

**Akademia Wychowania Fizycznego i Sportu
im. Jędrzeja Śniadeckiego
w Gdańsku**



ROZPRAWA DOKTORSKA

Katarzyna Krasowska

*Wpływ suplementacji witaminą D₃ na równowagę, propriocepcję
i urazowość oraz wybrane markery stanu zapalnego
u młodych zawodników trenujących koszykówkę*

Promotor

dr hab. Jan J. Kaczor, prof AWFIS

Gdańsk, 2021

Dziękuję mojemu Promotorowi, Janowi Jackowi Kaczorowi
za inspirację do badań naukowych, poświęcony czas, cierpliwość
oraz cenne rady związane z niniejszą pracą.

Pragnę podziękować również dr Wojciechowi Skrobotowi
za wnikliwe uwagi dotyczące pracy, motywację do poszukiwań,
oraz wszelkie ciekawe dyskusje.

Szczególne podziękowania składam moim wspaniałym Rodzicom
za ich wsparcie na całej mojej drodze edukacji,
oraz kochanemu Mężowi za wyrozumiałość i cierpliwość
podczas tworzenia tej pracy.

Spis treści

1. Wstęp.....	7
1.1 Witamina D.....	7
1.1.1 Zarys historyczny.....	7
1.1.2 Metabolizm witaminy D.....	8
1.1.3 Źródło witaminy D.....	9
1.1.4 Potencjalne przyczyny występowania deficytu/niedoboru witaminy D.....	11
1.1.5 Toksyczność witaminy D.....	13
1.1.6 Plejotropowe znaczenie witaminy D.....	14
2. Kontrola motoryczna.....	15
2.1 Zarys historyczny.....	15
2.2 Mechanizm działania systemu somatosensorycznego.....	16
2.3 Równowaga.....	19
2.4 Kontrola motoryczna w sporcie.....	21
3. Stan zapalny.....	23
3.1 Rola cytokin w stanie zapalnym.....	23
3.2 Charakterystyka wybranych białek wpływających na mięsień szkieletowy.....	24
2. Cel badań, pytania badawcze i hipotezy.....	27
2.1 Cel badań.....	27
2.2 Pytania badawcze:.....	28
2.3 Hipotezy badawcze.....	29
3. Materiały i metody.....	30
3.1 Zgoda na badanie.....	30
3.2 Materiał badawczy.....	30
3.3 Opis badania.....	31
3.4 Charakterystyka treningu grupy badanej.....	33
3.5 Kwalifikacja do badań.....	35
3.6 Badanie Kliniczne.....	35
3.6.1 Badanie funkcjonalne.....	36
3.6.1.1 Badanie równowagi.....	36
3.6.1.2 Badanie siły mięśniowej i propriocepcji.....	38
3.6.1.3 Badanie ryzyka urazu.....	41
3.6.2 Badanie krwi.....	42
3.6.2.1 Pobieranie próbek krwi.....	42
3.6.2.2 Metoda oznaczeń biochemicznych ELISA.....	43
3.6.2.3 Oznaczanie stężenia 25(OH)D ₃	45
3.6.2.4 Oznaczanie stężenia CRP.....	45

3.6.2.5 Oznaczanie stężenia IL-6.....	46
3.6.2.6 Oznaczanie stężenia miostatyny (GDF-8)	47
3.6.2.7 Oznaczanie stężenia IGF-1	47
3.7 Analiza statystyczna	49
4. Wyniki	50
4.1 Stężenie witaminy D ₃ w surowicy badanych.....	50
Oznaczenie 25(OH)D ₃	50
4.2 Stabilność posturalna.....	51
Badanie stabilności posturalnej przy oczach otwartych	51
Badanie stabilności posturalnej przy oczach zamkniętych.....	52
Badanie stabilności posturalnej kończyny dolnej prawej	53
Badanie stabilności posturalnej kończyny dolnej lewej	54
4.3 Propriocepcja	55
Badanie aktywnego JPS w kończynie dolnej prawej.....	55
Badanie aktywnego JPS w kończynie dolnej.....	56
Badanie biernej JPS w kończynie dolnej prawej.....	57
Badanie biernej JPS w kończynie dolnej lewej.....	58
4.4 Urazowość	59
Y-balance test.....	59
4.5 Izometryczna siła mięśniowa.....	61
Badanie izometrycznej siły mięśniowej	61
4.6 Wybrane markery stanu zapalnego i uszkodzenia mięśnia.....	62
Oznaczenie CRP.....	62
Oznaczenie IL-6.....	63
Oznaczenie miostatyny.....	64
Oznaczenie IGF-1	65
5. Dyskusja	66
6. Wnioski.....	78
7. Streszczenie	79
8. Abstract.....	82
9. Piśmiennictwo	85
Załącznik 1.....	93

Wykaz skrótów:

1,25(OH)₂D₃- kalcytriol,

25(OH)D₃- cholekalcyferol,

7-DHC - 7-dehydrocholesterol,

ACL (anterior cruciate ligament) - więzadło przednie krzyżowe,

AE (absolute error) - błąd bezwzględny,

AJPS (active joint position sense) - aktywne czucie stawu,

AP (anterior–posterior) - wskaźnik wychyleń przednio-tylnych,

BFM (body fat index) - masa tkanki tłuszczowej,

Ca⁺⁺ (calcium) - wapń,

COM (centre of the mass) - środek ciężkości

CRP (C reactive protein) - białko C-reaktywne,

CUN - centralny układ nerwowy,

EVIDAS- Europejskie Stowarzyszenie Witaminy D,

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) - metoda immunoenzymatyczna,

GDF-8 (growth and differentiation factor- 8) - miostatyna – czynnik wzrostu i różnicowania-8,

IGF-1 (insulin-like growth factor 1) - insulinopodobny czynnik wzrostu-1,

IU (international unit) - Jednostka międzynarodowa,

JPS (joint position sense) - czucie pozycji stawu,

MED (minimal erythemic dose) - minimalna dawka promieniowania UVB powodująca zaróżowienia skóry,

ML (medial-lateral) - wskaźnik wychyleń bocznych

OSI (overall stability index) - ogólny wskaźnik stabilności,

OTS (overtraining syndrome) - zespół przetrenowania,

PBF (percent body fat) - procentowa zawartość tłuszczu,
PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) - koaktywator 1-alfa receptora gamma aktywowanego proliferatorami peroksysomów,
PJPS (passive joint position sense) – bierne czucie stawu,
PL - grupa placebo,
PTH (parathyroid hormone) - parathormon,
SMM (skeletal muscle mass) - masa mięśni szkieletowych,
SR (sense of resistance) - czucia siły,
SUP - grupa suplementowana,
TNF- α (tumor necrosis factor α) - czynnik martwicy nowotworu alfa,
UVB (ultraviolet B) - promienie ultrafioletowe B,
VDBP (vitamin D binding protein) - białko wiążące witaminę D,
VDR (vitamin D receptor) - receptor witaminy D

1.Wstęp

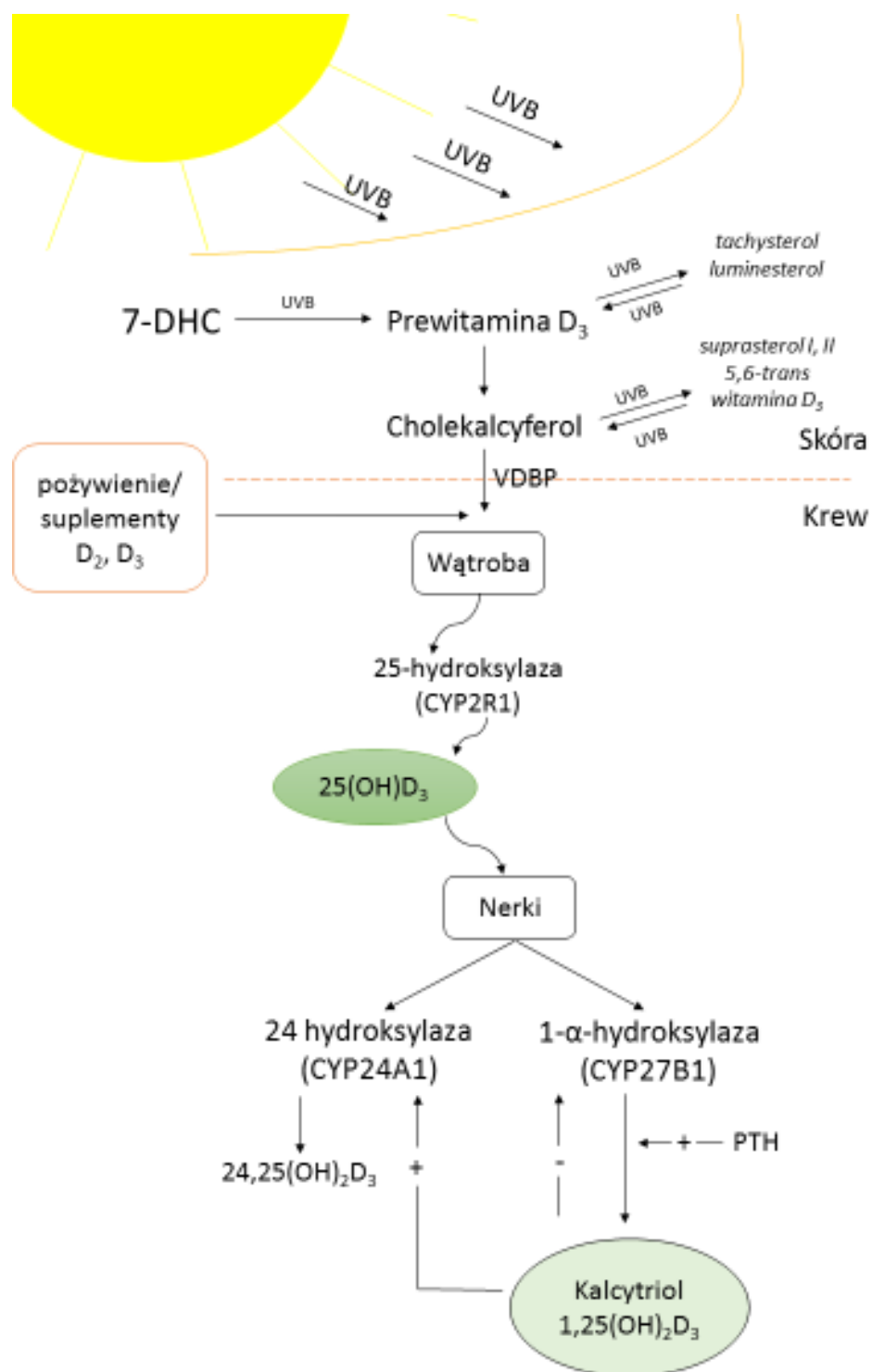
1.1 Witamina D

1.1.1 Zarys historyczny

Rewolucja przemysłowa miast w północnej Europie w XVII wieku zmieniła rozwój urbanistyki. Zabudowa miast była wysoka z niewielkimi odstępami pomiędzy budynkami co powodowało zmniejszenie nasłonecznienia. Dodatkowo powietrze było zanieczyszczone przez mieszaninę gazów spalinowych pochodzących w szczególności ze spalanego węgla. Pojawiły się odkształcenia kości u dzieci. Dr Jędrzej Śniadecki jako pierwszy dostrzegł związek między rozwojem miast Europy Północnej, a występowaniem krzywicy u dzieci. W 1822 roku zaobserwował, że dzieci zamieszkałe w centrum, częściej chorowały na krzywicę w porównaniu z rówieśnikami mieszkającymi na obrzeżach Warszawy. Wykazał, że to zjawisko może mieć związek z brakiem ekspozycji na działanie promieni słonecznych (Mozołowski, 1939). Ponad 70 lat później Palm potwierdził wcześniejsze doniesienia oraz na podstawie badań pochodzących z Indii i Chin opisał, że występowanie krzywicy było znacznie rzadsze niż w Londynie (Palm, 1890). W 1919 roku Mellanby po raz pierwszy wykazał, że krzywica mogła być spowodowana przez niedobory w diecie substancji rozpuszczalnych w tłuszczach. Witamina D została odkryta dopiero w 1922 roku przez McColluma (McCollum i wsp., 1922). Jej działanie przeciwkrzywiczne udowodniono w latach 30-40 ubiegłego stulecia. Na podstawie powyższych wyników badań do artykułów spożywczych, napoi a nawet mydła rozpoczęto dodawanie witaminy D. Jednak na początku 1950 roku u niemowląt zauważono objawy hiperkalcemii tj. problemy z sercem, zaś twarz tych dzieci przypominała twarz elfa. Po przeprowadzonych badaniach na gryzoniach eksperci stwierdzili, że najprawdopodobniej było to spowodowane zatruciem witaminą D. Istnieje jednak podejrzenie, że dzieci te chorowały na zespół Williamsa, manifestujący się podobnymi objawami. Po tych incydentach zabroniono wzbogacania żywności witaminą D jednak wiele krajów Europy do tej pory nie zmieniło tych zaleceń.

1.1.2 Metabolizm witaminy D

Istnieją dwie podstawowe formy witaminy D: cholekalcyferol (witamina D₃) oraz ergokalcyferol (witamina D₂). Pierwsza z nich wytwarzana jest w syntezie skórnej oraz znajduje się w produktach pochodzenia zwierzęcego, druga zaś jest w produktach pochodzenia roślinnego. Podczas ekspozycji na światło słoneczne promienie UVB o długości fali 290-315nm przenikają do skóry, gdzie wpływają na będącą w niej prowitaminę D, 7-dehydrocholesterol (7-DHC) - tworząc prewitaminę D. Następnie ulega ona nieenzymatycznej fotoizomeryzacji do cholekalcyferolu. Prewitamina D może być poddana fotokonwersji do postaci nieaktywnych takich jak: tachysterol i luminesterol, które mogą wywierać różne działania biologiczne (Gil i wsp., 2018) oraz suprasterol I, II i 5,6-trans witamina D₃ (Piotrowska i wsp., 2016). Witamina D₃ jest stabilna termodynamicznie i elastyczna, dlatego jest usuwana z błony plazmatycznej do przestrzeni pozakomórkowej i dyfunduje do łożyska kapilarnego w skórze właściwej, gdzie wiąże się z białkiem wiążącym witaminę D (VDBP-vitamin D binding protein), a następnie transportowana jest do wątroby (Wacker i wsp., 2013). W wątrobie, dzięki enzymowi 25-hydroksylazie, witamina D ulega hydroksylacji do 25-hydroksy cholekacyferolu (25(OH)D₃), najczęściej oznaczanej formy dla określenia stężenia witaminy D we krwi (Bikle i wsp., 2013). 25(OH)D₃ ulega ponownej hydroksylacji w kanalikach nerkowych, przyjmując formę 1,25(OH)₂D₃, aktywną biologicznie formę witaminy D dzięki nerkowej 1- α -hydroksylazie (mitochondrialne *CYP27B1*). 1- α -hydroksylaza nerkowa jest regulowana przez hormon przytarczyc - parathormon (PTH), a aktywna postać witaminy D odgrywa kluczową rolę m.in. w homeostazie wapnia i fosforu (Dzik i wsp., 2019a) (Ryc. 1).



Ryc. 1 Metabolizm witaminy D opracowanie własne na podstawie (Gil i wsp., 2018).

1.1.3 Źródło witaminy D

Aby doświadczalnie rozstrzygnąć kwestię dotyczącą stężenia witaminy D, która może być syntetyzowana w skórze, wprowadzono pojęcie minimalnej

dawki promieniowania UVB powodującej zaróżowienie skóry (MED - minimal erythemic dose). Ostatecznie ustalono, że po ekspozycji całego ciała na MED, w ciągu 24 godzin następuje uwolnienie do krwiobiegu 10000–20000 IU 25(OH)D₃ (Hollis, 2005). Należy jednak uwzględnić, że MED jest zależna od pigmentacji skóry i można ją osiągnąć zaledwie po 10 min, w przypadku osobników o białej karnacji, a po 120 min, u ciemnoskórych Afroamerykanów. Szacuje się, że w trakcie syntezy skórnej powstaje 90-95% zapotrzebowania na witaminę D (Aydin i wsp., 2019). Dieta jest drugim źródłem pozyskiwania witaminy D dla organizmu człowieka. Jak wspomniano wyżej, występują dwie formy witaminy D, cholekalcyferol i ergokalcyferol. Pierwsza z nich znajduje się w produktach pochodzenia zwierzęcego, druga zaś w produktach pochodzenia roślinnego. W Tabeli 1 zestawiono naturalne źródła witaminy D z uwzględnieniem jej zawartości w wybranych produktach polskich (Rusinska i wsp., 2018). Odpowiednie nawyki żywieniowe i ocena składu żywności, mimo zbilansowanej diety, nie zagwarantują uzupełnienia witaminy D do wartości optymalnych, dlatego suplementacja odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu właściwego stężenia witaminy D (Spiro i wsp., 2014).

Tabela 1 Przykładowe produkty żywieniowe zawierające witaminę D (Rusinska i wsp., 2018).

Przykładowe produkty żywieniowe	Stężenie witaminy D 40 IU = 1 µg
Świeży węgorz	1,200 IU/100 g
Świeży dziki łosoś	600–1,000 IU/100 g
Śledź w oleju	808 IU/100 g
Łosoś pieczony/gotowany	540 IU/100 g
Makrela gotowana	152 IU/100 g
Żółtko	54 IU/jajo kurze
Ser	7,6–28 IU/100 g
Mleko krowie	0,4–1,2 IU/100 ml

Niektóre kraje, mimo wcześniejszych doniesień o toksyczności witaminy D, wprowadziły lub utrzymały obowiązkowe wzbogacanie niektórych produktów żywnościowych (mleko, produkty mleczne, płatki zbożowe, sok pomarańczowy, margaryna i makarony) o jej skład. W zależności od regionów i polityki zdrowotnej danego kraju wzbogacanie żywności jest różne. Dotychczas w Polsce nie stosowano powszechnie produktów fortyfikowanych witaminą D. Wyjątek stanowią preparaty mleczne dla niemowląt i małych dzieci, ponieważ zapotrzebowanie ich jest znacząco większe, niż możliwości pozyskania witaminy D z mleka matki, nawet jeśli stosuje ona suplementację witaminą D (Rusinska i wsp., 2018).

1.1.4 Potencjalne przyczyny występowania deficytu/niedoboru witaminy D

Istnieje szereg czynników, które prowadzą do obniżonego poziomu witaminy D są to m.in.: szerokość geograficzna, pora roku, pora dnia, wiek, rasa, płeć, masa ciała. W Europie Środkowej kąt padania promieni słonecznych oraz warunki pogodowe nie sprzyjają syntezie skórnej, która jest możliwa głównie pomiędzy kwietniem i wrześniem (Pludowski i wsp., 2013). W okresie zimowym, w szerokości geograficznej bliskiej 35°N (Polska 54°N), witamina D syntetyzowana jest w niewielkiej ilości. Ponadto wczesnym rankiem i późnym popołudniem kąt zenitu słońca jest podobny do zimowych promieni słonecznych, pomimo okresu wiosenno-letniego. W rezultacie organizm człowieka wytwarza bardzo mało witaminy D przed 10:00 i po godzinie 15:00 nawet w słonecznych porach roku (Krzyscin i wsp., 2011). Co więcej, wykazano związek między wartością MED, a rodzajem koloru skóry. MED jest niższy w jasnej i wyższy w ciemnej karnacji, tzn., że osoby, które mają dużą ilość melaniny w skórze, potrzebują dłuższej ekspozycji na światło słoneczne, żeby osiągnąć to samo stężenie witaminy D w porównaniu z osobami o jasnej karnacji (Holick, 2007). Istnieją również doniesienia o różnicach pomiędzy poziomem 25(OH)D₃ w surowicy w zależności od uprawianych dyscyplin sportowych. W badaniach Halliday i wsp. opisano, że sportowcy trenujący w zamkniętych pomieszczeniach mieli niższe stężenia 25(OH)D₃

w miesiącach jesiennych, w porównaniu do sportowców trenujących na zewnątrz (Halliday i wsp., 2011). Ponadto w badaniach Krzywański i wsp.

wykazano, że sportowcy trenujący na zewnątrz jedynie latem osiągnęli optymalny poziom witaminy D, który nie utrzymywał się do jesieni. W tych samych badaniach zaobserwowano, całorocznie obniżony poziom witaminy D w dyscyplinach z treningami w zamkniętych obiektach (Krzywanski i wsp., 2016).

Niedobór witaminy D jest problemem dotyczącym ogólnej populacji na całym świecie występuje on niezależnie od szerokości geograficznej, wieku, rasy i płci (Holick, 2017). Co więcej, deficyt/niedobór witaminy D obserwujemy także w wielu przypadkach: np. atrofii mięśniowej, natężeniu bólu, problemach z równowagą czy też w sporcie (Aydin i wsp., 2019; Dzik i wsp., 2019b; Krasowska i wsp., 2019; Skrobot i wsp., 2019). W związku z tym, występowanie deficytu/niedoboru witaminy D, skłoniło badaczy do poszukiwania dawki, która zagwarantuje uzyskanie optymalnego jej poziomu. W Tabeli 2 przedstawiono zakresy stężeń 25(OH)D₃ i ich interpretacje.

Tabela 2 Zakresy i ich interpretacja w zależności od wartości stężenia witaminy D w surowicy (Larson-Meyer, 2013).

Zakres	Stężenie ng/ml
Niedobór ¹	<20
Niewystarczające ²	20-30 (lub 32)
Wystarczające ³	>30 (lub 32)
Optymalne ⁴	40-100
Toksyczne	>150 <i>plus</i> wysokie stężenie wapnia

nmol/L = ng/ml x 2,5.

¹ Niedobór obejmuje wszystkie stężenia poniżej przybliżonego stężenia, gdzie PTH zaczyna gwałtownie rosnąć.

² Niewystarczające obejmuje wszystkie stężenia między niedoborem a wystarczającym.

³ Wystarczające to stężenie, w którym występuje plateau PTH i maksymalne wchłanianie wapnia.

⁴ Optymalne uważa się takie, w którym zoptymalizowano zapobieganie ostrym i przewlekłym chorobom.

Zarząd Polskiego Towarzystwa Endokrynologii Dziecięcej i Cukrzycy w roku 2017 wystąpił z inicjatywą weryfikacji i aktualizacji zaleceń dotyczących zapobiegania niedoborowi witaminy D i zarządzania nim, zarówno w populacji ogólnej, jak i w grupach ryzyka. We współpracy z Europejskim Stowarzyszeniem Witaminy D (EVIDAS) oraz innymi towarzystwami naukowymi i krajowymi konsultantami, powołano panel ekspertów w celu opracowania aktualnych wytycznych dotyczących suplementacji i leczenia witaminą D. Na podstawie tych opracowań zaleca się: „U zdrowych nastolatków (11-18 lat) opalanie z odsłoniętymi przedramionami i nogami przez co najmniej 15 minut między 10:00 a 15:00, bez ochrony przeciwsłonecznej w okresie od maja do września. Suplementacja nie jest konieczna, chociaż nadal zalecana i bezpieczna. Jeśli powyższe wytyczne dotyczące nasłonecznienia nie są spełniane, zaleca się suplementację w wysokości 800–2000 IU/dzień na podstawie masy ciała i spożycia witaminy D przez cały rok” (Rusinska i wsp., 2018). Według różnych autorów, optymalne stężenie witaminy D₃ dla sportowców wynosi więcej niż 40ng/ml, ponieważ przy tym stężeniu zaczyna ona gromadzić się w tkankach (mięśniowej i tłuszczowej), a dzięki temu może zostać wykorzystana w przyszłości (Aydin i wsp., 2019).

1.1.5 Toksyczność witaminy D

Witamina D jest rozpuszczalna w tłuszczach, dlatego też uważana jest za witaminę, którą łatwo można przedawkować, choć w niewielkim stopniu wyniki badań wskazują na jej toksyczność. Zatrucie witaminą D objawia się przede wszystkim hiperkalcemią i hiperkalciurią. Prowadzi to potencjalnie do osłabienia mięśni, nadciśnienia tętniczego, zaburzeń neuropsychiatrycznych, zaburzeń żołądkowo-jelitowych, wielomoczu, kamieni nerkowych. W skrajnych przypadkach prowadzi do niewydolności nerek w wyniku odkładania się kryształów fosforanu wapnia w tkankach miękkich całego ciała. W pracy przeglądowej Galior i wsp. opisano przypadki pacjentów, gdzie w wyniku błędu w podaniu, zarządzania czy błędnego sformułowania dawki witaminy D, u pacjentów zaobserwowano objawy toksyczne (Galior i wsp., 2018). Z drugiej strony należy pamiętać, że nieaktywna 25(OH)D₃ jest pod stałą kontrolą enzymów. Jest ona konwertowana do formy

aktywnej dzięki 1- α -hydroksylazie. Jednakże jeśli poziom aktywnej lub nieaktywnej formy witaminy D jest zbyt wysoki, enzym 24-hydroksylaza (*CYP24A1*) przekształca je do nieaktywnych metabolitów, które są magazynowane w tkankach lub do kwasu kalcytriolowego wydalanego z moczem (Christakos i wsp., 2016). Dzięki takiemu biologicznemu mechanizmowi, tj. sprzężenie zwrotne pomiędzy 25(OH)D₃ - 1,25(OH)₂D₃ oraz stałej kontroli enzymatycznej, bardzo ciężko jest przedawkować witaminę D. Istnieją badania, w których po podaniu dużych dawek witaminy D nie zaobserwowano objawów toksycznych. Przypadkowe podanie 2.000.000 IU witaminy D dwóm starszym pacjentom nie spowodowało niepożądanych efektów ubocznych (van den Ouweland i wsp., 2014). Uważa się za bezpieczne podanie 10,000 IU/dzień przez okres 3 miesięcy (Kimball i wsp., 2017). Co więcej, nie zaobserwowano objawów toksycznych witaminy D pochodzącej z syntezy skórnej. Dzieje się tak dzięki konwersji witaminy D do jej metabolitów (Ryc.1) (Piotrowska i wsp., 2016).

1.1.6 Plejotropowe znaczenie witaminy D

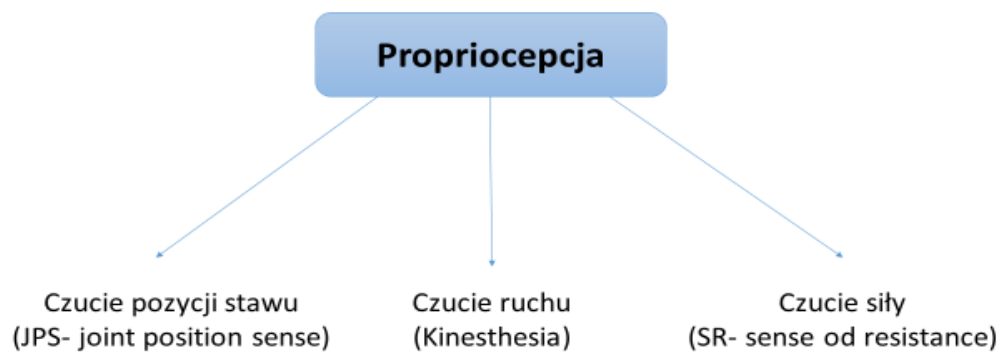
Koncepcja plejotropizmu witaminy D powstała wraz z identyfikacją receptora witaminy D (VDR - vitamin D receptor) w różnych tkankach ciała. W 1985 roku odkryto VDR w komórkach mioblastów u szczura, co sugerowało, że mięsień szkieletowy jest bezpośrednim narządem docelowym dla 1,25(OH)₂D₃ (Simpson i wsp., 1985). Sutherland i wsp. w 1992 roku wykazali obecność VDR w mózgowiu człowieka, co wskazywało na rolę witaminy D w jego funkcjonowaniu. W 2001 roku potwierdzono obecność VDR w mięśniu szkieletowym człowieka. Dziś wiemy, że witamina D jest hormonem neurosteroidowym i odgrywa ważną rolę między innymi w różnicowaniu, regulacji homeostazy Ca⁺⁺ oraz modulowaniu uwalniania neurotrofin. Witamina D działa poprzez VDR, który rozpowszechniony jest w mózgowiu i rdzeniu kręgowym, między innymi w obszarach zaangażowanych w regulację aktywności ruchowej i zachowania (Bivona i wsp., 2019; Kalueff i wsp., 2004). Poza tym, wykazano, że metabolity witaminy D, naturalnie przechodzą przez barierę krew-mózg (Gil i wsp., 2018). Istnieją badania wskazujące, że witamina D jest skutecznym przeciwutleniaczem. Wykazano również, że witamina D ma zdolność

hamowania stresu oksydacyjnego indukowanego w ośrodkowym układzie nerwowym (Lin i wsp., 2005). Ponadto u pacjentów skierowanych do zabiegu operacyjnego kręgosłupa lędźwiowego, po suplementacji witaminą D, zaobserwowano obniżone stężenia markerów peroksydacji tłuszczów i białek w mięśniu wielodzielnym (Dzik i wsp., 2018). Co więcej, wykazano, że po podaniu 3200IU/dzień witaminy D przez okres 5 tygodni, pacjenci, kierowani do tego rodzaju zabiegu operacyjnego, mieli niższe subiektywne odczucia bólu po rehabilitacji w porównaniu do grupy placebo (Krasowska i wsp., 2019). W innej pracy pochodzącej z tego samego zespołu stwierdzono, że rehabilitacja w połączeniu z suplementacją witaminą D poprawiała stabilność posturalną i wpływała znacząco na proces powrotu do zdrowia zarówno po operacji odcinka lędźwiowego (Skrobot i wsp., 2019) jak i szyjnego (Skrobot i wsp., 2020). Przypuszczalnym mechanizmem modulacji bólu zależnego od witaminy D jest jej przeciwzapalne działanie na obniżenie stężenia cytokin pro-zapalnych (Krasowska i wsp., 2019). Warto nadmienić, że w tej samej grupie pacjentów suplementacja przed zabiegiem operacyjnym zmniejszała atrofię mięśni przykręgosłupowych, a w grupie z optymalnym poziomem witaminy D, zawartość białka PGC-1 α była wyższa w porównaniu do grupy z deficytami (Dzik i wsp., 2019b).

2. Kontrola motoryczna

2.1 Zarys historyczny

Neurologiczną podstawę połączenia mózgu z kończynami po raz pierwszy opisał w 1826 roku szkocki fizjolog Charles Bell. Sześćdziesiąt lat później angielski anatom i patolog Henry Bastian wprowadził termin „kineathesia”, wywodzący się z dwóch greckich słów „kinein” ruch, i „asisthesis” odczucie. W 1906 roku angielski neurofizjolog Sir Charles Sherrington opisał „propriocepcję” z łacińskiego „proprius” - własnego i „percepcji”, aby określić termin dla informacji o pozycji części ciała w przestrzeni. Terminy kinestezja i propriocepcja były i są błędnie stosowane jako synonimy (Stillman, 2002). Dziś wiemy, że kinestezja (czucie ruchu) jest składową zmysłu proprioceptywnego obok czucia pozycji (JPS- joint position sense) oraz czucia siły (SR - sense of resistance) (Riemann i wsp., 2002a) (Ryc. 2).

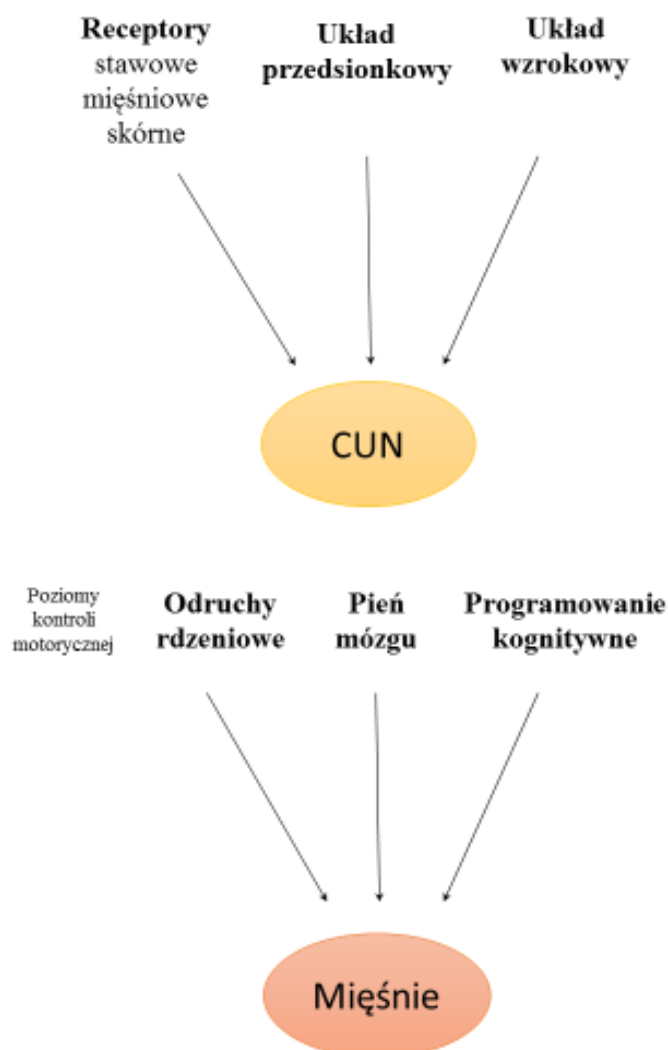


Ryc. 2 Składowe propriocepcji.

2.2 Mechanizm działania systemu somatosensorycznego

Percepcja, ruch i jego kontrola odbywa się za pośrednictwem centralnego układu nerwowego (CUN), który otrzymuje informacje z trzech podsystemów: czucia somatosensorycznego, narządu przedsionkowego oraz narządu wzroku (Riemann i wsp., 2002a). Pierwszy z nich otrzymuje informację obwodową z receptorów zlokalizowanych w stawach, mięśniach, ścięgnach i skórze. Impulsy z mechanoreceptorów skórnych np. ciałek Meissnera, ciałek Merkla (skóra) oraz ciałek Paciniego i ciałek Ruffiniego (tkanka podskórna) docierają do rdzenia przez korzenie grzbietowe nerwów rdzeniowych. Czucie dotyku przewodzone jest sznurami tylnymi rdzenia kręgowego, które biegną do jąder smukłego i klinowatego w rdzeniu przedłużonym (droga rdzeniowo-opuszkowa). Informacje receptorowe ciepła, zimna, bólu oraz częściowo z receptorów dotyku i ucisku kierują się do kory czuciowej (droga rdzeniowo-wzgórzowa przednia i boczna). Impulsy z receptorów mięśniowych dają informacje o rozciągnięciu mięśnia, dodatkowo, dzięki odbiorowi bodźca czuciowego z włókien intrafuzalnych, możliwa staje się lokalizacja poszczególnych części ciała. Wrzeciona nie wykazują adaptacji przy stałej długości mięśni, co daje możliwość dla CUN na stałą informację o rozciąganiu poszczególnych mięśni. Umożliwia to ocenę położenia ciała w czasie bezruchu oraz wykonania złożonych ruchów bez kontroli wzroku. Receptory ścięgniste znajdujące się na granicy włókien mięśniowych i ścięgnistych, reagują głównie na skurcz mięśni i na bardzo silne rozciąganie, pełniąc m.in. ochronę przed nadmiernym rozciągnięciem mięśni.

Drugi podsystem zapewniający przekazywanie danych do CUN to narząd przedsionkowy, w którego skład wchodzi przedsionek zlokalizowany w uchu wewnętrznym podzielony na woreczek i łagiewkę oraz trzy przewody półkoliste zakończone tzw. bańką. Narząd wzroku dostarcza informację wzrokową w odniesieniu do orientacji ciała w przestrzeni za pomocą fotoreceptorów (czopków i pręcików) (Górski, 2010). Do lat 70 XX wieku uważano, że jedynie receptory stawowe dostarczały informacji o czuciu pozycji. W 1972 roku Goodwin i wsp. wykazali, że wrzeciono mięśniowe jest podstawowym źródłem danych o kinestezji (Proske i wsp., 2009). Aktualnie wiadomo, że w warunkach fizjologicznych podstawową rolę w kontroli ruchu i równowagi odgrywa układ somatosensoryczny i wzrokowy (Lephart i wsp., 1998). Informacje zbierane z podsystemów są przekazywane do CUN na trzech poziomach: rdzenia kręgowego, pnia mózgu i wyższych poziomów CUN m.in. mózdzku czy też kory mózgowej. Rdzeń kręgowy bierze udział w kontroli, w przewodzeniu i reakcjach odruchowych a także przepływie informacji z wyższych poziomów układu nerwowego drogami eferentnymi. Pień mózgu poprzez jądra mózdzku przetwarza informacje z narządu przedsionkowego, somatosensorycznego i wzroku w celu zapewnienia kontroli stabilności. Wyższe poziomy CUN tj. mózdzek, zwoje podstawy oraz kora ruchowa są odpowiedzialne za programowanie poznawcze ruchu (Ryc. 3)(Lephart i wsp., 1998).



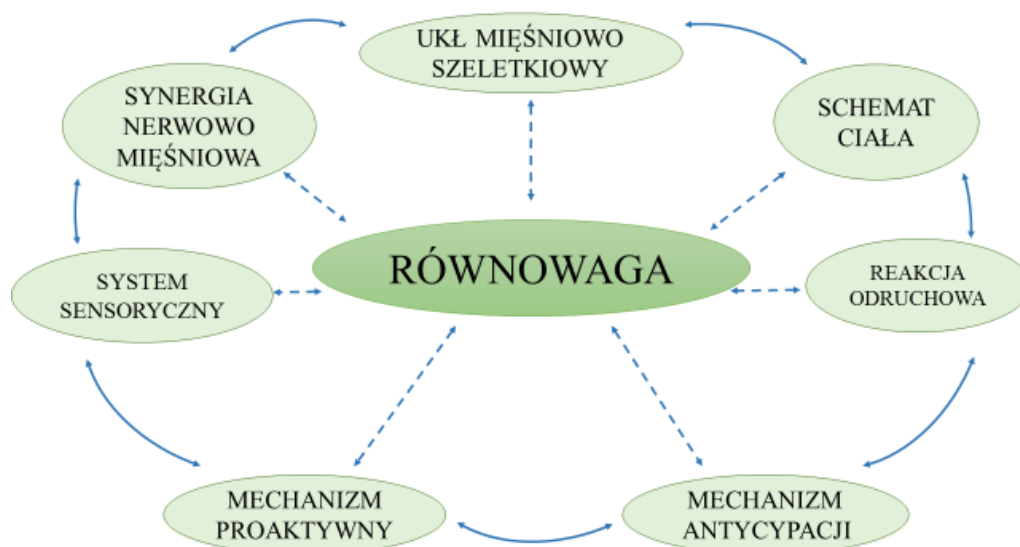
Ryc. 3 Mechanizm kontroli nerwowo-mięśniowej, opracowanie własne na podstawie Lephart i wsp. (Lephart i wsp., 1998).

Integracja sensoryczna, motoryczna i centralna oraz przetwarzanie komponentów zaangażowanych w utrzymanie zrównoważenia w stawie podczas ruchu ciała zapewnia funkcjonalną stabilność stawu. Jest ona uzyskiwana dzięki komponentom pasywnym i dynamicznym. Pierwsze z nich to więzadła, torebki stawowe, chrząstki, kości, drugie, powstają w wyniku sprzężenia zwrotnego i kontroli neuromotorycznej mięśni szkieletowych, odpowiadających za ruch w danym stawie (Riemann i wsp., 2002a). Koordynacja narządu wzroku, narządu przedsionkowego i informacji z receptorów (proprioceptorów), ale także dopasowanie się do bodźca i szybka odpowiedź ruchowa, która jest pod kontrolą mózdzku, narządu przedsionkowego i jąder przedsionkowych w pniu mózgu, jest niezbędna do

utrzymania stabilnej postawy. Zaburzenie informacji płynącej z narządów receptorowych, ich nieprawidłowa integracja czy też następne zaburzenie reakcji motorycznej, mogą być przyczyną zaburzeń proprioceptywnych stawu, a w konsekwencji urazu.

2.3 Równowaga

Równowaga jest to zdolność do utrzymania postawy ciała przy jednoczesnym zachowaniu środka ciężkości w podstawie podparcia. Równowaga dynamiczna to umiejętność kontroli pożądanego położenia, poprzez umieszczenie środka ciężkości w podstawie podparcia, gdy ciało jest w ruchu (Syed, 2011). Równowaga to również zdolność do utrzymania stabilności przed, w trakcie i po zamierzonym ruchu z korektą postawy oraz poprzez szybką i efektywną reakcję na zaburzenia zewnętrzne i inne warunki destabilizujące (Held-Ziółkowska, 2006). Jest szereg czynników wpływających na równowagę (Ryc. 4). Jednym z nich jest sprawnie działający układ mięśniowo-szkieletowy. W momencie urazu tkankowego, np. skręcenia stawu, naderwania mięśnia, czy złamania kości, układ ten jest niezdolny do prawidłowego funkcjonowania. Może to prowadzić do błędnego interpretowania informacji z systemu sensorycznego, na który składają się receptory obwodowe, układ przedsionkowy i układ wzrokowy. Dodatkowo synergia nerwowo-mięśniowa, która polega na nadzorowanym, wzajemnym współdziałaniu wszystkich układów, dostarcza i odbiera informacje dostosowując się do sytuacji (Corso, 2018). Informacje z receptorów obwodowych, przesyłane dzięki sprawnemu działaniu układu nerwowego, są kierowane drogami aferentnymi do rdzenia kręgowego, na poziomie którego mogą zachodzić reakcje odruchowe lub do wyższych regionów CUN, po czym zwrótnie, drogami eferentnymi informacje docierają do efektorów, wpływając np. na schemat ciała (Horak, 2006).



Ryc. 4 Czynniki wpływające na zachowanie równowagi opracowanie własne na podstawie Syed'a (Syed, 2011).

Rozpoznanie niewłaściwej informacji płynącej z receptorów, będącej następstwem np. urazu, może doprowadzić do błędnego programowania odpowiedzi ruchowej, np. poprzez zaburzony wzorec ruchowy czy wadę postawy. Błędna pozycja daje błędną informację receptorową, która jest ponownie wysyłana do CUN, gdzie poddana jest analizie. Następnie programowana jest odpowiedź która zamyka „błędne koło”. Na równowagę wpływają także mechanizmy reakcji nieprzewidzianych (proaktywnych), tzn. „feedback” oraz mechanizmy wyuczone (antycypowane), tzw „feedforward” (Riemann i wsp., 2002b). Pierwsze z nich to mechanizmy reaktywne, pojawiające się około 7-10 miesiąca życia, drugie zaś, wyuczone, około 4 roku życia. Rozwój obu z nich jest kontynuowany do okresu dojrzewania (Hatzitaki i wsp., 2002). Każdy z tych układów powinien się uzupełniać niezależnie od sytuacji, np. stania na jednej kończynie dolnej, chodzenia w pomieszczeniu bez światła, biegania czy stania z zamkniętymi oczami. Przeciążenie lub uszkodzenie co najmniej jednej z komponent może oddziaływać na system równowagi, co w konsekwencji będzie wpływało na poszczególne składowe i układy z nimi związane.

Kontrola motoryczna jest możliwa za pośrednictwem CUN na różnych poziomach. Dzięki informacjom z narządu przedsionkowego, wzroku i proprioceptorów, CUN odbiera i wysyła informację w celu zapewnienia

funkcjonalnej stabilności stawu, co jest niezbędne do osiągnięcia i utrzymania równowagi (Riemann i wsp., 2002a). Zaburzenie informacji płynącej z narządów receptorowych, ich nieprawidłowa integracja, czy też zaburzenie reakcji motorycznej, mogą być przyczyną błędnej informacji zwrotnej, błędnego schematu ciała, a także poczucia niestabilności, a w konsekwencji przyczyną zwiększonego ryzyka urazu. Dzieje się tak np. u pacjentów z neuropatią, zwłaszcza w przebiegu cukrzycy, która wpływa na propriocepcję kończyn dolnych, zmniejszając dynamiczną stabilność stawów, a tym samym zwiększając ryzyko upadku (van Deursen i wsp., 1999). Zdolności proprioceptywne rozwijają się najbardziej między piątym a ósmym rokiem życia, spowalniając i stabilizując się w późnym okresie dzieciństwa i podczas wczesnego dorastania. Zaobserwowano, że dzieci które mają trudności z propriocepcją, mogą wykazywać trudności z koordynacją i planowaniem ruchu. Dodatkowo mogą charakteryzować się słabszą kontrolą postawy i równowagi z powodu nieefektywnych strategii przeciw upadkom, m.in., strategii stawu skokowego (Chu, 2017). Strategia ta, inaczej nazywana sekwencją dystalno-proksymalną, pojawia się w czasie nieznacznego zachwiania równowagi rozpoczynając się od aktywności mięśni stawu skokowego. W wyniku pobudzenia głównie mięśni stabilizujących stawu skokowego środek ciężkości wraca do swego normalnego położenia (Held-Ziółkowska, 2006).

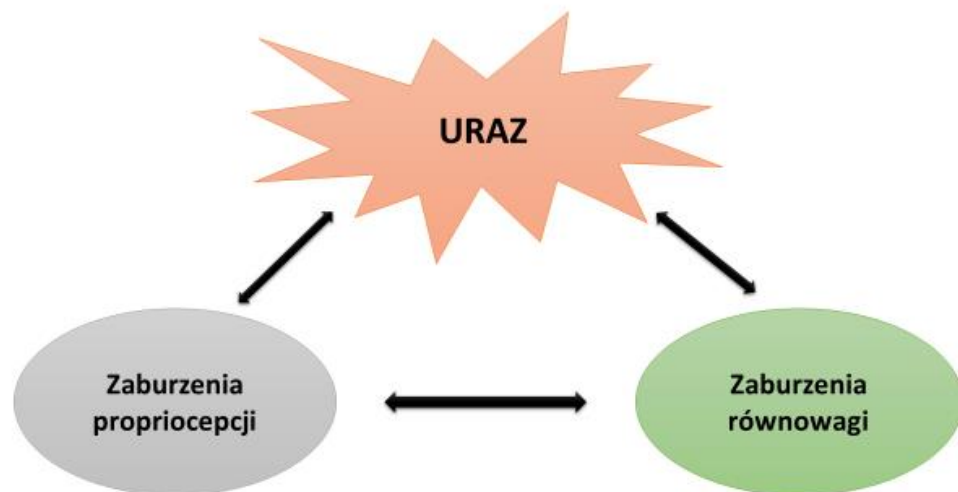
2.4 Kontrola motoryczna w sporcie

Ruch jest podstawową częścią aktywności ludzkiego życia. Wykorzystywany jest w codziennym funkcjonowaniu, pracy, rekreacji ruchowej czy też sporcie. Kontrolowany i precyzyjny stanowi integralną część ludzkiego życia. Umiejętność odpowiedniego kształtowania, kontroli i koordynacji zdolności motorycznych jest istotna dla osiągnięcia wyniku sportowego. Somatosensoryczny system zapewnia przepływ wielu informacji drogami aferentnymi do CUN. W połączeniu z układem przedsionkowym i informacją wzrokową pozwala na utrzymanie stabilności i poruszania różnymi częściami ciała wydajnie, dokładnie i skutecznie w różnym środowisku (Riemann i wsp., 2002a). Dodatkowo wywołuje odpowiedź mięśni kończyn i tułowia, dążąc do utrzymania stanu równowagi. Aby ciało

pozostawało w równowadze, środek ciężkości (centre of the mass -COM) powinien rzutować na podstawę podparcia, której granica jest wyznaczona przez zarys stóp w pozycji stojącej. Rozstawienie stóp, zaopatrzenie w postaci kuli, balkonika czy też uchwycenie stabilnego przedmiotu w otoczeniu, zwiększa pole powierzchni podstawy podparcia ciała i pozwala na utrzymanie rzutu środka ciężkości w jego większych granicach. Analogicznie podczas stania na jednej kończynie dolnej powierzchnia podstawy podparcia ulega zredukowaniu. Zarówno podczas stania, jak i w ruchu, środek ciężkości ciała przesuwa się w różnych kierunkach. Warunkiem utrzymania równowagi jest odchylenie środka ciężkości od osi siły grawitacji tak, aby pozostawał on stale w granicach stabilności.

W wielu dyscyplinach sportowych wymagana jest doskonała kontrola równowagi, aby osiągnąć najwyższy poziom rywalizacji i uniknąć kontuzji. Aby ją zachować, CUN integruje informacje wzrokowe, przedsionkowe i proprioceptywne w celu wytworzenia poleceń motorycznych koordynujących wzorce aktywacji mięśni. Jedną z strategii zachowania równowagi podczas stania opiera się na teorii ponownego wdrażania, tzn. stałej integracji pomiędzy wizualnymi, przedsionkowymi i proprioceptywnymi informacjami i wyboru najbardziej „wiarygodnego” źródła. Teoria ta zakłada, że CUN może zmieniać źródła informacji o położeniu ciała w zależności od sytuacji na bardziej rzetelne w celu optymalizacji kontroli równowagi. Dzieje się tak m.in. w sporcie np. na boisku przy ataku przeciwnika, gdy narząd wzroku odbiera informacje o przeciwniku, wtedy CUN, aby zachować stabilność ciała, w większym stopniu polega na informacjach proprioceptywnych z obwodu ciała. Według tej teorii układ nerwowy preferuje bardziej „wiarygodne” informacje sensoryczne z jednego układu niż mniej „wiarygodne” z innego układu w ramach ciągłego dynamicznego procesu analizy informacji aferentnej (Pasma i wsp., 2015). W sporcie ryzyko urazu jest związane z poziomem wytrenowania i wyspecjalizowania. Zawodnicy uprawiający daną dyscyplinę wykazują mniejsze ryzyko ogólnej kontuzji, ale duże ryzyko ostrego, nagłego uszkodzenia (Post i wsp., 2017). Potencjalnym mechanizmem urazu u sportowca trenującego konkretną dyscyplinę minimum rok, jest duże obciążenie treningowe i ciągły powtarzany wzorzec motoryczny (Miller i wsp.,

2017). W koszykówce urazowość zawodników jest częstym problemem na wszystkich poziomach wytrenowania i dotyczy to głównie dolnego kwadrantu ciała (Agel i wsp., 2007). Sprawnie działające i uzupełniające się czynniki wpływające na równowagę, które opisałam wcześniej, są kluczowe do ochrony oraz zapobiegania przed urazami, a ich nieprawidłowa współpraca może przyczyniać się do odbierania nieprawidłowych informacji proprioceptywnych, a tym samym do zwiększenia ryzyka kontuzji (Miller i wsp., 2017)(Ryc. 5).



Ryc. 5 Przypuszczalna zależność występowania urazu związana z zaburzeniami czynników wpływających na równowagę i propriocepcję.

3. Stan zapalny

3.1 Rola cytokin w stanie zapalnym

Stan zapalny jest naturalną reakcją fizjologiczną na różne bodźce m.in. infekcje czy też uszkodzenie tkanki. Jest on również ochronną odpowiedzią biologiczną organizmu. Jeżeli obszar zakażenia lub urazu jest mały, to odpowiedź zapalna może zlokalizować się w konkretnym miejscu. Zakażenia ogólne czy np. intensywne ćwiczenia mogą inicjować ogólnoustrojową odpowiedź zapalną tzw. ostrą fazę zapalną, która wpływa na wiele narządów. Intensywne treningi bez odpowiedniego procesu regeneracji mogą aktywować ogólnoustrojowy stan zapalny. W trakcie odpowiedzi zapalnej, w komunikacji międzykomórkowej pośredniczą przede wszystkim

białka tzn. cytokiny. Są to niewielkie białka lub glikoproteiny uwalniane głównie przez białe krwinki (limfocyty T), ale mogą być również wytwarzane przez mięsień szkieletowy (miokiny) i tkankę tłuszczową (adipokiny). Ważną rolą cytokin jest utrzymanie równowagi w regulacji układu odpornościowego (Pedersen i wsp., 2008). Zależnie od sytuacji, cytokiny mogą odgrywać rolę pro- i przeciw-zapalną. Spośród cytokin, te, które promują kaskadę zapalną, są uważane za mediatory prozapalne, w tym: interleukina (IL) -1 β , IL-6, IL-8, czynnik martwicy nowotworu-alfa (TNF- α), chemokiny, rodzina interferonów itp. Do cytokin przeciwzapalnych zaliczamy między innymi: IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 i IL-13, są one produkowane w celu wyhamowania procesu zapalnego poprzez regulację cytokin prozapalnych. Po jednorazowym nadmiernym wysiłku następuje wyrzut cytokin prozapalnych, a następnie dochodzi do wydzielania i regulacji cytokin przeciwzapalnych. W regularnej aktywności, z umiarkowaną intensywnością wysiłku indukowane są cytokiny przeciwzapalne (Ciecierska i wsp., 2019). U sportowców wysokiego wyczynu i nie tylko, treningi nie składają się jedynie z wysiłków o umiarkowanej intensywności. Zbyt intensywny trening w połączeniu z brakiem odpowiedniej regeneracji często prowadzi do przemęczenia oraz przetrenowania. Zespół przetrenowania (OTS- overtraining syndrome) jest to stan, w którym zawodnik trenuje intensywnie z jednoczesnym pogorszeniem zdolności motorycznych i wydajności. Do objawów zalicza się między innymi uporczywe zmęczenie, zmiana nastroju, a także zaburzenia równowagi procesów biochemicznych i immunologicznych, co może powodować pogłębiający się wzrost poziomu markerów stanu zapalnego. Jedną z teorii OTS jest brak równowagi pomiędzy syntezą cytokin pro - i przeciw-zapalnych (Smith, 2003).

3.2 Charakterystyka wybranych białek wpływających na mięsień szkieletowy

Miogeneza jest złożonym procesem rozwoju i wzrostu włókien mięśniowych. U dorosłego człowieka proces ten odpowiada za regenerację tkanki mięśniowej i regulowany jest przez hormony, czynniki wzrostu i cytokiny. Insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1) uwalniany jest przez mięśnie szkieletowe, ma działanie anaboliczne na tkankę mięśniową, a jego

rolą jest kontrola wzrostu i rozwoju tej tkanki poprzez pobudzenie procesu proliferacji i różnicowania komórek. Jego antagonistą jest miostatyna – czynnik wzrostu i różnicowania-8 (GDF-8 - growth and differentiation factor-8), która należy do nadrodziny białek transformujących czynnik wzrostu beta (TGF- β), ulegającym ekspresji tylko w mięśniach szkieletowych. GDF-8 jest silnym negatywnym regulatorem wzrostu i różnicowania tkanki mięśniowej zarówno w trakcie rozwoju embrionalnego, jak również w okresie pourodzeniowym. GDF-8 działając przeciwnie do IGF-1, wpływa hamująco na proces miogenezy i negatywnie reguluje aktywację, proliferację i różnicowanie komórek satelitarnych (Dodson i wsp., 1996). Białko C-reaktywne (CRP) jest białkiem fazy ostrej, którego poziom podnosi się w odpowiedzi na ogólny stan zapalny. Należą do nich ostre i przewlekłe stany, które mogą być zakaźne lub niezakaźne pod względem etiologicznym. Uraz może powodować podwyższenie CRP, które jest indukowane głównie przez działanie IL-6 na gen odpowiedzialny za transkrypcję CRP podczas procesu zapalnego/zakaźnego. Co więcej, wykazano, że w wyniku wysiłku fizycznego może dochodzić do zmiany poziomów krążących we krwi cytokin (Moldoveanu i wsp., 2001). Uszkodzenie mięśni wywołane wysiłkiem jest podstawowym bodźcem odpowiedzi IL-6 (Cavaillon, 2001). Może ona indukować odpowiedź przeciwzapalną poprzez wzrost syntezy IL-10 i IL-1ra. IL-6 pochodząca z mięśni ma działanie autokrynne i parakrynne, wspomaga homeostazę glukozy i lipolizę podczas ćwiczeń. Poza tym może wywierać wpływ regulujący na działanie układu odpornościowego poprzez hamowanie produkcji TNF- α . Przyczynia się również do regeneracji mięśni po urazie poprzez stymulację komórek satelitarnych. Jakkolwiek wykazano, że długotrwale podwyższony poziom IL-6 działa prozapalnie, m.in. poprzez hamowanie sygnalizacji IGF-1 (Munoz-Canoves i wsp., 2013).

W ostatnich latach dowiedziono, że stężenie witaminy D ma wpływ na markery stanu zapalnego. W pracy Willis'a i wsp. zaobserwowano, że stężenie witaminy D jest odwrotnie skorelowane z poziomem TNF- α (Willis i wsp., 2012). Badania wykazują, że TNF- α jest nie tylko markerem stanu zapalnego, ale również udowodniono, że wzrost jego ekspresji jest skorelowany z obniżoną aktywnością regeneracyjną mięśni szkieletowych (Chen i wsp.,

2007). Podwyższone stężenie krążącego TNF- α wpływa na katabolizm mięśni, powoduje zaburzenia metaboliczne m.in. insulinooporność, miopatie zapalne oraz kachektyczny zanik mięśni (Ciecierska i wsp., 2019). Żebrowska i wsp. wykazali, że po 3-tygodniowej suplementacji witaminą D, dochodzi do obniżenia stężenia TNF- α u biegaczy długodystansowych (Żebrowska i wsp., 2020). Ponadto zostało udokumentowane, że witamina D hamuje proliferację komórek limfocytów T i monocytów oraz wykazuje działanie supresyjne na cytokiny prozapalne tj. CRP, IL-6, IL-8 z jednoczesną stymulacją cytokin przeciwzapalnych tj. IL-10 (Guillot i wsp., 2010). Dodatkowo zaobserwowano, że po 6 miesięcznej suplementacji nastolatków witaminą D, dochodzi do wzrostu stężenia przeciwzapalnej IL-10 z jednoczesnym obniżeniem IL-6 (Yarparvar i wsp., 2020). W badaniach Krasowskiej i wsp. opisano, że pacjenci poddani suplementacji witaminą D wykazywali mniejsze subiektywne odczucia bólu, z jednoczesnym obniżeniem poziomu markerów stanu zapalnego we krwi (Krasowska i wsp., 2019). W badaniach tego samego zespołu wykazano wyższy poziom IGF-1 zarówno w surowicy, jak i w mięśniu przykręgosłupowym, u pacjentów z optymalnym stężeniem 25(OH)D₃, u których zastosowano przedoperacyjną suplementację witaminą D (Dzik i wsp., 2019b). Te doniesienia wskazują, że istnieje zależność pomiędzy poziomem IGF-1 i stężeniem witaminy D we krwi. Poza tym zostało udokumentowane, że IGF-1 wpływa na ekspresję enzymu 1- α -hydroksylazy, który przekształca nieaktywną postać witaminy D do jej formy aktywnej (Wei i wsp., 1998).

2. Cel badań, pytania badawcze i hipotezy

2.1 Cel badań

Głównym celem niniejszej pracy jest wykazanie czy 10-tygodniowa suplementacja witaminą D₃ w dawce 3200 IU/dziennie, będzie miała wpływ na zmianę stężenia 25(OH)D₃ w surowicy krwi z wartości obniżonych do optymalnych w grupie trenującej młodzieży.

Następnym celem jest zbadanie, czy w wyniku suplementacji witaminą D₃ dojdzie do poprawy równowagi, propriocepcji i siły mięśniowej oraz zmniejszenia ryzyka urazów w grupie trenującej młodzieży.

Trzecim celem jest ocena czy stężenie wybranych markerów stanu zapalnego i uszkodzenia mięśni u młodych sportowców zmieni się po suplementacji witaminą D₃.

2.2 Pytania badawcze:

1. Czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem witaminy D₃ a stabilnością posturalną?
2. Czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem witaminy D₃ a propriocepcją?
3. Czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem witaminy D₃ a urazowością?
4. Czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem witaminy D₃ a siłą mięśni?
5. Czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem witaminy D₃ a poziomem wybranych markerów stanu zapalnego i uszkodzenia mięśni?

2.3 Hipotezy badawcze

W wyniku suplementacji witaminą D₃ dojdzie do uzyskania jej optymalnego stężenia w grupie suplementowanej, poprawy stabilności posturalnej, propriocepcji oraz siły mięśniowej, a w konsekwencji zmniejszy się ryzyko wystąpienia urazów oraz dojdzie do obniżenia poziomów wybranych markerów stanu zapalnego i uszkodzenia mięśni.

3. Materiały i metody

3.1 Zgoda na badanie

Badania zostały przeprowadzone za zgodą Niezależnej Komisji Bioetyki do Spraw Badań Naukowych (Nr NKBBN/455/2015) przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym. Przed przystąpieniem do projektu uczestnicy oraz ich rodzice/opiekunowie byli poinformowani o założeniach badań i formie jego przeprowadzenia. Ze względu na wiek badanych, rodzic lub prawny opiekun zawodników, proszony był o wyrażenie świadomej pisemnej zgody na uczestnictwo swojego podopiecznego w projekcie. Na włączenie zawodników do badań uzyskano również zgodę Dyrekcji Szkoły Podstawowej z Oddziałami Sportowymi nr 7 im. T. Kościuszki w Sopocie oraz ustną zgodę trenerów. Uczestnictwo w procedurach badawczych było dobrowolne, z możliwością rezygnacji w dowolnym momencie. Kryterium włączenia zawodników do badań stanowiło m.in. spełnienie wszystkich wymogów Komisji Bioetyki, dotyczących stanu zdrowia zawodników. Ponadto warunkiem przystąpienia do badań był dobry stan zdrowia, deklarowane dobre samopoczucie oraz brak jakichkolwiek przeciwwskazań kontrolowanych przez nadzorującego badania lekarza pediatrę (załącznik nr 1-informacja dla rodziców/zgoda na badania).

3.2 Materiał badawczy

Badania zostały przeprowadzone na 30 młodych sportowcach, trenujących koszykówkę w wieku 13-15 lat, w okresie przygotowawczym. Badanych losowo podzielono na dwie grupy: suplementowaną (SUP) i placebo (PL). Grupa suplementowana otrzymywała witaminę D₃ (lek- Vigantol 3200 IU witaminy D₃/dzień), a grupa placebo otrzymywała olej roślinny. Wszyscy badani niezależnie od grupy, dostawali jednakowe butelki z dozownikiem kropel, w której znajdował się lek lub olej roślinny. Suplementacja odbywała się w okresie zimowym ze względu na ograniczoną możliwość syntezy skórnej. Przed i po okresie 10 tygodniowej suplementacji wykonano badania kliniczne.

Tabela 3 Charakterystyka badanej grupy.

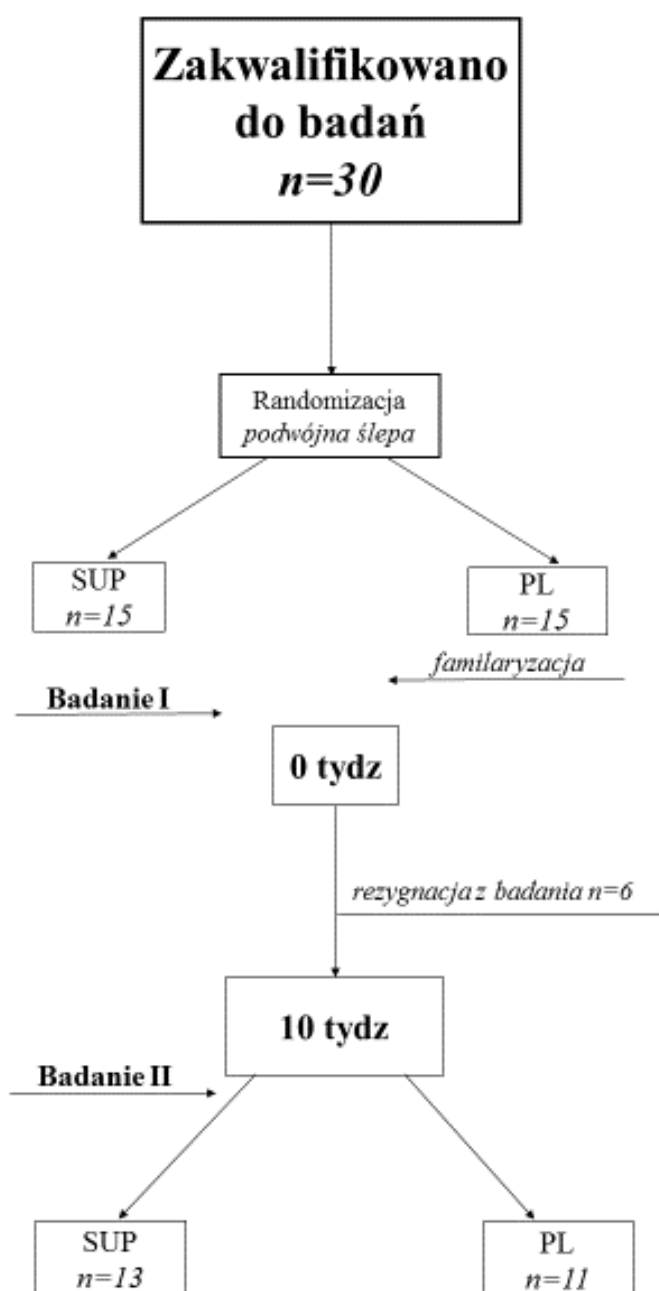
	<i>grupa</i>	<i>Przed</i>	<i>Po</i>
Masa ciała (kg)	SUP	69,17 ($\pm 16,75$)	69,78 ($\pm 17,35$)
	PL	67,95 ($\pm 12,61$)	69,48 ($\pm 12,52$)
BMI (kg/m²)	SUP	21,42 ($\pm 3,54$)	21,42 ($\pm 3,69$)
	PL	20,85 ($\pm 1,54$)	21,14 ($\pm 1,84$)
SMM (kg)	SUP	34,05 ($\pm 8,38$)	34,54 ($\pm 8,74$)
	PL	35,16 ($\pm 7,27$)	35,89 ($\pm 8,03$)
BFM (kg)	SUP	8,55 ($\pm 5,04$)	8,50 ($\pm 5,77$)
	PL	6,14 ($\pm 2,35$)	6,25 ($\pm 3,00$)
PBF (%)	SUP	12,1 ($\pm 5,29$)	11,88 ($\pm 6,15$)
	PL	8,74 ($\pm 3,41$)	8,92 ($\pm 4,70$)
PTH (pg/ml)	SUP	50,25 ($\pm 21,25$)	52,42 ($\pm 27,61$)
	PL	47,02 ($\pm 28,22$)	47,27 ($\pm 31,07$)
Ca⁺⁺ (mg/dl)	SUP	11,06 ($\pm 3,39$)	10,22 ($\pm 0,71$)
	PL	9,91 ($\pm 2,77$)	10,39 ($\pm 1,14$)

Tab. 3 Przedstawia wartości średnie z odchyleniem standardowym ($\pm$) przed i po 10-tygodniowej suplementacji. Brak istotnych statystycznych różnic w grupie i między grupami zarówno przed jak i po 10-tygodniowym eksperymencie. SMM- masa mięśni szkieletowych, BFM- masa tkanki tłuszczowej, PBF- procentowa zawartość tłuszczu, PTH- parathormon, Ca⁺⁺- wapń.

3.3 Opis badania

Badania były objęte podwójną ślepą próbą. Została wyznaczona osoba przeprowadzająca randomizację zawodników do poszczególnych grup oraz nadzorująca badania. W czasie trwania projektu, zawodnicy, rodzice/opiekunowie oraz trenerzy nie zostali poinformowani o podziale badanych chłopców do określonych grup. Osoby przeprowadzające badania nie zostały poinformowane o doborze badanych do grup, do czasu zakończenia projektu. Przed rozpoczęciem eksperymentu, zawodnicy zostali zapoznani

z procedurą testów i ze sprzętem (familiaryzacja). Badania zostały przeprowadzone dwukrotnie: (1) przed suplementacją oraz (2) po suplementacji (Ryc. 6). Badania każdorazowo były wykonywane w Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku (AWFiS), w Laboratorium Wysiłku Fizycznego. W trakcie trwania eksperymentu, zrezygnowało 6 zawodników z powodu: kontuzji (2 osoby), choroby (4 osoby). Ze względu na dużą liczbę testów, badania odbywające się w Laboratorium Wysiłku Fizycznego AWFiS, zostały podzielone na dwa spotkania.



Ryc. 6 Schemat przebiegu badania.

3.4 Charakterystyka treningu grupy badanej

W czasie trwania 10-tygodniowej suplementacji, zawodnicy byli w trakcie przygotowania ogólnego, które trwało 4 tygodnie i charakteryzowało się wzrostem intensywności i objętości obciążenia treningowego oraz przewagą ogólnego przygotowania fizycznego. Następnie sportowcy byli w trakcie przygotowania specjalnego, które trwało przez 6 tygodni. Charakterystykę mikrocyklu tygodniowego grupy w obu okresach przedstawia Tabela 4. Każda jednostka treningowa rozpoczynała się rozgrzewką trwającą od 10 do 20 min i kończyła ćwiczeniami o charakterze rozciągającym. Zawodnicy trenowali 6 razy w tygodniu. Średni czas mikrocyklu tygodniowego wynosił 12h. Ponadto wszyscy uczestnicy w trakcie projektu deklarowali, że nie zmieniali w sposób znaczący swojego stylu życia, sposobu żywienia oraz nie stosowali dodatkowych suplementów i odżywek dla sportowców, poza preparatami dostarczonymi przez osobę wyznaczoną w projekcie.

Zadania Trenin- gowe Dzień tygodnia	Przygotowanie ogólne (4 tyg.)				Przygotowanie specjalne (6 tyg.)			
	Sesja poranna	CZAS (min)	Sesja popołudniowa	CZAS (min)	Sesja poranna	CZAS (min)	Sesja popołudniowa	CZAS (min)
PN	Wytrzymałość w terenie	45	Przygotowanie techniczne i taktyczne	90	Trening wzmacniający stabilizacja + ćwiczenia uzupełniające	60	Szybkość i koordynacja Przygotowanie techniczne i taktyczne	90
WT	-	-	Siła ogólna (adaptacja/hipertrofia funkcjonalna) Przygotowanie techniczne i taktyczne	120	-	-	Siła maksymalna / siła eksplozywna + moc (zależne od mikrocyklu) Przygotowanie techniczne i taktyczne	120
ŚR	-	-	Wytrzymałość / szybkie sprinty – trening interwałów (zależne od mikrocyklu)	60	-	-	Mecz / Szybkość i koordynacja Przygotowanie techniczne i taktyczne (zależne od mikrocyklu)	60
CZW	-	-	Siła ogólna (adaptacja/hipertrofia funkcjonalna) Przygotowanie techniczne i taktyczne / konkurs rzutów (zależne od mikrocyklu)	120	-	120	Siła maksymalna / siła eksplozywna + moc (zależne od mikrocyklu) Przygotowanie techniczne i taktyczne	120
PT	-	-	Wytrzymałość Przygotowanie techniczne i taktyczne/mecz	60	-	-	Mecz / Szybkość i koordynacja Przygotowanie techniczne i taktyczne (zależne od mikrocyklu) / konkurs rzutów (zależne od mikrocyklu)	-
SB	Wytrzymałość / trening stabilności tułowia (zależne od mikrocyklu) Konkurs rzutów	90	Odnowa biologiczna	60	Trening wzmacniający (stabilizacja + ćwiczenia uzupełniające / mecz) (zależne od mikrocyklu)	90/60	Odnowa biologiczna	60
ND	Dzień wolny				-	-	Odpoczynek / mecz (zależne od mikrocyklu)	60

Tab. 4 Charakterystyka treningu grupy badanej.

3.5 Kwalifikacja do badań

Kryteria włączenia do badań:

- zawodnicy trenujący koszykówkę w wieku 13-15 lat,
- ogólny stan zdrowia dobry,
- bez aktualnych kontuzji,
- zgoda rodziców na przeprowadzenie badań.

Kryteria wyłączenia z badań:

- zły stan ogólny zawodnika,
- wystąpienie nowych urazów,
- wystąpienie toksycznych efektów witaminy D₃ (stała kontrola lekarza opiekującego się badanymi),
- brak zgody rodziców na przeprowadzenie badań.

3.6 Badanie Kliniczne

W celu monitorowania zmian zachodzących podczas trwania projektu, zostało przeprowadzone badanie kliniczne, na które składała się ocena funkcjonalna i biochemiczna. Ocena kliniczna została przeprowadzona:

- (1) przed suplementacją,
- (2) po suplementacji.

Funkcjonalne badanie kliniczne składało się z pomiarów: równowagi na platformie balansowej firmy Biodex (Nr. #950-440 System, Balance, SD 115VAC, NY, USA), siły mięśniowej i propriocepcji z użyciem dynamometru Biodex System 4 Pro (Biodex Medical Systems, Inc., Shirley, NY, USA), badanie ryzyka urazu przy użyciu Y-balance test (Move2Perform, Evansville, IN) oraz badanie składu ciała w badaniu bioimpedancji za pomocą InBody 770 (InBody 770 bioelectrical impedance analyzer BioSpace, Korea). Ocena kliniczna obejmowała również oznaczenie stężenia 25(OH)D₃, PTH, Ca⁺⁺ oraz wybranych markerów stanu zapalnego i uszkodzenia mięśnia (CRP, IL-6, IGF-1 i miostatyna).

3.6.1 Badanie funkcjonalne

3.6.1.1 Badanie równowagi

Na platformie balansowej (Balance System Biodex SD) (Ryc. 7) został przeprowadzony test stabilności posturalnej oraz test atlety. Zawodnik bez obuwia i skarpetek proszony był o wejście na platformę, a następnie został instruowany przez osobę przeprowadzającą badanie, aby ustawiać się w miejscu, gdzie jego rzut środka ciężkości (którego odzwierciedleniem był wskaźnik na monitorze) wskazywał środek tarczy. Badający wpisywał współrzędne stóp zgodnie z przyjętą procedurą (3 kość śródstopia i guz piętowy). Wszyscy zawodnicy zostali każdorazowo instruowani o pozycji swobodnego stania, bez możliwości przemieszczania stóp na platformie oraz przytrzymywania się rękoma po rozpoczęciu testu.



Ryc. 7 Platforma balansowa Balance System Biodex SD.

Test stabilności posturalnej wykonany został w dwóch wariantach: z oczami otwartymi i oczami zamkniętymi. W czasie każdego testu, badany wykonywał 3 próby, po 20 sekund każda, z 10 sekundową przerwą między nimi. Platforma w obu przypadkach była nieruchoma. Test atlety polegał na zbadaniu stabilności posturalnej w staniu na jednej kończynie dolnej i był wykonywany tylko dla oczu otwartych. W teście tym obowiązywała opisana wyżej procedura, dotycząca wpisania współrzędnych. Następnie, tak jak w teście stabilności posturalnej, zawodnicy mieli trzy próby po 20 sekund każda, z 10-sekundową przerwą, w której mogli dostawić stopę nogi nietestowanej na platformę w celu odpoczynku, bez poruszenia stopy kończyny badanej. W czasie testu, zawodnik musiał utrzymać równowagę na jednej nodze, a platforma była ruchoma (poziom wychyleń 4). W testach z oczami otwartymi, zawodnik miał za zadanie utrzymać na monitorze wskaźnik jak najbliżej środka tarczy (Ryc. 8). W teście z oczami zamkniętymi, zawodnik miał ustawić wskaźnik na środek tarczy, a następnie na polecenie „START”, zamknąć oczy i utrzymać ciało w zapamiętanym przez siebie punkcie. W celu wykluczenia rozpraszania badanego, w gabinecie nie przebywały osoby trzecie i zachowano ciszę. W obu testach zawodnik został oceniany na podstawie tzw. indeksu stabilności posturalnej w trzech wskaźnikach: ogólny (overall stability index - OSI), wychyleń przednio-tylnych (anterior–posterior stability index - AP) i wychyleń bocznych (medial–lateral stability index - ML). Wysoka wartość indeksu stabilności świadczyła o dużych wychyleniach środka ciężkości, co oznacza, że zawodnik miał problemy z utrzymaniem równowagi.



Ryc. 8 Monitor platformy balansowej firmy Biodex z widocznym na monitorze wskaźnikiem na środku tarczy.

3.6.1.2 Badanie siły mięśniowej i propriocepcji

Badanie siły izometrycznej dla grupy mięśniowej prostowników oraz zginaczy stawów kolanowych wykonano na aparacie Biodex System 4 Pro (Ryc. 9). Zbadana została również propriocepcja na podstawie czucia pozycji stawu (joint position sense - JPS). Każdy uczestnik, przed przystąpieniem do badania, wykonał 5-minutową rozgrzewkę na rowerze stacjonarnym, utrzymując obciążenie 50-55W. Zawodnicy zostali zbadani w pozycji siedzącej

(zgięcie w stawach biodrowych 90°). Do stabilizacji tułowia i kończyn użyto pasów stabilizacyjnych, w celu wyłączenia kompensacji ruchu z innych części ciała. Osoba wykonująca pomiar, wyznaczała palpacyjnie oś ruchu w miejscu szpary stawu kolanowego, gdzie mocowane było ramię podtrzymującą podudzie. Zakres ruchu stawu kolanowego podczas badania ustalono na $0-90^{\circ}$.



Ryc. 9 Dynamometr Biodex System 4 Pro.

Badanie izometrycznej siły mięśniowej

Badanie wykonane zostało dla obu stawów kolanowych w kolejności: prawa kończyna dolna, lewa kończyna dolna. Test polegał na wykonaniu 5-sekundowej pracy izometrycznej naprzemiennie dla prostowników i zginaczy stawu kolanowego w trzech próbach. Zawodnik na komendę „START”, miał wykonać maksymalny skurcz izometryczny w kierunku wyprostu lub zgięcia stawu kolanowego. Pomiędzy próbami zastosowano dziesięciosekundowe przerwy. Dodatkowo osoba przeprowadzająca badanie dopingowała zawodnika do wykonania jak największej pracy izometrycznej.

Badanie czucia pozycji stawu (JPS)

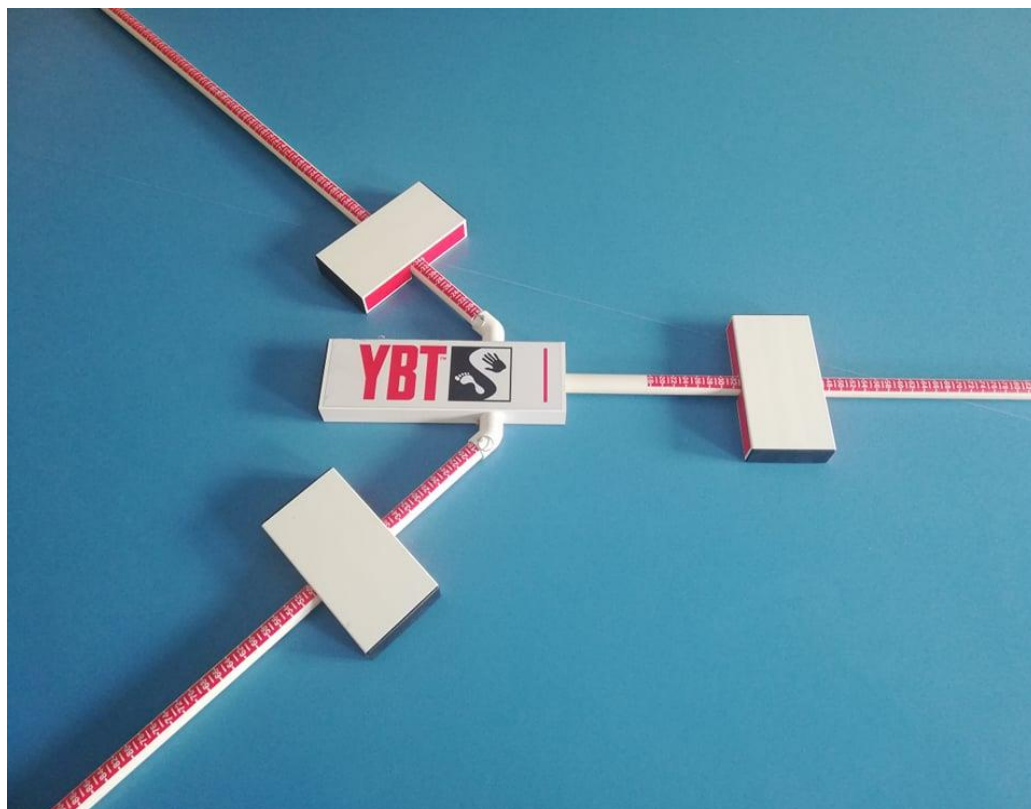
JPS zostało zbadane w teście aktywnym (active joint position sense- AJPS) i biernym (passive joint position sense- PJPS). Kompletny protokół testu został wdrożony dla każdego zawodnika, przed głównym testem, w celu zminimalizowania efektu uczenia się. Badanie polegało na odtworzeniu zakresu 60° zgięcia stawu kolanowego z pozycji wyjściowej (zgięcie stawu 90°). W celu wyłączenia zmysłu wzroku podczas badania, zawodnikom zasłonięto oczy. W dłoni zawodnicy trzymali guzik, służący do zatrzymania maszyny. W teście AJPS i PJPS, urządzenie biernie prowadziło zamocowaną kończynę dolną do pożądanego zakresu (60°) i utrzymywało ją 5 sekund tak, aby zawodnik mógł zapamiętać pozycję do odtworzenia w teście. Badanym zalecano skoncentrowanie się na ustawieniu kończyny. Następnie maszyna wracała do pozycji wyjściowej, skąd wykonywany był właściwy test, składający się z 3 prób, z 10-sekundową przerwą między każdą próbą. W teście PJSP maszyna biernie prowadziła kończynę dolną z prędkością 2°/s, a badany miał za zadanie nacisnąć trzymany guzik w dłoni w zakresie 60° zgięcia stawu kolanowego. W teście AJPS na komendę „START”, zawodnik aktywnie prowadził ruch kończyny dolnej do 60° i wciskał przycisk trzymany w dłoni. Wynikiem obu testów, który został użyty do analizy, był błąd bezwzględny (absolute error- AE). AE to różnica wartości bezwzględnej w stopniach, między wybraną przez zawodnika a docelową pozycją (60°) i jest miarą ogólnej dokładności pozycjonowania. Do analizy błędu bezwzględnego wykorzystano średni wynik z trzech prób danego testu. AE oznacza średni błąd (w stopniach) zawodnika w wyznaczeniu

pożądanego (60°) zgięcia w stawie kolanowym i jest wiarygodnym źródłem w ocenie JPS (Olsson L. i wsp., 2004).

Błąd bezwzględny AE (°) = pozycja docelowa (°) – zakres osiągnięty (°)

3.6.1.3 Badanie ryzyka urazu

Y-Balance jest testem powstałym na bazie tzw. „Star Excursion Balance Test”, który ocenia przewidywanie wystąpienia urazu na podstawie badania równowagi dynamicznej. Przyrząd do pomiaru składa się z platformy do testowania trzech kierunków ruchu (Ryc. 10). Podczas testu zawodnik stał jedną kończyną dolną (oceniana kończyna) na platformie, a drugą prowadził ruchomą prowadnicę jak najdalej w trzech kierunkach. Jako rozgrzewkę, zawodnicy wykonywali 6 powtórzeń ruchu na każdy kierunek: wychyleń w stronę przednią, tylnoprzyśrodkową i tylnoboczną na obie kończyny dolne. Podczas badania, zawodnik miał wykonać trzy prawidłowe próby w każdym kierunku. Próba została przerwana i powtórzona jeśli zawodnik: (1) nie utrzymał całej stopy nogi obciążanej na platformie, (2) przerwał kontakt z ruchomą prowadnicą, kontynuując wykonanie zadania, (3) utracił równowagę, (4) dotknął kończyną ruchomą ziemi lub (5) kopnął podstawkę. Próba była zaliczona, jeśli kontakt ruchomej kończyny dolnej był nieprzerwany, ciągły, płynny przy jednoczesnym zachowaniu kontaktu jedynie z ruchomą podstawką. Test ten przeprowadzono bez obuwia w celu wykluczenia większej stabilności. Do analizy użyto wartości średniej z każdego kierunku, a następnie porównano symetrię między prawą i lewą kończyną w czasie badania.



Ryc. 10 Y-balance test.

3.6.2 Badanie krwi

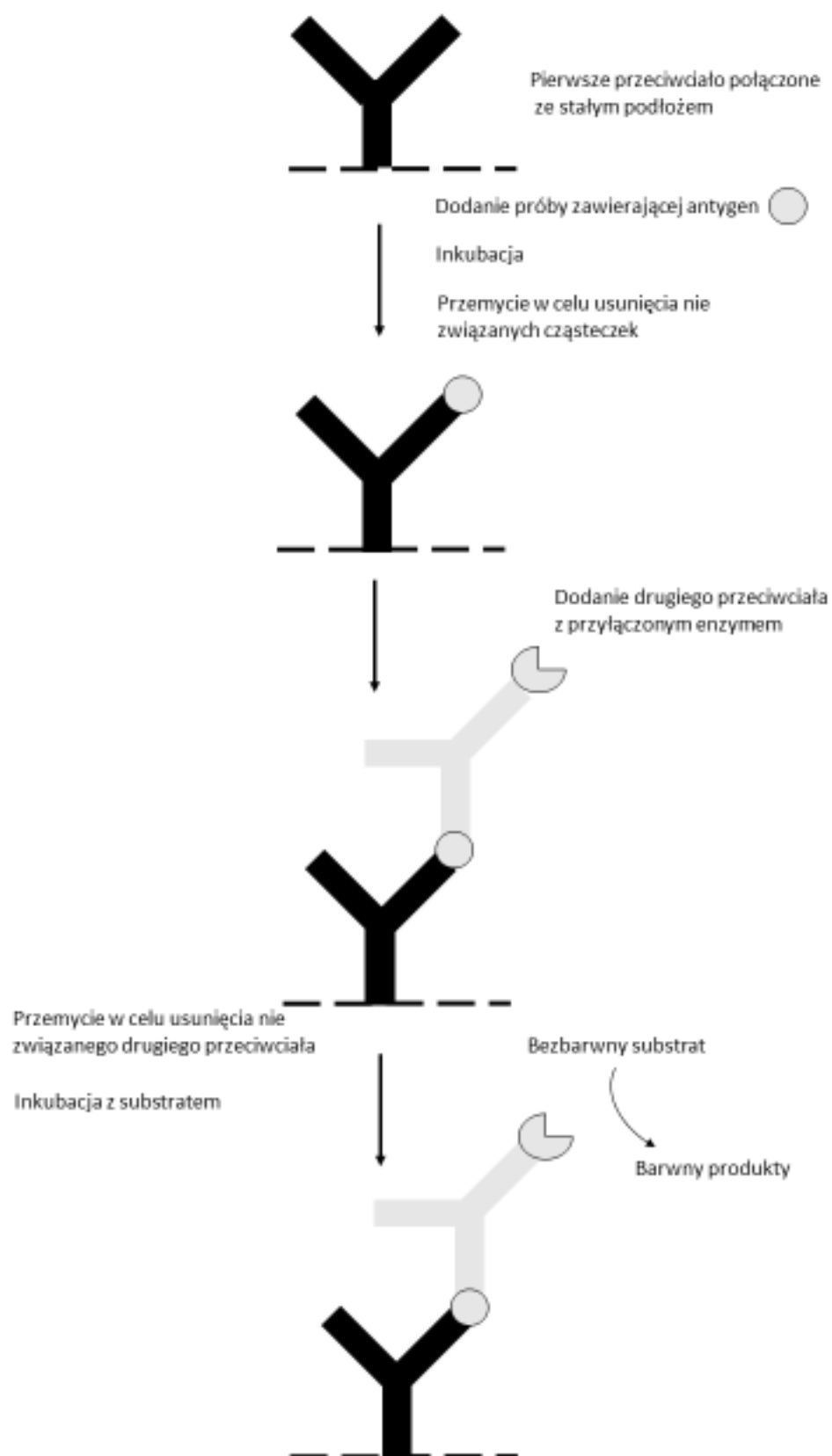
3.6.2.1 Pobieranie próbek krwi

Krew została pobrana do odpowiednich, standaryzowanych próbek firmy BD Vacutainer przez wykwalifikowany personel medyczny. Każdorazowo zostało pobrane do 5ml krwi żyłnej. W celu wyizolowania surowicy, krew była pobierana do próbek zawierających aktywator krzepnięcia. Z kolei krew przeznaczona do uzyskania osocza pobrana została do próbek z antykoagulantem (EDTA K2). Pobrana krew była wirowana przy sile odśrodkowej $2000 \times g$ przez 10 minut (Sigma Laboratory Centrifuges 3K18, Niemcy), w temperaturze 4°C . Po odwirowaniu, zebrano surowicę i osocze krwi i rozporcjowano do kriopróbek. Następnie przygotowany materiał przechowywany był w temperaturze -80°C do czasu wykonania oznaczeń.

Stężenie 25(OH)D₃ w surowicy krwi zostało wykonane przy użyciu metody immunoenzymatycznej (ELISA) z wykorzystaniem zestawu odczynników 25-OH Vitamin D total ELISA Kit (DER1971, firmy Demeditec, Niemcy). Przyjęto, że stężenie 25(OH)D₃ jest wiarygodnym markerem do oznaczeń witaminy D (Bikle i wsp., 2013). Oznaczenie stężenia markerów stanu zapalnego, zostały wykonane metodą ELISA z wykorzystaniem zestawu odczynników IL-6 ELISA Kit (orb50052 firmy Biorbyt, Wielka Brytania), CRP ELISA Kit (DE740011, firmy Demeditec, Niemcy). Oznaczenia stężeń wybranych markerów uszkodzenia mięśnia, zostały wykonane metodą ELISA, z wykorzystaniem zestawu odczynników GDF-8/Myostatin Quantikine ELISA Kit (DGDF80, R&D Systems, USA), IGF-1 ELISA Kit (DG100, R&D Systems, USA). Oznaczenia PTH i Ca⁺⁺ zostały wykonane w laboratorium Bruss na zlecenie przychodni Etermed w Gdańsku.

3.6.2.2 Metoda oznaczeń biochemicznych ELISA

Testy immunoenzymatyczne ELISA (ang. Enzyme Linked Immunosorbent Assay) służą do wykrywania określonych białek w badanym materiale, z użyciem przeciwciał skoniugowanych z odpowiednim enzymem. Badanie składa się z kilku etapów (Ryc. 11). Do przeciwciała związanego z fazą stałą, przyłącza się specyficznie badany antygen. Następnie po inkubacji i wypłukaniu niezwiązanego antygeny, dodaje się koniugant przeciwciało-enzym, który również specyficznie się przyłącza do antygeny, tworząc kompleks faza stała-przeciwciało-antygen-przeciwciało z enzymem. W celu ilościowego oznaczenia zawartego w kompleksie antygeny przeprowadza się reakcję enzymatyczną, poprzez dodanie odpowiedniego substratu. Następnie enzym katalizuje przemianę substratu do produktu, którego ilość jest proporcjonalna do ilości badanego antygeny w próbce. W każdym zestawie odczynników znajdują się odpowiednie stężenia specyficznych przeciwciał, według których odczytów wyznacza się krzywą standardową. Następnie na podstawie otrzymanej krzywej, dokonuje się odczytu wartości, które służą do obliczenia stężenia badanego antygeny.



Ryc. 11 Schemat przebiegu badania metodą ELISA.

3.6.2.3 Oznaczanie stężenia 25(OH)D₃

Stężenie 25(OH)D₃ oznaczono w surowicy krwi pobranej przed i po suplementacji we wszystkich grupach.

Z każdej próbki surowicy krwi wykonano podwójną próbę, surowicy krwi nie rozcieńczano. Do każdej studzienki na płytce dodano 50µl surowicy, standardu i kontroli. Następnie dodano 150µl buforu do każdej studzienki z materiałem biologicznym, standardami, kontrolą i poddano 2-godzinnej inkubacji na mikrowytrząsarce w temperaturze pokojowej. Po inkubacji wszystkie studzienki zostały przemyte przy użyciu 400µl buforu do płukania. Następnie do wszystkich studzienek dodano 200µl przeciwciała dla 25(OH)D₃. Ponownie płytka została poddana 30-minutowej inkubacji na mikrowytrząsarce. Po zakończeniu inkubacji, studzienki ponownie zostały przepłukane buforem. Kolejnym krokiem było dodanie 100µl substratu do każdej studzienki i ponowna inkubacja przez 15 minut w temperaturze pokojowej chroniąc płytkę przed światłem. Ostatnią czynnością było dodanie 100µl związku przerywającego reakcję, do każdej studzienki i pomiar absorbancji przy długości fali 450nm (czytnik mikropłetek Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific).

Otrzymane wartości odczytywano względem krzywej wzorcowej uzyskanej na podstawie użytych standardów o wzrastającym stężeniu 25(OH)D₃. Stężenie 25(OH)D₃ wyrażono w ng/mL surowicy.

3.6.2.4 Oznaczanie stężenia CRP

Stężenie CRP oznaczono w surowicy krwi pobranej przed i po suplementacji we wszystkich grupach.

Z każdej próbki surowicy krwi wykonano podwójną próbę. Surowicę krwi do eksperymentu przygotowano według procedury: (1) do 990µl buforu dodano 10µl surowicy i wymieszano mechanicznie, następnie pobrano 50µl materiału z punktu (1) i dodano do 450µl buforu (2) i ponownie wymieszano mechanicznie. Kolejno do każdej studzienki na płytce dodano 100µl materiału (2) i standardu. Następnie płytka z materiałem i punktami krzywej zostały

poddane 30-minutowej inkubacji na mikrowytrząsarce w temperaturze pokojowej. Po inkubacji studzienki przemyto przy użyciu 400µl buforu do płukania. Następnie do każdej studzienki dodano 100µl monoklonalnego przeciwciała dla CRP. Ponownie materiał został poddany 30-minutowej inkubacji na mikrowytrząsarce w temperaturze pokojowej. Ponownie przemyto płytkę odpowiednim buforem. Kolejnym krokiem było dodanie 100µl substratu i inkubacja przez 10 minut w czytniku mikropłytek, chroniąc płytkę przed światłem. Ostatnia czynność to dodanie 50µl związku przerywającego reakcję do każdej studzienki i pomiar absorbancji. Absorbancja była mierzona przy długości fali 450nm (czytnik mikropłytek Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific).

Otrzymane wartości odczytywano względem krzywej wzorcowej uzyskanej na podstawie użytych standardów o wzrastającym stężeniu CRP. Stężenie CRP wyrażono w µg/mL surowicy.

3.6.2.5 Oznaczanie stężenia IL-6

Stężenie IL-6 oznaczono w surowicy krwi pobranej przed i po suplementacji we wszystkich grupach.

Z każdej próbki surowicy krwi wykonano podwójną próbę. Surowicy krwi nie rozcieńczano. Do każdej studzienki na płytce dodano 100µl surowicy i standardu. Następnie płytka została poddana 90-minutowej inkubacji na mikrowytrząsarce w temperaturze 37°C, po czym dodano 100µl przeciwciała dla IL-6. Ponownie materiał został poddany 60-minutowej inkubacji na mikrowytrząsarce w temperaturze 37°C. Płytkę przemyto odpowiednim buforem. Kolejnym krokiem było dodanie 100µl substratu i inkubacja przez 30 minut w czytniku mikropłytek w temperaturze 37°C. Ponownie przemyto płytkę buforem. Następnie dodano 90µl substratu oraz materiał poddano 15-minutowej inkubacji w temperaturze 37°C. Ostatnim krokiem było dodanie 100µl związku przerywającego reakcję, do każdej studzienki i pomiar absorbancji. Absorbancja była mierzona przy długości fali 450nm (czytnik mikropłytek Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific).

Otrzymane wartości odczytywano względem krzywej wzorcowej uzyskanej na podstawie użytych standardów o malejącym stężeniu IL-6. Stężenie IL-6 wyrażono w pg/mL surowicy.

3.6.2.6 Oznaczanie stężenia miostatyny (GDF-8)

Stężenie GDF-8 oznaczono w surowicy krwi pobranej przed i po suplementacji we wszystkich grupach.

Z każdej próbki surowicy krwi wykonano podwójną próbę. Materiał do badania przygotowano według procedury: (1) 100µl surowicy + 50µl 1N HCl + 50µl 1.2N NaOH/ 0.5M HEPES + 200µl RD5-26. Następnie do każdej studzienki na płytkę dodano 50µl RD1-17 oraz 50µl materiału (1), standardu i kontroli. Materiał został poddany dwugodzinnej inkubacji na mikrowytrząsarce w temperaturze pokojowej. Po dwóch godzinach studzienki przemyto przy użyciu 400µl buforu. Dodano 200µl monoklonalnego przeciwciała dla miostatyny. Ponownie materiał biologiczny został poddany dwugodzinnej inkubacji na mikrowytrząsarce. Następnie przemyto płytkę odpowiednim buforem. Kolejnym krokiem było dodanie 200µl substratu i inkubacja przez 30 minut w czytniku mikropłytek chroniąc płytkę przed światłem. Ostatnią czynnością było dodanie 50µl związku przerywającego reakcję do każdej studzienki i pomiar absorbancji. Absorbancja była mierzona przy długości fali 490nm, a następnie przy długości 650nm (czytnik mikropłytek Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific).

Otrzymane wartości odczytywano względem krzywej wzorcowej uzyskanej na podstawie użytych standardów o malejącym stężeniu GDF-8. Stężenie GDF-8 wyrażono w pg/mL surowicy.

3.6.2.7 Oznaczanie stężenia IGF-1

Stężenie IGF-1 oznaczono w surowicy krwi pobranej przed i po suplementacji we wszystkich grupach.

Z każdej próbki surowicy krwi wykonano podwójną próbę. Materiał do badania przygotowano według procedury: (1) 10µl surowicy dodano 190µl buforu A z zestawu odczynników, następnie zmieszano i inkubowano 10 min.

Po 10 minutach 50µl materiał (1) dodano do 200µl buforu białkowego-Pretreatment B. Do każdej studzienki na płytce dodano 150µl RD1-53 oraz 50µl materiału, standardu lub kontroli. Płytke poddano dwugodzinnej inkubacji na mikrowytrząsarce w temperaturze 2-8°C. Po dwóch godzinach studzienki przemyto, przy użyciu 400µl buforu dla każdej z nich. Dodano 200µl schłodzonego przeciwciała dla IGF-1. Ponownie materiał został poddany inkubacji na mikrowytrząsarce w temp. 2-8°C. Po godzinnej inkubacji przemyto płytke odpowiednim buforem. Kolejnym krokiem było dodanie 200µl substratu i inkubacja przez 30 minut, chroniąc płytke przed światłem. Ostatnią czynnością było dodanie 50µl związku przerywającego reakcję do każdej studzienki i pomiar absorbancji. Absorbancja była mierzona przy długości fali 490nm (czytnik mikropłetek Multiskan GO,Thermo Fisher Scientific).

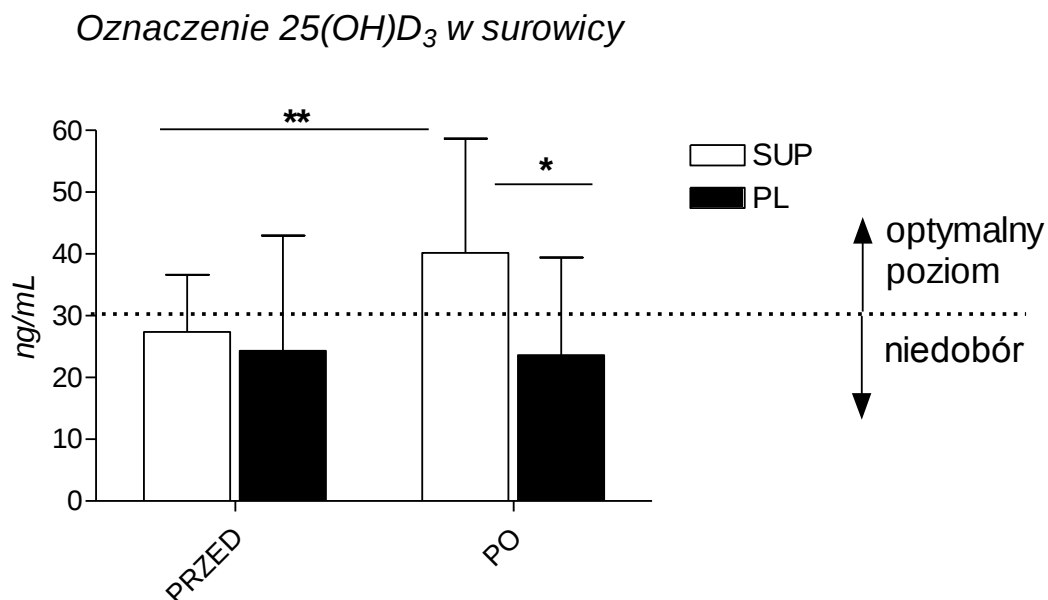
Otrzymane wartości odczytywano względem krzywej wzorcowej uzyskanej na podstawie użytych standardów o malejącym stężeniu IGF-1. Stężenie IGF-1 wyrażono w ng/mL surowicy.

3.7 Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu Statistica 12 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Wyniki zostały przedstawione jako średnia $\pm$ odchylenie standardowe. Różnice pomiędzy wynikami zostały wyznaczone za pomocą analizy wariancji ANOVA z powtarzalnymi pomiarami. Jeżeli w wyniku analizy wariancji została wykryta różnica, istotność została określona za pomocą porównań zaplanowanych metodą kontrastów. Istotność statystyczną określono dla $p \leq 0,05$.

4. Wyniki

4.1 Stężenie witaminy D₃ w surowicy badanych



Ryc. 12 Wartości średnie z odchyleniem standardowym ($\pm$ SD) stężenia 25(OH)D₃ w surowicy krwi w grupie suplementowanej witaminą D (SUP) i w grupie placebo (PL) przed i po suplementacji. Różnice istotne statystycznie zaznaczono dla * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,005$.

Po 10-tygodniowej suplementacji witaminą D₃ w grupie SUP obserwuje się istotny statystycznie wzrost stężenia 25(OH)D₃ z wartości 27,38 $\pm$ 9,26 ng/mL do wartości 40,18 $\pm$ 18,47 ng/mL (** $p \leq 0,005$ vs przed). Wartości średnie z SD stężenia 25(OH)D₃ w surowicy krwi w grupie PL przed i po suplementacji wynosiły kolejno 24,32 $\pm$ 18,66 i 23,63 $\pm$ 15,77 ng/mL. Po 10-tygodniach traktowania witaminą D₃ i placebo dochodzi do istotnych statystycznie różnic między grupami (SUP vs PL; * $p \leq 0,05$).

4.2 Stabilność posturalna

Badanie stabilności posturalnej przy oczach otwartych						
	OSI		AP		ML	
	<i>przed</i>	<i>po</i>	<i>przed</i>	<i>po</i>	<i>przed</i>	<i>Po</i>
SUP	0,39	0,28*	0,25	0,21	0,21	0,13*
<i>n=13</i>	(±0,16)	(±0,08)	(±0,14)	(±0,10)	(±0,08)	(±0,03)
PL	0,34	0,31	0,22	0,21	0,18	0,16
<i>n=11</i>	(±0,18)	(±0,06)	(±0,12)	(±0,05)	(±0,11)	(±0,06)

Tabela 5 Wartości średnie $\pm$ SD przed i po 10-tygodniowej suplementacji w badaniu stabilności posturalnej z oczami otwartymi. OSI-ogólny wskaźnik stabilności, AP- wskaźnik wychyleń przednio-tylnych, ML- wskaźnik wychyleń bocznych. Różnice istotne statystycznie zaznaczono dla $*p \leq 0,05$.

Po 10-tygodniowej suplementacji witaminą D₃, w grupie SUP zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie wskaźnika ogólnego ($*p \leq 0,05$ vs przed) i wskaźnika wychyleń bocznych ($*p \leq 0,05$ vs przed). Zmniejszenie któregośkolwiek ze wskaźników oznacza poprawę stabilności posturalnej. W teście stabilności posturalnej, z oczami otwartymi, nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian w grupie PL.

Badanie stabilności posturalnej przy oczach zamkniętych						
	OSI		AP		ML	
	<i>przed</i>	<i>po</i>	<i>przed</i>	<i>po</i>	<i>przed</i>	<i>Po</i>
SUP	0,97	0,71*	0,81	0,55*	0,31	0,35
<i>n=13</i>	(±0,47)	(±0,23)	(±0,44)	(±0,18)	(±0,19)	(±0,35)
PL	0,76	0,84	0,58	0,66	0,36	0,37
<i>n=11</i>	(±0,28)	(±0,35)	(±0,23)	(±0,37)	(±0,17)	(±0,15)

Tabela 6 Wartości średnie $\pm$ SD przed i po 10-tygodniowej suplementacji w badaniu stabilności posturalnej z oczami zamkniętymi. OSI-ogólny wskaźnik stabilności, AP- wskaźnik wychyleń przednio-tylnych, ML- wskaźnik wychyleń bocznych. Różnice istotne statystycznie zaznaczono dla $*p \leq 0,05$.

Po 10-tygodniowej suplementacji witaminą D₃ w grupie SUP, zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie wskaźnika ogólnego ($*p \leq 0,05$ vs przed) i wychyleń przód-tył ($*p \leq 0,05$ vs przed). Mniejsza wartość wskaźników, oznacza poprawę stabilności posturalnej.

W teście stabilności posturalnej z oczami zamkniętymi, nie zaobserwowano istotnych zmian w grupie PL.

Badanie stabilności posturalnej kończyny dolnej prawej						
	OSI		AP		ML	
	<i>przed</i>	<i>po</i>	<i>przed</i>	<i>po</i>	<i>przed</i>	<i>Po</i>
SUP	1,83	1,50*	1,14	1,14	1,28	0,81*
<i>n=13</i>	(±0,67)	(±0,22)	(±0,22)	(±0,20)	(±0,72)	(±0,11)
PL	1,45	1,35	0,84	0,94	0,84	0,74
<i>n=11</i>	(±0,26)	(±0,26)	(±0,26)	(±0,30)	(±0,24)	(±0,09)

Tabela 7 Wartości średnie ± SD przed i po 10-tygodniowej suplementacji w teście atlety na jednej kończynie dolnej prawej. OSI-ogólny wskaźnik stabilności,

AP- wskaźnik wychyleń przednio-tylnych, ML- wskaźnik wychyleń bocznych. .

*Różnice istotne statystycznie zaznaczono dla * $p \leq 0,01$.*

Po 10-tygodniowej suplementacji witaminą D₃ w grupie SUP, zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie wskaźnika ogólnego (* $p \leq 0,01$ vs przed) i wychyleń bocznych (* $p \leq 0,01$ vs przed). Zmniejszenie któregośkolwiek ze wskaźników oznacza poprawę stabilności posturalnej. W teście atlety dla kończyny dolnej prawej nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian w grupie PL.

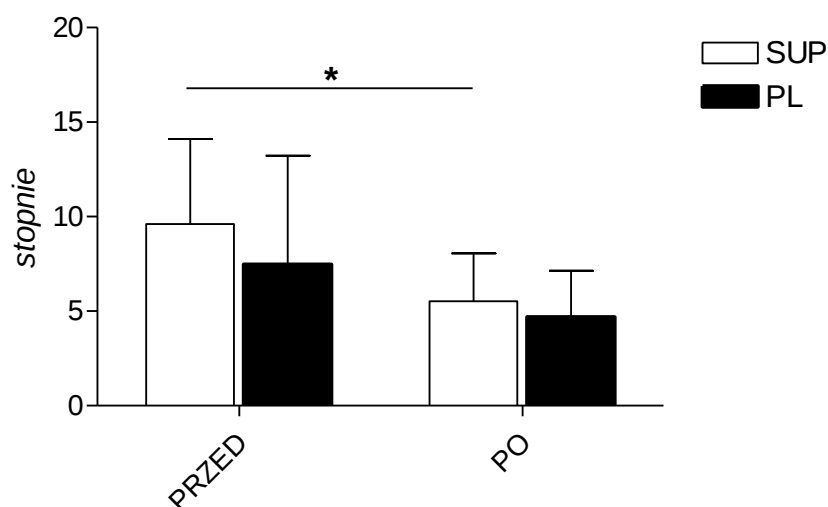
Badanie stabilności posturalnej kończyny dolnej lewej						
	OSI		AP		ML	
	<i>przed</i>	<i>po</i>	<i>przed</i>	<i>po</i>	<i>przed</i>	<i>po</i>
SUP	1,68	1,53	1,12	1,04	0,90	0,99
<i>n=13</i>	(±0,41)	(±0,27)	(±0,26)	(±0,16)	(±0,12)	(±0,33)
PL	1,39	1,30	0,98	0,91	0,80	0,74
<i>n=11</i>	(±0,29)	(±0,22)	(±0,28)	(±0,14)	(±0,17)	(±0,20)

Tabela 8 Wartości średnie ± SD przed i po 10-tygodniowej suplementacji w teście atlety na jednej kończynie dolnej lewej. OSI-ogólny wskaźnik stabilności, AP- wskaźnik wychyleń przednio-tylnych, ML- wskaźnik wychyleń bocznych.

Po 10-tygodniowej suplementacji witaminą D₃ nie zaobserwowano istotnie statystycznie zmian w teście atlety dla kończyny dolnej lewej.

4.3 Propriocepcja

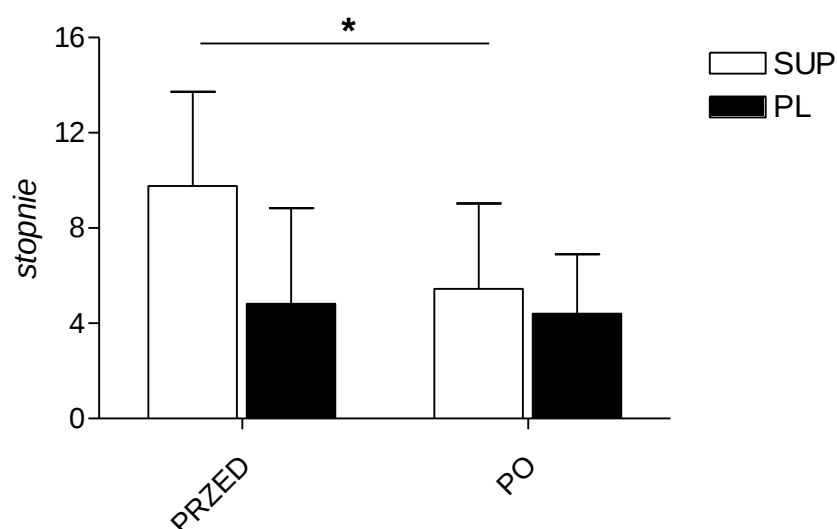
Badanie aktywnego JPS w kończynie dolnej prawej



Ryc. 13 Wartości średnie $\pm$ SD błędu bezwzględnego (AE-absolut error) w grupie PL i SUP przed suplementacją i po suplementacji. JPS- joint position sense. Różnice istotne statystycznie zaznaczono dla $*p \leq 0,01$.

Po 10-tygodniowej suplementacji w grupie SUP zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie średniego błędu bezwzględnego (AE) ($*p \leq 0,01$ vs przed), czego nie zaobserwowano w grupie PL. Wartości średnie błędu bezwzględnego wynosiły w grupie PL $7,48 \pm 5,75$; $9,61 \pm 4,50$ i w grupie SUP $4,70 \pm 2,44$; $5,52 \pm 2,54$ przed i po suplementacji, odpowiednio. Zmniejszenie AE sugeruje poprawę czucia pozycji stawowej, tym samym lepszą propriocepcję.

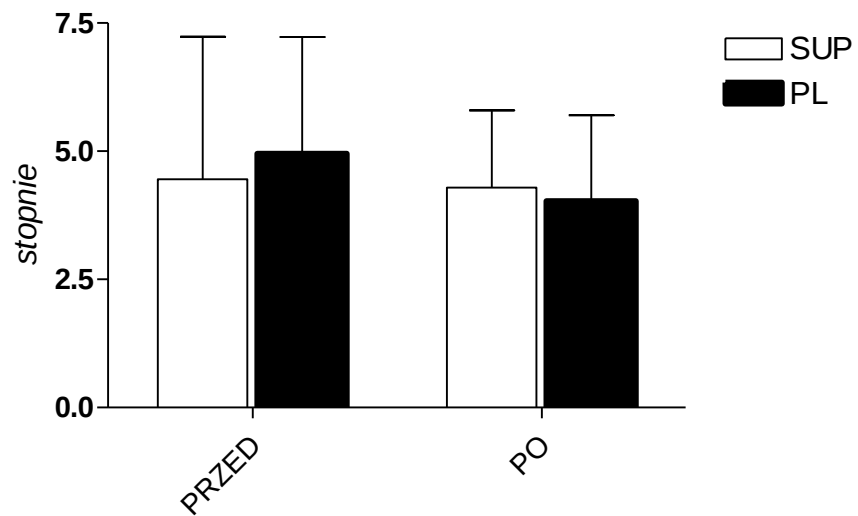
Badanie aktywnego JPS w kończynie dolnej lewej



Ryc. 14 Wartości średnie $\pm$ SD błędu bezwzględnego (AE-absolut error) w grupie PL i SUP przed suplementacją i po suplementacji. JPS- joint position sense. Różnice istotne statystycznie zaznaczono dla $*p \leq 0,005$.

Po 10-tygodniowej suplementacji w grupie SUP zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie średniego AE ($*p \leq 0,005$ vs przed), czego nie zaobserwowano w grupie PL. Wartości średnie z SD dla AE u zawodników PL i SUP przed i po suplementacji wynosiły kolejno $4,82 \pm 4,01$; $9,76 \pm 3,96$; $4,41 \pm 2,49$; $5,45 \pm 3,59$. Zmniejszenie AE sugeruje poprawę czucia pozycji stawowej, tym samym lepszą propriocepcję.

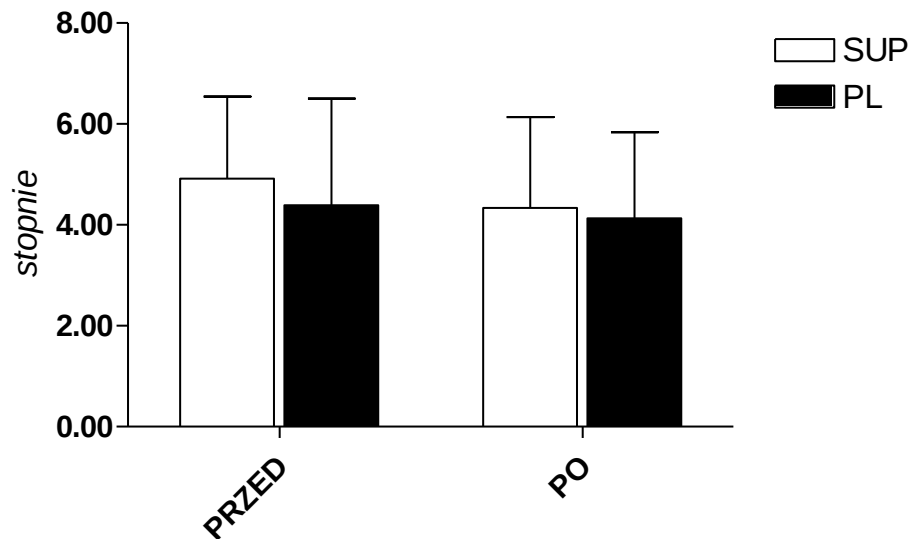
Badanie biernego JPS w kończynie dolnej prawej



Ryc. 15 Wartości średnie $\pm$ SD błędu bezwzględnego (AE-absolut error) w grupie PL i SUP przed suplementacją i po suplementacji. JPS- joint position sense.

Po 10-tygodniowej suplementacji witaminą D₃ błąd bezwzględny wynosił kolejno w grupie SUP i PL, przed i po suplementacji 4,45 $\pm$ 2,72; 4,29 $\pm$ 1,50; 4,95 $\pm$ 2,27; 4,02 $\pm$ 1,67. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w czasie jak i w grupie.

Badanie biernego JPS w kończynie dolnej lewej

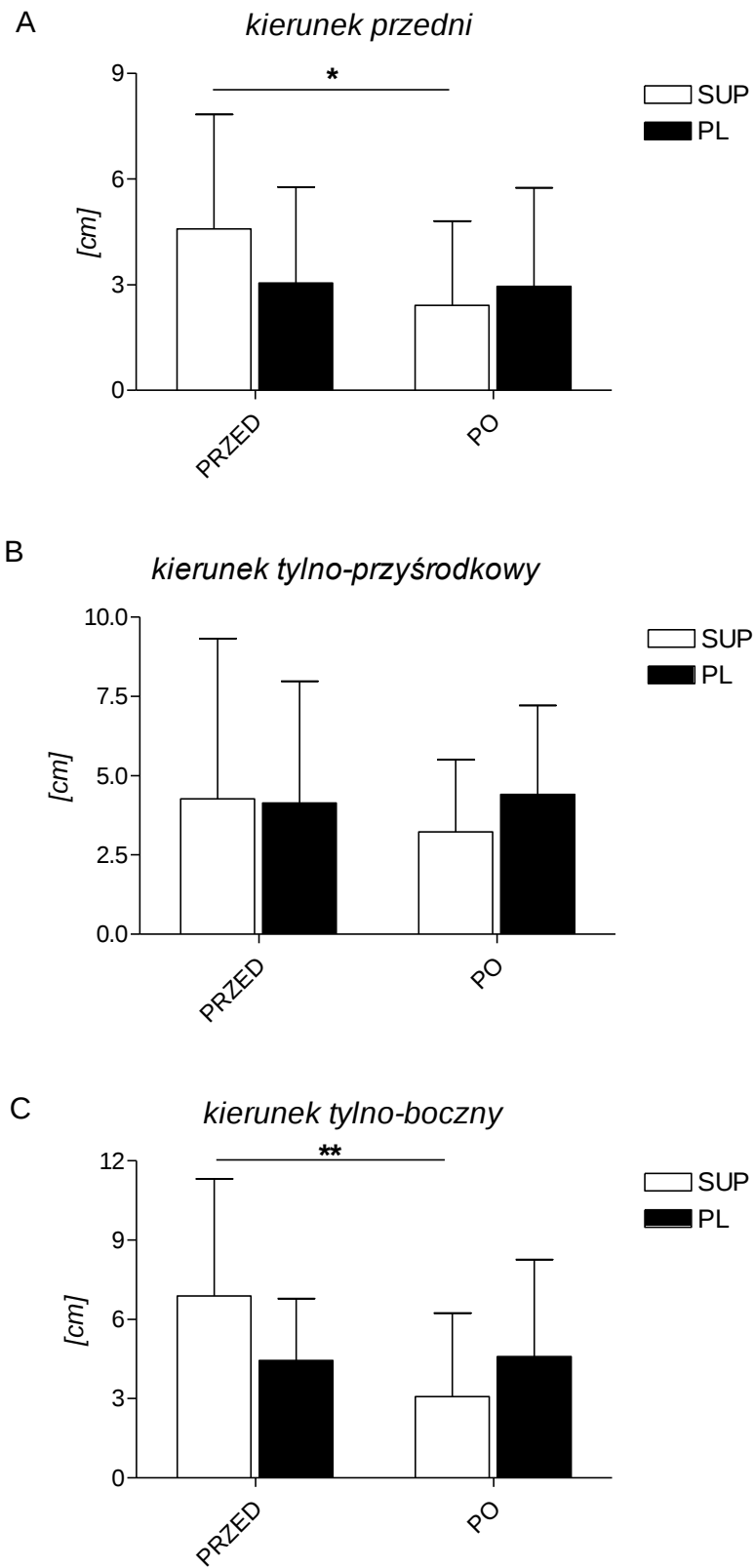


Ryc. 16 Wartości średnie $\pm$ SD błędu bezwzględnego (AE-absolut error) w grupie PL i SUP przed suplementacją i po suplementacji. JPS- joint position sense.

Po 10-tygodniowej suplementacji witaminą D₃ błąd bezwzględny wynosił kolejno w grupie SUP i PL, przed i po suplementacji 4,91 $\pm$ 1,62; 4,33 $\pm$ 1,79; 4,39 $\pm$ 2,11; 4,12 $\pm$ 1,71. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w czasie jak i w grupie.

4.4 Urazowość

Y-balance test



*Ryc. 17 Wartości średnie $\pm$ SD w teście Y-balance dla trzech kierunków: a) przedniego, b) tylnoprzyśrodkowego, c) tylnobocznego, przed i po 10-tygodniowej suplementacji witaminą D₃. Różnice istotne statystycznie zaznaczono dla * $p \leq 0,05$, ** $p < 0,005$.*

Zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszane różnice w wynikach pomiędzy kończyną dolną prawą i lewą w grupie SUP, po okresie 10-tygodniowej suplementacji dla kierunku przedniego (* $p \leq 0,05$ vs przed) i tylnobocznego (** $p \leq 0,005$ vs przed). Różnica u zawodników SUP wynosiła kolejno: dla kierunku przedniego $4,58 \pm 3,25$; $2,41 \pm 2,39$ (Ryc. 17a); tylnoprzyśrodkowego $4,27 \pm 5,05$; $3,23 \pm 2,27$ (Ryc. 17b); tylnobocznego $6,88 \pm 4,44$; $3,08 \pm 3,15$ (Ryc. 17c) oraz w grupie PL wynosiły kolejno dla kierunku przedniego: $3,05 \pm 2,72$; $2,95 \pm 2,80$ (Ryc. 17a); tylnoprzyśrodkowego: $4,14 \pm 3,84$; $4,41 \pm 2,80$ (Ryc. 17b); tylnobocznego $4,45 \pm 2,34$; $4,59 \pm 3,67$ (Ryc. 17c). Zmniejszenie różnicy wyniku pomiędzy kończynami zmniejsza funkcjonalną asymetrię, tym samym zmniejsza ryzyko urazu.

4.5 Izometryczna siła mięśniowa

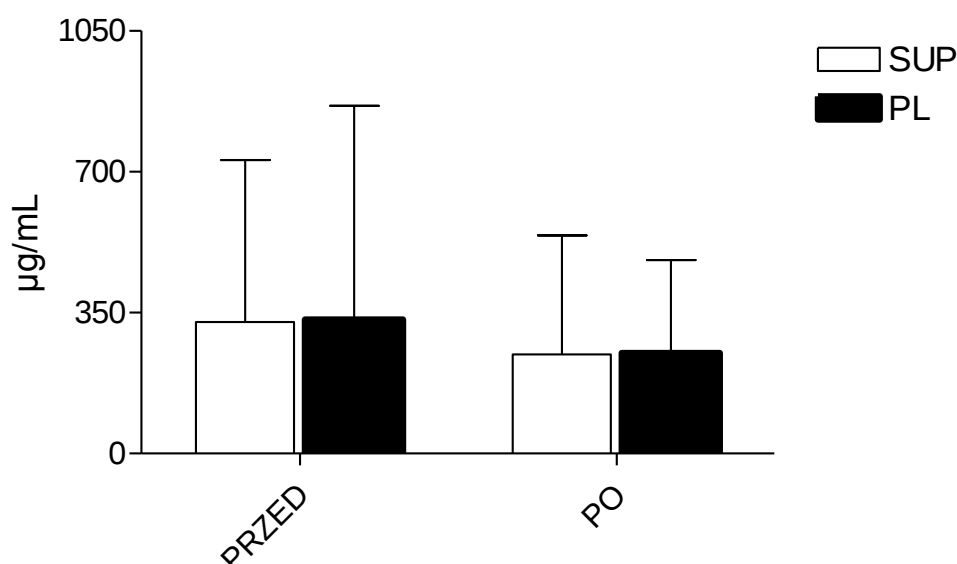
Badanie izometrycznej siły mięśniowej				
prawa kończyna dolna				
	wyprost		zgięcie	
	<i>przed</i>	<i>po</i>	<i>przed</i>	<i>po</i>
SUP	218,22	225,82	87,75	81,35
<i>n=13</i>	(±77,16)	(±95,95)	(±30,08)	(±36,97)
PL	173,77	155,03*	80,19	81,91
<i>n=11</i>	(±49,55)	(±26,89)	(±21,83)	(±17,43)
lewa kończyna dolna				
	wyprost		zgięcie	
	<i>przed</i>	<i>po</i>	<i>przed</i>	<i>po</i>
SUP	193,58	196,10	87,56	89,66
<i>n=13</i>	(±66,30)	(±99,38)	(±30,29)	(±28,16)
PL	174,24	172,80	78,44	81,59
<i>n=11</i>	(±59,63)	(±58,93)	(±21,13)	(±23,47)

Tabela 9 Wartości średnie $\pm$ SD przed i po 10-tygodniowej suplementacji. Wyprost- prostowanie stawu kolanowego, Zgięcie- zgięcie stawu kolanowego. Różnice istotne statystycznie zaznaczono dla $*p \leq 0,05$.

Po 10-tygodniowej suplementacji witaminą D₃, zaobserwowano istotne statystycznie różnice między grupami (SUP vs PL; $*p \leq 0,05$) dla prostowników stawu kolanowego kończyny dolnej prawej. Zaobserwowano trend zwiększenia siły mięśniowej prostowników stawu kolanowego prawego, w grupie SUP po 10 tygodniowej suplementacji ($p=0,08$ vs przed), jakkolwiek nie był istotny statystycznie. Po 10-tygodniowej suplementacji witaminą D₃ nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian, w kończynie dolnej lewej zarówno dla prostowników, jak i zginaczy stawu kolanowego.

4.6 Wybrane markery stanu zapalnego i uszkodzenia mięśnia

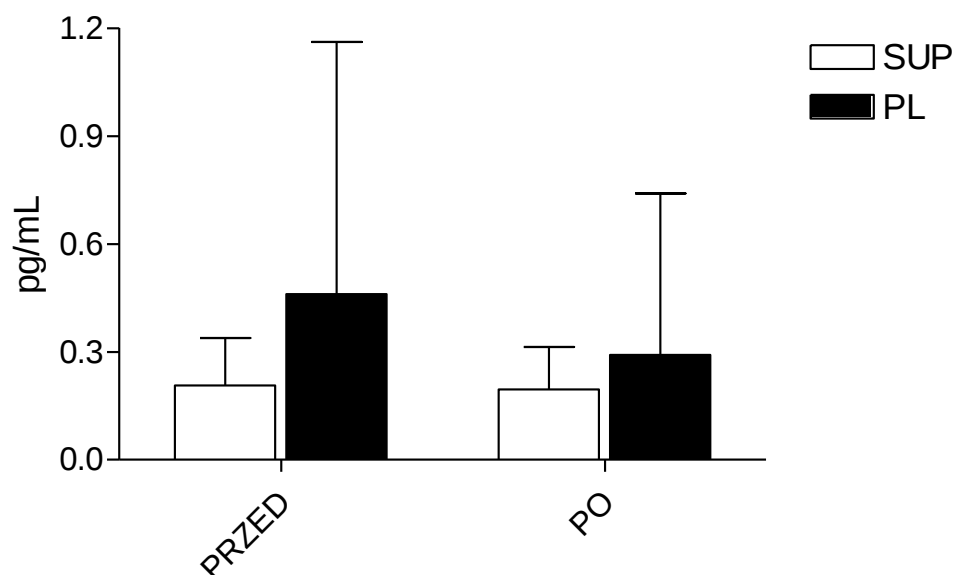
Oznaczenie stężenia CRP w surowicy



Ryc. 18 Wartości średnie $\pm$ SD stężenia CRP w surowicy krwi u zawodników SUP i PL, przed suplementacją (przed) i po suplementacji (po).

Wartości stężenia CRP w surowicy krwi u zawodników w grupie SUP i PL, przed i po suplementacji wynosiły kolejno $326,45 \pm 402,57$; $333,0 \pm 530,9$; $246,55 \pm 295,78$; $249,73 \pm 321,29$ $\mu\text{g/mL}$. Zarówno w grupie SUP jak i PL 10-tygodniowa suplementacja witaminą D₃ nie wpłynęła istotnie na stężenie CRP we krwi zawodników zarówno w czasie jak i w grupie.

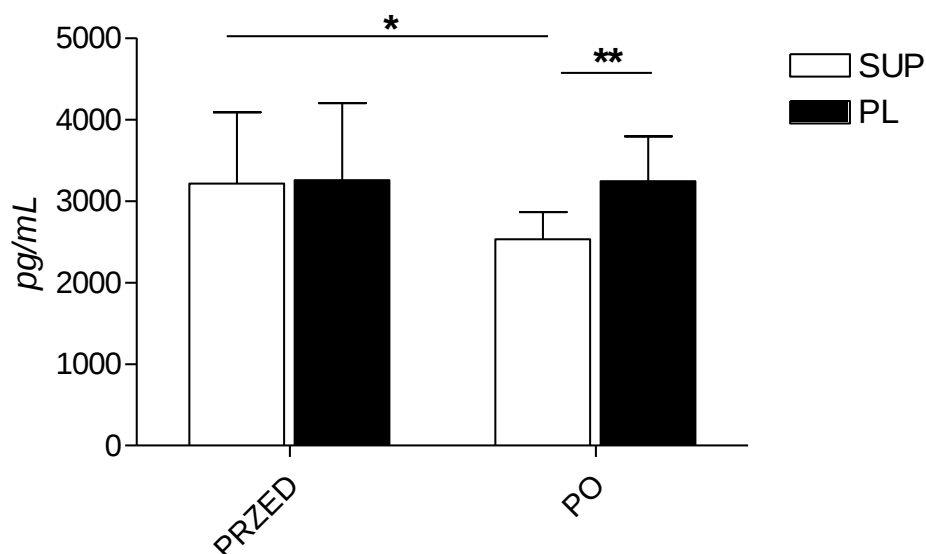
Oznaczenie stężenia IL-6 w surowicy



Ryc. 19 Wartości średnie $\pm$ SD stężenia IL-6 w surowicy krwi u zawodników SUP i PL przed suplementacją (przed) i po suplementacji (po).

Po 10-tygodniowej suplementacji witaminą D₃ stężenie IL-6 wynosiło kolejno w grupie SUP i PL, przed i po suplementacji 0,21 $\pm$ 0,13; 0,46 $\pm$ 0,7; 0,2 $\pm$ 0,12; 0,3 $\pm$ 0,45 pg/mL. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w czasie jak i w grupie.

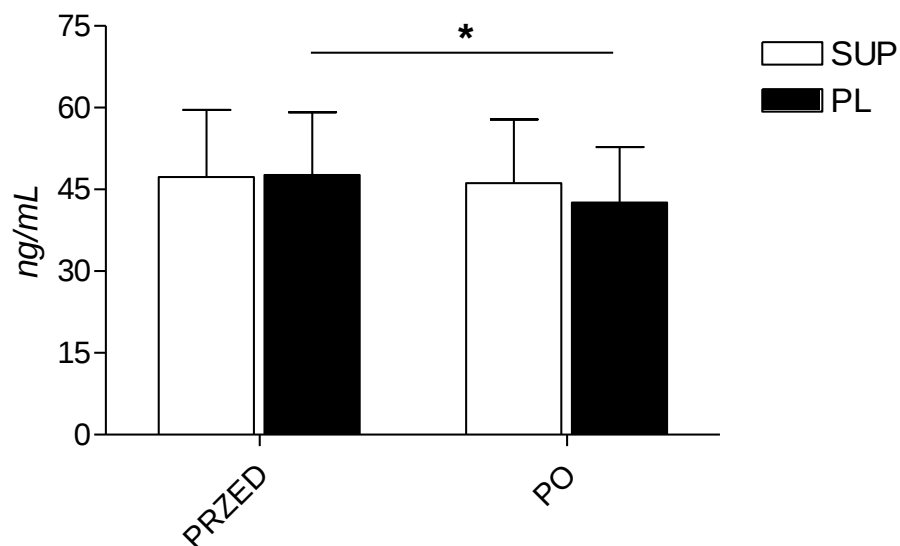
Oznaczenie stężenia miostatyny w surowicy



Ryc. 20 Wartości średnie $\pm$ SD stężenia miostatyny w surowicy krwi u zawodników SUP i PL przed suplementacją (przed) i po suplementacji (po). Różnice istotne statystycznie zaznaczono dla $*p \leq 0,01$, $**p < 0,001$.

Po 10-tygodniowej suplementacji, zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie stężenia miostatyny w grupie SUP ($*p \leq 0,01$ vs przed), jednocześnie obserwuje się istotną statystycznie różnicę między grupami po okresie suplementacji (SUP vs PL; $**p \leq 0,001$). Wartości stężenia miostatyny w surowicy krwi wynosiły kolejno w grupie SUP i PL, przed i po suplementacji 3215 $\pm$ 874,8; 3255,7 $\pm$ 946,4; 2533,2 $\pm$ 330,9 3243,7 $\pm$ 551 pg/mL. W grupie PL po 10-tygodniowym eksperymencie nie zaobserwowano istotnych statystycznych różnic.

Oznaczenie stężenia IGF-1 w surowicy



Ryc. 21 Wartości średnie $\pm$ SD stężenia IGF-1 w surowicy krwi u zawodników SUP i PL przed suplementacją (przed) i po suplementacji (po) Różnice istotne statystycznie zaznaczono dla $*p \leq 0,01$.

Po 10-tygodniowej suplementacji w grupie PL, zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie stężenia IGF-1 ($*p \leq 0,01$ vs przed), jednocześnie nie zaobserwowano istotnie statystycznie zmian w grupie SUP. Wartości stężenia IGF-1 w grupie SUP i PL, przed i po suplementacji wynosiły kolejno $47,26 \pm 12,3$; $47,62 \pm 11,53$; $46,14 \pm 11,67$ $42,6 \pm 10,17$ ng/mL.

5. Dyskusja

W niniejszej pracy został poruszony wieloaspektowy wpływ suplementacji witaminą D na parametry funkcjonalne i molekularne w grupie młodzieży trenującej koszykówkę. Minęło prawie 200 lat, od kiedy Jędrzej Śniadecki, jako pierwszy zaobserwował związek pomiędzy występowaniem krzywicy u dzieci, a ekspozycją na promienie słoneczne. Co więcej, od początku XX wieku, naukowcy zaczęli dostrzegać relację pomiędzy promieniowaniem UV, a poprawą zdolności motorycznych. W 1938 roku Rosjanie sugerowali, że pod wpływem promieni UV dochodzi do poprawy wyniku biegu na 100m. W 1944 roku niemieccy badacze wykazali, że po 6-tygodniowym naświetlaniu UV, dwa razy w tygodniu, dochodziło do poprawy wydolności. W latach sześćdziesiątych XX wieku zaobserwowano, że jednorazowe naświetlenie promieniowaniem UV poprawia siłę, szybkość i wytrzymałość (Cannell i wsp., 2009).

W ostatnich trzech dekadach niedobór witaminy D i jej oddziaływanie na ludzki organizm, zainteresował ośrodki naukowe na całym świecie. Pomimo szerokiego zakresu badań, prowadzonych w tych ośrodkach w dalszym ciągu obserwuje się jej znaczący niedobór w różnych grupach wiekowych niezależnie od płci, rasy oraz miejsca zamieszkania. Szacuje się, że około 50% dzieci i młodzieży ma niewystarczający poziom witaminy D (Pludowski i wsp., 2013). Ponadto wykazano, że w wielu dyscyplinach sportowych odnotowuje się deficyty witaminy D (Maroon i wsp., 2015; Mehran i wsp., 2016), również wśród polskich zawodników (Krzywanski i wsp., 2016; Ksiazek i wsp., 2018). Co więcej, zaobserwowano niższe stężenie witaminy D u sportowców trenujących sporty halowe w porównaniu do zawodników, których treningi odbywały się na zewnątrz. Jest to zgodne z moimi obserwacjami w niniejszej pracy. Wśród zbadanej przeze mnie młodzieży średnie stężenie 25(OH)D₃ we krwi na początku badań wynosiło ~ 25ng/mL, co oznacza, że cała grupa miała niewystarczający poziom witaminy D. Wiadomym jest, że około 90% jej zasobów związanych jest z syntezą skórą, która może odbyć się o określonej porze dnia głównie w okresie wiosenno-letnim. Jesienią oraz zimą nawet w godzinach 10:00-15:00 możliwości skórnej syntezy jest ograniczona

ze względu na kąt padania promieni UV, zachmurzenie czy też ubiór zakrywający skórę (Holick, 2007). Ponadto w godzinach największego nasłonecznienia, nawet w okresie wiosennym, młodzież przebywa w szkole. Przy niedoborze witaminy D, dieta nie uzupełni całkowitego zapotrzebowania i należałoby włączyć suplementację (Holick i wsp., 2011). Zamieszczone w mojej dysertacji wyniki badań pochodzą z eksperymentu, który odbywał się na przestrzeni 10 tygodni, w okresie o mniejszej możliwości syntezy skórnej, co może sugerować, że dieta nie była wystarczająca w uzyskaniu poziomu optymalnego. Ponadto, treningi badanych całorocznie, odbywały się w pomieszczeniach zamkniętych, tj. hale sportowe i siłownie co dodatkowo ogranicza możliwość syntezy skórnej. Podobne wyniki wykazała grupa polskich badaczy, którzy zaobserwowali, że w grupie 409 sportowców w sezonie zimowym, 80% ma niedobory witaminy D. Co więcej, w tej samej pracy zaobserwowano, że w okresie letnim u zawodników trenujących na zewnątrz, stężenia były wyższe w porównaniu do zawodników trenujących w pomieszczeniach zamkniętych (Krzywanski i wsp., 2016). Maruyama-Nagao i wsp., wykazali, że piłkarki nożne, które trenowały na zewnątrz, miały optymalny poziom witaminy D przez cały rok, a w sportach których treningi odbywały się na boiskach krytych (piłka siatkowa i koszykowa), poziom optymalny osiągnęły jedynie we wrześniu, po okresie letnim (Maruyama-Nagao i wsp., 2016). Wyniki przedstawione w mojej pracy są zgodne z opisanymi przeze mnie powyżej obserwacjami, które wykazują, że sportowcy trenujący całorocznie w pomieszczeniach zamkniętych, są narażeni na niedobory witaminy D. W prezentowanej rozprawie suplementacja na poziomie 3200IU/dzień witaminy D₃ była wystarczająca do osiągnięcia poziomu optymalnego w surowicy krwi w grupie SUP, w przeciwieństwie do grupy kontrolnej, której stężenie zostało w obniżonych wartościach. Dodatkowo należy zaznaczyć, że średnie stężenie po suplementacji w grupie SUP wynosiło 40,2 ng/mL. Wiadomo bowiem, że poziom witaminy D powyżej 40 ng/mL zapewnia ochronę tkanki kostnej przed złamaniem zmęczeniowym. Ponadto przypuszcza się, że 50 ng/mL jest stężeniem wymaganym dla sportowców, aby osiągnąć maksymalne możliwości motoryczne (Shuler i wsp., 2012).

Osiągnięcie stężenia optymalnego w grupie SUP w prowadzonych przeze mnie badaniach, jest potwierdzeniem wyników pracy Mazzoleni i wsp., w której suplementowano dzieci dawką 1500IU/dzień, w okresie jesienno-zimowym, uzyskując efekt optymalny w grupie suplementowanej (Mazzoleni i wsp., 2019). Podobne rezultaty osiągnęła grupa polskich naukowców, która wykazała, że po 4 tygodniowej suplementacji witaminą D (5000IU/dzień) wioślarze osiągają poziom optymalny, z jednoczesną poprawą profilu lipidowego (Jastrzebski i wsp., 2016). Ponadto w badaniach Kujach i wsp. zaobserwowano, że po dwumiesięcznej suplementacji (6000IU/dzień) w okresie zimowym w grupie aktywnych młodych mężczyzn grupa suplementowana osiągała optymalne stężenie witaminy D (Kujach i wsp., 2020). Z drugiej strony zespół Teixeira i wsp. wykazał, że poddając suplementacji piłkarzy nożnych dawką 25.000IU/2x w miesiącu, przez 2 miesiące, dawka ta była nieodpowiednia do osiągnięcia stężenia optymalnego (Teixeira i wsp., 2019). W moim eksperymencie dawka 3200IU/dzień okazała się wystarczająca do uzyskania wartości referencyjnych, co może być związane z tym, że sportowcy mieli BMI w zakresie normy. Zostało udokumentowane, że dzieci z nadwagą i otyłością, miały niższy poziom witaminy D i wymagały większej dawki do uzyskania optymalnego stężenia (Earthman i wsp., 2012; Gil-Cosano i wsp., 2019). Według Rusińska i wsp. dawka zalecana dla dzieci w przedziale wiekowym 11-18 to 800-2000 IU/dzień witaminy D (Rusinska i wsp., 2018). Istnieją badania, w których obserwuje się brak objawów toksycznych przy długotrwałym stosowaniu wysokich dawek witaminy D (Rovner i wsp., 2017). Jej toksyczność jest bardzo rzadko spotykana, ze względu na bardzo duże niedobory społeczeństwa (Heaney, 2008). Wykazano bowiem, że witamina D jest magazynowana pod postacią nieaktywnych metabolitów. W sportach, gdzie treningi prowadzone są całorocznie na zewnątrz, nie obserwuje się toksycznego stężenia witaminy D u zawodników, mimo dużego nasłonecznienia, ponieważ nadmiar zostaje przekształcony do formy nieaktywnej m.in. tj. luminesterol, tachysterol (Piotrowska i wsp., 2016), czy usuwana z moczem, jako kwas kalcytriolowy (Gil-Cosano i wsp., 2019) (Ryc.1).

Informacje płynące o pozycji, ruchu oraz sile z receptorów do CUN oraz ich poprawna analiza i prawidłowe zaprogramowanie ruchu, umożliwiają świadome czucie swojego ciała. Co ciekawe, badania wykazują, że VDR został zidentyfikowany zarówno w komórkach neuronalnych, jak i glejowych w korze mózgowej, istocie szarej, mózdzku, jądrach pnia mózgu oraz rdzeniu kręgowym. Dodatkowo w mózgu został zlokalizowany enzym 1- α -hydroksylaza, który konwertuje witaminę D do jej aktywnego metabolitu (DeLuca i wsp., 2013). Obecność VDR w układzie nerwowym, przede wszystkim w strukturach odpowiedzialnych za kontrolę motoryczną, sugeruje, że witamina D może mieć wpływ na propriocepcję i równowagę. Aby kompleksowo ocenić równowagę zawodnika, należy sprawdzić jego zdolność w warunkach statycznych i dynamicznych. W moich badaniach zostały wykonane testy w obu warunkach. Dodatkowo testy statyczne wykonano w wariantach z oczami otwartymi i zamkniętymi. Wyłączenie wzroku wzmacnia działanie pozostałych komponentów dających informacje o położeniu ciała, tzn. układu przedsionkowego oraz receptorów obwodowych m.in. proprioceptorów (Pasma i wsp., 2015). Wyniki badań prezentowane w niniejszej pracy wykazały, że po 10-tygodniowej suplementacji w grupie SUP następuje poprawa stabilności posturalnej w teście statycznym, zarówno z oczami otwartymi, jak i zamkniętymi, jednocześnie obserwując brak zmian w grupie PL. Jest to zgodne z dotychczasowymi badaniami Skrobot i wsp., gdzie wykazano większą poprawę stabilności posturalnej w grupie suplementowanej witaminą D₃, z jednoczesną poprawą stabilności tułowia i propriocepcji w porównaniu do grupy placebo, gdzie zmiana była mniejsza zarówno u pacjentów po zabiegu operacyjnym odcinka lędźwiowego kręgosłupa (Skrobot i wsp., 2019) jak i szyjnego (Skrobot i wsp., 2020). Z drugiej strony w badaniach Lips i wsp. w grupie geriatrycznej po podaniu 8400IU witaminy D/tydzień przez 16 tygodni, nie zaobserwowano istotnych zmian w teście stabilności posturalnej (Lips i wsp., 2010). W prezentowanej rozprawie, poprawa wyniku stabilności posturalnej, w grupie SUP w obu wariantach testu (oczy otwarte, oczy zamknięte) sugeruje, że optymalny poziom witaminy D w grupie młodych zawodników jest niezbędny do poprawy równowagi statycznej. Dodatkowo lepszy wynik w badaniu z oczami zamkniętymi może świadczyć, zgodnie z teorią ponownego wdrażania (Pasma

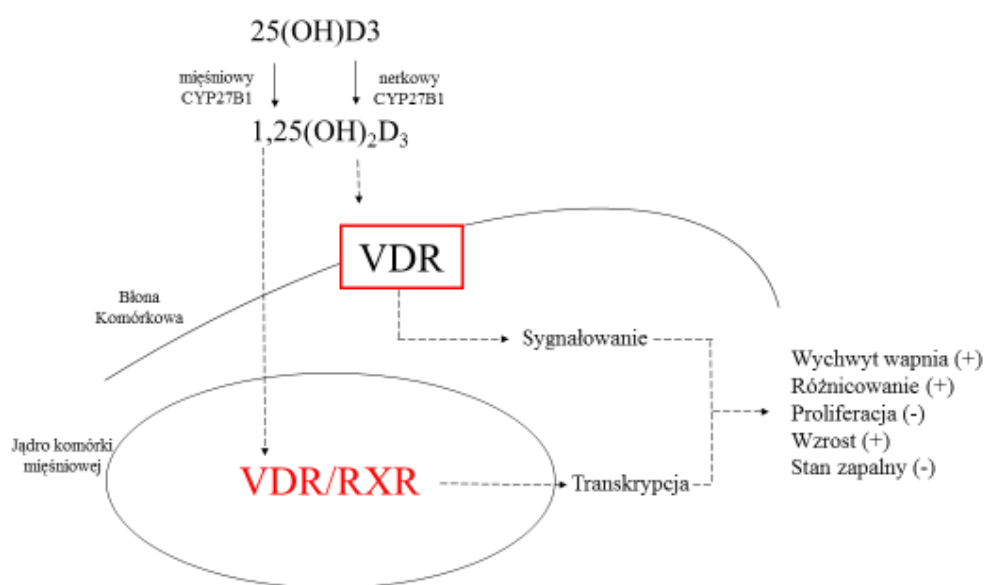
i wsp., 2015) o wpływie witaminy D na wzmocnienie informacji aferentnej do CUN z mechanoreceptorów obwodowych i układu przedsionkowego w grupie SUP. Jednocześnie zaobserwowano, że po 10-tygodniowej suplementacji w warunkach dynamicznych - test atlety -w grupie SUP, następuje poprawa stabilności posturalnej, co sugeruje, że optymalny poziom witaminy D pozwala na lepszą kontrolę nerwowo-mięśniową. Jest to zgodne z badaniami na osobach starszych, gdzie po suplementacji witaminą D zaobserwowano poprawę szybkości reakcji i równowagi, wpływające na kontrolę nerwowo-mięśniową (Dhesi i wsp., 2004). W teście propriocepcji (joint position sense - JPS) 10-tygodniowa suplementacja, istotnie statystycznie wpłynęła na zmniejszenie się błędu bezwzględnego w teście aktywnym AJPS w obu kończynach dolnych w grupie SUP. Zmniejszenie wyniku błędu bezwzględnego świadczy o poprawie zdolności propriocepcji. Z drugiej strony wyniki badania pasywnej PJPS, nie zmieniły się w żadnej z grup. Wcześniejsze doniesienia wykazują bowiem, że dominującymi receptorami w ruchu aktywnym są receptory mięśniowe, a pasywnym skórne i ścięgnowe (Stillman, 2002). Brak zmian w wyniku PJPS oraz jednoczesna poprawa w AJPS w grupie SUP sugeruje, że przy optymalnym poziomie witaminy D poprawia się praca receptorów mięśniowych, które odgrywają kluczową rolę w propriocepcji. Może to być związane z wcześniej wspomnianym receptorem witaminy D, którego lokalizacja została potwierdzona w mięśniach, układzie przedsionkowym i CUN oraz enzymie 1- α -hydroksylazie w CUN (DeLuca i wsp., 2013; Eyles i wsp., 2005). Obecność VDR w strukturach odpowiedzialnych za odbiór, transport i powrót informacji do efektorów, może sugerować wpływ witaminy D na propriocepcję, a w konsekwencji na równowagę.

Celem układu równowagi jest utrzymanie środka ciężkości ciała w pozycji równowagi w spoczynku i ruchu. Zdolność do utrzymania ciała w COM podczas ruchu, to równowaga dynamiczna. Jednym z narzędzi do jej oceny jest YBT, którego wynik ocenia ryzyko urazu (Plisky i wsp., 2006a). Badani wykonując YBT muszą wykazywać się zdolnością kontroli nerwowo-mięśniowej w stawach: skokowym, kolanowym i biodrowym bez utraty równowagi. Zarówno wynik całościowy wszystkich kierunków w YBT,

jak również porównanie symetrii, jest ważnym czynnikiem w ocenie ryzyka urazu kończyny dolnej. Wykazano, że różnica ≥ 4 cm w teście YBT świadczy o asymetrii (Smith i wsp., 2015). Badania wykazują istotne korelacje pomiędzy wynikiem YBT, a urazem mięśniowo-szkieletowym dolnego kwadrantu ciała (Plisky i wsp., 2006a; Smith i wsp., 2015). Plisky i wsp. wykorzystując star excursion balance test (SEBT, prekursora YBT), wykazał u koszykarzy, że asymetria przedniego ruchu większa niż 4 cm, wiąże się z dwukrotnie większą predyspozycją do urazu w obrębie kończyny dolnej (Plisky i wsp., 2006b). Z drugiej strony istnieją badania, które wskazują, że YBT jest niewiarygodnym badaniem w kierunku przewidywania urazowości (Brumitt i wsp., 2018; Lai i wsp., 2017), niemniej jednak jest wiele prac naukowych, wskazujących YBT jako wiarygodne źródło (Benis i wsp., 2016; Smith i wsp., 2015; Wilson i wsp., 2018). Analizowany w niniejszej pracy wynik testu YBT wskazuje na istotne statystycznie zmniejszenie asymetrii w grupie SUP po okresie suplementacji, w kierunku przednim i tylnobocznym, z jednoczesnym brakiem zmian w grupie PL. Uzyskane wyniki nie wykluczają możliwości wpływu witaminy D na zmniejszenia ryzyka urazu w grupie SUP, ponieważ różnica asymetrii dla wszystkich kierunków w grupie SUP zmniejszyła się do <4 cm. Może to świadczyć o wpływie suplementacji witaminą D na równowagę dynamiczną, poprzez poprawę kontroli nerwowo-mięśniowej. W badaniach na osobach starszych zaobserwowano, że stężenie witaminy D ma wpływ na zdolność równowagi, tym samym na ryzyko upadku (Mieszkowski i wsp., 2018). Co więcej obserwacja zespołu Minasyan i wsp. wykazała, że brak genu *VDR*(-) u myszy powoduje zaburzenia przedsionkowe w wyniku nieprawidłowego rozwoju mięśni, przyczyniając się do gorszej stabilności posturalnej (Minasyan i wsp., 2009).

Istnieją badania wykazujące pozytywny związek pomiędzy siłą mięśniową i zdolnością równowagi (Chtara i wsp., 2018; Ibrahim i wsp., 2013). Zależność siły i równowagi opiera się na poprawie kontroli nerwowo-mięśniowej, dzięki której jest możliwość odzyskania przez ciało podstawy podparcia. Jednocześnie badania naukowe wykazują relację pomiędzy stężeniem witaminy D a równowagą, czy siłą mięśniową. Po odkryciu VDR i jego lokalizacji prawie w każdej tkance, nie podlega wątpliwości jej

znaczący wpływ na procesy zachodzące w ludzkim organizmie. Bioaktywny metabolit, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ może oddziaływać poprzez VDR modulując procesy genomowe i niegenomowe w celu kontrolowania funkcjonowania komórki docelowej (Pojednic i wsp., 2014). Między innymi dzieje się tak w komórce mięśniowej. Dla efektywnej pracy mięśnia działania te są kluczowe. W szlaku genomowym dochodzi do transkrypcji i translacji genów docelowych, co sugeruje rolę witaminy D w promowaniu, proliferacji i różnicowaniu komórek mięśniowych. Drugi szlak, nietranskrypcyjny związany jest z błoną komórkową, w której zlokalizowany jest VDR. Wykazano, że witamina D poprzez receptor wpływa na transport wapnia i fosforanów przez błonę komórkową oraz interakcję miozyny i aktyny w sarkomerze, wzmacniając tym samym siłę skurczu (Ryc. 20) (Pojednic i wsp., 2014).



Ryc. 22 Szlak genomowy i niegenomowy działania witaminy D na komórkę mięśniową na podstawie (Pojednic i wsp., 2014).

Jest dobrze udokumentowane, że niedobór witaminy D wpływa na atrofię mięśni, głównie włókien typu II u osób starszych (Bartoszewska i wsp., 2010; Wicherts i wsp., 2007). Włókna typu II odpowiadają za szybką reakcję, np. podczas potknięcia, tak żeby powrócić do pozycji stabilnej (Bartoszewska i

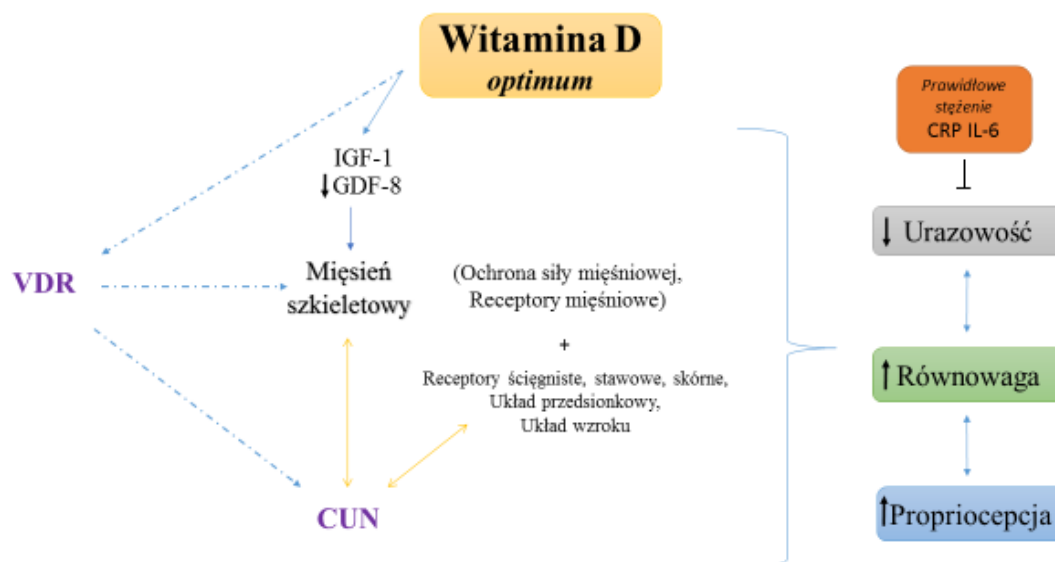
wsp., 2010). Z drugiej strony wiadomo, że hipertrofia włókien mięśniowych typu II wpływa na poprawę zdolności nerwowo-mięśniowych, co za tym idzie, kontroli motorycznej i stabilności ciała. Kluczowe dla większości dyscyplin sportowych jest bieganie, przyspieszenie, zwalnianie czy zmiana kierunku, za co odpowiada działanie mięśni typu II (Bartoszewska i wsp., 2010; Książek i wsp., 2018). W pracy Gil-Cosano i wsp. zaobserwowano związek pomiędzy poziomem witaminy D, a wynikiem testu handgrip oraz skoku wzwyż (Gil-Cosano i wsp., 2019). Podobne obserwacje poczynił Foo i wsp., którzy wykazali, że dziewczynki z optymalnym poziomem witaminy D miały większą siłę mięśniową w porównaniu z tymi, których poziom był niewystarczający (Foo i wsp., 2009). Podobne rezultaty osiągnęła grupa Close i wsp. wykazując, że po 8-tygodniowej suplementacji (5000IU/dzień) doszło do poprawy zdolności motorycznych, m.in. w skoku wzwyż i 10-metrowym sprincie (Close i wsp., 2013). W prowadzonych przeze mnie badaniach, po 10-tygodniowej suplementacji 3200IU/dzień izometryczna siła mięśniowa w stawach kolanowych, nie zmieniła się istotnie. Został zaobserwowany silny trend wzrostu siły mięśniowej dla prostowników stawu kolanowego prawego w grupie SUP, czego nie obserwuje się w grupie PL. Dodatkowo zaobserwowano istotną statystycznie różnicę pomiędzy siłą prostowników stawu kolanowego po suplementacji między grupami, przy braku różnic wyjściowych. Jednocześnie, warto nadmienić, że istnieją badania wykazujące, że jednorazowe podanie 150.000IU witaminy D poprawia siłę mięśniową w grupie judoków o niewystarczającym stężeniu wyjściowym (Wyon i wsp., 2016). Z drugiej strony, dane innej grupy naukowców pokazują, brak zmian w sile mięśniowej (handgrip) u młodych kobiet po podaniu jednorazowo 600.000IU witaminy D (Cipriani i wsp., 2013). Ponadto w badaniach polskich naukowców zaobserwowano brak korelacji między stężeniem witaminy D w surowicy krwi, a zdolnościami motorycznymi m.in. siłą izometryczną różnych grup mięśniowych w grupie młodzieży trenującej hokej (Orysiak i wsp., 2018). Inna grupa naukowców badająca piłkarzy nożnych zaobserwowała, że 8-tygodniowy trening High-Intensity Interval Training (HIIT), połączony z suplementacją witaminą D (5000IU/dzień) nie wykazał istotnych statystycznie różnic zdolności motorycznych między grupami poddanymi suplementacji i placebo (Skalska i wsp., 2019). W prezentowanej

rozprawie mimo braku istotnej różnicy siły mięśniowej w czasie, w grupie SUP, silny trend wzrostowy może sugerować na wpływ suplementacji w grupie młodych zawodników. Wyniki te, mimo braku statystycznie istotnej korelacji, są związane z poziomem miostatyny we krwi zawodników. Uważa się, że rozwój mięśni regulowany jest przez miostatynę, która hamuje proliferację i różnicowanie mioblastów. Istnieje odwrotna korelacja pomiędzy poziomem miostatyny, a przyrostem masy mięśniowej (Ehehalt i wsp., 2011). W moich badaniach, po 10-tygodniowej suplementacji, w grupie SUP, zaobserwowano istotny statystycznie spadek stężenia miostatyny, czego nie zaobserwowano w grupie PL. Dodatkowo obserwuje się istotną statystycznie różnicę między grupami po eksperymencie. Świadczyć to może o wpływie witaminy D na przyrost białek mięśniowych poprzez zahamowanie jego inhibitora. Warto nadmienić, że w grupie PL zaobserwowano istotny statystycznie spadek stężenia IGF-1, z jednoczesnym brakiem zmian w grupie SUP. Sugeruje to protekcyjną rolę witaminy D w grupie SUP na poziom insulinopodobnego czynnika wzrostu. Mimo zmian w grupie SUP poziom IGF-1 nie maleje, co może wskazywać, że 3200IU/dzień nie było wystarczające do podniesienia jego poziomu, ale na tyle optymalne, aby zachować IGF-1 bez spadku stężenia przy jednoczesnym istotnym statystycznie obniżeniu wartości miostatyny. Barker i wsp. sugerują kilka mechanizmów związanych z witaminą D, jakie mogą wpływać na odbudowanie izometrycznej siły po intensywnych ćwiczeniach. Pierwszy z nich związany jest z większą fosforylacją oksydacyjną w mitochondriach u osób suplementowanych witaminą D w porównaniu do osób ze stwierdzonym niedoborem. Drugi polega na odzyskaniu siły dzięki zahamowaniu procesów apoptozy i zwiększeniu liczby białek macierzy pozakomórkowej. Trzeci sugerowany mechanizm to zwiększona ekspresja VDR, która może wpływać na regenerację. Ostatni przypuszczalny mechanizm to wzrost aktywności enzymu CYP27B1, który może przekształcać nieaktywną postać witaminy D w jej aktywny metabolit oddziałując na komórki docelowe (Barker i wsp., 2013).

Istotnym elementem mojej rozprawy jest związek witaminy D ze stanem zapalnym. Aktywność fizyczna może modulować produkcję cytokin, wpływając na stan zapalny. Przypuszcza się, że zmiany w poziomie cytokin prozapalnych występują w różnym stopniu u sportowców zawodowych i może to odgrywać rolę w ryzyku występowania kontuzji, odporności czy też zespołu przetrenowania (Willis i wsp., 2012). Barker i wsp. zaobserwował, że u pacjentów po operacji więzadła przedniego krzyżowego (anterior cruciate ligament – ACL) w stawie kolanowym niewystarczające stężenie witaminy D w surowicy krwi może przyczyniać się do wolniejszego powrotu do zdrowia w porównaniu do grupy, która miała poziom optymalny. Wnioski te zostały oparte na wyniku maksymalnej siły izometrycznej w stawie kolanowym, która była istotnie statystycznie wyższa u pacjentów z optymalnym poziomem witaminy D, w porównaniu do tych, których poziom był $<30\text{ng/mL}$. Dodatkowo w tych samych badaniach wykonano pomiary cytokin prozapalnych, których stężenie nie wykazało istotnych różnic pomiędzy pacjentami operowanymi, a grupą kontrolną (Barker i wsp., 2011). W moich badaniach poziom cytokin prozapalnych nie zmienił się w czasie badań. Wyjściowe stężenia CRP i IL-6 nie wskazywały na stan zapalny. Istnieją też inne doniesienia naukowe, które wykazują brak korelacji pomiędzy suplementacją witaminy D a stanem zapalnym (Carrillo i wsp., 2012). Z drugiej strony jest wiele publikacji opisujących zależność pomiędzy stężeniem witaminy D a poziomem markerów stanu zapalnego. W badaniach Willis i wsp. wykazano ujemną korelację pomiędzy stężeniem $25(\text{OH})\text{D}_3$, a $\text{TNF-}\alpha$ w surowicy biegaczy (Willis i wsp., 2012), a w pracy Żebrowska i wsp. zaobserwowano ujemną korelację $25(\text{OH})\text{D}_3$ i $\text{TNF-}\alpha$ podczas regeneracji powysiłkowej. Dodatkowo ten sam zespół potwierdza, że niższe stężenia markerów uszkodzeń mięśnia szkieletowego i wyższy poziom witaminy D mogą skrócić czas regeneracji w grupie maratończyków (Żebrowska i wsp., 2020). Wykazano także, że odpowiedni poziom witaminy D jest związany z większym stężeniem cytokin przeciwzapalnych (np. IL-10) po intensywnym treningu, przyczyniając się do regeneracji (Barker i wsp., 2014). W wynikach mojego eksperymentu poziom cytokin prozapalnych nie zmienił się w czasie badań. Wyjściowe stężenia CRP i IL-6 nie wskazywały na stan zapalny. Na przestrzeni 10-tygodniowej suplementacji witaminą D,

w okresie przygotowawczym, nie doszło do zmian stężenia tych markerów, co może świadczyć o optymalnie dobranej objętości i intensywności treningu dla zawodników. Stały kontakt zawodników z trenerem i odpowiednio dobrana regeneracja zarówno w mikro- jak i makrocyklu umożliwiło prawidłowe dobranie obciążeń w procesie treningowym, nie doprowadzając do dysbalansu poziomu cytokin.

Na podstawie wyników mojej rozprawy doktorskiej i danych, jakie są obecne w aktualnym piśmiennictwie, przedstawiam prawdopodobną relację pomiędzy witaminą D a wybranymi parametrami tj. równowagą, propriocepcją, siłą mięśniową, urazowością oraz stanem zapalnym (Ryc. 23).



Ryc. 23 Proponowana zależność pomiędzy stężeniem optymalnym witaminy D a współwystępowaniem wybranych parametrów funkcjonalnych i molekularnych; <---> działanie obustronne, ---> działanie jednostronne, --| hamowanie reakcji, ↑ poprawa, ↓ zmniejszenie.

Dzięki VDR zlokalizowanemu prawie w każdej tkance ludzkiego ciała, witamina D może oddziaływać w miejscu docelowym np. w mięśniu szkieletowym czy też CUN. W prezentowanych badaniach, przy optymalnym stężeniu witaminy D obserwuje się zmniejszenie poziomu GDF-8 i utrzymanie poziomu IGF-1 w grupie SUP. Dodatkowo przy prawidłowym stężeniu

witaminy D, dochodzi do ochrony mięśnia szkieletowego z jednoczesnym utrzymaniem siły mięśniowej. Wraz z optymalnym stężeniem we krwi witaminy D, zaobserwowano poprawę propriocepcji i równowagi (statycznej dynamicznej), a w konsekwencji zmniejszenie ryzyka urazu. Ponadto, właściwe stężenie cytokin prozapalnych, będących rezultatem optymalnie dobranego makrocyklu treningowego, nie doprowadziły tym samym do stanu zapalnego, zmniejszając prawdopodobieństwo wystąpienia urazu.

6. Wnioski

1. 10-tygodniowa suplementacja witaminą D₃ w grupie SUP, doprowadziła do wzrostu jej stężenia w surowicy u młodych zawodników trenujących koszykówkę z poziomu hipowitaminozy do normy.
2. Przy optymalnym poziomie witaminy D₃ dochodzi do poprawy równowagi, propriocepcji oraz zmniejszenia ryzyka urazu.
3. Witamina D₃ w dawce 3200IU/dzień przez 10 tygodni stanowiła ochronę dla siły mięśniowej w grupie SUP.
4. Dzięki prawidłowemu przebiegowi procesu treningowego, który był realizowany u młodzieży podczas trwania eksperymentu, nie zaobserwowano u badanych podwyższonego stężenia wybranych markerów stanu zapalnego zarówno przed, jak i po eksperymencie w obu grupach.
5. W wyniku suplementacji witaminą D₃ doszło do protekcyjnego działania na mięsień szkieletowy poprzez obniżenie stężenia miostatyny z jednoczesnym utrzymaniem stężenia IGF-1 na tym samym poziomie, przez cały okres badania w grupie SUP.
6. Suplementacja witaminą D₃ w okresie jesienno-zimowym w dyscyplinach halowych, zabezpiecza przed jej niedoborem/deficytem z jednoczesną poprawą wybranych parametrów motorycznych i biochemicznych.

7. Streszczenie

Prawie 200 lat temu, Jędrzej Śniadecki, jako pierwszy zaobserwował związek pomiędzy występowaniem krzywicy u dzieci, a ekspozycją na działanie promieni słonecznych. Badania z ostatnich 20 lat wykazują, że problem deficytu/niedoboru witaminy D₃ dotyczy populacji na całym świecie. Identyfikacja receptora witaminy D (VDR- vitamin D receptor) w różnych tkankach/narządach skierowała zainteresowania ośrodków naukowych na całym świecie nad badaniami jej roli nie tylko w gospodarce wapniowo-fosforanowej, ale także jej znaczenia w układzie mięśniowym, naczyniowo-sercowym, nerwowym, immunologicznym, parametrach zdolności motorycznych, czy w warunkach stresu oksydacyjnego.

Ruch umożliwia codzienne funkcjonowanie, wykonywanie pracy, rekreacji ruchowej czy też uprawianie dyscyplin sportowych. Kontrolowany i precyzyjny stanowi integralną część ludzkiego życia. W wielu dyscyplinach sportowych wymagana jest doskonała kontrola równowagi, aby osiągnąć najwyższy poziom rywalizacji i uniknąć urazów. Aby ją zachować, CUN integruje informacje wzrokowe, przedsionkowe i proprioceptywne, w celu wytworzenia poleceń motorycznych, koordynujących wzorce aktywacji mięśni. Jakkolwiek, intensywne treningi bez odpowiedniego procesu regeneracji mogą aktywować ogólnoustrojową odpowiedź immunologiczną. W trakcie odpowiedzi zapalnej, w komunikacji międzykomórkowej pośredniczą przede wszystkim białka tzn. cytokiny. Przy niedoborach witaminy D₃ obserwuje się obniżone parametry motoryczne a także podwyższone markery stanu zapalnego.

Celem tej pracy jest wykazanie czy 10-tygodniowa suplementacja witaminą D₃ w dawce 3200 IU/dziennie, będzie miała wpływ na zmianę stężenia 25(OH)D₃ w surowicy krwi z wartości obniżonych do optymalnych, czy w wyniku suplementacji witaminą D₃ dojdzie do poprawy równowagi, propriocepcji i siły mięśniowej oraz zmniejszenia ryzyka urazów oraz czy wpłynie na stężenie wybranych markerów stanu zapalnego i uszkodzenia mięśni u młodych sportowców.

Badania zostały przeprowadzone za zgodą Niezależnej Komisji Bioetyki do Spraw Badań Naukowych (Nr NKBBN/455/2015) przy

Gdańskim Uniwersytecie Medycznym. Badanie przeprowadzono na 30 młodych sportowcach trenujących koszykówkę (12-15 lat), których poprzez podwójną ślepą próbę podzielono na grupy: suplementowaną (SUP) witaminą D₃ (Vigantol 3200 IU wit D₃/dzień przez 10 tygodni) i placebo (PL) olej roślinny. Badania wykonano dwukrotnie: przed i po suplementacji. Wykonano pomiary 25(OH)D₃, CRP, IL-6, GDF-8 i IGF-1 we krwi metodą ELISA. Przeprowadzono funkcjonalne badanie kliniczne, które składało się z pomiarów: równowagi na platformie balansowej firmy Biodex, siły mięśniowej i propriocepcji z użyciem dynamometru Biodex System 4 Pro oraz badanie ryzyka urazu przy użyciu Y-balance test.

Po 10-tygodniach suplementacji witaminą D₃ i placebo dochodzi do istotnych różnic między grupami (SUP vs PL; * $p \leq 0,05$) oraz wzrostu stężenia witaminy D₃ w surowicy w grupie SUP po okresie suplementacji (** $p < 0,005$ vs przed). Po suplementacji w grupie SUP dochodzi do poprawy stabilności posturalnej przy oczach otwartych (* $p \leq 0,05$ vs przed) jak i oczach zamkniętych (* $p \leq 0,05$ vs przed) oraz dochodzi do zmniejszenia w grupie SUP średniego błędu bezwzględnego (AE) w teście aktywnym dla kończyny dolnej prawej (* $p \leq 0,01$ vs przed) oraz lewej (* $p \leq 0,005$ vs przed), czego nie zaobserwowano w grupie PL. Zaobserwowano istotne zmniejszane różnicy pomiędzy kończyną dolną prawą i lewą w grupie SUP, dla kierunku przedniego (* $p \leq 0,01$ vs przed) i tylnobocznego (** $p \leq 0,005$ vs przed) w teście Y-balance test, po 10-tygodniowej suplementacji. Wykazano istotne różnice między grupami (SUP vs PL; * $p \leq 0,05$) dla prostowników stawu kolanowego kończyny dolnej prawej, po okresie suplementacji. Stężenie CRP i IL-6 nie zmieniło się istotnie w czasie i w grupie. Zaobserwowano zmniejszenie stężenia miostatyny w grupie SUP

(* $p \leq 0,01$ vs przed), jednocześnie obserwując istotną statystycznie różnicę między grupami po okresie suplementacji (SUP vs PL; ** $p \leq 0,001$). Po 10-tygodniowej suplementacji w grupie PL, wykazano istotne obniżenie stężenia IGF-1 (* $p \leq 0,01$ vs przed), jednocześnie przy braku zmian w grupie SUP.

10-tygodniowa suplementacja witaminą D₃ w grupie SUP, doprowadziła do wzrostu jej stężenia w surowicy u młodych zawodników

trenujących koszykówkę z poziomu hipowitaminozy do normy. Przy optymalnym poziomie witaminy D₃ dochodzi do poprawy równowagi, propriocepcji oraz zmniejszenia ryzyka urazu. Dzięki prawidłowemu przebiegowi procesu treningowego, który był realizowany u młodzieży podczas trwania eksperymentu, nie zaobserwowano u badanych podwyższonego stężenia wybranych markerów stanu zapalnego zarówno przed, jak i po 10-tygodniewej suplementacji w obu grupach. W wyniku suplementacji witaminą D₃ doszło do protekcyjnego działania na mięsień szkieletowy poprzez obniżenie stężenia miostatyny z jednoczesnym utrzymaniem stężenia IGF-1 na tym samym poziomie, przez cały okres badania w grupie SUP.

8. Abstract

Almost 200 years ago, Jędrzej Śniadecki was the first to observe a relationship between the occurrence of rickets in children and exposure to sunlight. Research from the last 20 years shows that the problem of vitamin D₃ deficiency affects the population all over the world. The identification of the vitamin D receptor (VDR- vitamin D receptor) in various tissues / organs has attracted the interest of research centers around the world in researching its role not only in the calcium-phosphate economy, but also its importance in the muscular, cardiovascular, nervous and immune systems, parameters of motor skills or under conditions of oxidative stress.

Movement enables everyday functioning, work, physical recreation or practicing sports. Controlled and precise is an integral part of human life. In many sports, perfect balance control is required to achieve the highest levels of competition and avoid injuries. To preserve it, the CNS integrates visual, vestibular, and proprioceptive information to produce motor commands that coordinate muscle activation patterns. However, intense training without an adequate recovery process can activate a systemic immune response. During the inflammatory response, intercellular communication is mediated primarily by proteins, ie cytokines. With vitamin D₃ deficiency, decreased motor parameters and elevated markers of inflammation are observed.

The aim of this study is to show whether a 10-week supplementation with vitamin D₃ at a dose of 3200 IU/day will change the concentration of 25(OH)D₃ in the blood serum from lowered to optimal values, or whether the balance will improve as a result of supplementation with vitamin D₃, proprioception and muscle strength and reduce the risk of injury, and whether it will affect the concentration of selected markers of inflammation and muscle damage in young athletes.

The research was conducted with the consent of the Independent Bioethics Committee for Scientific Research (No. NKBBN/455/2015) at the Medical University of Gdańsk. The study was conducted on 30 young athletes training

basketball (12-15 years old), who were divided into groups by a double-blind trial: supplemented (SUP) with vitamin D₃ (Vigantol 3200 IU of vitamin D₃/day for 10 weeks) and placebo (PL) vegetable oil. The tests were performed twice: before and after supplementation. Measurements of 25(OH)D₃, CRP, IL-6, GDF-8 and IGF-1 in blood were performed by ELISA method. A functional clinical trial was carried out, which consisted of the measurements of: balance on the Biodex balance platform, muscle strength and proprioception using the Biodex System 4 Pro dynamometer, and testing the risk of injury using the Y-balance test.

After 10 weeks of supplementation with vitamin D₃ and placebo, there are significant differences between the groups (SUP vs PL; * $p \leq 0.05$) and an increase in the concentration of vitamin D₃ in the serum in the SUP group after the supplementation period (** $p < 0.005$ vs before). After supplementation in the SUP group, there is an improvement in postural stability with eyes open (* $p \leq 0.05$ vs before) and eyes closed (* $p \leq 0.05$ vs before) and the mean absolute error (AE) is reduced in the SUP group in active test for the lower right limb (* $p \leq 0.01$ vs before) and left (* $p \leq 0.005$ vs before), which was not observed in the PL group. There was a significant reduction in differences between the right and left lower limb in the SUP group, for the anterior (* $p \leq 0.01$ vs before) and posterolateral direction (** $p \leq 0.005$ vs before) in the Y-balance test, after 10-weekly supplementation. Significant differences between the groups (SUP vs PL; * $p \leq 0.05$) were found for the extensors of the knee joint of the lower right limb after the supplementation period. The concentration of CRP and IL-6 did not change significantly over time and in the group. A decrease in the concentration of myostatin was observed in the SUP group (* $p \leq 0.01$ vs before), simultaneously observing a statistically significant difference between the groups after the supplementation period (SUP vs PL; ** $p \leq 0.001$). After 10-week supplementation in the PL group, a significant decrease in IGF-1 concentration was demonstrated (* $p \leq 0.01$ vs before), while there was no change in the SUP group.

A 10-week supplementation with vitamin D₃ in the SUP group led to an increase in serum concentration in young basketball players from the level of hypovitaminosis to normal. With the optimal level of vitamin D₃, balance

improves, proprioception and the risk of injury are reduced. Due to the correct course of the training process, which was carried out in adolescents during the experiment, no elevated levels of selected markers of inflammation were observed in the subjects, both before and after the 10-week supplementation in both groups. As a result of supplementation with vitamin D₃, there was a protective effect on the skeletal muscle by reducing the concentration of myostatin while maintaining the concentration of IGF-1 at the same level throughout the study in the SUP group.

9. Piśmiennictwo

- Agel, J., Olson, D. E., Dick, R., Arendt, E. A., Marshall, S. W., Sikka, R. S. 2007. Descriptive epidemiology of collegiate women's basketball injuries: National Collegiate Athletic Association Injury Surveillance System, 1988-1989 through 2003-2004. *J Athl Train*, 42(2): 202-210.
- Aydin, C. G., Dincel, Y. M., Arikan, Y., Tas, S. K., Deniz, S. 2019. The effects of indoor and outdoor sports participation and seasonal changes on vitamin D levels in athletes. *SAGE Open Med*, 7: 2050312119837480.
- Barker, T., Martins, T., Hill, H., Kjeldsberg, C., Dixon, B., Schneider, E., Henriksen, V., Weaver, L. 2014. Vitamin D sufficiency associates with an increase in anti-inflammatory cytokines after intense exercise in humans. *Cytokine*, 65(2): 134-137.
- Barker, T., Martins, T., Hill, H., Kjeldsberg, C., Trawick, R., Weaver, L., MG, T. 2011. Low Vitamin D Impairs Strength Recovery After Anterior Cruciate Ligament Surgery. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 16(3): 201-209.
- Barker, T., Schneider, E., Dixon, B., Henriksen, V., Weaver, L. 2013. Supplemental vitamin D enhances the recovery in peak isometric force shortly after intense exercise. *Nutr Metab (Lond)*, 10(1): 69.
- Bartoszewska, M., Kamboj, M., Patel, D. R. 2010. Vitamin D, muscle function, and exercise performance. *Pediatr Clin North Am*, 57(3): 849-861.
- Benis, R., Bonato, M., La Torre, A. 2016. Elite Female Basketball Players' Body-Weight Neuromuscular Training and Performance on the Y-Balance Test. *J Athl Train*, 51(9): 688-695.
- Bikle, D., Adams, J., S., C. 2013. *Vitamin D: production, metabolism and clinical requirements*.
- Bivona, G., Agnello, L., Bellia, C., Iacolino, G., Scazzone, C., Lo Sasso, B., Ciaccio, M. 2019. Non-Skeletal Activities of Vitamin D: From Physiology to Brain Pathology. *Medicina (Kaunas)*, 55(7).
- Brumitt, J., Nelson, K., Duey, D., Jeppson, M., Hammer, L. 2018. Preseason Y Balance Test Scores are not Associated with Noncontact Time-Loss Lower Quadrant Injury in Male Collegiate Basketball Players. *Sports (Basel)*, 7(1).
- Cannell, J. J., Hollis, B. W., Sorenson, M. B., Taft, T. N., Anderson, J. J. 2009. Athletic performance and vitamin D. *Med Sci Sports Exerc*, 41(5): 1102-1110.
- Carrillo, A., Flynn, M., Pinkston, C., Markofski, M., Jiang, Y., Donkin, S., Teegarden, D. 2012. Vitamin D supplementation during exercise training does not alter inflammatory biomarkers in overweight and obese subjects. *Eur J Appl Physiol*, 112(8): 3045-3052.
- Cavaillon, J. M. 2001. Pro- versus anti-inflammatory cytokines: myth or reality. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 47(4): 695-702.
- Chen, S. E., Jin, B., Li, Y. P. 2007. TNF-alpha regulates myogenesis and muscle regeneration by activating p38 MAPK. *Am J Physiol Cell Physiol*, 292(5): C1660-1671.

- Christakos, S., Dhawan, P., Verstuyf, A., Verlinden, L., Carmeliet, G. 2016. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev*, 96(1): 365-408.
- Chtara, M., Rouissi, M., Bragazzi, N., Owen, A., Haddad, M., Chamari, K. 2018. Dynamic balance ability in young elite soccer players: implication of isometric strength. *J Sports Med Phys Fitness*, 58(4): 414-420.
- Chu, V. W. T. 2017. Assessing Proprioception in Children: A Review. *J Mot Behav*, 49(4): 458-466.
- Ciecierska, A., Sadkowski, T., Motyl, T. 2019. Role of trophic factors in development and regeneration of skeletal muscles. *Med. Weter.*, 75(12): 713-718.
- Cipriani, C., Romagnoli, E., Carnevale, V., Clerico, R., Pepe, J., Cilli, M., Diacinti, D., Savoriti, C., Colangelo, L., Minisola, S. 2013. Effect of a single oral dose of 600,000 IU of cholecalciferol on muscle strength: a study in young women. *J Endocrinol Invest*, 36(11): 1051-1054.
- Close, G., Russell, J., Cobley, J., Owens, D., Wilson, G., Gregson, W., Fraser, W., Morton, J. 2013. Assessment of vitamin D concentration in non-supplemented professional athletes and healthy adults during the winter months in the UK: implications for skeletal muscle function. *J Sports Sci*, 31(4): 344-353.
- Corso, M. 2018. Developmental changes in the youth athlete: implications for movement, skills acquisition, performance and injuries. *J Can Chiropr Assoc*, 62(3): 150-160.
- DeLuca, G., Kimball, S., Kolasinski, J., Ramagopalan, S., Ebers, G. 2013. Review: the role of vitamin D in nervous system health and disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 39(5): 458-484.
- Dhesi, J. K., Jackson, S. H., Bearne, L. M., Moniz, C., Hurley, M. V., Swift, C. G., Allain, T. J. 2004. Vitamin D supplementation improves neuromuscular function in older people who fall. *Age Ageing*, 33(6): 589-595.
- Dodson, M. V., McFarland, D. C., Grant, A. L., Doumit, M. E., Velleman, S. G. 1996. Extrinsic regulation of domestic animal-derived satellite cells. *Domest Anim Endocrinol*, 13(2): 107-126.
- Dzik, K., Skrobot, W., Flis, D. J., Karnia, M., Libionka, W., Kloc, W., Kaczor, J. J. 2018. Vitamin D supplementation attenuates oxidative stress in paraspinal skeletal muscles in patients with low back pain. *Eur J Appl Physiol*, 118(1): 143-151.
- Dzik, K. P., Kaczor, J. J. 2019a. Mechanisms of vitamin D on skeletal muscle function: oxidative stress, energy metabolism and anabolic state. *Eur J Appl Physiol*, 119(4): 825-839.
- Dzik, K. P., Skrobot, W., Kaczor, K. B., Flis, D. J., Karnia, M. J., Libionka, W., Antosiewicz, J., Kloc, W., Kaczor, J. J. 2019b. Vitamin D Deficiency Is Associated with Muscle Atrophy and Reduced Mitochondrial Function in Patients with Chronic Low Back Pain. *Oxid Med Cell Longev*, 2019: 6835341.
- Earthman, C., Beckman, L., Masodkar, K., Sibley, S. D. 2012. The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications. *Int J Obes (Lond)*, 36(3): 387-396.

- Ehehalt, S., Schweizer, R., Blumenstock, G., Pfaff, C., Schurr, N., Weber, K., Ranke, M., Binder, G. 2011. Investigation of myostatin serum levels before and after a 6-month lifestyle intervention program in obese children. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 119(4): 238-242.
- Eyles, D., Smith, S., Kinobe, R., Hewison, M., McGrath, J. 2005. Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. *J Chem Neuroanat*, 29(1): 21-30.
- Foo, L., Zhang, Q., Zhu, K., Ma, G., Hu, X., Greenfield, H., Fraser, D. 2009. Low vitamin D status has an adverse influence on bone mass, bone turnover, and muscle strength in Chinese adolescent girls. *J Nutr*, 139(5): 1002-1007.
- Galior, K., Grebe, S., Singh, R. 2018. Development of Vitamin D Toxicity from Overcorrection of Vitamin D Deficiency: A Review of Case Reports. *Nutrients*, 10(8).
- Gil-Cosano, J., Gracia-Marco, L., Ubago-Guisado, E., Migueles, J., Mora-Gonzalez, J., Escolano-Margarit, M., Gomez-Vida, J., Maldonado, J., Ortega, F. 2019. Muscular Fitness Mediates the Association between 25-Hydroxyvitamin D and Areal Bone Mineral Density in Children with Overweight/Obesity. *Nutrients*, 11(11).
- Gil, A., Plaza-Diaz, J., Mesa, M. D. 2018. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab*, 72(2): 87-95.
- Górski, J. 2010. *Fizjologia Człowieka*: Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
- Guillot, X., Semerano, L., Saidenberg-Kermanac'h, N., Falgarone, G., Boissier, M. C. 2010. Vitamin D and inflammation. *Joint Bone Spine*, 77(6): 552-557.
- Halliday, T. M., Peterson, N. J., Thomas, J. J., Kleppinger, K., Hollis, B. W., Larson-Meyer, D. E. 2011. Vitamin D status relative to diet, lifestyle, injury, and illness in college athletes. *Med Sci Sports Exerc*, 43(2): 335-343.
- Hatzitaki, V., Zisi, V., Kollias, I., Kioumourtzoglou, E. 2002. Perceptual-motor contributions to static and dynamic balance control in children. *J Mot Behav*, 34(2): 161-170.
- Heaney, R. 2008. Vitamin D: criteria for safety and efficacy. *Nutr Rev*, 66(10 Suppl 2): S178-181.
- Held-Ziółkowska, M. 2006. Równowaga statyczna i dynamiczna cz.1 Organizacja zmysłowa i biomechaniczna układ równowagi. *Magazyn Ortyno-Laryngologiczny*, V(18): 39-46.
- Holick, M., Binkley, N., Bischoff-Ferrari, H., Gordon, C., Hanley, D., Heaney, R., Murad, M., Weaver, C. 2011. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 96(7): 1911-1930.
- Holick, M. F. 2007. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 357(3): 266-281.
- Holick, M. F. 2017. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord*, 18(2): 153-165.
- Hollis, B. W. 2005. Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *J Nutr*, 135(2): 317-322.

- Horak, F. B. 2006. Postural orientation and equilibrium: what do we need to know about neural control of balance to prevent falls? *Age Ageing*, 35 Suppl 2: ii7-ii11.
- Ibrahim, A., Muaidi, Q., Abdelsalam, M., Hawamdeh, Z., Alhusaini, A. 2013. Association of postural balance and isometric muscle strength in early- and middle-school-age boys. *J Manipulative Physiol Ther*, 36(9): 633-643.
- Jastrzebski, Z., Kortas, J., Kaczor, K., Antosiewicz, J. 2016. Vitamin D Supplementation Causes a Decrease in Blood Cholesterol in Professional Rowers. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 62(2): 88-92.
- Kalueff, A. V., Lou, Y. R., Laaksi, I., Tuohimaa, P. 2004. Impaired motor performance in mice lacking neurosteroid vitamin D receptors. *Brain Res Bull*, 64(1): 25-29.
- Kimball, S. M., Mirhosseini, N., Holick, M. F. 2017. Evaluation of vitamin D3 intakes up to 15,000 international units/day and serum 25-hydroxyvitamin D concentrations up to 300 nmol/L on calcium metabolism in a community setting. *Dermatoendocrinol*, 9(1): e1300213.
- Krasowska, K., Skrobot, W., Liedtke, E., Sawicki, P., Flis, D. J., Dzik, K. P., Libionka, W., Kloc, W., Kaczor, J. J. 2019. The Preoperative Supplementation With Vitamin D Attenuated Pain Intensity and Reduced the Level of Pro-inflammatory Markers in Patients After Posterior Lumbar Interbody Fusion. *Front Pharmacol*, 10: 527.
- Krzyscin, J. W., Jaroslowski, J., Sobolewski, P. S. 2011. A mathematical model for seasonal variability of vitamin D due to solar radiation. *J Photochem Photobiol B*, 105(1): 106-112.
- Krzywanski, J., Mikulski, T., Krysztofiak, H., Mlynczak, M., Gaczynska, E., Ziemba, A. 2016. Seasonal Vitamin D Status in Polish Elite Athletes in Relation to Sun Exposure and Oral Supplementation. *PLoS One*, 11(10): e0164395.
- Ksiazek, A., Dziubek, W., Pietraszewska, J., Slowinska-Lisowska, M. 2018. Relationship between 25(OH)D levels and athletic performance in elite Polish judoists. *Biol Sport*, 35(2): 191-196.
- Kujach, S., Lyzwinski, D., Chroboczek, M., Bialowas, D., Antosiewicz, J., Laskowski, R. 2020. The Effect of Vitamin D3 Supplementation on Physical Capacity among Active College-Aged Males. *Nutrients*, 12(7).
- Lai, W. C., Wang, D., Chen, J. B., Vail, J., Rugg, C. M., Hame, S. L. 2017. Lower Quarter Y-Balance Test Scores and Lower Extremity Injury in NCAA Division I Athletes. *Orthop J Sports Med*, 5(8): 2325967117723666.
- Larson-Meyer, E. 2013. Vitamin D supplementation in athletes. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*, 75: 109-121.
- Lephart, S. M., Pincivero, D. M., Rozzi, S. L. 1998. Proprioception of the ankle and knee. *Sports Med*, 25(3): 149-155.
- Lin, A., Chen, K., Chao, P. 2005. Antioxidative effect of vitamin D3 on zinc-induced oxidative stress in CNS. *Ann N Y Acad Sci*.(1053): 319-329.
- Lips, P., Binkley, N., Pfeifer, M., Recker, R., Samanta, S., Cohn, D., Chandler, J., Rosenberg, E., Papanicolaou, D. 2010. Once-weekly dose of 8400 IU vitamin D(3) compared with placebo: effects on neuromuscular

- function and tolerability in older adults with vitamin D insufficiency. *Am J Clin Nutr*, 91(4): 985-991.
- Maroon, J., Mathyssek, C., Bost, J., Amos, A., Winkelman, R., Yates, A., Duca, M., Norwig, J. 2015. Vitamin D profile in National Football League players. *Am J Sports Med*, 43(5): 1241-1245.
- Maruyama-Nagao, A., Sakuraba, K., Suzuki, Y. 2016. Seasonal variations in vitamin D status in indoor and outdoor female athletes. *Biomed Rep*, 5(1): 113-117.
- Mazzoleni, S., Magni, G., Toderini, D. 2019. Effect of vitamin D3 seasonal supplementation with 1500 IU/day in north Italian children (DINOS study). *Ital J Pediatr*, 45(1): 18.
- McCollum, E., Simmonds, N., Becker, J., Shipley, P. 1922. Studies on experimental rickets: and experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *J Biol Chem.*, 53: 293-312.
- Mehran, N., Schulz, B., Neri, B., Robertson, W., Limpisvasti, O. 2016. Prevalence of Vitamin D Insufficiency in Professional Hockey Players. *Orthop J Sports Med*, 4(12): 2325967116677512.
- Mieszkowski, J., Niespodzinski, B., Kochanowicz, A., Gmiat, A., Prusik, K., Kortas, J., Ziemann, E., Antosiewicz, J. 2018. The Effect of Nordic Walking Training Combined with Vitamin D Supplementation on Postural Control and Muscle Strength in Elderly People-A Randomized Controlled Trial. *Int J Environ Res Public Health*, 15(9).
- Miller, M. M., Trapp, J. L., Post, E. G., Trigsted, S. M., McGuine, T. A., Brooks, M. A., Bell, D. R. 2017. The Effects of Specialization and Sex on Anterior Y-Balance Performance in High School Athletes. *Sports Health*, 9(4): 375-382.
- Minasyan, A., Keisala, T., Zou, J., Zhang, Y., Toppila, E., Syvala, H., Lou, Y., Kalueff, V., Pyykko, I., Tuohimaa, P. 2009. Vestibular dysfunction in vitamin D receptor mutant mice. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 114(3-5): 161-166.
- Moldoveanu, A. I., Shephard, R. J., Shek, P. N. 2001. The cytokine response to physical activity and training. *Sports Med*, 31(2): 115-144.
- Mozołowski, W. 1939. On the Cure of Rickets. *Nature*, 3612(21): 121.
- Munoz-Canoves, P., Scheele, C., Pedersen, B., Serrano, A. 2013. Interleukin-6 myokine signaling in skeletal muscle: a double-edged sword? *FEBS J*, 280(17): 4131-4148.
- Olsson L., Lund H., Henriksen M., Rogind H., Bliddal H., B., D.-S. 2004. Test-retest Reliability of a Knee Joint Position Sense Measurement Method in Sitting and Prone Position. *Advances in Physiotherapy*, 6: 37-47.
- Orysiak, J., Mazur-Rozycka, J., Fitzgerald, J., Starczewski, M., Malczewska-Lenczowska, J., Busko, K. 2018. Vitamin D status and its relation to exercise performance and iron status in young ice hockey players. *PLoS One*, 13(4): e0195284.
- Palm, T. 1890. The geographical distribution and etiology of rickets. . *Practitioner.*, 45: 270-342.
- Pasma, J., Engelhart, D., Maier, A., Schouten, A., van der Kooij, H., Meskers, C. 2015. Changes in sensory reweighting of proprioceptive information

- during standing balance with age and disease. *J Neurophysiol*, 114(6): 3220-3233.
- Pedersen, B. K., Febbraio, M. A. 2008. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev*, 88(4): 1379-1406.
- Piotrowska, A., Wierzbicka, J., Zmijewski, M. A. 2016. Vitamin D in the skin physiology and pathology. *Acta Biochim Pol*, 63(1): 17-29.
- Plisky, P., Rauh, M., Kaminski, T., Underwood, F. 2006a. Star Excursion Balance Test as a predictor of lower extremity injury in high school basketball players. *J Orthop Sports Phys Ther.*, 36(12): 911-919.
- Plisky, P. J., Rauh, M. J., Kaminski, T. W., Underwood, F. B. 2006b. Star Excursion Balance Test as a predictor of lower extremity injury in high school basketball players. *J Orthop Sports Phys Ther*, 36(12): 911-919.
- Pludowski, P., Karczarewicz, E., Bayer, M., Carter, G., Chlebna-Sokol, D., Czech-Kowalska, J., Debski, R., Decsi, T., Dobrzanska, A., Franek, E., Glusko, P., Grant, W. B., Holick, M. F., Yankovskaya, L., Konstantynowicz, J., Ksiazek, J. B., Ksiezopolska-Orlowska, K., Lewinski, A., Litwin, M., Lohner, S., Lorenc, R. S., Lukaszewicz, J., Marciniowska-Suchowierska, E., Milewicz, A., Misiorowski, W., Nowicki, M., Povoroznyuk, V., Rozentryt, P., Rudenka, E., Shoenfeld, Y., Socha, P., Solnica, B., Szalecki, M., Talalaj, M., Varbiro, S., Zmijewski, M. A. 2013. Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe - recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynol Pol*, 64(4): 319-327.
- Pojednic, R., Ceglia, L. 2014. The emerging biomolecular role of vitamin D in skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev*, 42(2): 76-81.
- Post, E. G., Triggsted, S. M., Riekena, J. W., Hetzel, S., McGuine, T. A., Brooks, M. A., Bell, D. R. 2017. The Association of Sport Specialization and Training Volume With Injury History in Youth Athletes. *Am J Sports Med*, 45(6): 1405-1412.
- Proske, U., Gandevia, S. C. 2009. The kinaesthetic senses. *J Physiol*, 587(Pt 17): 4139-4146.
- Riemann, B. L., Lephart, S. M. 2002a. The sensorimotor system, part I: the physiologic basis of functional joint stability. *J Athl Train*, 37(1): 71-79.
- Riemann, B. L., Lephart, S. M. 2002b. The Sensorimotor System, Part II: The Role of Proprioception in Motor Control and Functional Joint Stability. *J Athl Train*, 37(1): 80-84.
- Rovner, A., Stallings, V., Rutstein, R., Schall, J., Leonard, M., Zemel, B. 2017. Effect of high-dose cholecalciferol (vitamin D3) on bone and body composition in children and young adults with HIV infection: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Osteoporos Int*, 28(1): 201-209.
- Rusinska, A., Pludowski, P., Walczak, M., Borszewska-Kornacka, M. K., Bossowski, A., Chlebna-Sokol, D., Czech-Kowalska, J., Dobrzanska, A., Franek, E., Helwich, E., Jackowska, T., Kalina, M. A., Konstantynowicz, J., Ksiazek, J., Lewinski, A., Lukaszewicz, J., Marciniowska-Suchowierska, E., Mazur, A., Michalus, I., Peregud-Pogorzelski, J., Romanowska, H., Ruchala, M., Socha, P., Szalecki, M.,

- Wielgos, M., Zwolinska, D., Zygmunt, A. 2018. Vitamin D Supplementation Guidelines for General Population and Groups at Risk of Vitamin D Deficiency in Poland-Recommendations of the Polish Society of Pediatric Endocrinology and Diabetes and the Expert Panel With Participation of National Specialist Consultants and Representatives of Scientific Societies-2018 Update. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9: 246.
- Shuler, F., Wingate, M., Moore, G., Giangarra, C. 2012. Sports health benefits of vitamin d. *Sports Health*, 4(6): 496-501.
- Simpson, R. U., Thomas, G. A., Arnold, A. J. 1985. Identification of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors and activities in muscle. *J Biol Chem*, 260(15): 8882-8891.
- Skalska, M., Nikolaidis, P., Knechtle, B., Rosemann, T., Radziminski, L., Jastrzebska, J., Kaczmarczyk, M., Mysliwiec, A., Dragos, P., Lopez-Sanchez, G., Jastrzebski, Z. 2019. Vitamin D Supplementation and Physical Activity of Young Soccer Players during High-Intensity Training. *Nutrients*, 11(2).
- Skrobot, W., Liedtke, E., Krasowska, K., Dzik, K. P., Flis, D. J., Samoraj-Dereszkiewicz, A., Libionka, W., Kortas, J., Kloc, W., Antosiewicz, J., Kaczor, J. J. 2019. Early Rehabilitation Program and Vitamin D Supplementation Improves Sensitivity of Balance and the Postural Control in Patients after Posterior Lumbar Interbody Fusion: A Randomized Trial. *Nutrients*, 11(9).
- Skrobot, W., Perzanowska, E., Krasowska, K., Flis, D. J., Dzik, K. P., Kloc, W., Kaczor, J. J., Antosiewicz, J. 2020. Vitamin D Supplementation Improves the Effects of the Rehabilitation Program on Balance and Pressure Distribution in Patients after Anterior Cervical Interbody Fusion-Randomized Control Trial. *Nutrients*, 12(12).
- Smith, C., Chimera, N., Warren, M. 2015. Association of y balance test reach asymmetry and injury in division I athletes. *Med Sci Sports Exerc*, 47(1): 136-141.
- Smith, L. 2003. Overtraining, excessive exercise, and altered immunity: is this a T helper-1 versus T helper-2 lymphocyte response? *Sports Med*, 33(5): 347-364.
- Spiro, A., Buttriss, J. 2014. Vitamin D: an overview of vitamin D status and intake in Europe. *Nutr Bull*, 39: 322-350.
- Stillman, B. C. 2002. Making sense of proprioception: The meaning of proprioception, kinaesthesia and related terms', . *Physiotherapy*, 88(11): 667-646.
- Syed, T. 2011. Physiology od equilibrium & balance. https://www.slideshare.net/farhan_aq91/physiology-of-equilibrium-balance.
- Teixeira, P., Santos, A., Casalta-Lopes, J., Almeida, M., Loureiro, J., Ermida, V., Caldas, J., Fontes-Ribeiro, C. 2019. Prevalence of vitamin D deficiency amongst soccer athletes and effects of 8 weeks supplementation. *J Sports Med Phys Fitness*, 59(4): 693-699.
- van den Ouweland, J., Fleuren, H., Drabbe, M., Vollaard, H. 2014. Pharmacokinetics and safety issues of an accidental overdose of 2,000,000 IU of vitamin D3 in two nursing home patients: a case report. *BMC Pharmacol Toxicol*, 15: 57.

- van Deursen, R. W., Simoneau, G. G. 1999. Foot and ankle sensory neuropathy, proprioception, and postural stability. *J Orthop Sports Phys Ther*, 29(12): 718-726.
- Wacker, M., Holick, M. 2013. Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermatoendocrinol*, 5(1): 51-108.
- Wei, S., Tanaka, H., Seino, Y. 1998. Local action of exogenous growth hormone and insulin-like growth factor-I on dihydroxyvitamin D production in LLC-PK1 cells. *Eur J Endocrinol*, 139(4): 454-460.
- Wicherts, I., van Schoor, N., Boeke, A. J., Visser, M., Deeg, D., Smit, J., Knol, D., Lips, P. 2007. Vitamin D status predicts physical performance and its decline in older persons. *J Clin Endocrinol Metab*, 92(6): 2058-2065.
- Willis, K., Smith, D., Broughton, K., Larson-Meyer, D. 2012. Vitamin D status and biomarkers of inflammation in runners. *Open Access J Sports Med*, 3: 35-42.
- Wilson, B., Robertson, K., Burnham, J., Yonz, M., Ireland, M., Noehren, B. 2018. The Relationship Between Hip Strength and the Y Balance Test. *J Sport Rehabil*, 27(5): 445-450.
- Wyon, M., Wolman, R., Nevill, A., Cloak, R., Metsios, G., Gould, D., Ingham, A., Koutedakis, Y. 2016. Acute Effects of Vitamin D3 Supplementation on Muscle Strength in Judoka Athletes: A Randomized Placebo-Controlled, Double-Blind Trial. *Clin J Sport Med*, 26(4): 279-284.
- Yarparvar, A., Elmadfa, I., Djazayeri, A., Abdollahi, Z., Salehi, F., Heshmat, R. 2020. The Effects of Vitamin D Supplementation on Lipid and Inflammatory Profile of Healthy Adolescent Boys: A Randomized Controlled Trial. *Nutrients*, 12(5).
- Zebrowska, A., Sadowska-Krepa, E., Stanula, A., Waskiewicz, Z., Lakomy, O., Bezuglov, E., Nikolaidis, P. T., Rosemann, T., Knechtle, B. 2020. The effect of vitamin D supplementation on serum total 25(OH) levels and biochemical markers of skeletal muscles in runners. *J Int Soc Sports Nutr*, 17(1): 18.

Załącznik 1

Informacja dla rodziców/zgoda na badania

Ja,

(imię i nazwisko opiekuna/rodzica)

Zgadzam się na suplementację (3200IU witaminy D₃/dzień przez 10 tygodni) wykonanie testów równowagi, siły mięśniowej, YBT oraz pobrania od 4 do 8 ml krwi do badań biochemicznych wybranych markerów stanu zapalnego u mojego podopiecznego/dziecka.....

.....

(imię i nazwisko badanego)

.....

(podpis rodzica/opiekuna)