwzgórze-przysadka-tarczyca (HPT) i funkcjonowanie mięśnia sercowego w warunkach deficytu energetycznego. *Postepy Hig Med Dosw*. 2017;(71):1154–71.
 53. Coppola A, Hughes J, Esposito E, Schiavo L, Meli R, Diano S. Suppression of hypothalamic deiodinase type II activity blunts TRH mRNA decline during fasting. *FEBS Letters*. 29 sierpień 2005;579(21):4654–8.
 54. Ortega-Carvalho T, Curty F, Nascimento-Saba C, Moura E, Polak J, Pazos-Moura C. Pituitary neuromedin B content in experimental fasting and diabetes mellitus and correlation with thyrotropin secretion. *Metabolism*. 1 luty 1997;46(2):149–53.
 55. Galton VA, Hernandez A, St. Germain DL. The 5'-Deiodinases Are Not Essential for the Fasting-Induced Decrease in Circulating Thyroid Hormone Levels in Male Mice: Possible Roles for the Type 3 Deiodinase and Tissue Sequestration of Hormone. *Endocrinology*. 1 sierpień 2014;155(8):3172–81.
 56. Moreira-Andres MN, Black EG, Ramsden DB, Hoffenberg R. The effect of calorie restriction on serum thyroid hormone binding proteins and free hormone in obese patients. *Clin Endocrinol*

- (Oxf). marzec 1980;12(3):249–55.
57. Lachowicz K, Stachoń M, Pawłowska-Goździk E, Fürstenberg E, Rosołowska-Huszcz D. Wskaźnik wychwytu i poziomu wewnątrzkomórkowego hormonów tarczycy w warunkach deficytu energetycznego. W: Gromadzka-Ostrowska J, redaktor. *Metabolizm i fizjologia jako podstawy postępowania dietetycznego*. Warszawa: Wydawnictwo SGGW; 2016.
 58. Sadowska J, Stawska A. Dietoprofilaktyka chorób współtowarzyszących niedoczynności tarczycy w wybranej grupie kobiet. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* [Internet]. 2015 [cytowane 16 marzec 2021];48(4). Dostępne na: <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.agro-788600f7-0926-489f-be9c-0f455636252c>
 59. Khatawkar A, Awati S. Thyroid gland - Historical aspects, Embryology, Anatomy and Physiology. *IAIM*. 2015;2(9):165–71.
 60. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. *The Thyroid Gland*. W: *Ganong's Review of Medical Physiology* [Internet]. 25. wyd. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2018 [cytowane 27 styczeń 2021]. Dostępne na: accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1115830016
 61. Hu S, Rayman MP. Multiple Nutritional Factors and the Risk of Hashimoto's Thyroiditis. *Thyroid*. 2017;27(5):597–610.
 62. Zimmermann M, Trumbo PR. Iodine. *Adv Nutr*. 6 marzec 2013;4(2):262–4.
 63. Zimmermann MB, Boelaert K. Iodine deficiency and thyroid disorders. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 1 kwiecień 2015;3(4):286–95.
 64. Luo Y, Kawashima A, Ishido Y, Yoshihara A, Oda K, Hiroi N, i in. Iodine excess as an environmental risk factor for autoimmune thyroid disease. *Int J Mol Sci*. 21 lipiec 2014;15(7):12895–912.
 65. Lontiris MI, Mazokopakis EE. 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. Points that need more investigation. *Hell J Nucl Med*. kwiecień 2017;20(1):51–6.
 66. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for iodine. *EFSA Journal*. 2014;12(5):3660.
 67. International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders, UNICEF, World Health Organization. *Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination: a guide for programme managers*. Geneva: World Health Organization; 2007.
 68. Xue H, Wang W, Li Y, Shan Z, Li Y, Teng X, i in. Selenium upregulates CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in iodine-induced autoimmune thyroiditis model of NOD.H-2(h4) mice. *Endocr J*. 2010;57(7):595–601.
 69. Rayman MP. Selenium and human health. *Lancet*. 31 marzec 2012;379(9822):1256–68.
 70. Mezzomo TR, Nadal J. Effect of nutrients and dietary substances on thyroid function and hypothyroidism. *Demetra: Food, Nutrition & Health*. 2016;11(2):427–43.
 71. Darras VM, Herck SLJV. Iodothyronine deiodinase structure and function: from ascidians to humans. *Journal of Endocrinology*. 1 listopad 2012;215(2):189–206.
 72. Köhrle J, Jakob F, Contempré B, Dumont JE. Selenium, the Thyroid, and the Endocrine System. *Endocrine Reviews*. 1 grudzień 2005;26(7):944–84.
 73. Santos LR, Neves C, Melo M, Soares P. Selenium and Selenoproteins in Immune Mediated Thyroid Disorders. *Diagnostics (Basel)* [Internet]. 4 październik 2018 [cytowane 19 marzec 2021];8(4). Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6316875/>
 74. Stuss M, Michalska-Kasiczak M, Sewerynek E. The role of selenium in thyroid gland pathophysiology. *Endokrynologia Polska*. 2017;68(4):440–65.
 75. Karimi F, Omrani GR. Effects of selenium and vitamin C on the serum level of antithyroid peroxidase antibody in patients with autoimmune thyroiditis. *J Endocrinol Invest*. kwiecień 2019;42(4):481–7.
 76. Duntas LH, Benvenga S. Selenium: an element for life. *Endocrine*. kwiecień 2015;48(3):756–75.
 77. Ventura M, Melo M, Carrilho F. Selenium and Thyroid Disease: From Pathophysiology to

- Treatment. *Int J Endocrinol* [Internet]. 2017 [cytowane 19 marzec 2021];2017. Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5307254/>
78. Socha K, Dziemianowicz M, Omeljaniuk WJ, Soroczyńska J, Borawska MH. Nawyki żywieniowe a stężenie seleniu w surowicy u pacjentów z chorobą Hashimoto. *Probl Hig Epidemiol*. 2012;93(4):824–7.
 79. Rayman MP. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *Br J Nutr*. sierpień 2008;100(2):254–68.
 80. Bogdan AR, Miyazawa M, Hashimoto K, Tsuji Y. Regulators of Iron Homeostasis: New Players in Metabolism, Cell Death, and Disease. *Trends Biochem Sci*. marzec 2016;41(3):274–86.
 81. Fayadat L, Niccoli-Sire P, Lanet J, Franc JL. Role of heme in intracellular trafficking of thyroperoxidase and involvement of H₂O₂ generated at the apical surface of thyroid cells in autocatalytic covalent heme binding. *J Biol Chem*. 9 kwiecień 1999;274(15):10533–8.
 82. Nekrasova TA, Strongin LG, Ledentsova OV. [Hematological disturbances in subclinical hypothyroidism and their dynamics during substitution therapy]. *Klin Med (Mosk)*. 2013;91(9):29–33.
 83. Mody RJ, Brown PI, Wechsler DS. Refractory iron deficiency anemia as the primary clinical manifestation of celiac disease. *J Pediatr Hematol Oncol*. luty 2003;25(2):169–72.
 84. Sategna-Guidetti C, Bruno M, Mazza E, Carlino A, Predebon S, Tagliabue M, i in. Autoimmune thyroid diseases and coeliac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. listopad 1998;10(11):927–31.
 85. Mele C, Caputo M, Bisceglia A, Samà MT, Zavattaro M, Aimaretti G, i in. Immunomodulatory Effects of Vitamin D in Thyroid Diseases. *Nutrients* [Internet]. 16 maj 2020 [cytowane 22 marzec 2021];12(5). Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7284826/>
 86. Howe WR, Dellavalle R. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 8 listopad 2007;357(19):1981; author reply 1981–1982.
 87. Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, Hsieh JC, Thompson PD, Selznick SH, i in. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res*. marzec 1998;13(3):325–49.
 88. Wang J, Lv S, Chen G, Gao C, He J, Zhong H, i in. Meta-Analysis of the Association between Vitamin D and Autoimmune Thyroid Disease. *Nutrients*. 3 kwiecień 2015;7(4):2485–98.
 89. Włochal M, Kucharski MA, Grzymisławski M. The effects of vitamins and trace minerals on chronic autoimmune thyroiditis. *JMS*. 2014;83(2):167–72.
 90. Nettore IC, Albano L, Ungaro P, Colao A, Macchia PE. Sunshine vitamin and thyroid. *Rev Endocr Metab Disord*. 2017;18(3):347–54.
 91. Zhao R, Zhang W, Ma C, Zhao Y, Xiong R, Wang H, i in. Immunomodulatory Function of Vitamin D and Its Role in Autoimmune Thyroid Disease. *Front Immunol* [Internet]. 19 luty 2021 [cytowane 22 marzec 2021];12. Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7933459/>
 92. Jamka M, Ruchała M, Walkowiak J. [Vitamin D and Hashimoto's disease]. *Pol Merkur Lekarski*. 25 wrzesień 2019;47(279):111–3.
 93. Mazokopakis EE, Papadomanolaki MG, Tsekouras KC, Evangelopoulos AD, Kotsiris DA, Tzortzinis AA. Is vitamin D related to pathogenesis and treatment of Hashimoto's thyroiditis? *Hell J Nucl Med*. grudzień 2015;18(3):222–7.
 94. Camurdan OM, Döğrer E, Bideci A, Celik N, Cinaz P. Vitamin D status in children with Hashimoto thyroiditis. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2012;25(5–6):467–70.
 95. Unal AD, Tarcin O, Parildar H, Cigerli O, Eroglu H, Demirag NG. Vitamin D deficiency is related to thyroid antibodies in autoimmune thyroiditis. *Cent Eur J Immunol*. 2014;39(4):493–7.
 96. Shin DY, Kim KJ, Kim D, Hwang S, Lee EJ. Low serum vitamin D is associated with anti-thyroid peroxidase antibody in autoimmune thyroiditis. *Yonsei Med J*. marzec 2014;55(2):476–81.
 97. Chahardoli R, Saboor-Yaraghi A-A, Amouzegar A, Khalili D, Vakili AZ, Azizi F. Can Supplementation with Vitamin D Modify Thyroid Autoantibodies (Anti-TPO Ab, Anti-Tg Ab) and

- Thyroid Profile (T3, T4, TSH) in Hashimoto's Thyroiditis? A Double Blind, Randomized Clinical Trial. *Horm Metab Res.* maj 2019;51(5):296–301.
98. Kim C-Y, Lee YJ, Choi J-H, Lee SY, Lee HY, Jeong DH, i in. The Association between Low Vitamin D Status and Autoimmune Thyroid Disease in Korean Premenopausal Women: The 6th Korea National Health and Nutrition Examination Survey, 2013-2014. *Korean J Fam Med.* wrzesień 2019;40(5):323–8.
 99. Wang X, Zynat J, Guo Y, Osiman R, Tuhuti A, Zhao H, i in. Low Serum Vitamin D Is Associated with Anti-Thyroid-Globulin Antibody in Female Individuals. *Int J Endocrinol.* 2015;2015:285290.
 100. Vieira IH, Rodrigues D, Paiva I. Vitamin D and Autoimmune Thyroid Disease—Cause, Consequence, or a Vicious Cycle? *Nutrients* [Internet]. 11 wrzesień 2020 [cytowane 22 marzec 2021];12(9). Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7551884/>
 101. Barchetta I, Baroni MG, Leonetti F, De Bernardinis M, Bertocchini L, Fontana M, i in. TSH levels are associated with vitamin D status and seasonality in an adult population of euthyroid adults. *Clin Exp Med.* sierpień 2015;15(3):389–96.
 102. Kim D. The Role of Vitamin D in Thyroid Diseases. *Int J Mol Sci* [Internet]. 12 wrzesień 2017 [cytowane 22 marzec 2021];18(9). Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5618598/>
 103. D'Aurizio F, Villalta D, Metus P, Doretto P, Tozzoli R. Is vitamin D a player or not in the pathophysiology of autoimmune thyroid diseases? *Autoimmun Rev.* maj 2015;14(5):363–9.
 104. Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol.* sierpień 2010;10(4):482–96.
 105. Prietl B, Treiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and Immune Function. *Nutrients.* 5 lipiec 2013;5(7):2502–21.
 106. Khanam S. Impact of zinc on thyroid metabolism. *Journal of Diabetes, Metabolic Disorders & Control.* 26 luty 2018;5:27–8.
 107. Gapys B, Raszeja-Specht A, Bielarczyk H. Role of zinc in physiological and pathological processes of the body. *Diagnostyka Laboratoryjna -Journal of Laboratory Diagnostics.* 1 styczeń 2014;50:45–52.
 108. Betsy A, Binitha M, Sarita S. Zinc deficiency associated with hypothyroidism: an overlooked cause of severe alopecia. *Int J Trichology.* styczeń 2013;5(1):40–2.
 109. Gröber U, Schmidt J, Kisters K. Magnesium in Prevention and Therapy. *Nutrients.* 23 wrzesień 2015;7(9):8199–226.
 110. Wang K, Wei H, Zhang W, Li Z, Ding L, Yu T, i in. Severely low serum magnesium is associated with increased risks of positive anti-thyroglobulin antibody and hypothyroidism: A cross-sectional study. *Scientific Reports.* 2 lipiec 2018;8(1):9904.
 111. Dymarska E, Grochowalska A, Krauss H. Wpływ sposobu odżywiania na układ odpornościowy. Immunomodulacyjne działanie kwasów tłuszczowych, witamin i składników mineralnych oraz przeciwutleniaczy. *Nowiny lekarskie.* 2013;82(3):222–31.
 112. Sworczak K, Wiśniewski P. The role of vitamins in the prevention and treatment of thyroid disorders. *Endokrynologia Polska.* 2011;62(4):340–4.
 113. Brossaud J, Pallet V, Corcuff J-B. Vitamin A, endocrine tissues and hormones: interplay and interactions. *Endocr Connect.* październik 2017;6(7):R121–30.
 114. Jubiz W, Ramirez M. Effect of Vitamin C on the Absorption of Levothyroxine in Patients With Hypothyroidism and Gastritis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 1 czerwiec 2014;99(6):E1031–4.
 115. Gonçalves CFL, de Freitas ML, Ferreira ACF. Flavonoids, Thyroid Iodide Uptake and Thyroid Cancer—A Review. *Int J Mol Sci* [Internet]. 12 czerwiec 2017 [cytowane 25 marzec 2021];18(6). Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5486070/>
 116. Petroski W, Minich DM. Is There Such a Thing as „Anti-Nutrients”? A Narrative Review of Perceived Problematic Plant Compounds. *Nutrients.* 24 wrzesień 2020;12(10).

117. Fahey JW, Zalcmann AT, Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*. styczeń 2001;56(1):5–51.
118. Babiker A, Alawi A, Al Atawi M, Al Alwan I. The role of micronutrients in thyroid dysfunction. *Sudan J Paediatr*. 2020;20(1):13–9.
119. Felker P, Bunch R, Leung AM. Concentrations of thiocyanate and goitrin in human plasma, their precursor concentrations in brassica vegetables, and associated potential risk for hypothyroidism. *Nutr Rev*. kwiecień 2016;74(4):248–58.
120. Egert S, Rimbach G. Which sources of flavonoids: complex diets or dietary supplements? *Adv Nutr*. styczeń 2011;2(1):8–14.
121. Messina M, Redmond G. Effects of soy protein and soybean isoflavones on thyroid function in healthy adults and hypothyroid patients: a review of the relevant literature. *Thyroid*. marzec 2006;16(3):249–58.
122. Giuliani C, Iezzi M, Ciolli L, Hysi A, Bucci I, Di Santo S, i in. Resveratrol has anti-thyroid effects both in vitro and in vivo. *Food Chem Toxicol*. wrzesień 2017;107(Pt A):237–47.
123. de Oliveira GLV, Leite AZ, Higuchi BS, Gonzaga MI, Mariano VS. Intestinal dysbiosis and probiotic applications in autoimmune diseases. *Immunology*. wrzesień 2017;152(1):1–12.
124. Gu Q, Li P. Biosynthesis of Vitamins by Probiotic Bacteria. *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health* [Internet]. 13 lipiec 2016 [cytowane 29 marzec 2021]; Dostępne na: <https://www.intechopen.com/books/probiotics-and-prebiotics-in-human-nutrition-and-health/biosynthesis-of-vitamins-by-probiotic-bacteria>
125. Knezevic J, Starchl C, Tmava Berisha A, Amrein K. Thyroid-Gut-Axis: How Does the Microbiota Influence Thyroid Function? *Nutrients* [Internet]. 12 czerwiec 2020 [cytowane 29 marzec 2021];12(6). Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7353203/>
126. Virili C, Fallahi P, Antonelli A, Benvenga S, Centanni M. Gut microbiota and Hashimoto's thyroiditis. *Rev Endocr Metab Disord*. grudzień 2018;19(4):293–300.
127. Asarat M, Apostolopoulos V, Vasiljevic T, Donkor O. Short-Chain Fatty Acids Regulate Cytokines and Th17/Treg Cells in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells in vitro. *Immunol Invest*. 2016;45(3):205–22.
128. Fröhlich E, Wahl R. Microbiota and Thyroid Interaction in Health and Disease. *Trends Endocrinol Metab*. sierpień 2019;30(8):479–90.
129. Nguyen TT, DiStefano JJ, Huang LM, Yamada H, Cahnmann HJ. 5'- and 5-deiodinase activities in adult rat cecum and large bowel contents inhibited by intestinal microflora. *Am J Physiol*. wrzesień 1993;265(3 Pt 1):E521-524.
130. Lerner A, Jeremias P, Matthias T. Gut-thyroid axis and celiac disease. *Endocr Connect*. maj 2017;6(4):R52–8.
131. Salvatore G, Covelli I, Roche J. La fixation des hormones thyroïdiennes par *Escherichia coli* et son mécanisme. *General and Comparative Endocrinology*. 1 luty 1963;3(1):15–25.
132. Ren Z, Zhao Z, Wang Y, Huang K. Preparation of selenium/zinc-enriched probiotics and their effect on blood selenium and zinc concentrations, antioxidant capacities, and intestinal microflora in canine. *Biol Trace Elem Res*. czerwiec 2011;141(1–3):170–83.
133. Kasaikina MV, Kravtsova MA, Lee BC, Seravalli J, Peterson DA, Walter J, i in. Dietary selenium affects host selenoproteome expression by influencing the gut microbiota. *FASEB J*. lipiec 2011;25(7):2492–9.
134. Sheflin AM, Melby CL, Carbonero F, Weir TL. Linking dietary patterns with gut microbial composition and function. *Gut Microbes*. 14 grudzień 2016;8(2):113–29.
135. Caesar R, Tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, Cani PD, Bäckhed F. Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling. *Cell Metab*. 6 październik 2015;22(4):658–68.
136. Jang S, Sun J, Chen P, Lakshman S, Molokin A, Harnly JM, i in. Flavanol-Enriched Cocoa Powder Alters the Intestinal Microbiota, Tissue and Fluid Metabolite Profiles, and Intestinal Gene

- Expression in Pigs. *J Nutr.* kwiecień 2016;146(4):673–80.
137. Cianciosi D, Forbes-Hernández TY, Afrin S, Gasparri M, Reboredo-Rodriguez P, Manna PP, i in. Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: A Review. *Molecules* [Internet]. 11 wrzesień 2018 [cytowane 29 marzec 2021];23(9). Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6225430/>
 138. Kharrazian D, Herbert M, Vojdani A. Immunological Reactivity Using Monoclonal and Polyclonal Antibodies of Autoimmune Thyroid Target Sites with Dietary Proteins. *Journal of Thyroid Research*. 15 sierpień 2017;2017:e4354723.
 139. Wawrzęczyk A, Bartuzi Z. Zespoły kliniczne alergii krzyżowej. *Alergia Astma Immunologia*. 2018;23(2):64–6.
 140. Vojdani A. Oral Tolerance and Its Relationship to Food Immunoreactivities. *Alternative therapies*. 2015;21(1):19–28.
 141. Scherf KA, Koehler P, Wieser H. Gluten and wheat sensitivities – An overview. *Journal of Cereal Science*. 1 styczeń 2016;67:2–11.
 142. Passali M, Josefsen K, Frederiksen JL, Antvorskov JC. Current Evidence on the Efficacy of Gluten-Free Diets in Multiple Sclerosis, Psoriasis, Type 1 Diabetes and Autoimmune Thyroid Diseases. *Nutrients* [Internet]. 1 sierpień 2020 [cytowane 26 marzec 2021];12(8). Dostępne na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7468712/>
 143. Codex Alimentarius International Food Standards. Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten [Internet]. Codex Stan 118-1979; 2008. 1–3 s. Dostępne na: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B118-1979%252FCXS_118e_2015.pdf
 144. Ozkan C, Yetkin I. Celiac disease and autoimmune thyroid diseases. *Medicine Science*. 1 grudzień 2016;5:1.
 145. Sharma B, Joshi A, Varthakavi P, Chadha M, Bhagwat N, Pawal P. Celiac autoimmunity in autoimmune thyroid disease is highly prevalent with a questionable impact. *Indian J Endocr Metab*. 2016;20(1):97.
 146. Lambert J, Vojdani A. Correlation of Tissue Antibodies and Food Immune Reactivity in Randomly Selected Patient Specimens. *J Clin Cell Immunol* [Internet]. 2017 [cytowane 26 marzec 2021];8(5). Dostępne na: <https://www.omicsonline.org/open-access/correlation-of-tissue-antibodies-and-food-immune-reactivity-in-randomly-selected-patient-specimens-2155-9899-1000521-94554.html>
 147. Krysiak R, Szkróbka W, Okopień B. The Effect of Gluten-Free Diet on Thyroid Autoimmunity in Drug-Naïve Women with Hashimoto's Thyroiditis: A Pilot Study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. lipiec 2019;127(7):417–22.
 148. Valentino R, Savastano S, Tommaselli AP, Dorato M, Scarpitta MT, Gigante M, i in. Prevalence of coeliac disease in patients with thyroid autoimmunity. *Horm Res*. 1999;51(3):124–7.
 149. Sategna-Guidetti C, Volta U, Ciacci C, Usai P, Carlino A, De Franceschi L, i in. Prevalence of thyroid disorders in untreated adult celiac disease patients and effect of gluten withdrawal: an Italian multicenter study. *Am J Gastroenterol*. marzec 2001;96(3):751–7.
 150. Rasheed J, Hassan R, Khalid M, Zafar F. Frequency of autoimmune thyroiditis in children with Celiac disease and effect of gluten free diet. *Pak J Med Sci*. październik 2020;36(6):1280–4.
 151. Mainardi E, Montanelli A, Dotti M, Nano R, Moscato G. Thyroid-related autoantibodies and celiac disease: a role for a gluten-free diet? *J Clin Gastroenterol*. wrzesień 2002;35(3):245–8.
 152. Metso S, Hyytiä-Ilmonen H, Kaukinen K, Huhtala H, Jaatinen P, Salmi J, i in. Gluten-free diet and autoimmune thyroiditis in patients with celiac disease. A prospective controlled study. *Scand J Gastroenterol*. styczeń 2012;47(1):43–8.
 153. van der Pals M, Ivarsson A, Norström F, Högborg L, Svensson J, Carlsson A. Prevalence of Thyroid Autoimmunity in Children with Celiac Disease Compared to Healthy 12-Year Olds. *Autoimmune Dis* [Internet]. 2014 [cytowane 29 marzec 2021];2014. Dostępne na:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3921936/>

154. Szostak-Węgierek D, Bednarczyk T, Respondek W, Traczyk I, Cukrowska B, Ostrowska L, i in. Zasadność stosowania diety bezglutenowej w chorobie Hashimoto: stanowisko Grupy Ekspertów Sekcji Dietetyki Medycznej Polskiego Towarzystwa Żywienia Pozajelitowego, Dojelitowego i Metabolizmu (POLSPEN). *Postępy Żywienia Klinicznego*. 2018;14(2):33–47.
155. Asik M, Gunes F, Binnetoglu E, Eroglu M, Bozkurt N, Sen H, i in. Decrease in TSH levels after lactose restriction in Hashimoto's thyroiditis patients with lactose intolerance. *Endocrine*. 1 czerwiec 2014;46(2):279–84.
156. Cellini M, Santaguida MG, Gatto I, Virili C, Del Duca SC, Brusca N, i in. Systematic Appraisal of Lactose Intolerance as Cause of Increased Need for Oral Thyroxine. *J Clin Endocrinol Metab*. 1 sierpień 2014;99(8):E1454–8.
157. Daniel L, Swagerty J, Walling A, Klein RM. Lactose Intolerance. *AFP*. 1 maj 2002;65(9):1845.
158. Liwanpo L, Hershman JM. Conditions and drugs interfering with thyroxine absorption. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. grudzień 2009;23(6):781–92.
159. Virili C, Bassotti G, Santaguida MG, Iuorio R, Del Duca SC, Mercuri V, i in. Atypical Celiac Disease as Cause of Increased Need for Thyroxine: A Systematic Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1 marzec 2012;97(3):E419–22.
160. Festi D, Schiumerini R, Birtolo C, Marzi L, Montrone L, Scaioli E, i in. Gut microbiota and its pathophysiology in disease paradigms. *Dig Dis*. 2011;29(6):518–24.
161. Ruchała M, Szczepanek-Parulska E, Zybek A. The influence of lactose intolerance and other gastro-intestinal tract disorders on L-thyroxine absorption. *Endokrynol Pol*. 2012;63(4):318–23.
162. Mogoş T, Iacobini A. A Review of Hereditary Fructose Intolerance. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*. 1 marzec 2016;23.
163. Iwen KA, Schröder E, Brabant G. Thyroid Hormones and the Metabolic Syndrome. *Eur Thyroid J*. czerwiec 2013;2(2):83–92.
164. Mochizuki K, Sakaguchi N, Takabe S, Goda T. De-phosphorylation of TR α -1 by p44/42 MAPK inhibition enhances T3-mediated GLUT5 gene expression in the intestinal cell line Caco-2 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 10 sierpień 2007;359(4):979–84.
165. Matosin-Matekalo M, Mesonero JE, Laroche TJ, Lacasa M, Brot-Laroche E. Glucose and thyroid hormone co-regulate the expression of the intestinal fructose transporter GLUT5. *Biochem J*. 15 kwiecień 1999;339 (Pt 2):233–9.
166. Monteiro IM, Jiang L, Ferraris RP. Dietary Modulation of Intestinal Fructose Transport and GLUT5 mRNA Expression in Hypothyroid Rat Pups. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. listopad 1999;29(5):563–70.
167. Lauritano EC, Gabrielli M, Lupascu A, Santoliquido A, Nucera G, Scarpellini E, i in. Rifaximin dose-finding study for the treatment of small intestinal bacterial overgrowth. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2005;22(1):31–5.
168. Heckl S, Reiners C, Buck AK, Schäfer A, Dick A, Scheurlen M. Evidence of impaired carbohydrate assimilation in euthyroid patients with Hashimoto's thyroiditis. *European Journal of Clinical Nutrition*. luty 2016;70(2):222–8.
169. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. *Molecular cloning: a laboratory manual* [Internet]. 1989 [cytowane 15 czerwiec 2021];(Ed. 2). Dostępne na: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19901616061>
170. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. kwiecień 1987;162(1):156–9.
171. Słomski R, Szalata M, Wolko Ł, Wielgus K. Izolacja DNA. W: *Analiza DNA teoria i praktyka*. Poznań: Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu; 2008.
172. Afonina I, Zivarts M, Kutyavin I, Lukhtanov E, Gamper H, Meyer RB. Efficient priming of PCR with short oligonucleotides conjugated to a minor groove binder. *Nucleic Acids Res*. 1 lipiec 1997;25(13):2657–60.

173. Kutuyavin I, Lukhtanov E, Gamper H, Meyer R. Oligonucleotides with conjugated dihydropyrroloindole tripeptides: Base composition and backbone effects on hybridization. *Nucleic acids research*. 1 październik 1997;25:3718–23.
174. Livak KJ, Flood SJ, Marmaro J, Giusti W, Deetz K. Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. *PCR Methods Appl.* czerwiec 1995;4(6):357–62.
175. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*. grudzień 2006;131(6):1981–2002.
176. Guliter S, Yakaryilmaz F, Ozkurt Z, Ersoy R, Ucardag D, Caglayan O, i in. Prevalence of coeliac disease in patients with autoimmune thyroiditis in a Turkish population. *World J Gastroenterol*. 14 marzec 2007;13(10):1599–601.
177. Marwaha RK, Garg MK, Tandon N, Kanwar R, Narang A, Sastry A, i in. Glutamic acid decarboxylase (anti-GAD) & tissue transglutaminase (anti-TTG) antibodies in patients with thyroid autoimmunity. *Indian J Med Res*. styczeń 2013;137(1):82–6.
178. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Volta U, Arnone G, Pantieri G, i in. Increased prevalence of coeliac disease in autoimmune thyroiditis is restricted to aged patients. *Exp Gerontol*. maj 2003;38(5):589–95.
179. Hadizadeh Riseh S, Abbasalizad Farhang M, Mobasser M, Asghari Jafarabadi M. THE RELATIONSHIP BETWEEN THYROID HORMONES, ANTITHYROID ANTIBODIES, ANTI-TISSUE TRANSGLUTAMINASE AND ANTI-GLIADIN ANTIBODIES IN PATIENTS WITH HASHIMOTO'S THYROIDITIS. *Acta Endocrinol (Buchar)*. czerwiec 2017;13(2):174–9.
180. Jiskra J, Límanová Z, Vanícková Z, Kocna P. IgA and IgG antigliadin, IgA anti-tissue transglutaminase and antiendomysial antibodies in patients with autoimmune thyroid diseases and their relationship to thyroidal replacement therapy. *Physiol Res*. 2003;52(1):79–88.
181. Larizza D, Calcaterra V, De Giacomo C, De Silvestri A, Asti M, Badulli C, i in. Celiac disease in children with autoimmune thyroid disease. *J Pediatr*. listopad 2001;139(5):738–40.
182. Hadithi M, de Boer H, Meijer JW, Willekens F, Kerckhaert JA, Heijmans R, i in. Coeliac disease in Dutch patients with Hashimoto's thyroiditis and vice versa. *World J Gastroenterol*. 21 marzec 2007;13(11):1715–22.
183. Naiyer AJ, Shah J, Hernandez L, Kim S-Y, Ciaccio EJ, Cheng J, i in. Tissue transglutaminase antibodies in individuals with celiac disease bind to thyroid follicles and extracellular matrix and may contribute to thyroid dysfunction. *Thyroid*. listopad 2008;18(11):1171–8.
184. Duntas LH. Does celiac disease trigger autoimmune thyroiditis? *Nat Rev Endocrinol*. kwiecień 2009;5(4):190–1.
185. Robinson TJ. Coeliac disease and goitre. *Postgrad Med J*. luty 1977;53(616):95–6.
186. Cuoco L, Certo M, Jorizzo RA, De Vitis I, Tursi A, Papa A, i in. Prevalence and early diagnosis of coeliac disease in autoimmune thyroid disorders. *Ital J Gastroenterol Hepatol*. maj 1999;31(4):283–7.
187. Volta U, Ravaglia G, Granito A, Forti P, Maioli F, Petrolini N, i in. Coeliac disease in patients with autoimmune thyroiditis. *Digestion*. 2001;64(1):61–5.
188. Berti I, Trevisiol C, Tommasini A, Città A, Neri E, Geatti O, i in. Usefulness of screening program for celiac disease in autoimmune thyroiditis. *Dig Dis Sci*. luty 2000;45(2):403–6.
189. Oderda G, Rapa A, Zavallone A, Strigini L, Bona G. Thyroid autoimmunity in childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. listopad 2002;35(5):704–5.
190. Ihnatowicz P, Wątor P, Drywień ME. The importance of gluten exclusion in the management of Hashimoto's thyroiditis. *Ann Agric Environ Med [Internet]*. 28 maj 2021 [cytowane 9 wrzesień 2021]; Dostępne na: <http://www.aaem.pl/The-importance-of-gluten-exclusion-in-the-management-of-Hashimoto-s-thyroiditis,136523,0,2.html>
191. Velija AZ, Hadzovic-Dzuvo A, Al TD. The effect of selenium supplementation and gluten-free diet

in patients with subclinical hypothyroidism affected by autoimmune thyroiditis. W: Endocrine Abstracts [Internet]. Bioscientifica; 2020 [cytowane 9 wrzesień 2021]. Dostępne na: <https://www.endocrine-abstracts.org/ea/0070/ea0070aep906>

192. Avar N, Grant SJ. A case report of a novel, integrative approach to Hashimoto's thyroiditis with unexpected results. *Advances in Integrative Medicine*. 2018;75–9.
193. Abbott RD, Sadowski A, Alt AG. Efficacy of the Autoimmune Protocol Diet as Part of a Multi-disciplinary, Supported Lifestyle Intervention for Hashimoto's Thyroiditis. *Cureus*. 11(4):e4556.
194. Valentino R, Savastano S, Tommaselli AP, Dorato M, Scarpitta MT, Gigante M, i in. Unusual association of thyroiditis, Addison's disease, ovarian failure and celiac disease in a young woman. *J Endocrinol Invest*. maj 1999;22(5):390–4.
195. Miranda J, Lasa A, Bustamante MA, Churrua I, Simon E. Nutritional differences between a gluten-free diet and a diet containing equivalent products with gluten. *Plant Foods Hum Nutr*. czerwiec 2014;69(2):182–7.
196. Martin J, Geisel T, Maresch C, Krieger K, Stein J. Inadequate nutrient intake in patients with celiac disease: results from a German dietary survey. *Digestion*. 2013;87(4):240–6.
197. Wild D, Robins GG, Burley VJ, Howdle PD. Evidence of high sugar intake, and low fibre and mineral intake, in the gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther*. sierpień 2010;32(4):573–81.
198. Kupper C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterology*. kwiecień 2005;128(4 Suppl 1):S121–127.
199. Di Nardo G, Villa MP, Conti L, Ranucci G, Pacchiarotti C, Principessa L, i in. Nutritional Deficiencies in Children with Celiac Disease Resulting from a Gluten-Free Diet: A Systematic Review. *Nutrients*. 13 lipiec 2019;11(7):E1588.
200. Shepherd SJ, Gibson PR. Nutritional inadequacies of the gluten-free diet in both recently-diagnosed and long-term patients with coeliac disease. *J Hum Nutr Diet*. sierpień 2013;26(4):349–58.
201. Lamacchia C, Camarca A, Picascia S, Di Luccia A, Gianfrani C. Cereal-Based Gluten-Free Food: How to Reconcile Nutritional and Technological Properties of Wheat Proteins with Safety for Celiac Disease Patients. *Nutrients*. 29 styczeń 2014;6(2):575–90.
202. Dickey W, Kearney N. Overweight in celiac disease: prevalence, clinical characteristics, and effect of a gluten-free diet. *Am J Gastroenterol*. październik 2006;101(10):2356–9.
203. Marciniak M, Szymczak-Tomczak A, Mahadea D, Eder P, Dobrowolska A, Krela-Kaźmierczak I. Multidimensional Disadvantages of a Gluten-Free Diet in Celiac Disease: A Narrative Review. *Nutrients*. 16 luty 2021;13(2):643.
204. Domínguez-González MR, Barciela-Alonso MC, Calvo-Millán VG, Herbello-Hermelo P, Bermejo-Barrera P. The bioavailability of arsenic species in rice. *Anal Bioanal Chem*. maj 2020;412(13):3253–9.
205. Karagas MR, Punshon T, Davis M, Bulka CM, Slaughter F, Karalis D, i in. Rice Intake and Emerging Concerns on Arsenic in Rice: a Review of the Human Evidence and Methodologic Challenges. *Curr Environ Health Rep*. grudzień 2019;6(4):361–72.
206. Gundert-Remy U, Damm G, Foth H, Freyberger A, Gebel T, Golka K, i in. High exposure to inorganic arsenic by food: the need for risk reduction. *Arch Toxicol*. grudzień 2015;89(12):2219–27.
207. Wall-Martínez HA, Ramírez-Martínez A, Wesolek N, Brabet C, Durand N, Rodríguez-Jimenes GC, i in. Risk assessment of exposure to mycotoxins (aflatoxins and fumonisins) through corn tortilla intake in Veracruz City (Mexico). *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. czerwiec 2019;36(6):929–39.
208. Dall'Asta C, Galaverna G, Mangia M, Sforza S, Dossena A, Marchelli R. Free and bound fumonisins in gluten-free food products. *Mol Nutr Food Res*. kwiecień 2009;53(4):492–9.
209. Kerber M, Oberkanins C, Kriegshäuser G, Kollerits B, Dossenbach-Glaninger A, Fuchs D, i in. Hydrogen breath testing versus LCT genotyping for the diagnosis of lactose intolerance: a matter

- of age? Clin Chim Acta. sierpień 2007;383(1–2):91–6.
210. Mądry E, Lisowska A, Kwiecień J, Marciniak R, Korzon-Burakowska A, Drzymała-Czyż S, i in. Adult-type hypolactasia and lactose malabsorption in Poland. Acta Biochim Pol. 2010;57(4):585–8.
 211. Bersaglieri T, Sabeti PC, Patterson N, Vanderploeg T, Schaffner SF, Drake JA, i in. Genetic Signatures of Strong Recent Positive Selection at the Lactase Gene. Am J Hum Genet. czerwiec 2004;74(6):1111–20.
 212. Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, Järvelä I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. Nat Genet. luty 2002;30(2):233–7.
 213. Bulhões AC, Goldani H a. S, Oliveira FS, Matte US, Mazzuca RB, Silveira TR. Correlation between lactose absorption and the C/T-13910 and G/A-22018 mutations of the lactase-phlorizin hydrolase (LCT) gene in adult-type hypolactasia. Braz J Med Biol Res. listopad 2007;40(11):1441–6.
 214. Anguita-Ruiz A, Aguilera CM, Gil Á. Genetics of Lactose Intolerance: An Updated Review and Online Interactive World Maps of Phenotype and Genotype Frequencies. Nutrients. 3 wrzesień 2020;12(9):2689.
 215. Ridefelt P, Håkansson LD. Lactose intolerance: lactose tolerance test versus genotyping. Scand J Gastroenterol. lipiec 2005;40(7):822–6.
 216. Kuchay RAH, Anwar M, Thapa BR, Mahmood A, Mahmood S. Correlation of G/A -22018 single-nucleotide polymorphism with lactase activity and its usefulness in improving the diagnosis of adult-type hypolactasia among North Indian children. Genes Nutr. styczeń 2013;8(1):145–51.
 217. Baffour-Awuah NY, Fleet S, Montgomery RK, Baker SS, Butler JL, Campbell C, i in. Functional significance of single nucleotide polymorphisms in the lactase gene in diverse US patients and evidence for a novel lactase persistence allele at -13909 in those of European ancestry. J Pediatr Gastroenterol Nutr. luty 2015;60(2):182–91.
 218. Shrestha A, Samuelsson LM, Sharma P, Day L, Cameron-Smith D, Milan AM. Comparing Response of Sheep and Cow Milk on Acute Digestive Comfort and Lactose Malabsorption: A Randomized Controlled Trial in Female Dairy Avoiders. Front Nutr. 2021;8:603816.
 219. Troelsen JT, Olsen J, Møller J, Sjöström H. An upstream polymorphism associated with lactase persistence has increased enhancer activity. Gastroenterology. grudzień 2003;125(6):1686–94.
 220. Olds LC, Sibley E. Lactase persistence DNA variant enhances lactase promoter activity in vitro: functional role as a cis regulatory element. Hum Mol Genet. 15 wrzesień 2003;12(18):2333–40.
 221. Cross NC, de Franchis R, Sebastio G, Dazzo C, Tolan DR, Gregori C, i in. Molecular analysis of aldolase B genes in hereditary fructose intolerance. Lancet. 10 luty 1990;335(8685):306–9.
 222. Cross NC, Tolan DR, Cox TM. Catalytic deficiency of human aldolase B in hereditary fructose intolerance caused by a common missense mutation. Cell. 17 czerwiec 1988;53(6):881–5.
 223. Esposito G, Santamaria R, Vitagliano L, Ieno L, Viola A, Fiori L, i in. Six novel alleles identified in Italian hereditary fructose intolerance patients enlarge the mutation spectrum of the aldolase B gene. Hum Mutat. grudzień 2004;24(6):534.
 224. Davit-Spraul A, Costa C, Zater M, Habes D, Berthelot J, Broué P, i in. Hereditary fructose intolerance: frequency and spectrum mutations of the aldolase B gene in a large patients cohort from France--identification of eight new mutations. Mol Genet Metab. sierpień 2008;94(4):443–7.
 225. Malay AD, Allen KN, Tolan DR. Structure of the thermolabile mutant aldolase B, A149P: molecular basis of hereditary fructose intolerance. J Mol Biol. 18 marzec 2005;347(1):135–44.
 226. Kim MS, Moon JS, Kim MJ, Seong M-W, Park SS, Ko JS. Hereditary Fructose Intolerance Diagnosed in Adulthood. Gut Liver. 15 styczeń 2021;15(1):142–5.
 227. Merino B, Fernández-Díaz CM, Cózar-Castellano I, Perdomo G. Intestinal Fructose and Glucose Metabolism in Health and Disease. Nutrients. 29 grudzień 2019;12(1):E94.
 228. Shi Y-N, Liu Y-J, Xie Z, Zhang WJ. Fructose and metabolic diseases: too much to be good. Chin Med J (Engl). 5 czerwiec 2021;134(11):1276–85.

229. Krupa-Kozak U, Drabińska N, Jarocka-Cyrta E. The effect of oligofructose-enriched inulin supplementation on gut microbiota, nutritional status and gastrointestinal symptoms in paediatric coeliac disease patients on a gluten-free diet: study protocol for a pilot randomized controlled trial. *Nutr J.* 22 sierpień 2017;16:47.
230. Jaroch A, Nowak D, Kędziora-Kornatowska K. Variety of food intake measured with Food Intake Variety Questionnaire (FIVeQ) and nutritional status of Polish adolescents aged 13-15 years. *Prog Health Sci.* 2015;5(2):30–40.
231. Malara M, Zaleska N, Lutosławska G. Differences in eating patterns of middle school students living in urban and rural areas located in the Masovian Voivodeship. *Rocz Panstw Zakł Hig.* 2018;69(4):375–9.

SPIS TABEL

<i>Tabela 1. Rekomendacje dotyczące spożycia jodu</i>	21
<i>Tabela 2. Znaczenie składników pożywienia w chorobie Hashimoto i skutki ich niedoboru/nadmiaru (44).</i>	30
<i>Tabela 3. Zestawienie badanych genotypów i ich koordynaty genomowe.</i>	45
<i>Tabela 4. Charakterystyka antropologiczna grupy badanej i porównawczej.</i>	49
<i>Tabela 5. Analiza częstości wraz z testem dokładnym Fishera dla występowania alergii i nietolerancji w zależności od przynależności do grupy.</i>	50
<i>Tabela 6. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania objawów nietolerancji glutenu wśród osób z grupy badanej i porównawczej</i>	51
<i>Tabela 7. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności dla szybkości występowania reakcji alergicznej na gluten w zależności od przynależności do grupy.</i>	52
<i>Tabela 8. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania objawów nietolerancji laktozy wśród osób z grupy badanej i porównawczej</i>	53
<i>Tabela 9. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności dla szybkości występowania reakcji alergicznej na laktozę w zależności od przynależności do grupy.</i>	54
<i>Tabela 10. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania objawów nietolerancji laktozy wśród osób z grupy badanej i porównawczej.</i>	55
<i>Tabela 11. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności dla szybkości występowania reakcji alergicznej na fruktozę w zależności od przynależności do grupy.</i>	56
<i>Tabela 12. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla stosowania diety wykluczającej gluten, jej efektywności i czasu trwania w zależności od przynależności do grupy.</i>	57
<i>Tabela 13. Analiza częstości wraz z testem dokładnym Fishera dla stosowania diety wykluczającej laktozę, jej efektywności i czasu trwania w zależności od przynależności do grupy.</i>	58
<i>Tabela 14. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla stosowania diety wykluczającej fruktozę, jej efektywności i czasu trwania w zależności od przynależności do grupy.</i>	59
<i>Tabela 15. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera spożycia produktów potencjalnie problematycznych w zależności od przynależności do grupy</i>	60
<i>Tabela 16. Analiza częstości wraz z testem dokładnym Fishera dla oceny urozmaicenia pożywienia w zależności od przynależności do grupy.</i>	64
<i>Tabela 17. Korelacje Spearmana dla związku między częstością spożywania produktów a urozmaiceniem pożywienia w całej próbie.</i>	65
<i>Tabela 18. Korelacje Spearmana dla związku między częstością spożywania produktów a urozmaiceniem pożywienia w grupie badanej i porównawczej.</i>	66
<i>Tabela 19. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania chorób przewlekłych w zależności od przynależności do grupy.</i>	67
<i>Tabela 20. Występowanie wariantów poszczególnych genów.</i>	69
<i>Tabela 21. Zestawienie nazewnictwa polimorfizmów w zależności od orientacji nici.</i>	69
<i>Tabela 22. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania wariantów predysponujących do nietolerancji pokarmowej w zależności od przynależności do grupy.</i>	70

<i>Tabela 23. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania wariantów predysponujących do nietolerancji laktozy w zależności od przynależności do grupy.</i>	71
<i>Tabela 24. Analiza częstości wraz z testem χ^2 niezależności bądź testem dokładnym Fishera dla występowania wariantów predysponujących do nietolerancji glutenu w zależności od przynależności do grupy.</i>	71
<i>Tabela 25. Uzyskane MAF dla alleli poszczególnych genów.</i>	72
<i>Tabela 26. Zestawienie wariantów dla poszczególnych nietolerancji.</i>	72

SPIS RYSUNKÓW

<i>Rysunek 1. Analiza częstości spożycia napojów mlecznych słodzonych w grupie badanej i porównawczej.</i>	62
<i>Rysunek 2. Analiza częstości spożycia gotowych śniadaniowych produktów zbożowych w grupie badanej i porównawczej.</i>	63
<i>Rysunek 3. Przykładowe sekwencjonowanie wariantu LCT G/A-22018 (SNP ID: rs182549) w orientacji nici + (C/T) kolejno dla: heterozygoty i homozygot. Fragment sekwencji referencyjnej przedstawiono pod chromatogramami. Miejsce wariantu oznaczono pionową kreską.</i>	68

ZAŁĄCZNIKI

Aneks. 1 Autorski kwestionariusz ankiety ogólnego stanu zdrowia

KWESTIONARIUSZ ANKIETY OGÓLNEGO STANU ZDROWIA

Kwestionariusz dotyczy aktualnego stanu zdrowia oraz zachowań prozdrowotnych i profilaktycznych w ciągu całego życia. Informacje uzyskane w ankiecie są poufne, zaś Pani dane prywatne nie będą rozpowszechniane. Uzyskane wyniki posłużą wyłącznie w celach naukowych.

CZĘŚĆ 1 – DANE MEDYCZNE

- 1) Czy została u Pani zdiagnozowana jakakolwiek choroba przewlekła (o długim czasie trwania – powyżej 3 miesięcy i wolnym postępowaniu zmian chorobowych)?
 - ☐ Tak
 - ☐ Nie – proszę przejść do pytania nr 5
- 2) Czy została u Pani zdiagnozowana choroba Hashimoto/przewlekłe autoimmunologiczne zapalenie tarczycy?
 - ☐ Tak
 - ☐ Nie – proszę przejść do pytania nr 4
 - ☐ Jestem w trakcie diagnozy – proszę przejść do pytania nr 4
- 3) Rok zdiagnozowania choroby:
- 4) Czy została u Pani rozpoznana któraś z poniższych chorób:

	Tak	Nie
Cukrzyca typu 1	☐	☐
Cukrzyca typu 2	☐	☐
Insulinooporność	☐	☐
Zespół policystycznych jajników	☐	☐
Otyłość	☐	☐
Nadciśnienie tętnicze krwi	☐	☐
Kamica pęcherzyka żółciowego	☐	☐
Niealkoholowa tłuszczowa choroba wątroby	☐	☐

Hipercholesterolemia	☐	☐
Hipertriglicerydemia	☐	☐
Hiperlipidemia mieszana	☐	☐
Niedoczynność tarczycy	☐	☐

- 5) Czy w Pani rodzinie występują choroby autoimmunologiczne (np. cukrzyca typu 1, toczeń rumieniowaty układowy, twardzina, reumatoidalne zapalenie stawów, wrzodziejące zapalenie jelita grubego, choroba Crohna, choroba Hashimoto, choroba Gravesa-Basedowa, choroba Addisona, stwardnienie rozsiane, bielactwo, łuszczyca, niedokrwistość Addisona-Biermera)?
 - ☐ Tak, w najbliższej rodzinie (krewni 1. i 2. stopnia)
 - ☐ Tak, w dalszej rodzinie
 - ☐ Nie
 - ☐ Nie wiem
- 6) Aktualnie stosowane leki (nazwa, dawkowanie):
.....
.....
- 7) Aktualnie stosowane suplementy diety (nazwa, dawkowanie):
.....
.....
- 8) Czy Pani miesiączki są regularne (długość cykli mieści się między 24 a 32 dniami)?
 - ☐ Tak
 - ☐ Nie
 - ☐ To zależy od cyklu
 - ☐ Nie miesiączkuję
- 9) Czy w ciągu ostatnich 6 miesięcy wystąpiły u Pani (proszę zaznaczyć te, które wystąpiły):
 - ☐ Utrata masy ciała >5%
 - ☐ Choroba o ostrym przebiegu np. grypa, angina, przeziębienie
 - ☐ Drastyczne ograniczenie ilości spożywanych kalorii o co najmniej 1000kcal
 - ☐ Nagłe zwiększenie aktywności fizycznej bądź wyczynowe uprawianie sportu
 - ☐ Ogromny stres lub emocje
 - ☐ Wyjazdy ze zmianą strefy czasowej lub zmianą klimatu
 - ☐ Żadne z wymienionych

- 10) Czy stosuje Pani antykoncepcję hormonalną lub hormonalną terapię zastępczą?
- ☐ Tak, antykoncepcję hormonalną
 - ☐ Tak, hormonalną terapię zastępczą
 - ☐ Nie

- 11) Czy miała Pani problemy z zajściem w ciążę trwające powyżej roku?

- ☐ Tak
- ☐ Nie
- ☐ Nie wiem
- ☐ Nie próbowałam zajść w ciążę

- 12) Czy kiedykolwiek leczyła Pani niepłodność?

- ☐ Tak
- ☐ Nie

- 13) Czy korzysta Pani z pomocy psychologa lub psychiatry obecnie lub korzystała Pani w przeszłości?

- ☐ Tak
- ☐ Nie

CZĘŚĆ 2 – DANE ŻYWIENIOWE

- 1) Czy została u Pani zdiagnozowana jakakolwiek alergia bądź nietolerancja pokarmowa?

- ☐ Tak
- ☐ Nie – *proszę przejść do pytania nr 3*
- ☐ Jestem w trakcie diagnostyki

- 2) Czy została u Pani zdiagnozowana :

	Tak	Nie	Jestem w trakcie diagnostyki
Celiakia	☐	☐	☐
Nieceliakalna nadwrażliwość na gluten	☐	☐	☐
Alergia na pszenicę	☐	☐	☐
Nietolerancja laktozy	☐	☐	☐
Zespół złego wchłaniania laktozy	☐	☐	☐
Nietolerancja fruktozy	☐	☐	☐

- 3) Czy występują u Pani dolegliwości po spożyciu produktów zawierających gluten (produkty zawierające pszenicę, żyto, jęczmień np. wykonane z mąki pszennej, żytniej, jęczmiennej jak makarony, kopytka, naleśniki, ciasta, pieczywo; płatki pszenne, żytnie, jęczmienne, kasze z tych zbóż itp.) ze strony:

	Tak	Nie	Nie wiem
Układu pokarmowego (biegunki [wypróżnienia $\geq$ 3/24h], luźne stolce, wzdęcia, wymioty, nudności)	☐	☐	☐
Układu oddechowego (obrzęk dróg oddechowych, duszność spoczynkowa, duszność wysiłkowa)	☐	☐	☐
Skóry (pokrzywka, atopowe zapalenie skóry, swędzenie)	☐	☐	☐
Wstrząs anafilaktyczny (gwałtowny odczyn alergiczny, zagrażający życiu)	☐	☐	☐
Zmęczenie, osłabienie	☐	☐	☐
Bóle lub zawroty głowy	☐	☐	☐
Inne, jakie:	☐	☐	☐

- 4) Czy występują u Pani dolegliwości po spożyciu produktów zawierających laktozę (produkty nabiałowe: mleko, jogurty, śmietany i śmietanki, kefiry, maślaniki, sery twarogowe, lody, masło) takie jak:

	Tak	Nie	Nie wiem
Dyskomfort w obrębie jamy brzusznej	☐	☐	☐
Kruczenie - odgłos z jamy brzusznej niedługo po spożyciu pokarmu	☐	☐	☐
Uczucie przelewania	☐	☐	☐
Wzdęcia	☐	☐	☐
Ból brzucha	☐	☐	☐
Biegunka (wypróżnienia $\geq$ 3/24h)	☐	☐	☐
Wymioty	☐	☐	☐
Inne, jakie:	☐	☐	☐

- 5) Czy występują u Pani dolegliwości po spożyciu produktów zawierających fruktozę (owoce świeże i suszone, niektóre warzywa, przetwory na bazie owoców i warzyw, miód, cukier, pszenica, jęczmień, produkty mleczne wzbogacone owocami i aromatami owocowymi, produkty z syropem glukozowo-fruktozowym - HFCS, fruktozowo-glukozowym bądź fruktozowym) takie jak:

	Tak	Nie	Nie wiem
Dyskomfort w obrębie jamy brzusznej	☐	☐	☐
Kruczenie - odgłos z jamy brzusznej niedługo po spożyciu pokarmu	☐	☐	☐
Uczucie przelewania	☐	☐	☐
Wzdęcia	☐	☐	☐
Ból brzucha	☐	☐	☐
Biegunka (wypróżnienia $\geq 3/24h$)	☐	☐	☐
Wymioty	☐	☐	☐
Inne, jakie:	☐	☐	☐

- 6) Jak szybko pojawiają się u Pani objawy po spożyciu produktów zawierających (w przypadku, gdy dolegliwości nie pojawiają się, proszę zostawić puste):

	Natychmiast po spożyciu	Po kilku-kilkunastu godzinach	Po kilku dniach	Nie wiem
Gluten	☐	☐	☐	☐
Fruktozę	☐	☐	☐	☐
Laktozę	☐	☐	☐	☐

- 7) Czy kiedykolwiek stosowała Pani dietę z wykluczeniem produktów zawierających:

	Tak, z całkowitym wykluczeniem	Tak, z częściowym wykluczeniem	Nie – proszę przejść do części 3
Gluten	☐	☐	☐
Fruktozę	☐	☐	☐
Laktozę	☐	☐	☐

- 8) Czy zauważyła Pani zmniejszone występowanie objawów po wprowadzeniu diety z wykluczeniem produktów zawierających:

	Tak	Nie	Nie wiem
Gluten	☐	☐	☐
Fruktozę	☐	☐	☐
Laktozę	☐	☐	☐

- 9) Jak długo stosowała Pani dietę z wykluczeniem produktów zawierających:

	Mniej niż 3 miesiące	3-6 miesięcy	Powyżej 6 miesięcy
Gluten	☐	☐	☐
Fruktozę	☐	☐	☐
Laktozę	☐	☐	☐

- 10) Czy aktualnie stosuje Pani dietę z wykluczeniem produktów zawierających:

	Tak, z całkowitym wykluczeniem	Tak, z częściowym wykluczeniem	Nie
Gluten	☐	☐	☐
Fruktozę	☐	☐	☐
Laktozę	☐	☐	☐

Część 3 na następnej stronie

CZĘŚĆ 3 – DANE OSOBOWE

Zabrane poniżej dane osobowe mają charakter poufny i posłużą jedynie dla celów statystycznych. Uprzejmie proszę o podanie aktualnych danych kontaktowych w razie konieczności uzupełnienia brakujących informacji lub poinformowania o możliwości odebrania wyników badań. Podane przez Panią dane nie będą udostępniane i rozpowszechniane poza niniejszym badaniem.

- 1) Imię i nazwisko:
- 2) Adres e-mail:
- 3) Nr telefonu:
- 4) Rok urodzenia:
- 5) Wykształcenie:
 - ☐ Podstawowe nieukończone i bez wykształcenia
 - ☐ Podstawowe i gimnazjalne
 - ☐ Ponadgimnazjalne
 - ☐ Wyższe
- 6) Miejsce zamieszkania:
 - ☐ Wieś
 - ☐ Miasto od 50 tys. do 250 tys. mieszkańców
 - ☐ Miasto powyżej 250 tys. mieszkańców

PSEUDONIM OSOBY BADANEJ:

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Stomatologicum
ul. Bukowska 70
60-812 Poznań

tel. (+48 61) 854 73 36
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 69/19

Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarzy i lekarzy dentysty (t.j. Dz. U. z 2018 r., poz. 617 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. z 1999 r., Nr 47, poz. 480); Ustawy z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 2211 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. z 2004 Nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005 r. zmieniającego rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. z 2005 r. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. z 2004 r. Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. z 2004 r. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 17 lutego 2016 r. w sprawie wzorów wniosków związanych z badaniem klinicznym wyrobu medycznego lub aktywnego wyrobu medycznego do implantacji oraz wysokości opłat za złożenie tych wniosków (Dz. U. z 2016 r., poz. 208); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (t.j. Dz. U. z 2017 r. poz. 211, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. z 2010 r. Nr 194, poz. 1290); Ustawy z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (t.j. Dz. U. z 2016 r., poz. 1718 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012 r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. z 2012 r., poz. 489); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 12 października 2018 r. w sprawie wzorów dokumentów przekładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. z 2018 r., poz. 1994); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznych z Udziałem Ludzi oraz przepisy ICH GCP.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 10 stycznia 2019 r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu: prof. dr hab. Marian Grzymisławski

Miejsce prowadzenia badań:

**Katedra i Klinika Gastroenterologii, Dietetyki i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu**

Główny badacz: mgr Aleksandra Królczyk

Członkowie zespołu

badawczego:

**prof. dr hab. Marian Grzymisławski
dr hab. n. med. Katarzyna Ziemnicka
dr n. med. Ewelina Swora-Cwynar
dr n. med. Dorota Mańkowska-Wierzbicka
dr n. med. Katarzyna Piątek
dr n. med. Małgorzata Kałużna
dr n. med. Bartłomiej Budny
mgr Elżbieta Wrotkowska**

Temat badań:

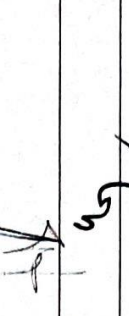
„Nietolerancje pokarmowe u pacjentów z chorobą Hashimoto”.

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku

Przewodniczący Komisji

prof. zw. dr hab. med. Paweł Chęciński

Podpisy członków Komisji Bioetycznej podejmujących Uchwałę nr **69/19** z dnia 10.01.2019r.

Lp.	Imię i Nazwisko	Specjalność	Miejsce Pracy	Podpis
1.	Przewodniczący Komisji prof. dr hab. Paweł Chęciński	chirurgia ogólna, naczyniowa i angiologia	Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej oraz Angiologii UMP, ZOZ MSWiA, ul. Dojazd 34, 60-631 Poznań.	
2.	Z-ca Przewodniczącego Komisji prof. dr hab. Janusz Wiśniewski	filozof	Wydział Nauk Politycznych i Dziennikarstwa UAM, ul. Umultowska 89A, 61-614 Poznań.	
3.	prof. dr hab. Zygmunt Adamski	dermatologia i wenerologia	Katedra i Klinika Dermatologii UMP, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań	
4.	dr Krystyna Babiak	prawnik	Kancelaria Radcy Prawnego, dr Krystyna Babiak, ul. Czartoria 1/2, 61-102 Poznań.	
5.	ks. prof. UAM dr hab. Andrzej Bohdanowicz	teologia	Wydział Teologiczny Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Wieżowa 2/4, Poznań	
6.	prof. dr hab. Maciej Krawczyński	genetyka kliniczna, okulistyka	Katedra i Zakład Genetyki Medycznej UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
7.	mgr Jolanta Łojko-Kołodziejczak	pielęgniarka	Pielęgniarka Oddziałowa Izby Przyjęć Pediatrii Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
8.	mgr Krystyna Malingier	farmaceuta	Apteka Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
9.	prof. dr hab. Andrzej Marszałek	patomorfologia	Katedra i Zakład Patologii i Profilaktyki Nowotworów UMP, ul. Garbary 15, 61-866 Poznań.	
10.	prof. dr hab. Maciej Owecki	choroby wewnętrzne, endokrynologia	Zakład Zdrowia Publicznego UMP, ul. Dąbrowskiego 79, 60-529 Poznań.	
11.	prof. dr hab. Wojciech Szluzewski	pediatria, neurologia dziecięca, choroby zakaźne	Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
12.	prof. dr hab. Robert Spaczyński	ginekologia i położnictwo	Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
13.	dr med. Piotr Tomczak	onkologia kliniczna, radioterapia	Klinika Onkologii UMP, ul. Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań.	
14.	prof. dr hab. Joanna Twarowska-Hauser	psychiatria	Klinika Psychiatrii Dorosłych, Zakład Genetyki w Psychiatrii UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
15.	prof. dr hab. Henryk Wysocki	choroby wewnętrzne, kardiologia	Wyższa Szkoła Pedagogiki i Administracji im. Mieszka I w Poznaniu, ul. Bułgarska 55, 60-320 Poznań.	