

SEMMELWEIS EGYETEM

DOKTORI ISKOLA

Ph.D. értekezések

3481.

SZILI BALÁZS

Anyagcsere betegségek

című program

Programvezető: Dr. Lakatos Péter, egyetemi tanár

Témavezető: Dr. Takács István, egyetemi tanár

A D-vitamin anyagcserét befolyásoló genetikai tényezők vizsgálata

Doktori értekezés

Dr. Szili Balázs

Semmelweis Egyetem Doktori Iskola
Rácz Károly Konzervatív Orvostudományi Tagozat



Témavezető: Dr. Takács István, DSc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Nagy Géza, Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Kupai Krisztina, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Hosszúfalusi Nóra, Ph.D., egyetemi tanár

Tagok: Dr. Szücs Nikolette, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Kovács Gábor, Ph.D., főorvos

Budapest
2026

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés (irodalmi háttér).....	7
1.1. D-vitamin történelem	7
1.2. D-vitamin metabolizmus	9
1.2.1. A D-vitamin szerkezete [33]	10
1.2.2. D ₃ -vitamin fotoszintézis, fotobiológia	10
1.2.3. D ₃ -vitamin aktivációja	12
1.2.4. Az 1 α -hidroxiláció szabályozása	14
1.2.5. D-vitaminok inaktivációja	18
1.2.6. D-vitamin-kötő fehérje.....	19
1.3. D-vitamin farmakológia és toxikológia.....	21
1.3.1. A D-vitamin felszívódása	22
1.3.2. D-vitamin szöveti eloszlása	23
1.3.3. Farmakológiai D-vitamin metabolizmus	23
1.3.4. Egyes D-vitamin származékok farmakokinetikája	24
1.3.5. D-vitamin-metabolitok szöveti eloszlása	25
1.3.6. Elimináció, exkréció	26
1.3.7. D-vitamin ellátottság megítélése	26
1.3.8. A D-vitamin ellátottságot befolyásoló környezeti tényezők.....	28
1.3.9. D-vitamin pótlás	34
1.3.10. D-vitamin kezelés.....	35
1.3.11. D-vitamin toxikológia	36
1.4. A D-hormon funkciója az emberi szervezetben	38
1.4.1. A D-vitamin receptor	38
1.4.2. A D-hormon genomiális hatásai.....	39
1.4.3. Skeletalis hatások, kalcium-anyagcsere	41
1.4.4. Extrasketetalis hatások.....	44
1.5. D-vitamin-anyagcserét befolyásoló genetikai tényezők.....	49
1.5.1. A D-vitamin-anyagcserében részt vevő kulcsfontosságú gének és polimorfizmusaik.....	50
1.5.2. A genetikai eltérések és a D-vitamin ellátottság összefüggései.....	54
1.5.3. Epigenetikai tényezők a D-vitamin anyagcserében és a receptor aktivációban	56

2.	Célkitűzések	58
3.	Módszerek	59
3.1.	D-vitamin ellátottságot befolyásoló genetikai tényezők	59
3.1.1.	<i>Vizsgálati elrendezés és résztvevők</i>	59
3.1.2.	<i>Vizsgálatok</i>	60
3.1.3.	<i>Biológiai minták vétele, kezelése, laboratóriumi vizsgálatok</i>	60
3.1.4.	<i>SNP-k kiválasztása, genotipizálás</i>	61
3.1.5.	<i>Statisztikai elemzés</i>	63
3.2.	D-vitamin telítő dózis különböző adagolási sémáinak összehasonlítása ..	64
3.2.1.	<i>Vizsgálati elrendezés és résztvevők</i>	64
3.2.2.	<i>Vizsgálatok</i>	66
3.2.3.	<i>Laboratóriumi vizsgálatok</i>	66
3.2.4.	<i>Statisztikai elemzés</i>	67
4.	Eredmények	68
4.1.	D-vitamin ellátottságot befolyásoló genetikai tényezők	68
4.1.1.	<i>D-vitamin szintek, eloszlás</i>	68
4.1.2.	<i>A D-vitamin ellátottságot befolyásoló tényezők</i>	69
4.1.3.	<i>Modell populáció kialakítása</i>	70
4.1.4.	<i>Genetikai vizsgálatok eredménye</i>	71
4.1.5.	<i>Genetikai polimorfizmusok összefüggése a szérum kalcium-, foszfát és parathormon szintekkel</i>	73
4.1.6.	<i>Genetikai polimorfizmusok és testtömeg index összefüggése</i>	73
4.2.	D-vitamin telítő dózis különböző adagolási sémáinak összehasonlítása ..	74
5.	Megbeszélés	78
5.1	Genetikai eredmények megbeszélése	78
5.2	D-vitamin pótlási sémák eredményeinek megbeszélése	84
6.	Következtetések	87
7.	Összefoglalás	88
8.	Irodalomjegyzék	89
9.	Saját publikációk jegyzéke	121
10.	Köszönetnyilvánítás	127

Rövidítések jegyzéke

25OHD: 25-hidroxi-D₃-vitamin

7-DHC: 7-dehidro-koleszterin

AFP: α-foetoprotein

ALP: alkalikus-foszfátáz

ATP: adenzin-trifoszfát

b- / f- / t-25OHD: szérumbiológiailag elérhető- / szabad- / teljes-25(OH)-D₃-vitaminszint

Bcl-2: B-cell lymphoma 2 – B-sejtes limfóma-2

BDNF: brain derived neurotrophic factor – agyi eredetű neurotrop faktor

BMD: bone mineral density – csontásványianyag-sűrűség

BMI: body mass index – testtömeg-index

cAMP: ciklikus adenzin-monofoszfát

CAR: constitutive androstane receptor – konstitutív androsztán-receptor

CD-: cluster of differentiation – differenciálódási csoport

COVID-19: 2019-novel Coronavirus caused disease – a 2019-novel Coronavirus által okozott betegség

CREB: ciklikus adenosin-monofoszfát-reaktív elem – ciklikus adenzin-monofoszfát-érzékeny szakasz

CTX: kollagén C-terminális telopeptid

CYP-: citokróm P450 enzim

DBP: vitamin D binding protein – D-vitamin-kötő fehérje

DEQAS: vitamin D external quality assessment scheme

DHCR7: 7-dehidro-koleszterin-reduktáz

DNS: dezoxi-ribonukleinsav

DNS: dezoxi-ribonukleinsav

EDTA: etilén-diamin-tetraecetsav

ETT-TUKEB: Egészségügyi Tudományos Tanács – Tudományos és Kutatásetikai Bizottság

EudraCT: European Union Drug Regulatory Authorities Clinical Trials

FGF23: fibroblast growth factor 23 - fibroblaszt-növekedési faktor 23

FoxP3: forkhead box P3

GC: group specific component of serum
GDNF: glia derived neurotropic factor – glia eredetű neurotrop faktor
GOE: great oxygenation event – nagy oxigenizációs esemény
GWAS: genome-wide association study
GyTD: gyors telítő dózis
HAT: hiszton acetil-transzferáz
IFN: interferon
IL-: interleukin-
iNOS: indukálható nitrogén-monoxid szintáz
JAK: Janus-kináz
kDa: kilodalton
KTD: közepes telítő dózis
LBD: ligand binding domain – ligandkötő terület
LPS: lipo-poliszacharid
MAP-kináz: mitogen-activated protein kinase – mitogén aktivált protein kináz
MARRS: 1,25-dihidroxi-D₃-vitamin membrane-associated rapid response steroid
mRNS: messenger ribonucleic acid – hírvivő ribonukleinsav
NADPH: nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
NADSYN: nikotinamid-adenin-dinukleotid szintetáz
NE: nemzetközi egység
NGF: neural growth factor – idegnövekedési faktor
NO: nitrogén-monoxid
NO₂: nitrogén-dioxid
NPC1L1: Niemann-Pick C1-like 1 receptor – Niemann-Pick C1-szerű 1 receptor
NR: nuclear receptor – sejtmagi receptor
OC: osteocalcin
-OH: -hidroxil
OPG: osteoprotegerin
PINP: prokollagén 1 N-terminális propeptid
PDIA3: protein diszulfid-izomeráz 3
PM: particulate matter

PMCA1b: plasma membrane calcium adenosine-triphosphatase – plazma membrán kalcium adenozin-trifoszfátáz

PTH: parathormon

PXR: pregnane C receptor

RAAS: renin-angiotensin-aldosterone system – renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer

RANK: receptor of nuclear factor kappa B – sejtmagi kappa B faktor receptor

RANKL: receptor of nuclear factor kappa B ligand – sejtmagi kappa B faktor receptora

RNS: ribonukleinsav

RXR: retinoid X receptor

SD: standard deviáció

SM: sclerosis multiplex

SNP: single nucleotide polymorphism – egy-nukleotid polimorfizmus

SPF: sun protecting factor

SR-BI: scavenger receptor class B type I – tisztító receptor B osztály I típus

SRE: sterol-regulator – szterol-regulátor

STAT: signal transducers and activators of transcription – transzkripció átalakító és aktiváló

TATA: timin-adenin-timin-adenin

TNF-: tumor-nekrózis faktor-

TRE: thyroid hormone responsive element – pajzsmirigyhormon érzékeny szakasz

Treg: regulátoros T-sejt

TRPV: transient receptor potential vanilloid subfamily member

tkg: testtömeg-kilogramm

UV-: ultraviola-

VDDR I.: vitamin D-dependent rickets type I. – D-vitamin-rezisztens rachitis I-es típusa

VDR: vitamin D receptor (D-vitamin-receptor)

VDRE: vitamin D responsive element – D-vitamin receptorra érzékeny szakasz

VDSP: vitamin D standardization program

VEGF: vascular endothelial growth factor – érbelhártya növekedési faktor

W/m²: watt/négyzetméter

1. Bevezetés (irodalmi háttér)

1.1. D-vitamin történelem

A 19. században a táplálkozástudomány jellemzően csak a makrotápanyagokra fókuszált. Az akkori vélekedés szerint megfelelő arányú fehérje, szénhidrát, zsír és ásványi anyag bevitele elegendő volt a megfelelő fejlődéshez, növekedéshez. A 19. század végén jelentek meg az első ezzel ellentétes vélemények: 1897-ben Eijkman közölte, hogy azon raboknál alakult ki beri-beri, akiket héj nélküli rizzzel tápláltak [1]. Amikor pedig hántolatlan rizst adott beri-beriben szenvedőknek, a betegség tünetei elmúltak. Néhány évvel később a skorbutról, illetve annak megelőzési lehetőségeiről hajósok körében publikáltak eredményeket [2, 3]. Később kísérletekkel többen is igazolták, hogy tisztán szénhidrát, fehérje, zsír és só alapú étrend mellett a kísérleti állatok fejlődése, növekedése nem megfelelő. Funk a hiányzó, élethez szükséges, kis mennyiségben jelen lévő anyagokat „vital amines” néven írta le, ebből ered az azóta is használt vitamin kifejezés [4].

A D-vitamin hiányában kialakuló rachitist már az ókorban is ismerték, leírták. Whistler 1645-ben publikálta a betegség részletes tünettanát [5]. A betegség kifejezetten ritkának számított az ipari forradalom beköszöntéig. A 19. század végére a korábban főleg mezőgazdasági munkát végző (szabadban dolgozó) populáció urbanizálódott, és gyári munkát kezdett végezni. Az iparosodott városokban nagy volt a környezetszennyezés, ami szintén csökkentette a napsugárzással érkező UV-B sugarak hatékonyságát. Ennek következtében az egyébként is kevésbé napos országokban, így Angliában a rachitis járványszerűen terjedni kezdett [6]. Mellanby vetette fel, hogy a rachitis is valamilyen mikrotápanyag hiányában alakulhat ki [7]. McCollum pedig kutyákat napfénytől elzárva tartott kutyákon figyelte meg súlyos rachitis kialakulását [8]. Mellanby kísérletei alapján McCollum csukamáj olajjal kezelte a kutyákat, és ezzel javulást tudott elérni. Eleinte a kedvező hatást a már ismert A vitaminnak tulajdonították. Később McCollum igazolta, hogy ha a csukamáj olajat hőkezeli, és ezzel a benne lévő A-vitamint károsítja, akkor a xerophthalmia kezelésére már nem alkalmas az olaj, viszont a rachitist változatlanul gyógyítja. Az ekként felfedezett új tápanyagot D-vitaminnak nevezte el [8].

Ugyanebben az időszakban Huldshinsky és Chick is közölte, hogy a gyermekeknél kialakuló rachitis megelőzhető napfénnel vagy mesterséges UV-B sugárzással is [9].

Ezek az eredmények megkérdőjelezték, hogy rachitis valóban vitaminhiány következménye-e, illetve tisztázni kellett, hogy hogyan kapcsolható össze a két, igazoltan hatékony kezelési mód.

Steenbock később megfigyelte, hogy a tápanyag UV-B besugárzása valamilyen inaktív anyagot D-vitaminná képes aktiválni, és az így kezelt élelmiszerek alkalmasak lehetnek a rachitis kezelésére [10].

Windaus és munkatársai izoláltak először szterolok UV-B besugárzása után D-vitamint: akkor ezt D₁-vitaminnak nevezték el, szerkezetét nem írták le [11]. A későbbi vizsgálatok azonban a tachysterol egy formájának találták a kérdéses molekulát, így az valójában D₂-vitamin volt.

Az ergokalciferol (D₂-vitamin) szerkezetét először Askew és munkacsoportja írta le [12]. Az eredményeket rövid időn belül Windaus is megerősítette [13]. Windaus és Bock közölte a kolekalciferol (D₃-vitamin) szerkezetét [14]. Leírták és szintetizálták a 7-dehidro-koleszterint is, ami a kolekalciferol előanyaga [15]. Mindegyik felfedezés még az 1930-as években történt.

A bőrben Esvelt és munkacsoportja mutatta ki először a kolekalciferol jelenlétét [16], előanyagát, a 7-dehidro-koleszterint pedig Holick és munkatársai 1977-ben illetve 1980-ban [17].

A biológiailag aktív D-hormont (1 α ,25(OH)₂D₃-vitamin) 1972-ben több munkacsoport is ismertette [18-20]. 1973-ban a D-vitamin-dependens rachitis gyógyszereként végső bizonyítást nyert biológiai szerepe [21]. Ezután nem sokkal D-vitamin endokrinológiai rendszerét is felismerték: leírásra került az inaktiváció mechanizmusa, metabolitjai. Felismerték az 1 α -hidroxiláció parathromon általi szabályozását a vesében [22]. Végül a foszfát metabolizmusban betöltött szerepét és az FGF23-mal való kapcsolatát fedezték fel [23].

A D-vitamin receptorral (VDR) kapcsolatos első közlemények az 1960-as évekből származnak. Ekkor már felismerték, hogy magi receptorról van szó, ami a kromatin állományához tud kötődni [24]. A receptor génszekvenciáját 1988-ban közölték [25]. A D-vitamin receptor által szabályozott genetikai lókuszt (Vitamin D Responsive

Elements – VDRE) az 1990-es évek legelején kezdték megismerni. Leírták, hogy a kötődéshez a VDR-nek az retinoid Y receptorral (RXR) heterodimert kell képeznie [26].

A D-vitamin emberi szervezetben betöltött szerepei közül elsőként a rachitis kapcsán a kalcium-anyagszere szabályozójaként írták le. Ismertté vált, hogy a D-vitamin szükséges a kalcium megfelelő felszívódásához [27]. Ekkor még azt gondolták, hogy a csontok mineralizációjához is a D-vitamin szükséges. Az 1950-es években Carlsson [28] és Bauer [29] ismerte fel, hogy a D-vitamin csontból történő kalcium kiáramlást indukálja, nem pedig a mineralizációt. Az 1980-as években Yamamoto és munkatársai fedezték fel [30], hogy a vesében a disztális kanyarulatos csatornában a kalcium visszaszívás fokozódásáért is a D-vitamin felel, a parathormonnal együtt [31].

Az 1970-es és 80-as évektől aztán egyre több szervben, szövetben és sejttípusban leírták a D-vitamin receptor jelenlétét, és így lassan kialakultak a jelenlegi ismereteink a D-vitamin funkciójáról.

Régóta tudjuk, hogy a D-vitamin valójában nem vitamin. A vitaminok olyan szerves anyagok, amik csak kis mennyiségben szükségesek, de nélkülözhetetlenek az emberi szervezet számára, előállításukra a szervezet nem képes, ezért a táplálékkal kell bevinni ezeket. Funkciójuk jellemzően kofaktor, antioxidáns, esetleg regulátor.

A D-vitamin valóban nélkülözhetetlen az emberi szervezet számára, ugyanakkor előanyagából a bőrben UV-B sugárzás hatására képződik, metabolizmusa a szervezetben szigorúan szabályozott. Funkcióját tekintve egy prohormon, melyből az aktív D-hormon keletkezik. Történelmi okokból mégis D-vitaminként említi az irodalom.

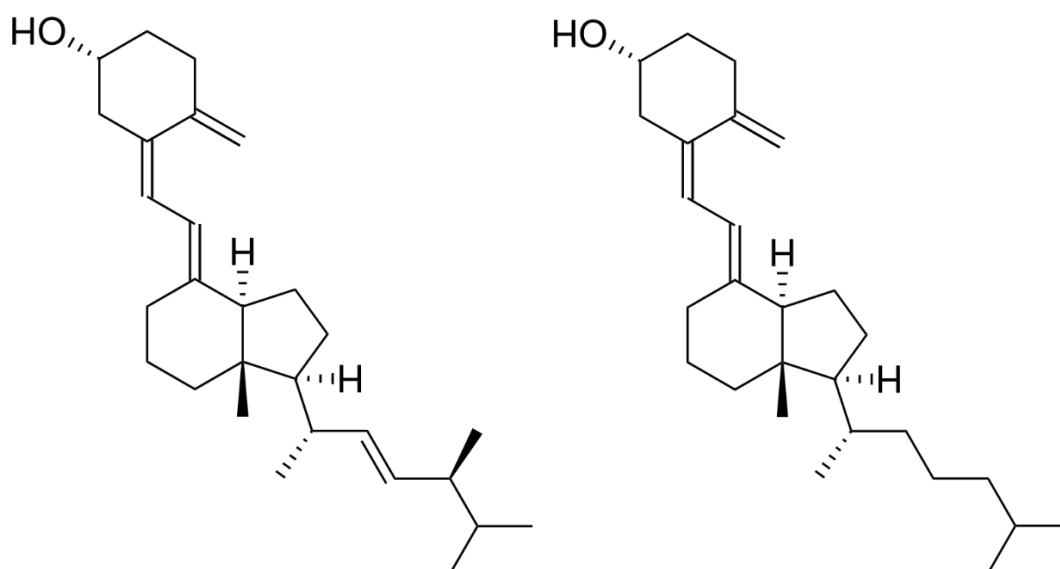
1.2. D-vitamin metabolizmus

A D-vitamin már közel 1 milliárd éve jelen van a Földön [32]. Akkor az ósóceánban élő egysejtű zooplanktonokban volt megtalálható. Az alacsonyabb rendű élőlényekben nem tisztázott a pontos szerepe, de gerincesekben egyértelműen a kalcium felszívódás és anyagszere egyik legfontosabb szabályozója.

1.2.1. A D-vitamin szerkezete [33]

A D-vitaminnak alapvetően két formáját különböztetjük meg, ez a D₂-vitamin (ergokalciferol) és a D₃-vitamin (kolekalciferol). Létezik még a 22-dihidroergokalciferol (D₄-vitamin) és a sitokalciferol (D₅-vitamin), de ezek jelentősége csekély.

A D-vitaminok közös alapszerkezete egy olyan szteroid molekula, aminek az egyik gyűrűje felnyílt, ezt szekoszteroidnak hívjuk. A különböző D-vitaminok az oldalláncaikban különböznek: a D₂-vitamin az oldalláncában a 22. és 23. szénatomok között egy kettős-kötést és a 24. szénatomon egy metil-csoportot tartalmaz. Ezek a D₃-vitamin molekulában nincsenek jelen (1. ábra).



1. ábra: az ergokalciferol (bal) és a kolekalciferol (jobb) szerkezete.

1.2.2. D₃-vitamin fotoszintézis, fotobiológia

Emberben a nap UV-B fotonjai közül a 290-315 nm hullámhosszúak képesek a bőrsejtek citoplazmájában jelen lévő 7-dehidro-koleszterint (7-DHC, a koleszterin szintézis első lépése) fotolízis útján D₃-previtaminná alakítani [34]. A termodinamikailag instabil D₃-previtamin egy kettős kötés újra rendeződésével spontán átalakul D₃-vitaminná a sejtmembránban. A nyitott, rugalmas szerkezetű molekula szinte kilövell a membránból

a szövetközi térbe, ahol a D-vitamin-kötő fehérjéhez (DBP) kapcsolódik, és ezzel együtt lép a keringésbe a dermális kapillárisokon át [35].

Bár a D₃-vitamin napfény hatására keletkezik, önmagában a napsugárzástól sosem alakul ki D-vitamin intoxikáció. Ennek oka, hogy a keletkező D₃-previtamin nem csak D₃-vitaminná izomerizálódhat, hanem további UV-B fotonok elnyelése révén biológiailag inaktív lumisterol és tachysterol keletkezik belőle. A bőrben található 7-DHC-nek csak a 15%-ából keletkezik previtamin-D₃. Ha a bőrt további UV-B sugárzás éri, már csak inaktív metabolituk (lumisterol és tachysterol) keletkeznek [36].

Ezen felül maga a D₃-vitamin sem feltétlenül lép be a keringésbe, hanem UV-B elnyelése révén suprasterol I, suprasterol II és 5,6-transz-D₃-vitamin is keletkezhet belőle. A fotokémiai reakciókat csökkenti a bőr melanin pigment tartalma [34].

A napsugárzás hatékonysága nem minden évszakban egyenlő. Ez a napsugarak eltérő beesési szögével magyarázható. Leírták, hogy a Magyarországtól kissé délre lévő Bostonban novembertől márciusig nem történik a bőrben D₃-vitamin szintézis, míg a kissé északabbra fekvő kanadai Edmontonban ez az időszak október közepétől április közepéig tart. A napszak is befolyásolja a keletkező D₃-vitamin mennyiségét: Bostonban nyáron 7:00-17:00 óra között regisztráltak D₃-vitamin képződést, míg tavasszal és ősszel ez az időszak 9:00-tól 16:00 óráig tartott [34, 37].

Egy átlagos felnőtt fürdőruhában napozva a minimális erythemás dózissal (minimális, enyhe bőrpír alakul ki) annyi D₃-vitamint termel, mintha 10.000-20.000 NE-t vett volna be. Napozás után kb. 24-48 órával a legmagasabb a szérumban D₃-vitamin szint. A 25(OH)D₃ szint egy egyszeri behatás után viszont csak 7-14 nappal tetőzik. A szint emelkedése 1-4 minimális erythema dózis tartományban lineáris [34, 38].

A pigmentáltabb bőrben a melanin UV-B sugarakat elnyelő képessége miatt kevesebb D₃-vitamin keletkezik (egy afro-amerikainak 5-10-szer hosszabb idejű napsugárzásra van szüksége ugyanannyi D₃-vitamin előállításához, mint egy kaukázusi személynek). Ugyanezen mechanizmussal a fényvédő krémek is csökkentik a D₃-vitamin szintézist [39]. Már 8-as faktorszámú naptejzel való kezelés után sem tudtak mérhető szérumban D-vitamin szint emelkedést detektálni napozás hatására. Fényvédelem nélkül 10-20-szoros emelkedést találtak. A bőrfelületet takaró ruházat ugyancsak izolálja a bőrfelületet az UV-

B sugaraktól [40]. Az üveg és a poli(metil-metakrilát) (plexi) UV-B elnyelése is 100%, így az ezek mögött tartózkodó személyekben sem keletkezik D₃-vitamin [41].

Ezeken felül még az életkor is befolyásolja a keletkező D₃-vitamin mennyiségét: az életkorral csökken a dermis 7-DHC mennyisége, azaz a fotoszintézis előanyaga, így idősebbekben kevesebb D₃-vitamin keletkezik [34, 41].

1.2.3. D₃-vitamin aktivációja

A prehormon D₃-vitaminból első lépésben 25-hidroxilálással keletkezik a 25(OH)D₃-vitamin, ami a fő keringő forma. Ennek szérumban szintje a D-vitamin ellátottságot jellemző biomarker. Következő lépésben az 1 α -hidroxiláció történik meg, kialakítva így a D-hormont, azaz az 1 α ,25(OH)₂D₃-vitamint.

A 25-hidroxiláció helye a máj. Emberben elsősorban a CYP2R1 citokróm enzim végzi, melyet D₃-vitamin-25-hidroxiláz enzimnek is neveznek. Képes mind a D₂-, mind a D₃-vitamin 25 hidroxilálására[42]. A CYP2R1-en kívül még 25-hidroxiláz aktivitással bír a CYP27A1, CYP3A4 és a CYP2D25 is, de ezek biológiai jelentősége kérdéses[43-47].

A CYP2R1 egy mikroszomális elhelyezkedésű enzim, egy elektron transzportlánc tagja, így működéséhez NADPH-CYP-reduktáz enzimre is szükség van. A D-vitamin hidroxilációjában szerepet játszó citokróm enzimek általában kb. 500 aminosavból állnak, 50-55 kDa méretűek, és szerkezetük konzervált, ez jellemző a CYP2R1-re is. Az enzim biológiai jelentőségét mutatja az is, hogy bizonyos mutációi felelősek a D-vitamindependens rachitisért. Ugyanakkor CYP2R1 knock-out egerekben bár szövettanilag kimutatható volt a rachitis, az egerek klinikai megjelenése nem volt rachitises, és volt mérhető 25(OH)D₃-vitamin a szérumban [48]. Ez alapján a szerzők arra következtettek, hogy a más enzimek is végeznek 25-hidroxilációt.

A CYP27A1 volt az első D-vitamin-25-hidroxiláz enzim, ami azonosítottak [49]. Erről azonban kiderült, hogy affinitása a D₃-vitaminhoz alacsony, és inkább C27 szteroidok metabolizmusában van szerepe. CYP27A1 knock-out egerekben nem figyeltek meg csontelváltozásokat, 25(OH)D₃-szintjük pedig normál volt[50]. Emberben a CYP27A1 mutációja cerebrotendinosus xanthomatosis kialakulásához vezet[51]. A betegsége jellemző, hogy az enzimhiba miatt a koleszterinből nem képződik kenodezoxikolsav,

emiatt oxiszterolok és kolesztanol halmozódnak fel a szövetekben, így az idegsejtekben is, ami a jellemző neurológiai tünetek kialakulásáért felel.

A CYP27A1 biológiai jelentőségét inkább az adja, hogy egyes osteoporosis kezelésére adott $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ -vitamin analóg gyógyszerek 25-hidroxilását végzi, kialakítva a biológiailag hatékony $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -vitamin analógot.

Az 1α -hidroxilációt végző CYP27B1 mitokondriális lokalizációjú, így két elektron transzport protein is szükséges a megfelelő funkcióhoz: ferredoxin-reduktáz enzim és ferredoxin[52]. A CYP27B1 szerkezete minden szövetben egyforma, 507 aminosavból áll és kb. 55kDa tömegű. Az enzim egyforma aktivitással tudja hidroxilálni a D_2 - és a D_3 -vitamint is. A CYP27B1 funkcióvesztésével járó mutáció okozza a D-vitamin-rezisztens rachitis I-es típusát (VDDR I.) [53, 54].

Ezt a betegséget hypocalcaemia, hypophosphataemia, másodlagos hyperparathyreosis és csökkent csont ásványianyag tartalom jellemzi. Fiziológiás adagú $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -vitaminnal (D-hormonnal) gyógyítható. CYP27B1 knock-out egerekben a fenti csontelváltozásokon kívül még csökkent CD4 és CD8 lymphocytá arányt, infertilitást és bőrfejlődési rendellenességet is leírtak [55].

Ellentétben a 25-hidroxilálással, aminek helye a máj, az 1α -hidroxiláció esetében nincs ilyen meghatározottság, gyakorlatilag minden szövetünk rendelkezik CYP27B1 enzimmel [56]. Szövetspecifikusnak csak az tekinthető, hogy a kalcium-anyagcsere szempontjából szükséges D-hormon képzés a vesében történik [57], szabályozója a parathormon, a fibroblaszt növekedési faktor 23 (FGF23), illetve a szérum kalcium és foszfát szintje [58]. Az enzim végterméke, az aktív D-hormon pedig a VDR-hez kötődve kapcsolódik a CYP27B1 promoter régiójához és csökkenti a gén átíródását. Az expresszióját a DNS metilációja is csökkenti, a demetiláció pedig fokozza [59, 60]. VDR knock-out egerekben jelentősen emelkedett parathormon szintet, és kifejezetten magas CYP27B1 expressziót figyeltek meg. Magas kalcium- és foszfát bevitel mellett a PTH csökkent, viszont a CYP27B1 expresszió nem változott, viszont a D-hormon inaktíváló CYP24A1 enzim megjelent [61]. Ez arra utal, hogy az inaktíváló enzim expresszióját blokkolja a parathormon, a D-vitamin aktivációjának szabályozásában ugyanakkor a végső termék, az aktív D-hormon VDR-on közvetített hatása az elsődleges.

A többi szövet 1α -hidroxilációs aktivitása inkább parakrin, autokrin szabályozó szerepet tölt be. Az extrarenális szövetekben keletkező aktív D-hormon szerepét mutatja, hogy az ezekben mért $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ koncentráció magasabb, mint a klasszikus endokrin szerepet betöltő szövetekben. Az itt keletkező aktív D-hormon mennyiségének szabályozásában viszont citokinek, vesznek részt [62-64]. Jó példája ennek a sarcoidosis: a granulomatózus betegségben keletkező pro-inflammatorikus citokinek, elsősorban a γ -interferon stimulálja az extrarenális 1α -hidroxiláz aktivitást, ami a fokozott D-hormon termelődése révén hypercalcaemiához és hypercalciuriához vezet. A citokinek hatásának közvetítésében a Janus-kináz, MAP-kináz és $\text{NF}\kappa\text{B}$ (nukleáris faktor kappa B) útvonalak játszanak szerepet [62].

1.2.4. Az 1α -hidroxiláció szabályozása

A keringő D-hormon ($1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -vitamin) előállításáért alapvetően a vese felelős. Az itt történő 1α -hidroxiláció révén keletkező D-hormon fő szerepe a kalcium-anyagcsere szabályozása, illetve a csontrendszeri hatások kifejtése. A D-hormonnak ugyanakkor számos extraszkeletális hatása is ismert. Ezekért a lokálisan, autokrin/parakrin szabályozás keretében termelődő D-hormon a felelős. 1α -hidroxilációra a vesén kívül még számos szövetünk képes [65]:

- placenta
- immunsejtek
- epidermis
- vastagbél
- mellékpajzsmirigy
- csont
- endothel
- emlő
- prostata
- petefészek
- here
- agy
- izom
- pancreas szigetsejtek
- pajzsmirigy
- mellékvese velő
- szőrszálak folliculusai

A renális és extrarenális 1α -hidroxiláció szerepe és így szabályozása is eltér. A vesében először a proximális kanyarulat csatorna tubulus sejtjeiben figyeltek meg $25(\text{OH})\text{D}_3$ -vitamin- 1α -hidroxiláz aktivitást [66]. Később RNS és protein kimutatásán alapuló

vizsgálatokkal igazolták, hogy az enzim megtalálható a disztális kanyarultós csatornában, a kortikális- és medulláris gyűjtőcsatornában, a Henle-kacs vastag felszálló szárában és a papilla epitheliumában is [67]. A kalcium-anyagcsere érzékelés, szabályozása így a vese teljes funkcionális területén jelen van. Ugyanígy szinte minden vesesejtben megtalálható a D-vitamin-receptor és az inaktiváló enzim, a 24-hidroxiáz is (lásd a következő alfejezetet).

A keringő D-hormon legnagyobb mennyisége a proximális kanyarultós csatornából származik. Itt a legnagyobb még a kalcium és a foszfát reabszorpciója is. Ennek szabályozása is itt történik, egyrészt a parathormon, másrészt a D-hormon által.

A filtrátumban található, 25(OH)D₃-vitamint kötő D-vitamin-kötőfehérje (DBP) a proximális tubulusban található, multiligand receptorként funkcionáló megalinhoz kötődik. Ezután a DBP a D-vitaminnal együtt endocytosissal jut be a tubulus sejtbe, ahol a 25(OH)D₃-vitamin D-hormonná metabolizálódik [68]. Megalin knock-out egerek nem képesek erre, és a rachitisnek megfelelő csonteltérések alakulnak ki esetükben [69].

Alacsony szérumszint esetén az emelkedő parathormon a proximális tubulusban a ciklikus adenzin-monofoszfát (cAMP) emelkedését, a protein-kináz A (PKA) foszforilációját okozza. Ez a CYP27B1 gén promóter régiójában a CREB (cAMP responsive element) aktiválása révén fokozza az 1 α -hidroxiláz mennyiségét, és így a szérumszintje emelkedik [70]. Negatív feedback révén az D-hormon csökkenti a PTH termelődését és emeli az FGF23 szintet. A VDR a retinoid X receptorral (RXR) heterodimert képez. Ezek együttesen a vesében a D-hormont inaktiváló enzim aktivitását fogják növelni [71]. Az FGF23 az fibroblast növekedési faktor-receptor és a Klotho receptor komplexének segítségével szupprimálja a CYP27B1 átíródását, és így a D-hormon termelődését. FGF23 knock-out egerekben magasabb a D-hormon szint és a vesében a CYP27B1 mRNS szintjeit is nagyobbak találták [71]. Emberben, tumor indukálta osteomaláciában (FGF23 termelő tumor fennállásakor) a CYP27B1 szupprimálódik, a D-hormon szint kifejezetten alacsony.

A pajzsmirigy hormonok is befolyásolják a CYP27B1 expresszióját: hyperthyreosisban a D-hormon szintje alacsonyabb a csökkent 1 α -hidroxiláz aktivitás miatt. A thyroid hormone responsive element (TRE) a CYP27B1 gén előtt 50-20 bázispárral található, átfedésben a sterol-regulátorral (SRE) és a TATA boxszal. A T₃ kötődése esetén az α - és

a $\beta 1$ pajzsmirigyhormon receptor heterodimert képez a retinoid X receptor (RXR) α -val. Ez a komplex akadályozza az SRE-kötő fehérje bekötődését, és így indirekt módon gátolja a CYP27B1 átíródását [72].

Extrarenális 1α -hidroxiláz aktivitás és szabályozás

Az extrarenális 1α -hidroxiláz aktivitást először sarcoidosisban figyelték meg [73]. Leírták, hogy ezekben a betegekben 25(OH)D₃-vitamin adásakor a szérumban a kalcium szint megemelkedik [74]. Sarcoidosisban szenvedő betegeknél azt is észlelték, hogy szérumban a kalcium szintjük tavasztól nyár végéig emelkedik, szemben az egészségesek állandó kalcium szintjével [75]. Megfigyelték, hogy a sarcoidosisban kialakuló hypercalcaemia, illetve fokozott intestinalis kalcium felszívás és fokozott csontbontás a D-vitamin-intoxikációval megegyező képet mutat [76]. A betegek PTH szintje ugyanakkor szupprimált, foszfát szintjük relatíve magasabb. Ez ellentmondott annak a korábbi megfigyelésnek, hogy az 1α -hidroxiláció a PTH szabályozása alatt állna. Megfigyelték azt is, hogy sarcoidosisban a szérumban a D-hormon szintje szubsztrátfüggő, már kismértékű szérumban 25(OH)D₃-vitamin-szint emelkedés is emeli a D-hormon szintjét. Egészségesekben ez az összefüggés nem figyelhető meg. Ezen felül leírták azt is, hogy a sarcoidosisban kialakuló hypercalcaemia hatékonyan csökkenthető glükokortikoid kezeléssel [76].

Végül a sarcoidosisban (és egyéb granulomatosus megbetegedésekben és lymphomákban) kialakuló hypercalcaemia okát a macrophagok fokozott 1α -hidroxiláz aktivitásával tudták magyarázni. A macrophagok az 1α -hidroxilációt ugyanúgy a CYP27B1 gén által kódolt enzimmel végzik, mint a vese sejtei, az enzim ugyanúgy a mitokondriumokban helyezkednek el. A vesével ellentétben a macrophagokban működő 1α -hidroxiláz enzim nem áll a parathormon [77] és a szérumban a foszfát szint [78] szabályozása alatt. In vitro kimutatták, hogy perifériás monocytákhoz FGF23-at adva csökken a CYP27B1 expressziója [79]. Ennek in vivo szerepéről még nincs adat.

A glükokortikoidok hatékonyságát már korai klinikai vizsgálatok igazolták. Hatásukat elsősorban a macrophagok apoptosisának indukciójával magyarázzák. Újabb eredményekben azonban beszámoltak arról is, hogy in vitro a glükokortikoidok direkt gátlást is kifejtettek az 1α -hidroxilázra [80].

Macrophagokban nem írtak le megalin expressziót, így 25(OH)D₃-vitamin ellátottságuk a szabad-hormon hipotézis alapján, a keringő igen alacsony szabad D-vitamintól függ [81], szemben a vese tubulussejtjeivel, ahová a megalinon keresztül a DBP-hez kötött D-vitamin is felvételre kerül.

A CYP24A1 inaktiváló enzim (ld. a következő alfejezetet) ugyancsak a vesétől eltérő módon van jelen a macrophagokban. Itt egy alternatív splicinggal létrejövő forma található meg, amiből hiányzik az az elem, ami a mitokondriális transzport lánchoz köti. Emiatt az enzim a citoplazmában helyezkedik el. Itt nem tud direkt módon versengeni az 1 α -hidroxilázzal a szubsztátért (mert az a mitokondriumban helyezkedik el), de meg tudja kötni a 25(OH)D₃-vitamint, így csökkentve a mitokondriumba jutó mennyiséget [82].

Az immunsejtekben, így a macrophagokban az 1 α -hidroxiláz aktivitást tehát nem a klasszikus feed-back útvonalak szabályozzák, ebben elsődleges szerepe a citokineknek van. Az egyik elsőként leírt és kiemelt fontosságú útvonal a Toll-like receptor 2 (TLR2) aktiválásával indul [83]. Sarcoidosisban a macrophagok 1 α -hidroxiláz aktivitását a legnagyobb mértékben az interferon- γ (IFN γ) serkenti [80]. Ezen kívül még több citokin is növeli az enzim aktivitását: az IL-15 [84] és IL-32 [85], melyek a veleszületett immunitás bakteriális infekcióra bekövetkező aktiválódásakor keletkeznek. Az IFN β az IL-10 aktivitásán keresztül csökkenteni tudja a CYP27B1 expressziót [86].

A CYP27B1 promoter régiójában AP-1 (activator protein-1) és NF- κ B (nuclear factor-kappa B) kötőhely is található [60, 87]. Az IFN γ a JAK/STAT (Janus-kinase/signal transducers and activators of transcription) útvonalon keresztül itt fejti ki a hatását [88]. Ugyanezen a foszforilációs kaszkádon keresztül fokozhatja a CYP27B1 expressziót az IL-2 és az IL-6 [89].

A fentiek mellett még a foszfolipáz A2 útvonalon keletkező endogén arachidonsav molekulák, a lipo-oxigenázzal keletkező leukotriének (leukotrién C4) is képesek a CYP27B1 termelésének fokozására, és így a D-hormon mennyiségének növelésére [90]. A bakteriális lipo-poliszacharid (LPS) membrán-receptor komplexen, toll-like-receptor-4-en és a patogén-felismerő receptoron keresztül növeli a CYP27B1 aktivitását. A gyulladási válasz során termelődő nitrogén-monoxid (NO) előállításáért az indukálható nitrogén-monoxid-szintáz (iNOS) felelős. Az iNOS és a CYP27B1 expresszióját indukáló

faktorok között jelentős az átfedés, így a két folyamat szorosan kapcsolódik. Részt vesznek egymás szabályozásában is: a NO alternatív elektron donorként működhet, helyettesítve a NADPH-t az 1α -hidroxiláció során [91]. Ugyanakkor a NO az oxigén kompetitoraként a hem-központ működését is gátolhatja, ez pedig csökkentheti a D-hormon mennyiségét [92].

1.2.5. D-vitaminok inaktivációja

Az aktív D-hormon inaktivációjáért elsősorban a CYP24A1 enzim felel, klasszikus negatív feed-back révén. Az enzim alapvetően a secosteroid alifás oldalláncát módosítja. A CYP24A1 a mitokondriumok belső membránjában helyezkedik el, adrenodoxin és adrenodoxin-reduktáz szükséges a NADPH-ból származó elektron transzporthoz [80].

Az enzim két fő szubsztrátja a $25(\text{OH})\text{D}_3$ -vitamin és a D-hormon. Mindkét molekula 24-hidroxiláció révén kerül inaktiválásra, bár az enzim képes 23-hidroxilációra is [93]. A C24-oxidációs folyamat első lépése a 24. szénatomon történő hidroxilálás, amit négy további enzimatiszta átalakulás követ, végső terméke a calcitroic sav. Ez végül az epével választódik ki [94]. A C24-oxidációs inaktiváló útvonalat számos szövetben kimutatták, így a vesén és csonton kívül még a bélben, bőrben és az emlőben is [95-97].

Az enzim képes a C23-oxidációs folyamatok révén is inaktiválni a D-hormont és a $25(\text{OH})\text{D}_3$ -vitamint. A C23- és a C24-útvonal jelen van számos fajban, de eltérő, hogy melyik a jelentősebb. Emberekben a C24-oxidáció a jellemző, de a másik útvonal metabolitjai is kimutathatók [93]. A végtermék a $25(\text{OH})\text{D}_3$ -vitamin esetén $25(\text{OH})\text{D}-26,23$ -lakton, míg a D-hormon esetében $1,25(\text{OH})_2\text{D}-26,23$ -lakton. Ez utóbbi a D-vitamin-receptoron antagonistá hatást fejthet ki [98].

A CYP24A1 enzim élettani szerepe megvédeni a szervezetet a D-hipervitaminózistól. CYP24A1 knock-out egerek fele elpusztult három hetes életkor előtt [99]. Oka a súlyos hypercalcaemia és nephrocalcinosis volt.

Emberben ritka, genetikailag determinált hypercalcaemia oka lehet a CYP24A1 funkcióvesztéssel járó mutációja [100]. Ilyen esetekben általában gyermekkorban jellemző súlyosabb hypercalcaemia, míg felnőttkorban normocalcaemia észlelhető, időszakos hypercalcaemiás epizódokkal [101]. Több esetet is leírtak, amikor a

várandósság provokálta a hypercalcaemiát [102]. Az időszakos normocalcaemia okaként azt feltételezik, hogy a hypercalcaemia miatt az CYP2R1 aktivitása csökken, kevesebb aktív D-hormon képződik. A várandósság alatt a magzat megfelelő D-hormon ellátottságát biztosítandó ez a reguláció (fiziológiás körülmények között is) kikapcsol. A placentáris eredetű nagy mennyiségű aktív D-hormont a csökkent működésű CYP24A1 nem tudja lebontani, így kialakul a hypercalcaemia.

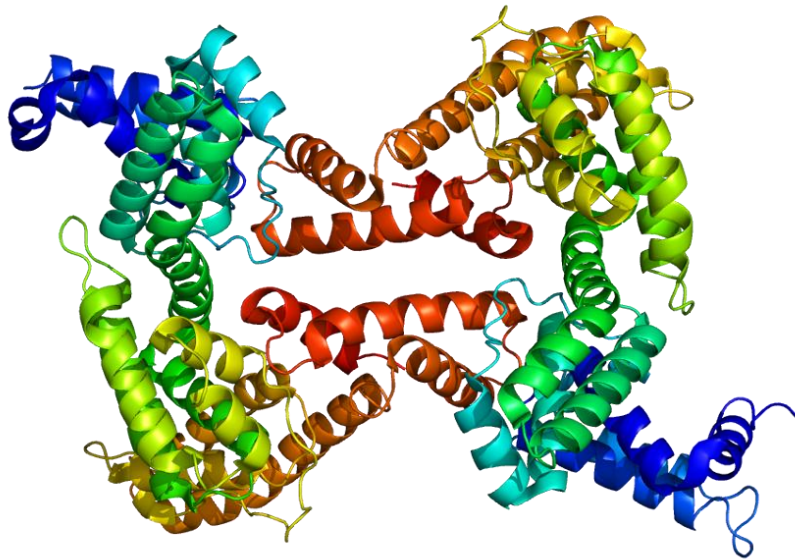
A CYP24A1 működésének elsődleges szabályozója tehát a D-hormon szint. Emellett krónikus vesebeteggekben tett megfigyelések alapján megállapították, hogy az FGF23 (amellett, hogy csökkenti a CYP27B1 aktivitását), növeli a CYP24A1 mRNS mennyiségét, és így végül az enzimaktivitást. Ez a kóros CYP24A1 aktivitásnövekedés szerepet játszik a krónikus vesebetegségben megfigyelhető szekunder hyperparathyreosis kialakulásában, és így a renalis osteodystrophia megjelenésében. Emellett a magas étrendi foszfátbevitel (egészségesekben is) növeli az FGF23 termelését, ami így a 24-hidroxiláció fokozása révén D-vitamin-hiányhoz is vezethet [103].

1.2.6. D-vitamin-kötő fehérje

Először 1959-ben írták le a fehérje jelenlétét, akkor még „group-specific component of serum (GC)” néven [104]. 1975-ben Daiger és munkatársai közölték, hogy a fehérje D-vitamint köt [105]. Szerkezetében egyéb fehérjékkel rokon, így az albuminnal és az α -foetoproteinnel (AFP) is mutat hasonlóságot [65]. A D-vitamin-kötő fehérje (DBP) több élettani funkciót is betölt: a D-vitamin és metabolitjainak transzportja mellett zsírsavakat is köt, és globularis (G-) aktin szekvesztrálására képes. Ez utóbbi révén a nagyobb szövetkárosodással járó sérülések következményei [106] ellen véd. Szerepet játszik a gyulladás és immunológiai folyamatok szabályozásában is. Érdekesség, hogy eddig csupán két olyan esetet írtak le, amikor genetikai eltérés miatt a DBP teljesen hiányzik. Meglepő módon ez nem járt jelentős fenotípusos eltéréssel, kalcium-anyagcsere zavarral [107].

A DBP-t kódoló gén a 4-es kromoszóma hosszú karján található [108], közel az albumin és az AFP génjéhez [109]. A géncsalád legősibb tagja a DBP. A gén átíródása során egy 1690 nukleinsavból álló mRNS keletkezik, ami egy 458 aminosavból álló fehérjét kódol [110]. A szérumban található, érett DBP egy polimorf, monomer szerkezetű, α -globulin

frakcióba tartozó, kb. 58 kDa méretű molekula. A fehérje 3 domainje α -hélixekből épül fel [111] (2. ábra).



2. ábra: A D-vitamin-kötő fehérje szerkezete. Forrás: <https://en.wikipedia.org> (módosítás nélkül). Készítette: Emw. CC BY-SA 3.0

A DBP az 1-6 hélixeken köti meg a 25(OH)D₃-vitamint. Ezen helyen elsősorban hydrophob elemek találhatóak, ami segíti a szintén hydrophob 25(OH)D₃ kötését. A kötés erősségét hidrogénkötések is fokozzák: a 32. Tyr aminosav a 25-OH csoporttal, a 76. Ser és a 107. Met aminosav a 3-OH csoporttal alkot kötést. A D-hormon kötése lényegében ugyanígy történik, a hidrogénhidak kialakítására is képes, de az 1-OH csoport a 107. Met aminosavával szemben sztérikus akadályt képez. Ez magyarázhatja a kisebb affinitást a D-hormonhoz [112].

A D-vitamin-kötő fehérjének több polimorfizmusa is ismert, melyek elektroforézis során elkülönülő szerkezetet adnak. Eredetileg két, autoszomális kodomináns öröklődésű eltérést (Gc1 és Gc2) írtak le. Izoelektromos fókuszálással a Gc1-et gyors és lassú (Gc1F és Gc1S) altípusokra tudták osztani, mely így hat féle fenotípust eredményezhet. A három gyakori allélon kívül több mint 120 ritka variánst is közöltek az irodalomban [113]. Ezek előfordulása földrajzi helyekhez is köthető, így a DBP variánsok vizsgálatával antropológiai kutatások is folynak.

A három fő izotípus (Gc1F, Gc1S, Gc2) 25(OH)D₃-vitamin és D-hormon affinitása különbözik. Egyes adatok szerint a Gc1S és Gc2 között a 25(OH)D₃ kötési képességben a különbség kétszeres is lehet [114]. Más kutatócsoportok ugyanakkor nem találtak különbséget a kötőképességben [115].

A DBP szintézisének helye a máj. A fehérje féléletideje néhány nap. Kiválasztása a vesén keresztül történik. A proximális tubulusban a D-vitamint kötő DBP a megalinhoz, mint egy receptorhoz kötődik és endocytosisal internalizálódik. Szérum koncentrációja μmol -os nagyságrendű, férfiakban kissé magasabb [116].

A DBP fő funkciója a D-vitamin transzportja (hasonlóan az egyéb szteroid hormonokat szállító fehérjékhez (pl. kortizol-kötő globulin, sex-hormon-kötő-globulin). A DBP a keringő D-vitamin több mint 80%-át köti meg, a fennmaradó frakció nagy része albuminhoz és lipoproteinekhez kötődik. Legnagyobb affinitással a 25(OH)D-laktonokat köti, ezt követik a 25(OH)D-vitaminok és bomlástermékeik (24,25- és 25,26-(OH)₂-dihidroxi-D-vitamin). A leggyengébben (tized-század akkora affinitással) a D-hormon kötődik a fehérjéhez. A D₂-vitamin metabolitok affinitása is elmarad a D₃-vitamin származékoktól [112].

Biológiailag a szabadon keringő D-hormon aktív. Ez azonban nem csak a szérumban statikusan mérhető szabad hormon szintet jelenti. A perfúzió során a szabad D-hormon belép a sejtbe, de eközben a koncentráció fenntartása érdekében, az equilibriumnak megfelelően újabb szabad hormon molekula válik le a kötőfehérjéről. Az így felszabaduló hormonmolekulák száma függ a perfúziós időtől, de mindenképp több, mint a statikusan mérhető szabad hormon mennyisége [117].

A D-vitamin-kötő fehérje szérumszintjét általában immun-alapú módszerekkel mérjük. Kereskedelmi forgalomban poliklonális antitesteken alapuló ELISA kitek érhetőek el, melyek automatizálhatók is. Ezek minden gyakori DBP izoformát megkötnék [118].

1.3. D-vitamin farmakológia és toxikológia

Ahogy a bevezetésben már tárgyaltuk, a D-vitamin valójában nem is vitamin, hanem egy prohormon, amiből a szteroid hormon, az 1,25(OH)₂D₃-vitamin (D-hormon) keletkezik. D-vitamin alatt több molekulát is értünk:

- ergokalciferol (D₂-vitamin) – főként növényekben és gombákban található;

- kolekalciferol (D₃-vitamin) – emberben szintetizálódik, néhány növényben is előfordulhat;
- 22-dihidroergokalciferol (D₄-vitamin) – elsősorban gombákban található meg.

A D-vitamin fontos forrása a bőrben történő szintézis, de emellett egyes élelmiszerekkel is bejuthat a szervezetbe. Gyógyszerként is alkalmazzuk a D-vitamin-hiány kezelésére és megelőzésére (főként a kolekalciferolt). Emiatt fontos a D-vitamin farmakológiai- és toxikológiai tulajdonságainak ismerete.

1.3.1. A D-vitamin felszívódása

Az élelmiszerekkel kevés D-vitamin kerül a szervezetbe, Magyarországon egy átlagos személy 80 NE körüli mennyiséget visz be csak naponta [119]. A D-vitamin felszívódásával kapcsolatos ismereteink elsősorban a gyógyszerkészítmények vizsgálataiból származnak.

A tápcsatornából a D-vitaminok a többi zsírolékony anyaghoz hasonlóan szívódnak fel: a D-vitamin bejut az enterocyták citoplazmájába, majd onnan a nyirokrendszerbe, ahol a chylomicronba kerül. Az enterocytákba történő felvételt az SR-BI koleszterin transzporter (Scavenger Receptor Class B Type 1), a CD36 és a NPC1L1 (Niemann-Pick C1-Like 1) végzi. A D-vitamin felszívódásához epesavakra is szükség van, így zsírtartalmú ételekkel együtt fogyasztva ezeket jobb abszorpció érhető el. A D-vitamin felszívódása alapvetően koncentrációfüggő, lineáris az átlagos beviteli értékek mellett. Az életkor nem befolyásolja a D-vitamin felszívódását [120].

A 25(OH)D₃-vitamin ezzel szemben elsősorban a portális keringésbe kerül, így felszívódása kevésbé függ az epesavak mennyiségétől [121, 122]. Az éhomi bevitelhez képest a felszívódása 16%-kal jobb alacsony, és 32%-kal magas zsírtartalmú étkezéssel bevéve [123, 124]. Valószínűleg a koleszterin-transzportek szerepe is kisebb, randomizált vizsgálatban nem találtak különbséget az egyszeri per os adott 50.000NE kolekalciferolt követően mért szérumban 25(OH)D₃ szintekben ezetimibet (NPC1L1-inhibitor) szedő és nem szedő egészségesek között [125]. Érdekes, hogy a D₂-vitamin esetében nem írták le, hogy a felszívódást befolyásolná az egyéb táplálék zsírtartalma.

Nagyobb adagú, bolus D₃-vitamin kezelés felszívódását is vizsgálták: ellentmondásos eredményeket közöltek. Az egyik vizsgálatban 50.000 NE kolekalciferolt adtak kapszulában alacsony vagy magas zsírtartalmú étellel, D-vitamin-hiányos egyéneknek. A szérumban 25(OH)D₃-vitamin szint emelkedésben 13,2±8,1 vs. 21,5±6,8 nmol/l emelkedést figyeltek meg, a zsírosabb étkezés javára. További zsír hozzáadása már különbséget nem eredményezett [124]. Más vizsgálatok ugyanakkor nem találtak összefüggést az étkezés zsírtartalma és későbbi szérumban 25(OH)D₃ szintek között, akár tablettában, akár olajos oldatban kapták a vizsgálati készítményt.

1.3.2. D-vitamin szöveti eloszlása

A tápcsatornából felszívódó D-vitamin a chylomicronba [126] kerül, majd a keringésben nagy része áthelyeződik a D-vitamin kötő fehérjére [127]. A chylomicronon maradó frakció a májba kerül, ahol 25-hidroxiláció esik át. A szöveti eloszlásra vonatkozóan csak kevés adat van az irodalomban. A D-vitamin a zsírban akkumulálódik, a zsírszövetben mérhető mennyiség szorosan függ a plazma D-vitamin szinttől [128]. Ezzel szemben a 25(OH)D₃ szintekkel már nincs ilyen összefüggés. Ugyanolyan adagú kolekalciferol hatására túlsúlyosokban kisebb mértékű a szérumban 25(OH)D₃ emelkedés mértéke: ennek oka valószínűleg inkább a nagyobb testtömegben mérhető nagyobb eloszlás, és nem a 25(OH)D₃ zsírszöveti akkumulációja [129].

Az izomszövet is képes 25(OH)D₃ felvételére és tárolására. A DBP az izomsejtekben található aktinhoz kötődik, emiatt felszabadul a korábban kötött 25(OH)D₃ molekula. Állatkísérletekben az izomszövet 25(OH)D₃ tartalma kevesebb volt a zsírszövetnél. Emberben az izomszövet 25(OH)D₃ tartalmát a szérumban lévő 2-4-szeresére teszik [128].

1.3.3. Farmakológiai D-vitamin metabolizmus

A korábbi alfejezetekben részletesen tárgyaltam a D-vitamin metabolizmusában részt vevő aktiváló és inaktiváló enzimeket. A gyógyszerként bevitt D-vitaminok metabolizmusáért ugyanezen enzimek felelősek: a CYP2R1 a májban végzi a 25-hidroxilációt, a CYP27B1 a vesében az 1 α -hidroxilációt, a CYP24A1 pedig az inaktivációt (24-hidroxilálás) [130].

D-vitamin kezelést követően a felszívott molekulák először a májban esnek át a 25-hidroxiláción. Amennyiben nagymennyiségű szubsztrát van jelen, úgy a 23-as és 26-os szénatomokon is bekövetkezhet hidroxiláció, ami inaktív metabolitokhoz vezet, ezzel is védve a szervezetet a túladagolástól [130].

Az aktiváló és az inaktiváló enzimek aktivitását, egyensúlyát befolyásolja a bevitt D-vitamin mennyisége. Tartósan alacsonyabb D-vitamin bevitel esetén a CYP2R1 aktivitása relatíve nagyobb, míg a CYP24A1 aktivitása kisebb lesz [131]. Magasabb dózisu D-vitamin bevitel indukálja a 24-hidroxiláz enzimet [132]. Az 1 α -hidroxiláció hosszabb időn át képes fenntartani a megfelelő D-hormon ellátottságot (a kalcium anyagcsere szempontjából), 10-12,5 nmol/l-es szérumban 25OHD₃ szint alatt kezd el csökkenni a szérumban D-hormon szintje [133].

1.3.4. Egyes D-vitamin származékok farmakokinetikája

Az orális bevitelt követő biohasznosulás egyénenként is jelentős változékonyságot mutat. A felszívódást az emésztőrendszeri környezet (pH, mikrobiom, nyálkahártya integritás) mellett befolyásolja a kiindulási szérumban 25OHD₃ szint, az életkor és az alkalmazott készítmény formulája is. A felszívódás mértéke így az irodalmi adatok alapján 55-99% között változik [134, 135].

A különböző D-vitamin metabolitok féléletideje jelentősen eltér, és számos tényező, betegség is befolyásolja. A legrövidebb féléletideje az aktív D-hormonnak van, ez 5-80 óra lehet [136]. A D-vitamin esetében az érték 0,5-5 nap [137-139], a 24,25(OH)₂-D-vitaminé 6-34 nap [140, 141], míg a leghosszabb a 25(OH)D₃-vitamin esetében mérhető, ez 10-40 nap közötti [139, 142-144].

Az egyes metabolitok DBP-hez való affinitása is eltér, ez szerepet játszhat az eltérő farmakokinetikai tulajdonságokban [145]. DBP knock-out egerekben minden D-vitamin metabolit féléletideje lényegesen alacsonyabb [146]. A 25(OH)D₂ féléletideje rövidebb a 25(OH)D₃-nál, ennek oka is az eltérő DBP affinitásban keresendő. Az eliminációt ráadásul nem csak a DBP szintje, hanem a genotípusa is befolyásolni tudja [147].

Ezek az adatok alapvetően a szérumban a szérumból történő eliminációra vonatkoznak. A szérumban szint változását részben magyarázza csak az inaktiváció. A másik tényező a szövetekbe történő felvétel, eloszlás. Ugyanakkor a szöveti raktárakból

(zsírszövet, izomszövet) fel is szabadulhat D-vitamin, ami a szérumban felezési időt elnyújthatja [148]. Megfigyelték, hogy tartós D-vitamin pótlás felfüggesztése után kb. 1,5-2,5 hónappal csökken a szérumban 25(OH)D₃ szintje a felére [149], és kb. 1-3 hónappal egy nagyadagú per os kezelés után [150]. Tengeralattjárók szövetében 1,5-4,5 hónap közötti szöveti felezési időket is közöltek [151].

A D-vitamin felezési idejét csökkentik a felszívódási zavarok, májbetegségek [152]. A vesebetegek közül főként a proteinuriások (DBP vesztés) esetében figyeltek meg változásokat [153]. Egyes csontanyagcsere zavarokban (pl. D-vitamin rezisztens rachitisben) megnőhet a D₃-vitamin féléletideje, a csökkent felhasználás miatt [154]. Osteoporosisban nem találtak különbséget az egészséges populációhoz képest [155].

1.3.5. D-vitamin-metabolitok szöveti eloszlása

Zsírszövet: a D-vitamin jelentős része zsírban tárolódik, a zsírszövet 25(OH)D₃-koncentrációja a szérumban 70–238 %-a lehet. Elhízás esetén alacsonyabb szérumban 25(OH)D₃ szint mérhető. Ez részben a zsírtömeg okozta hígulással, részben a tényleges zsírban történő raktározással magyarázható [156, 157]. Elhízásban a 25(OH)D₃ szöveti/szérumban aránya alacsony (8–16 %), míg a 24,25(OH)₂ D-vitamin esetében magas (66–68 %) [158].

Máj: Állatkísérletekben, ahol minimalizált napsugárzás mellett napi 200–2400NE D-vitamint pótolnak, a máj D-vitamin-szintje a szérumban 8–60 %-át éri el, és dózisfüggően nő. A máj 25(OH)D₃-szintje kevésbé függ a bevitt mennyiségtől, azt elsősorban a 25-hidroxiláz enzim működése határozza meg [159, 160].

Vese: a vese a 25(OH)D₃ aktivációjának (1- α -hidroxiláció) fő helye (CYP27B1). Megalin/cubilin receptorok révén a 25(OH)D₃-DBP komplex aktív reabszorpciója zajlik a proximális tubulusban [161]. Állatkísérletes adatok szerint a vese szövetében 25(OH)D₃-szintje kb. 20 % szérumban képest [159]. Az itt zajló aktivációnak megfelelően a vese 1,25(OH)₂ D₃-szintje a legmagasabb a szervezetben [162].

Tüdő: VDR, CYP27B1 és CYP24A1 széles körben expresszálódik a légutakban. Egérmodellekben még alacsony per os D-vitamin bevitel (50–500 NE/kg takarmány) mellett is kimutatható a tüdőben 1,25(OH)₂D₃-vitamin, a tüdő/szérumban arány ~0,24 [163]. Nebulizációval a tüdőkoncentráció tovább növelhető, de 30–37 pg/g körül platót ér el, a 24-hidroxiláció növekedése révén [164].

Agy: kevés humán adat áll rendelkezésre: egy vizsgálatban 158–334 pg/g 25(OH)D₃ koncentrációt találtak [165]. 1,25(OH)₂D₃-vitamin két frontális régióban volt kimutatható (30–35 pg/g), ami magas 1,25/25 D-vitamin arányra utal, és felveti az aktív forma szelektív vér-agy-gáton keresztüli transzportját [166].

1.3.6. Elimináció, exkréció

A D-vitamin és metabolitjainak lebontását, inaktiválását alapvetően a CYP24A1 végzi (részletesen ld. az inaktiváló enzimről szóló alfejezetet). Az enzim gyakorlatilag minden sejtben megtalálható. A D-hormont calcitric savvá bontja. Ebből, és a 25(OH)D₃-vitaminokból pedig laktonok is keletkezhetnek. A calcitric sav az epével és a vizelettel ürül [93]. A CYP24A1 jelentőségét mutatja, hogy knock out egerekben a D-hormon félélet ideje 10-szeresre nő.

Emberben a laktonok csak D-hypervitaminosis esetén jelennek meg [167].

1.3.7. D-vitamin ellátottság megítélése

A farmakokinetikai tulajdonságok alapján a hosszútávú D-vitamin ellátottság megítélésére a szérumban 25(OH)D₃-vitamin (calcidiol) koncentrációjának mérése alkalmas [168]. A kereskedelmi forgalomban elérhető laboratórium módszerek a teljes 25(OH)D₃-vitamin mennyiségét mérik, azaz a D₂- és a D₃-vitamint is, és ezt tartjuk klinikai szempontból relevánsnak. Szintjét általában immun-assay-vel mérjük, melyek relatíve olcsók és automatizálhatóak. Az eredmények nemzetközi összehasonlíthatósága, standardizálása érdekében hozták létre 2010-ben a Vitamin D Standardization Programot (VDSP) [169]. Ennek részét képezi a DEQAS (Vitamin D External Quality Assessment Scheme), melyben több magyar laboratórium is részt vesz [170].

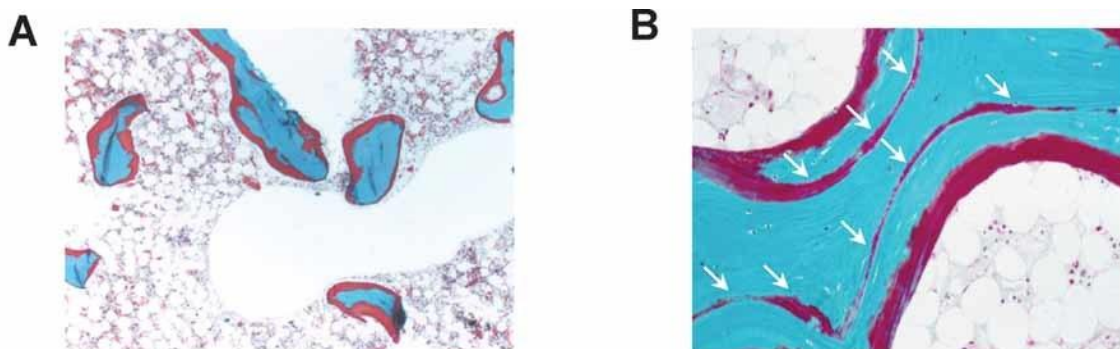
A szérumban 25(OH)D₃-vitamin szint megítélésében az irodalom nem teljesen egységes. A legtöbb intézmény és kutatócsoport egyetért abban, hogy a 25 nmol/l (10 ng/ml) alatti szérumban 25(OH)D₃ szint súlyos D-vitamin hiányt jelez [171]. Ennek tartós fennállásakor az osteomalácia klinikai megjelenésével kell számolni. Ugyancsak egységes az álláspont a tekintetben, hogy 250 nmol/l (100 ng/ml) feletti értékek esetén kell a D-vitamin toxikus hatásának kockázatával számolni (de nem jelent feltétlenül intoxikációt).

A csontanyagcsere szempontjából optimális szérumszintre vonatkozóan azonban két ajánlás is megjelenik a publikációkban: az 50 nmol/l-es (20 ng/ml) és a 75 nmol/l-es (30 ng/ml) határérték [172].

Az 50 nmol/l értéket támogatók azzal érvelnek, hogy sekunder hyperparathyreosis csak 50 nmol/l alatt alakul ki és 50 nmol/l feletti értéknél nem figyeltek meg klinikai osteomaláciát [173]. A kalcium intesztinális felszívódása csak 25-30 nmol/l alatti szérumszint 25(OH)D₃ szintek mellett kezd el csökkenni [174]. Ugyanakkor a magasabb szérumszint eléréséhez nagyobb adagú D-vitamin pótlás szükséges, ami véleményük szerint a hypercalciuria, így a nephrocalcinosis és a vesekő-képződés kockázatát fokozza.

A 75 nmol/l-t támogató közlemények közül kiemelkedik kettő: 2010-ben Priemel és mtsai. 675 egészséges csontanyagcseréjű, más okból elhunyt beteg csípőcsontját, annak mikroszerkezetét, és ezzel összefüggésben a 25(OH)D₃-vitamin szérumszintjét vizsgálta [172]. A közlemény egyedülálló volt abban, hogy olyan szövettani eljárást dolgoztak ki, amellyel dekalcinálatlan (azaz a szervesen átalakított állományt is tartalmazó) csontmetszeteket tudtak vizsgálni. A másik érdekes eredménye a vizsgálatnak az volt, hogy megállapították, hogy a szérumszint 25(OH)D₃-vitamin szint a halál után napokig stabil, így post-mortem mérése alkalmas a D-vitamin ellátottság megítélésére.

Vizsgálatukban azt találták, hogy D-vitamin-hiányban az osteoid szigetek a csontban túl mineralizálódnak, a szervesen átalakított állomány betemeti az osteoid szigeteket (3. ábra, késsel a szervesen átalakított állomány, pirossal az osteoid). A csontok 2% feletti osteoid tartalmát tartják kórosnak, ez a biopsziák több mint negyedében volt kimutatható. 20% feletti osteoid / csont felszín több mint az esetek harmadában állt fenn, ami szintén a mineralizációs zavar jelzője.



3. ábra: D-vitamin-hiányban bekövetkező csont mikroszerkezeti változások. Priemel M. et al. Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: Histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-hydroxyvitamin D in 675 patients. *J Bone Min Res.* 2010; 25:305-312. Figure 3. (eredeti ábra, a kiadó engedélyével).

A szérumban 25(OH)D₃-vitaminnal való összefüggést vizsgálva azt találták, hogy 75 nmol/l felett egy vizsgált személynél sem volt kimutatható mineralizációs zavar vagy kóros csontszerkezeti eltérés. Az 50-75 nmol/l közötti tartományban is voltak szabályos csontszerkezetű személyek, de néhányuknál már kimutatható volt a mineralizációs zavar. Seitz S. és mtsai 103 combnyaktörött beteg csípőízületi prothesis beültetés kapcsán eltávolított combfejét és 100 egészséges csontanyagcseréjű, más okból elhunyt személy combfejét vizsgálta. A 25(OH)D₃-szintje mellett mérték a PTH, ALP, Ca szinteket, BMD meghatározást végeztek és a combfejek mikroszerkezetét vizsgálták, morfológiai adatokat gyűjtöttek. A combnyaktöröttek D-vitamin-szintje alacsonyabb volt, és ennek megfelelően magasabb ALP és PTH értéket mértek. A törötteknél jelentősen gyakoribb volt a mineralizációs zavar (25,7% vs. 2%) és a trabeculák átlagos vastagsága is kisebb volt. A statisztikai erő befolyásolta, hogy a törött csoportban csak egy beteg szérumban 25(OH)D₃ szintje érte el a 75 nmol/l-t.

A fenti eredmények alapján a csontanyagcsere szempontjából a 75 nmol/l feletti szérumban 25(OH)D₃-szint tartható optimálisnak.

1.3.8. A D-vitamin ellátottságot befolyásoló környezeti tényezők

Földrajzi szélesség és évszakok

A napfény UV-B komponense létfontosságú a D-vitamin bőrben történő szintéziséhez. Magasabb földrajzi szélességeken azonban a napsugarak beesési szöge laposabb, ami

őszől tavaszig jelentősen csökkenti az UV-B intenzitását. Különösen $\sim 50^\circ$ északi szélesség felett októbertől márciusig gyakorlatilag nincs effektív D-vitamin termelődés a bőrben [175]. Ennek következtében a szérum 25(OH)D₃ szintje erős évszaki ingadozást mutat: nyár végén a legmagasabb, míg a tél végére kimerülnek a raktárak. Világviszonylatban mintegy 1,7-szer gyakoribb a D-vitamin-hiány a téli-tavaszi időszakban, mint nyáron-ősszel [176]. Európában is jellemző ez a minta: a tél végére sokaknál a szérum 25(OH)D₃ szintje az optimális alá csökken, ezért az ajánlások általában javasolják a téli pótlást a hiány megelőzésére [176].

Ez alapján azt várnánk, hogy a magasabb földrajzi szélességen élők körében rosszabb a D-vitamin-ellátottság, a legújabb összehasonlító európai vizsgálatok azonban ennél összetettebb képet mutatnak. Egy 81 ezer fős, hat országra kiterjedő elemzésben például északi országok (Svédország, Finnország) lakosainak medián 25(OH)D₃-szintje magasabb volt, mint a délebbre fekvő országoké (pl. Olaszország, Spanyolország) [175]. Konkrétan Svédország (65°N) vezette a rangsort, míg Spanyolország (41°N) a legalacsonyabb értékeket mutatta. Ezt a fordított földrajzi gradienst feltehetően az észak-európai populációk évtrendi szokásai és az elterjedtebb D-vitamin-pótlás magyarázza: több D-vitaminban gazdag halat fogyasztanak, illetve hatékonyabb élelmiszer-dúsítási programok és gyakoribb vitaminkészítmény-használat jellemző. Ez jól mutatja, hogy a földrajzi fekvés miatti napfényellátottság csak egy a tényezők közül – a D-vitamin státuszra a többi környezeti és életmódbeli faktor is nagy hatást gyakorol.

UV-sugárzás intenzitása

Nemcsak a földrajzi hely, de a napsugárzás intenzitása (UV-index) is kulcsfontosságú. Csak a megfelelő energiájú UV-B (kb. 290–315 nm) képes a bőrben a D-vitamin előanyagának képződését elindítani. Az UV-B intenzitása a nap magasságával arányos: déli órákban a legerősebb, míg kora reggel vagy késő délután gyenge, ezért ezekben az időszakokban alig képződik D-vitamin. Sőt, bizonyos feltételek mellett – például, ha az UV-index ~ 3 alatt van – gyakorlatilag elhanyagolható a szintézis. Nyáron, erős napsütés mellett már napi 5–15 perc direkt napsugárzás (fedetlen arcon és karokon) elegendő lehet a D-vitamin szükséglet fedezéséhez. A leégés elkerülése mellett, mértékkel kell a napon tartózkodni a D-vitamin szintézis érdekében. A földrajzi szélesség, évszak, napszak és

időjárás együttesen határozza meg az UV-sugárzás intenzitását, ami elsődlegesen meghatározza, mennyi D-vitamin képződhet a bőrben [176].

Légszennyezettség

A légkör szennyezettsége, különösen a szmog és a magas aeroszolkoncentráció, csökkenti a földfelszínre eljutó UV-B sugárzás mennyiségét. A városi, ipari légszennyező anyagok – pl. szálló por (PM_{10} , $PM_{2.5}$) és nitrogén-oxidok – mintegy „szűrőként” viselkednek az atmoszférában, visszaverve vagy elnyelve az UV sugárzás egy részét [177]. Epidemiológiai kutatások igazolták, hogy a szennyezettebb levegőjű régiók lakóinak alacsonyabb a D-vitamin-szintje. Egy 448 ezer fős európai kohorszban kimutatták, hogy $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ -rel magasabb $PM_{2.5}$ szállópor-koncentráció átlagosan $\sim 9 \text{ nmol}/\text{L}$ -rel alacsonyabb szérumban $25(\text{OH})\text{D}_3$ -szinttel járt együtt [178]. Hasonló negatív összefüggést találtak a PM_{10} és NO_2 szintekkel is (bár kisebb mértékben). Erősen szmogos városokban élőknel tehát még nyáron is korlátozottabb lehet a D-vitamin termelés, mint tiszta levegőjű területeken. Emiatt a légszennyezettség csökkentése nem csak légzőszervi és kardiovaszkuláris okokból fontos, hanem hozzájárulhat a lakosság D-vitamin státuszának javításához is.

Kültéri tevékenységek

A modern életmód jelentősen befolyásolja, mennyi napfény ér minket. Aki több időt tölt a szabadban, általában magasabb $25(\text{OH})\text{D}_3$ -szinttel rendelkezik, míg a tartósan zárt térben tartózkodók nagyobb kockázatúak a hiányra. Napjainkban azonban sok ember dolgozik irodában vagy egyéb beltéri munkahelyen, és a szabadidőt is gyakran bent tölti. Ezek a szokások a napfényexpozíció csökkenéséhez vezetnek [179]. Már gyermekkorban is megfigyelhető, hogy a kevesebb szabadidős játékidő alacsonyabb D-vitamin szinttel társul. Felnőtteknél pedig a rendszeres szabadidős sport vagy séta védő hatású: egyes vizsgálatok szerint nyáron az aktívan napon töltött napi 1–2 óra idő jelentősen növeli a $25(\text{OH})\text{D}_3$ koncentrációt, és ~ 10 – 16% -kal csökkenti a D-vitamin-hiány előfordulását a kevésbé napozókhoz képest [180]. Ugyanakkor a városi életforma – például a háztól autóig, onnan munkahelyre való közlekedés, majd este vissza, hétvégén pedig beltéri tevékenységek – még napfényes klímán is D-vitamin-hiányhoz vezethet. Megfigyelték például, hogy a Közel-Keleten, bár bőséges a napsütés, a lakosság D-vitamin-ellátottsága rossz, részben a légkondicionált beltéri élet és kevés szabadban tartózkodás miatt [176].

Öltözködési szokások

A ruházat meghatározza, hogy a testfelület mekkora részét éri napfény. Minél jobban fedett a bőr, annál kevesebb D-vitamin képződik. Még napos környezetben is előfordulhat súlyos D-vitamin hiány, ha a ruházat miatt az UV-sugarak nem érik el a bőrt. Ennek példája a Közel-Kelet egyes országaiban tapasztalt helyzet: ott bőséges napsütés mellett is extrém magas a D-vitamin-hiány gyakorisága, elsősorban a konzervatív öltözködési normák miatt. A hagyományos fátyol vagy teljes testet fedő öltözet (pl. burka, nikáb, hidzsáb kiegészítve hosszú ruházattal) minimalizálja a bőr UV-expozícióját, így az érintett nők körében a D-vitamin ellátottság nagyon alacsony [176]. Egy felmérés szerint azoknál a nőknél, akik napi szinten hidzsábot viseltek (csak az arcukat és kezüket hagyva szabadon), a napsütésben töltött idő hossza nem mutatott érdemi kapcsolatot a 25(OH)D₃ szinttel, és D-vitamin pótlás hiányában még tartós napozás mellett is súlyos hiány (<30 nmol/L) állt fenn [180]. Európában a legtöbb kaukázusi populáció ruházata nyáron több bőrfelületet szabadon hagy, ami elősegíti a D-vitamin képződést. Télen viszont a hideg miatt mindenki vastag ruházatot visel, ami hozzájárul D-vitamin-hiány kialakulásához. A napfény hiánya mellett a fedett bőr miatt is alig képződik D-vitamin. Bizonyos kisebbségi vagy vallási csoportok (pl. konzervatív vallási közösségek) tagjai, akik egész évben fedett ruházatot viselnek, Európában is kiemelten érintettek a D-vitamin-hiányban.

Táplálkozási tényezők

Mivel a napsugárzás szezonális és földrajzi korlátokba ütközhet, az étrendi D-vitamin-bevitel fontos szerepet tölt be a státusz fenntartásában. Ugyanakkor a természetes élelmiszerek viszonylag kevés D-vitamint tartalmaznak. Jelentősebb forrásoknak főként a zsíros halak (makréla, lazac, hering stb.), a halmáj olajok (pl. csukamájolaj) és kisebb mértékben a tojássárgája és egyes gombák tekinthető [170]. Például 100 g nyers lazac 240NE D-vitamint tartalmaz, a makréla ~320NE-t, míg a tojás ~40-80-NE körüli mennyiséget. Az európai lakosság átlagos étrendi D-vitamin-bevitele azonban többnyire alacsony – jellemzően napi néhány mikrogramm –, ami önmagában gyakran nem elegendő az optimális szérumszint (≥ 75 nmol/L) eléréséhez. Magyarországon az átlagos étrendi bevétel napi 83NE [181]. Különösen télen, amikor a bőrben nem termelődik D-vitamin, az étrend és a pótlás jelentik az egyetlen forrást. Ilyenkor a D-vitaminban gazdag

ételek tudatos fogyasztása mellett a dúsított (vagy fortifikált) élelmiszerek bevonása az étrendbe kiemelten fontos. Magyarországon ilyen jellegű dúsítás nincs, de a világon számos példát láthatunk erre. Finnországban 2003-tól bevezették a tejtermékek és margarinok kötelező D-vitaminnal dúsítását, melyet a lakosság széleskörűen fogyaszt. Ennek hatására az országban 2000 és 2011 között az átlagos szérum 25(OH)D₃ szint 48 nmol/L-ről 65 nmol/L-re emelkedett [182] – vagyis jelentősen javult a D-vitamin ellátottság. Hasonló fortifikációs programok és a D-vitamin pótlás (pl. napi 400-800 NE D₃-vitamin tablettá formájában) alkalmazása más országokban is hatékony stratégiának bizonyult a populációs D-vitamin-hiány visszaszorítására. Összességében a kiegyensúlyozott étrend (halak, tojás, dúsított élelmiszerek fogyasztása) és szükség esetén kiegészítők használata létfontosságú különösen a napfényben szegény időszakokban a megfelelő 25(OH)D₃-szint fenntartásához.

Szocio-ökonómiai státusz

A D-vitamin-hiány kockázatát a szocio-ökonómiai státusz is befolyásolja, összefüggésben az előző tényezőkkel. Nagy populációs vizsgálatok szerint világszerte az alacsonyabb jövedelmű országokban és csoportokban gyakoribb a D-vitamin-hiány, míg a magasabb jövedelműeknél ritkább [176]. Ennek több oka lehet. Egyrészt a fejlettebb, tehetősebb országokban jobb az általános táplálkozási állapot, és elterjedtebb a D-vitaminnal dúsított élelmiszerek fogyasztása, illetve a lakosság nagyobb aránya engedheti meg magának az étrend-kiegészítők vásárlását. Például az Amerikai régióban (USA és Kanada) – ahol magas az életszínvonal, és régóta dúsítják a tejet, gabonát D-vitaminnal [183]– a lakosság csupán ~5%-a szenved súlyos D-vitamin-hiányban [184], szemben a közel-keleti (kevesebb erőforrással bíró) régió 14-50%-os arányával [185]. Másrészt a magasabb státuszú egyének általában egészségtudatosabb életmódot folytathatnak: több időt töltenek szabadidős tevékenységekkel (sport, kirándulás) napfényen, és napos éghajlatú helyekre is gyakrabban utazhatnak (pl. téli nyaralás), ami javítja D-vitamin szintjüket. Ezzel szemben az alacsonyabb jövedelmű csoportokban gyakoribb lehet a zárt térben végzett munka (pl. gyárak, épületen belüli fizikai munka), a hosszú műszakok miatti kevés napfény, valamint a kevésbé változatos étrend. Mindezek hozzájárulhatnak a D-vitamin-hiány magasabb kockázatához ebben a populációban [176]. Fontos társadalmi tényező az oktatás is: a képzetesebb, egészségügyi ismeretekkel jobban rendelkező emberek nagyobb eséllyel ismerik fel a D-vitamin jelentőségét és

gondoskodnak pótlásáról. Összességében a társadalmi-gazdasági státusz egy olyan összetett tényező, amely a napfény-expozícióban, táplálkozásban és egészségmagatartásban megmutatkozó különbségek révén hat a D-vitamin ellátottságra [186].

Fényvédő szerek használata

A bőrrák megelőzése érdekében széles körben ajánlott a fényvédő krémek (naptejek) használata, azonban ezek alkalmazása csökkenti a bőr UV-B expozícióját, így gátolja a D-vitamin képződését. Egy laboratóriumi méréseken alapuló becslés szerint egy magas faktorszámú (SPF 30) naptej megfelelő mennyiségben alkalmazva a bőrre az UV-B sugarak ~95–98%-át blokkolja. Átlagos használati szokások mellett a naptejek minimálisan befolyásolják a D-vitamin-státuszt [187]. Több áttekintő tanulmány sem talált szignifikáns különbséget a 25(OH)D₃ szintben a fényvédőt rutinszerűen használók és nem használók között. Ennek magyarázata, hogy a fényvédők nem nyújtanak teljes fedést: az emberek jellemzően kevesebb krémet visznek fel, nem minden testfelületre, és nem is alkalmazzák újra az előírt gyakorisággal. Így még naptej használata mellett is jut elegendő UV-B a bőrre valamennyi D-vitamin termeléséhez. Másrészt a felvitel után 15-30 perc kell a fényvédő hatás kialakulásához, és amíg ez felépül, már elégséges lehet a D-vitamin szintézishez. Egy vizsgálatban nyaralókat osztottak csoportokra: az egyik csoport egyáltalán nem ment napra, a többi csoport tagjai pedig erős UV-sugárzású helyen (Tenerifén) nyaraltak, különböző fényvédő-használati utasításokkal. Minden nyaraló csoportban – még akik szabályosan, magas faktorszámú naptejjel védték is magukat – jelentősen emelkedett a szérum 25(OH)D₃ szint a vakáció végére [187]. A legnagyobb D-vitamin növekedést a kontrollálatlanul napozó (de le is égett) csoport érte el, de a fényvédős csoportok is hasonló mértékű emelkedést tapasztaltak. A gyakorlati ajánlásokban ezért az szerepel, hogy rövid ideig tartó, kora délelőtti vagy késő délutáni (alacsony UV-index melletti) napsugárzás érheti a bőrt védelem nélkül is, de erős napsütésben (UV-index 3 felett) már ajánlott a fényvédő használata – ez az óvintézkedés a D-vitamin szintet lényegesen nem rontja, viszont életmentő lehet a bőrdaganatok megelőzése révén.

1.3.9. D-vitamin pótlás

Magyarországon a teljes lakosság D-vitamin pótlásra szorul az októbertől márciusig tartó időszakban. Ennek oka, hogy ekkor a napsugarak beesési szöge olyan alacsony, hogy a természetes UV-B sugárzás nem képes a bőrben a D-vitamin szintézist beindítani [119]. Másik forrás lehetne a táplálék, de a természetben csak néhány élelmiszer gazdag D-vitaminban, és ezekből is igen nagy mennyiséget kellene fogyasztani a megfelelő D-vitamin ellátottság eléréséhez. Magyarországon a legutóbbi felmérés szerint a napi átlagos D-vitamin bevitel 80IU körül van [181], ez a szükséges mennyiség csupán 2-3%-a.

A növényekben és gombákban a D₂-vitamin (ergokalciferol) található meg. A növények közül a *Solanaceae* család tagjai (burgonya, paradicsom) tartalmaz relatíve több D-vitamint [188]. Érdekesség, hogy egyes növényfajokban igen magas, toxikus mennyiségű D-vitamin metabolit is jelen lehet. Ilyen a *Solanum glaucophyllum*, mely Brazíliában őshonos. Megfigyelték, hogy ha kérődzők elfogyasztják, D-vitamin intoxicationnak megfelelő tüneteket mutatnak (hypercalcaemia, nephrocalcinosis). Ennek oka, hogy kb. 1,0 µg/g (40 NE/g) 25(OH)D₃-vitamin mellett 0,1 µg/g 1,25(OH)₂D₃-at is tartalmaz. Szintén D-hormont mutattak ki a Nyugat-Indiában őshonos nappal virágzó jázmin (*Cestrum diurnum* – 1 µg/g) és az Argentína észak-nyugati területein és Bolíviában őshonos dohányfa (*Nicotiana glauca* – 0,3-1 µg/g) leveleiben is [189].

Az állati eredetű D₃-vitamint (kolekalciferol) használjuk általában D-vitamin pótlásra és kezelésre. Ennek oka, hogy ugyanolyan adagú D₃-vitamin mellett magasabb szérumszint alakul ki, és az hosszabban fennmarad, mint D₂-vitamin adása esetén [190, 191].

Minden gerinces állat élettani működéséhez szükséges D-vitamin, így az állati eredetű élelmiszerek (húsok, tejtermékek, tojás) mindig tartalmaznak valamennyit. Ennek mennyisége függ az állat étrendjétől, tartási körülményeitől, és széles tartományban változhat, ez lehetőséget ad fortifikált élelmiszerek előállítására. A természetes előfordulást tekintve a legtöbb D-vitamint a tengeri halak, elsősorban a lazac tartalmaz. A legnagyobb koncentrációt a halak májában és húzában mutatták ki [192].

Magyarországon októbertől márciusig mindenki számára javasolt D-vitamin pótlása, azaz a hiány megelőzésére alkalmazott D-vitamin. A Magyarországi Konszenzusajánlás értelmében felnőtteknek napi 2.000NE kolekalciferol javasolt ebben az időszakban [119]. A molekula hosszú félélet idejére figyelemmel a javasolt dózis napi, heti vagy havi adagolásban is bevihető. Randomizált vizsgálatban igazolták, hogy azon a nagyobb dózisok alkalmazása, mely nem haladja meg egy napra vonatkoztatva a javasolt dózist, biztonságosan alkalmazható (pl. kéthetente 30.000NE vagy havonta 60.000NE) [119, 193].

Az Amerikai Egyesült Államokban az élelmiszereket széles körben fortifikálják D-vitaminnal (gombákat UV-B sugárzással kezelik; UV-B sugárzással kezelt élesztőt használnak a pékáruk elkészítéséhez; állati takarmányok D₃-vitaminnal dúsítottak), emiatt az amerikai ajánlások rutinszerű gyógyszeres pótlást nem javasolnak [194].

1.3.10. D-vitamin kezelés

D-vitamin kezelés alatt a D-vitamin-hiányos beteg hiányállapotának megszüntetését értjük. Ez tehát egy betegség, aminek a kezelése orvosi feladat, szemben az előbb tárgyalt D-vitamin pótlással, ami a hiány megelőzését célzó népegészségügyi kérdés.

Elégtelen a D-vitamin ellátottság a 20-30 ng/ml közötti szérumban 25(OH)D₃-vitamin szint esetén. Hiányról 20 ng/ml, súlyos hiányról 10 ng/ml alatt beszélhetünk [119].

A hiány kezelésében hatékonyak a pótlásra alkalmazott adagok is, de ebben az esetben a szérumszint jóval lassabban normalizálódik. Akut helyzetekben (pl. kistraumás csonttörés, heveny fertőzés – COVID-19 betegség) esetén a szérumszint gyors rendezése lehet kívánatos [195, 196]. Emiatt célszerű lehet kezdetben nagyobb, ún. feltöltő adagok alkalmazása, melyet később fenntartó adagolás követhet.

Az adagolásnál figyelembe kell venni a kezelés előtti szérumban 25(OH)D₃ szintet, a beteg testtömegét, az esetleges felszívódási zavarokat.

Egy meta-analízis [197] eredménye alapján 47 nmol/l (18,8 ng/ml) átlagos kiindulási szérumban 25(OH)D₃ szint mellett napi 100NE D₃-vitamin a szérumban szintet 1,77 nmol/l-rel emelte meg. Jól megfigyelhető volt az is, hogy az alacsonyabb kiindulási szintű egyéneknél nagyobb mértékű emelkedés következett be ugyanakkora dózisok mellett.

50-60 ng/ml szérumban 25(OH)D₃ szintnél plató alakul ki, érdemi további emelkedés az inaktiváló metabolikus folyamatoknak köszönhetően már nincsen.

Ilyen mértékű emelkedés a kisebb egyszeri adagok mellett volt észlelhető. Azt is megfigyelték, hogy 60 éves életkor alatt nagyobb mértékű emelkedést okozott a D-vitamin kezelés, mint az idősebb korosztályban. A nemek között nem figyeltek meg különbséget.

Napi 1000NE adásakor ~4,8 ng/ml/1000NE szérumban szint növekedés mérhető, míg nagyobb adagoknál, 15.000NE felett ez már 0,44 ng/ml/1000NE-re csökken.

D-vitamin pótlásra elérhető a kalcifediol (25-hidroxi-kolekalciferol), amely már 25-hidroxilált forma, a felszívódás után a májban történő további metabolizmusra így már nincs szükség. Ennek a pótlásra történő felhasználásáról még kevesebb az adat, de az egyértelműen igazolt, hogy gyorsabban emeli meg a szérumban 25(OH)D₃ szintet, mint a D₂- vagy a D₃-vitamin [198].

1.3.11. D-vitamin toxikológia

A D-vitamin-túladagolás ellen az emberi szervezet számos védő mechanizmussal rendelkezik. Az első a bőrben történő D-vitamin-szintézis szabályozása: 75-100 nmol/l-es szérumban szintig az UV-B sugárzás dózissal lineárisan függ össze a keletkező D-vitamin mennyiségével, efelett a görbe ellapul. Kb. 215 nmol/l szérumban koncentráció felett már egyáltalán nem termelődik D-vitamin a bőrben, függetlenül a beérkező UV-B dózistól [199].

A DBP köti meg a keringő D-vitamin metabolitok jelentős részét, így a biológiailag aktív frakció is szabályozott. A DBP túltelítése nem lehetséges, kötő kapacitása kb. 1000×-es az átlagos D-vitamin szinteknek, így ez is véd a túladagolás ellen.

A D-vitamin-metabolitokat inaktiváló 24-hidroxiláz enzim kapacitása igen jelentős, több szervben is megtalálható. Az enzim működését indukálja mind a D-hormon, mind a 25(OH)-kolekalciferol. Az enzimnek mind a két előbbi molekula és a kolekalciferol is a szubsztrátja. Elégtelen inaktivációval összefüggő D-hypervitaminosist csak az enzim öröklött mutációi esetében írtak le [200].

Állatkísérletek során végeztek szándékos D-vitamin túladagolást [201, 202]. A plazmában ennek hatására megnöttek a $25(\text{OH})\text{D}_3$; $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; $25,26(\text{OH})_2\text{D}_3$; $25(\text{OH})\text{D}_3$ -26-23-lakton szintek, ugyanakkor az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nem minden esetben emelkedett meg. Ezek alapján azt feltételezték, hogy a D-vitamin intoxikáció klinikai tüneteiernt nem a D-hormon emelkedett szintje, hanem az egyéb metabolitok lehetnek a felelősek. A másik lehetőség, hogy az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ emelkedés csak olyan rövid, átmeneti ideig volt megfigyelhető, amilyen időablakban nem történt mérés, de elegendő volt a hypercalcaemia kialakításához.

Humán túladagolási adatok érthető etikai okokból csak véletlenszerű, illetve ipari balesetekhez köthető esetekből állnak rendelkezésre [203]. Ezekben a szérumban $25(\text{OH})\text{D}_3$ szint általában 750 nmol/l feletti volt. Egy családban történt véletlen túladagolás kapcsán (D-vitaminnal fortifikált mogoró olaj, mely 2.000.000 NE kolekalciferolt tartalmazott) a betegek szérumban $25(\text{OH})\text{D}_3$ szintje 847-1652 nmol/l közötti volt, ugyanakkor a szérumban $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 11-ből 8 betegnél szabályos maradt.

Az intoxikációhoz valószínűleg az átmenetileg megemelkedő $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ szint, és ennek genomiális hatásai mellett egyéb tényezők is hozzájárulnak. A $\mu\text{mol/l}$ -es koncentrációt elérő $25(\text{OH})\text{D}_3$ esetében már a DBP-hez nem kötött, szabad frakció is jelentős mennyiséget jelent, és ez bejut a sejtekbe, ahol bár affinitása kisebb a VDR-hez a $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -nál, de ilyen koncentrációban már képes az aktiválására.

Emellett a többféle D-vitamin metabolit magas koncentrációt elérve leszoríthatja a $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -t a DBP-ről, növelve a szabad frakció arányát, ami így szintén hozzájárul a hypercalcaemia kialakulásához.

A COVID-19 pandémia során széles körben elterjedt az az ismeret, hogy a megfelelő D-vitamin-ellátottság csökkenti a súlyos lefolyású COVID-19 betegség esélyét. Emiatt a lakosság széles körben kezdett el nagyobb adagú D3-vitamint szedni, sokszor hosszú távon, napi 10.000NE-t meghaladó mennyiségeket. Így bár korábban azt mondhattuk, hogy a D-vitamin túladagolás igen ritka, és a kereskedelmi forgalomban elérhető készítményekkel a kockázata elhanyagolható, az újabban elérhető nagy dózisos (vény nélkül is beszerezhető) készítmények mellett a hypercalcaemia differenciáldiagnosztikájánál mindenképp gondolnunk kell rá.

Összességében a 250 nmol/l alatti szérum 25(OH)D₃-szint biztonságosnak tartható. Napsugárzással D-vitamin túladagolás nem alakulhat ki. A tartósan bevitt biztonságos D₃-vitamin pótlás napi adagja 4.000NE. A 10.000NE-t elérő napi dózisok tartósan adva már bizonyosan okozhatnak hypercalciuriát, hypercalcaemiát [119].

1.4. A D-hormon funkciója az emberi szervezetben

1.4.1. A D-vitamin receptor

A D-hormon – vagyis a D-vitamin aktív hormonális formája, a kalcitriol (1,25-dihidroxi-D₃) – hatásait egy intracelluláris receptor, a D-vitamin receptor (VDR) közvetíti. A VDR a nukleáris hormonreceptorok szupercsaládjába tartozó fehérje, amely a genom működését befolyásolja [204]. A VDR génexpressziója szinte ubiquiter módon történik az emberi szervezetben: a klasszikus célszerveken (bél, vese, csont, mellékpajzsmirigy) túl megtalálható számos egyéb szövetben is, például a szívben, vázizomban, emlőben, vastagbélben, prosztatában, agyban, illetve az immunrendszer sejtjeiben [205]. Ez a széles körű szöveti expresszió magyarázza, hogy a D-hormon hatásai messze túlmutatnak a pusztán kalcium-anyagcserében betöltött szerepén.

Molekuláris felépítését tekintve a VDR egy ~427 aminosav hosszúságú fehérje, amely három fő domént tartalmaz. N-terminális része egy kettős cinkujj motívumot hordozó DNS-kötő domén (DBD), amely a célgének szabályozó szekvenciáihoz való kapcsolódást biztosítja. Ezt egy rugalmas „zsanér” (hinge) régió követi, majd a C-terminális irányban helyezkedik el a ligandkötő domén (LBD). A LBD 12 α -hélixből álló, dinamikus ligandkötő zsebet formál, amelybe a kalcitriol mint ligand illeszkedik. A ligand kötődése konformációváltozást eredményez a receptorban, melynek során legalább két fontos fehérjefelszín alakul ki a VDR molekulán. Az egyik felszín a retinoid X receptorral (RXR) való heterodimerizációhoz szükséges, a másik pedig a koaktivátor és korepresszor fehérjék kötődését teszi lehetővé. A VDR e két fehérjefelszínének kialakulása kulcsfontosságú a génszabályozó funkcióhoz: egyrészt a VDR–RXR heterodimer képzése elengedhetetlen a DNS specifikus szekvenciáihoz (az úgynevezett D-vitamin válaszelemekhez) való kötődéshez, másrészt a megfelelő kotranszkripciós komplexek toborzásához is [204, 206-208].

A VDR mint ligand-aktivált transzkripciós faktor a sejtmagban fejti ki hatását. Nyugalmi állapotban – ligand hiányában – is megtalálható a sejtmagban, gyakran RXR-rel heterodimerizált formában, de inaktív konfigurációban. Amikor azonban a keringésben lévő aktív D-hormon bejut a célsejtbe és a VDR LBD zsebébe kötődik, a receptor aktiválódik. A ligandkötött VDR egyrészt stabil heterodimert alkot az RXR-rel, másrészt leválik azokról a korepresszor fehérjékről, amelyek gátolt állapotban tartották. Helyükre koaktivátor komplexek kapcsolódnak, amelyek epigenetikai módosító és transzkripciós elemeket vonzanak a célgénhez. A VDR–RXR heterodimer ezt követően kötődik a DNS specifikus szakaszaihoz, amelyek a D-vitamin válaszelemek (vitamin D responsive elements, VDRE-k) [209]. A VDRE-k jellemzően ismétlődő hexamer szekvenciák (RGKTCA) direkt ismétlései, amelyeket 3 bázispár választ el (DR3 típusú elem) [210]. A VDRE-k általában a célgének promoterének közelében vagy távolabbi szabályozó régiókban helyezkednek el.

Összefoglalva, a VDR egy sokszínűen expresszált, nukleáris receptor, amely ligandja – az aktív D-hormon – hatására RXR heterodimert képez és specifikus DNS-szakaszokhoz kötődik. Ennek eredményeképpen olyan génexpressziós programokat indít el vagy éppen gátol, amelyek révén a D-hormon számos szervrendszer működését befolyásolja. A következő alfejezetben ismertetjük részletesebben, miként történik a VDR által közvetített genomiális szabályozás, beleértve a molekuláris mechanizmusokat és a sejtspecifikus különbségeket.

1.4.2. A D-hormon genomiális hatásai

A D-hormon genomiális hatásai alatt a VDR közvetítésével történő génexpressziós változásokat értjük, melyek a klasszikus, viszonylag lassú (órák alatt kifejlődő) hormonhatásokat jelentik. A ligandkötés után a VDR–RXR komplex a fenti módon a sejtmagban VDRE szekvenciákhoz kapcsolódik, és ezzel megindítja a célgének transzkripciójának módosítását. A génreguláció folyamata több lépésben valósul meg: a VDR közvetlenül a DNS-hez kötődve egy platformként szolgál további fehérjék toborzásához. Egyrészt koaktivátorokat vonzhat, amelyek között megtalálhatók a hiszton acetiltransferázok (HAT) és más kromatinmódosító enzimek, másrészt bizonyos gének esetében korepresszorok kapcsolódhatnak, amelyek gátolják a transzkripciót. A kalcitriol által aktivált VDR így alapvetően egy génszabályozó kapcsolóként működik: képes

növelni (transzaktiváció) vagy csökkenteni (transzrepresszió) a célgének kifejeződését a toborzott ko-regulátor komplexek függvényében [211].

A VDR-vezérelt génexpresszió mechanizmusának fontos elemei a már említett epigenetikai módosítások. A VDR/RXR heterodimer a célgén szabályozó régiójához kötődve gyakran kromatin átrendeződést indukál: például HAT enzimeket toboroz, amelyek acetilálják a hisztonfehérjéket, fellazítva ezzel a kromatin szerkezetét és elősegítve a génátírást [212]. Kísérletes adatok bizonyítják, hogy a VDR elsődleges epigenetikai hatásai közé tartozik a hisztonok acetilációjának fokozása, ami a génaktivitás növelésével jár együtt. A VDR-komplex emellett együttműködik hiszton metiltranszferázokkal (HMT) is, és bizonyos esetekben a géncsendesítő HDAC enzimek eltávolításában is szerepet játszik.

Fontos jellemzője a D-hormon genomiális hatásainak a sejtspecifikusság és a válaszió. Mivel a VDR gyakorlatilag minden szövetben jelen van, elviekben a D-hormon számos génre hatást gyakorolhat. A gyakorlatban azonban a hatás sejttípus-függő, amit részben az adott sejtek eltérő epigenetikai státusza magyaráz. A genom szekvenciájában található potenciális VDRE-k közül csak azok válnak funkcionálissá egy adott sejtben, amelyek nyitott kromatinszakaszon helyezkednek el. Kimutatták, hogy a VDR kötőhelyei túlnyomórészt az „open” kromatin régiókban találhatók, vagyis olyan DNS-szakaszokon, amelyek hozzáférhetőek a transzkripciós faktorok számára. D-hormon kezelés hatására ezen kötőhelyek több mint 30%-ában további kromatin-fellazulás figyelhető meg, ami azt jelenti, hogy a D-hormon nem csak kihasználja a nyitott kromatin adta lehetőségeket, de aktívan növeli is a hozzáférhetőséget bizonyos génszakaszokon [212]. Mindez magyarázatot ad arra, hogy a D-hormon eltérő sejttípusokban eltérő génkifejezési mintázatokat indukál: például az immunsejtekben más géneket aktivál, mint a csontsejtekben vagy a bélepithéliumban, hiszen a kiinduló kromatinszerkezet és a rendelkezésre álló koaktivátorok köre különböző.

A válaszió tekintetében a genomiális hatások lassabbak, mint a nem-genomiális (membránreceptor közvetítette) folyamatok. A nem-genomiális hatások – melyeket például a sejtmembránon feltételezett alternatív D-vitamin receptorok (pl. PDIA3/MARRS) közvetíthetnek – másodpercek vagy percek alatt végbemenő jelátviteli változások (ilyen például a gyors kalciumfluxus változás bizonyos sejtekben) [213]. A

doktori dolgozat fókuszában azonban elsősorban a genomiális, VDR-mediált hatások állnak, így a nem-genomiális mechanizmusokat csak érintőlegesen említjük.

Összességében a D-hormon genomiális hatásai egy komplex, többkomponensű mechanizmus eredményei. A VDR ligandkötése egy molekuláris kaszkádot indít el: a receptor heterodimerizációját, a VDRE-hez való kötődést, a koaktivátorok toborzását, a kromatin fellazítását és végül a célgének kifejeződésének változását. E folyamatok integrált módon, sejttípustól függően szabályozzák számos biológiai folyamat génhálózatát. A következő fejezetekben áttekintjük, hogy ezen genomiális mechanizmusok révén a D-hormon milyen fiziológiai hatásokat fejt ki a klasszikus (skeletalis) és az úgynevezett nem-klasszikus (extraskeletalis) célterületeken.

1.4.3. Skeletalis hatások, kalcium-anyagcsere

A D-hormont hagyományosan a kalcium- és foszfát-anyagcsere legfőbb endokrin szabályozójaként tartjuk számon. Klasszikus célszervei a bél, a vese, a csontok és a mellékpajzsmirigy, melyek összehangolt működése biztosítja a megfelelő csontmineralizációt és a kalcium homeosztázist. A kalcitriol e szervekben kifejtett hatásai összeadódva szolgálják a szérum kalcium-koncentráció normál tartományban tartását és a csontok egészségét.

Bélrendszer

A vékonybél enterocytáira hatva a D-hormon elsődleges feladata a táplálékból származó kalcium felszívódásának fokozása. A VDR jelentős mértékben expresszálódik a vékonybél minden szakaszában, és még a vastagbélben is [211]. A kalcitriol a bélhámsejtekben számos célgén aktivitását növeli, amelyek a kalcium transzcelluláris transzportjában vesznek részt. Ilyen gének például a TRPV6 (Ca^{2+} -csatorna az apikális membránban), a calbindin- D_{9k} nevű citoszolikus kalciumkötő fehérje, illetve a bazolaterális Ca^{2+} ATPáz (PMCA1b) pumpa. Ennek eredményeként a D-hormon elősegíti, hogy az étellel felvett kalcium a bél lumenéből átjusson a hámsejten és belépjen a keringésbe. Klinikai bizonyíték erre, hogy VDR knockout (és súlyos D-vitaminhiányos) állapotban a kalciumfelszívódás drasztikusan csökken, és ennek következményeként rachitisz (angolkór) alakul ki a csontok elégtelen ásványianyagtartalma miatt. Ha viszont ilyen állapotú kísérleti állatokat D-vitamin nélkül is magas

kalcium- és foszfáttartalmú diétán tartanak, a csontelváltozások megelőzhetők [214]. Ez azt jelzi, hogy a D-hormon legfontosabb skeletalis szerepe az adekvát kalcium- és foszfát-ellátottság biztosítása a csontképződéshez.

Vese

A vesében a kalcitriol hatása kettős: egyrészt részt vesz saját termelődésének és lebomlásának endokrin visszacsatolásában, másrészt közvetlenül befolyásolja a kalcium visszaszívást. Alacsony szérum kalciumszint esetén PTH szabadul fel, amely stimulálja a vese 1α -hidroxiláz (CYP27B1) enzimét, fokozva ezzel a kalcitriol képződését, és egyidejűleg gátolja a kalcitriolt inaktiváló 24-hidroxiláz (CYP24A1) enzimet [211]. A megemelkedett kalcitriol szint ezután negatív visszacsatolással hat a mellékpajzsmirigyre, gátolva a PTH termelést (valamint közvetlenül is csökkenti a CYP27B1 expressziót). Ha a bélből nem sikerül elegendő kalciumot felvenni, a kalcitriol a PTH-val szinergista módon a vesében is hat: növeli a kalcium-visszaszívást a distalis nefronban. A D-hormon a vesetubulusok TRPV5 csatornáinak expresszióját serkenti (a vese distalis tubulusában a kalcium apikális felvételét végzi), továbbá növeli a kalbindin- D_{28k} termelődését (amely a vesében a citoszolikus Ca^{2+} -puffert jelenti), és fokozza a kalcium-abszorbeáló mechanizmusok (PMCA1b pumpa, Na^+/Ca^{2+} cseretranszporter) működését. Ezek a hatások együttesen hozzájárulnak ahhoz, hogy a vizelettel kevesebb kalcium ürüljön, különösen kalciumhiányos állapotban. Kísérletesen igazolták, hogy TRPV5 csatorna hiányában jelentős hypercalciuria és csontelváltozások lépnek fel.

Csontszövet

A D-hormon közvetett és közvetlen módon is befolyásolja a csontanyagcserét. Közvetett hatása főként a már említett kalcium- és foszfátszint biztosításán keresztül valósul meg: megfelelő D-vitamin státusz nélkülözhetetlen a normál csontmineralizációhoz. D-vitamin hiányában – a csökkent bélfelszívódás miatt – a hypocalcaemia elkerülésére szekunder hyperparathyreosis alakul ki. A magas PTH szint a csontokból mobilizál kalciumot: fokozza az osteoclastok aktivitását és csontreszorpciót indukál, ami hosszú távon csontvesztéshez, gyermekeknél rachitishoz, felnőtteknél osteomaláciához vezet. Közvetlen hatásai a csontsejtekre szintén jelentősek, mivel a csontszövet sejtjei (osteoblastok, osteocyták és osteoclastok) is expresszálnak VDR-t [214]. A kalcitriol az osteoblastokban több gén aktivitását szabályozza: klasszikus példa az osteocalcin és

osteopontin fehérjéket kódoló gének, melyek promoterében funkcionális VDRE szekvenciák találhatóak. A D-hormon megfelelő szintje így elősegíti az osteoblastok differenciálódását és a mátrix fehérjék termelését, ami a csontképződést támogatja. Ugyanakkor a kalcitriol az osteoblastok egy másik fontos funkcióját is befolyásolja: az osteoclast-képzés szabályozását. Az osteoclast keletkezéséhez (a monocita-eredetű prekurzorok fúziójához) az osteoblastok által termelt RANKL (receptor of nuclear factor kappa B) szükséges. A kalcitriol hatására az osteoblastok felszínén növekszik a RANKL kifejeződése, és csökken a RANKL inhibitora, az OPG (osteoprotegerin) termelődése [215], ezáltal a D-hormon – a PTH-hoz hasonlóan – elősegíti az osteoclastogenezist. Fontos kiemelni, hogy ez a hatás igényli az osteoblastok VDR-jének jelenlétét: VDR-knockout egerek osteoblastjai nem képesek közvetíteni a kalcitriol osteoclast-fokozó hatását, míg a VDR-hiányos prekurzor sejtek még át tudnak alakulni osteoclasttá, ha vad-típusú osteoblastokkal kerülnek együtt-tenyésztésre [214]. Ez bizonyítja, hogy a kalcitriol elsősorban az osteoblastokon keresztül, indirekt módon serkenti az osteoclastok képződését és aktivitását.

Élettani körülmények között megfelelő kalciumbevitel mellett a kalcitriol biztosítja a csont épüléséhez szükséges ionokat, és hozzájárul a csontképződéshez és mineralizációhoz. Kalciumhiányos állapotban viszont a kalcitriol a PTH-val együttműködve a csontbontást mozdítja elő, hogy a vér kalciumszintjét fenntartsa. Klinikai szempontból is ismert, hogy a D-vitamin-hiány okozta szekunder hyperparathyreosis csontritkuláshoz vezethet, míg a túlzott D-vitamin bevitel hypercalcaemiát és lágyszövet-kalcifikációkat, valamint csontreszorpciót idézhet elő. Ezért a D-hormon hatásaiban egy finom egyensúly figyelhető meg: fiziológiás szintje elengedhetetlen a csontok egészségéhez, míg mind a hiány, mind a felesleg káros lehet.

Végül meg kell jegyeznünk, hogy a csont-anyagcserében a D-hormon együttműködik más hormonokkal, például a már említett PTH-val, valamint a fibroblaszt növekedési faktor 23-mal (FGF23). Az FGF23 magas foszfátszint esetén fokozza a foszfaturiát és csökkenti a kalcitriol-termelést, így a D-hormon/PTH/FGF23 tengely komplex szabályozása biztosítja a kalcium és foszfát egyensúlyát. A D-hormon ezen integrált hormonhálózat részeként valósítja meg a skeletális rendszerre gyakorolt hatásait.

1.4.4. Extraskelétalis hatások

A D-hormon klasszikus, kalcium-anyagcserén túli hatásait az utóbbi évtizedek kutatásai tárták fel. Mára ismertté vált, hogy a VDR szinte minden sejtünkben jelen van, és a D-hormon számos szervrendszer működését befolyásolja. Az alábbiakban röviden áttekintjük a legfontosabb ilyen jellegű hatásokat: az immunrendszerre, az endokrin-metabolikus folyamatokra, a kardiovaszkuláris rendszerre, a daganatos folyamatokra, valamint az idegrendszerre gyakorolt hatását.

Immunrendszer

A D-hormon erőteljes immunmoduláns tulajdonságokkal bír, aminek köszönhetően a veleszületett és az adaptív immunválaszt egyaránt szabályozza [216]. Az immunsejtek – makrofágok, dendritikus sejtek, T- és B-lymphocyták – mind kifejezik a VDR-t, sőt egyes sejtek (pl. makrofágok) saját maguk is képesek kalcitriolt előállítani a 25(OH)D₃-ből, helyi auto- vagy parakrin hatásokat létrehozva. Veleszületett immunitás esetén a D-hormon fokozza a kórokozók elleni védekezést: kalcitriol hatására a makrofágok és az epithelsejtek megnövelik antimikrobiális peptidjeik – például a cathelicidin (LL-37) és a β -defenzinek – termelését. Emellett a D-hormon gátolja a túlzott gyulladáshoz vezető citokinválaszt: fertőzésekben csökkenti a makrofágok TNF- α , IL-6 és egyéb gyulladáshoz vezető citokinjeinek termelését, miközben bizonyos akut fázis citokineket (pl. IL-8) fokozhat a megfelelő immunreakció érdekében.

Az adaptív immunrendszerben a D-hormon inkább immunszuppresszív, tolerogén hatású. A kalcitriol befolyásolja a dendritikus sejteket: a VDR aktiváció gátolja a dendritikus sejtek érését, csökkenti felszínükön a kostimulátor molekulák kifejeződését és az interleukin-12 termelést, ezáltal a dendritikus sejtek inkább egy tolerogén fenotípust vesznek fel. Ennek következtében a naiv T-sejtek differenciálódása eltolódik: a D-hormon csökkenti a Th1-sejtek kialakulását és citokinjeit (például az IFN- γ -t), ugyanakkor elősegíti a Th2-irányú válasz és a regulátor T-sejtek (Treg) képződését. A D-hormon serkenti a FoxP3⁺ regulátor T-sejtek képződését, amelyek elnyomják az autoimmun folyamatokat. A B-sejtekre is hatással van: gátolja a B-lymphocyták proliferációját és immunglobulin-termelését, különösen gyulladáshoz vezető környezetben. Ezek a hatások együttesen azt eredményezik, hogy a D-hormon megfelelő szintje mérsékli az autoimmun és túlzott gyulladáshoz vezető folyamatokat. Epidemiológiai adatok utalnak rá, hogy

a D-vitamin-hiány hozzájárulhat bizonyos autoimmun betegségek – pl. sclerosis multiplex, 1-es típusú diabetes, rheumatoid arthritis – kockázatához, míg a megfelelő D-vitamin ellátottság protektív lehet ezekben.

Endokrin és metabolikus hatások

Számos adat bizonyítja, hogy a D-hormon a glükózanyagcsere és az inzulinhatás szabályozásában is részt vesz. A hasnyálmirigy β -sejtjei expresszálnak VDR-t, és képesek reagálni a kalcitriolra. Kísérletesen kimutatták, hogy VDR-hiányos egerekben károsodik az inzulin szekréció, amit az is alátámaszt, hogy a humán inzulingén promotere tartalmaz VDRE szekvenciát [217]. Ezzel párhuzamosan a D-hormon az inzulinérzékenységet is javíthatja perifériás szövetekben (izmok, zsírszövet), részben közvetlen génhatások, részben gyulladáscsökkentő effektus révén. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hatására javul a glükózstimulált inzulinszekréció a pancreas szigetsejtben, és mérséklődik a szisztémás gyulladás, ami az inzulinjel továbbítását gátló citokinek (pl. $\text{TNF-}\alpha$, IL-6) szintjének csökkenéséhez vezet. A kalcitriol növeli az inzulinreceptor expresszióját bizonyos sejtekben. Továbbá antioxidáns hatása révén védi a β -sejteket az oxidatív stressztől és apoptózistól, ami hozzájárulhat a pancreas szigetsejt-populáció megőrzéséhez például 2-es típusú cukorbetegségben.

Népességszintű vizsgálatok összefüggést találtak a D-vitamin státusz és a metabolikus betegségek között. A D-vitamin-hiány gyakori az elhízott és 2-es típusú diabéteszes egyének körében, és több prospektív tanulmány szerint a tartósan alacsony $25(\text{OH})\text{D}_3$ szint megnövelheti a metabolikus szindróma kockázatát [212]. A D-hormon hat az adipocytákra is: befolyásolja a zsírszövet gyulladáscsökkentő aktivitását és az adipokinek termelését. VDR-null egerekben eltéréseket figyeltek meg a zsírszövetanyagcserében, ami arra utal, hogy a D-hormon részt vehet az energia-háztartás és a testsúly szabályozásában is.

Ezenkívül a D-hormon hatással van a szaporító szervrendszerre is: a policisztás ovárium szindróma (PCOS) és az infertilitás bizonyos aspektusaiban leírták a D-vitamin státusz szerepét, de ezek mechanizmusai kevésbé ismertek.

Kardiovaszkuláris hatások

A D-hormon jelenléte a szív- és érrendszerben is jelentőséggel bír. A szívizomsejtek, az érfali simaizomsejtek és az endothel is expresszálnak VDR-t, és számos megfigyelés utal a

D-vitamin státusz és a kardiovaszkuláris betegségek kockázatának összefüggésére. Közülük kiemelkedik a D-hormon renin-angiotenzin-aldoszteron rendszerre (RAAS) gyakorolt hatása. Állatkísérletekben kimutatták, hogy a D-hormon a RAAS egy negatív regulátoraként viselkedik. VDR knock-out egerekben krónikus reninszint-emelkedést és angiotenzin-II szint emelkedést figyeltek meg [218], melynek következtében hipertónia és cardiomegalia alakult ki. Ez a fenotípus független volt a D-vitamin klasszikus kalciumhatásaitól, mivel kalciumpótlással nem korrigálódott, ami arra utal, hogy a D-hormon közvetlenül szabályozza a renin expressziót. Li és munkatársai bebizonyították, hogy a calcitriol gátolja a renin gén transzkripcióját a juxtaglomeruláris sejtekben, és a D-hormon-hiányos állapot ennek az endokrin féknek a kiesése miatt renin-túltermeléshez vezet. Epidemiológiai adatok szerint alacsony D-vitamin szintű egyéneknél magasabb renin és angiotenzin-II aktivitást, illetve magasabb vérnyomást mértek. Néhány randomizált vizsgálat azt is kimutatta, hogy a D-vitamin pótlása csökkentheti a vérnyomást D-vitamin-hiányos, hipertóniás betegekben, bár az eredmények nem minden populációban voltak egységesek. A RAAS gátlásán keresztül a D-hormon védi az érrendszert: csökkenti az angiotenzin-II okozta érösszehúzódást, a hipertrofiát és a myocardialis fibrosist. VDR-hiányos állatokban gyakoribb a bal kamrai hypertrophia és érfali károsodás, ami a D-hormon kardioprotektív szerepére utal.

A RAAS moduláción túl a D-hormon más kardiovaszkuláris folyamatokra is hat. Szabályozza az endothelfunkciót: D-vitamin-hiányban endotheldiszfunkciót és fokozott érrelmeszesedési hajlamot figyeltek meg. Calcitriol hatására az endothelben csökken a pro-inflammatorikus citokinek és adhézions molekulák expressziója, mérséklődik az oxidatív stressz, ami összességében anti-atherogén hatást eredményezhet. A D-hormon emellett befolyásolja a simaizomsejtek proliferációját és a makrofágok habossejtté alakulását az érfalban, ezzel is lassítva az atheroscleroticus plakkok kialakulását. Bizonyos vizsgálatok szerint alacsony 25(OH)D₃ szint korrelál a coronaria betegség és a stroke magasabb rizikójával, bár oki összefüggést nehéz bizonyítani.

Daganatok

Az utóbbi évtizedek kutatásai feltárták, hogy a D-hormon jelentős antiproliferatív és pro-differenciációs hatást gyakorol számos sejt típusra, így befolyásolhatja a daganatok kialakulását és lefolyását is. A megfigyelések szerint a D-vitamin hiány összefüggést

mutat bizonyos daganatos betegségeket – például vastagbélrák, emlőrák, prosztatatarák – magasabb incidenciájával és rosszabb prognózisával [219]. Ezzel párhuzamosan kísérletes modellekben a kalcitriol vagy analógjai adagolása lassította a tumor növekedését, ami felveti a D-hormon potenciális szerepét egyes daganatok megelőzésében és kezelésében.

A kalcitriol daganatellenes hatásai több szinten nyilvánulnak meg. A D-hormon gátolja a tumorsejtek osztódását azáltal, hogy sejtciklus arrestet indukál a G_0/G_1 vagy G_2/M fázisban, valamint csökkenti a proliferációs szignálok (pl. c-Myc) expresszióját [220]. Ezt a p21^{Waf1/Cip1} és p27^{Kip1} ciklusgátló fehérjék VDR általi indukciója magyarázza, ami lelassítja vagy megállítja a sejtek osztódási ciklusát.

A kalcitriol elősegíti a programozott sejthalált a tumoros sejtekben. Számos tumorsejtvonalban megfigyelték, hogy 1,25(OH)₂D₃ hatására nő az apoptózist kiváltó kaszpázok aktivitása, emelkedik a pro-apoptotikus Bax fehérje szintje és csökken az anti-apoptotikus Bcl-2 termelése. Emellett emlőrák és vastagbélrák sejtekben a kalcitriol hatására fokozódott a kaszpáz-3 aktiváció és DNS fragmentáció, jelezve az apoptózis beindulását. A D-hormon befolyásolja a tumor mikrokörnyezetét is: csökkentheti az angiogenezist a daganatban egyes angiogenetikai faktorok (pl. VEGF) termelésének gátlásával, valamint csökkenti a tumorsejtek inváziós és metasztatikus potenciálját. Megfigyelték, hogy kalcitriol hatására csökken a metalloproteáz enzimek aktivitása és a tumorsejtek migrációja, ami gátolja az áttétképzést. Továbbá, a D-hormon immunmoduláló hatása a daganat mikrokörnyezetben is érvényesül: elősegítheti a daganatellenes immunreakciókat (például növelheti a tumorsejtek fagocitózist makrofágok által), ugyanakkor mérsékli a krónikus gyulladást, ami sok daganat progressziójának kedvezőtlen tényezője.

Epidemiológiai vizsgálatok sora mutatott ki inverz kapcsolatot a vér 25(OH)D₃ szintje és a vastagbél-, emlő-, prostata- vagy éppen pancreasrák kockázata között [219]. Intervenciós humán vizsgálatokban a D-vitamin pótlás hatását is tanulmányozták: például posztmenopauzális nőknél egyes eredmények szerint a D-vitamin és kalcium pótlás csökkentette az összes daganatos betegség incidenciáját, bár nem minden tanulmány volt egyértelmű. Terápiás vonalon a kalcitriol farmakológiai dózisait és új szintetikus analógjait (pl. parikalcitol, maxakalcitol) is vizsgálják onkológiai kiegészítő kezelésként, különösen prosztata- és vastagbélrákban. Adagolásukat korlátozza hypercalcaemiát

okozó mellékhatásuk, ezért intenzív kutatás folyik olyan D-vitamin analógok kifejlesztésére, amelyek szelektíven hatnak a daganatokban (tissue-selective VDR modulátorok).

Idegrendszer

A VDR és a D-hormon-metabolizáló enzimek (CYP27B1, CYP24A1) is kimutathatók az agy számos régiójában – különösen a hipocampusban, hypothalamusban, substantia nigrában és a cortexben –, ami megteremti a lokális D-hormon hatások alapját. A D-hormon az agyban neuroprotektív és neuromodulátor hatásokat fejt ki több mechanizmus révén.

Egyrészt, a calcitriol szabályozza az idegsejtek kalcium-homeosztázisát, ami kritikus a neuronok működése és túlélése szempontjából. Berridge és munkatársai hipotézise szerint a D-hormon egyik fontos agyi szerepe, hogy pufferele a neuronális Ca^{2+} -szint emelkedéseket, megelőzve ezzel a kalcium által kiváltott károsodásokat és hangulatzavarokat [221]. D-vitamin-hiány esetén ez a pufferkapacitás csökken, az idegsejtekben könnyebben alakul ki Ca^{2+} -túlterhelés, ami hozzájárulhat például a depresszió patogeneziséhez [222]. Humán vizsgálatokban kimutatták, hogy az alacsony 25(OH)D₃ szint gyakoribb depressziós tünetekkel társul, míg a D-vitamin pótlás bizonyos populációkban javított a hangulatot jelző pontszámokon.

A D-hormon fokozza neurotrop faktorok termelődését. A calcitriol szintje korrelál több agyi eredetű növekedési faktor – pl. NGF (idegnövekedési faktor), BDNF (agyai eredetű neurotrop faktor) – szintjével [223]. In vitro a calcitriol-kezelés astrocytáknak és neuronoknak növelte az NGF és a glia eredetű neurotrop faktor (GDNF) termelést. Ezek segítik az idegsejtek túlélését, érését és a szinaptikus plaszticitást, ami kulcsfontosságú a tanulásban és memóriában. D-vitamin-hiány esetén az agyban megnő az oxidatív stressz és a neuroinflammáció szintje: kísérletes D-vitamin-hiány mellett magasabb lipidperoxidációs termékeket és proinflammatorikus citokin szinteket mértek [224]. A calcitriol képes indukálni az antioxidáns védő enzimeket (pl. glutathion rendszer), és csökkenteni a mikroglia és astroglia gyulladásozó aktivitását. Ennek különös jelentősége van neurodegeneratív betegségeknél (pl. Alzheimer-kór, Parkinson-kór), ahol az oxidatív károsodás és krónikus gyulladás súlyosbítja a neuronpusztulást. Megfigyelték, hogy D-vitamin-hiányos idősorúaknál magasabb az Alzheimer-kór kockázata, és

neuropatológiai vizsgálatok szerint a D-vitamin-hiány hozzájárul az agyban az amyloid- β peptidek felszaporodásához [222]. Kutatások arról is beszámoltak, hogy a D-hormon neurosteroid jelleggel közvetlenül befolyásolja bizonyos agyi neurotranszmitter rendszereket, pl. a dopaminerg és szerotonerg pályákat, ami hatással lehet a motoros funkciókra és a hangulatra.

A sclerosis multiplex (SM) előfordulása földrajzilag korrelál a napsütéses órák (és így a D-vitamin szint) mennyiségével, és SM-ben a D-vitamin pótlás csökkentheti a relapszusok számát az immunmoduláció révén. Ugyancsak kutatják a D-vitamin szerepét a demencia megelőzésében: egyes longitudinális vizsgálatok szerint a tartós D-vitamin-hiány felgyorsíthatja a kognitív funkciók romlását időskorban, míg a megfelelő D-vitamin-szinttel rendelkezők körében lassabb kognitív hanyatlást figyeltek meg [223]. Mindez összhangban áll azzal, hogy a D-hormon szintje az életkor előrehaladtával csökken, s ennek az agyi öregedésre gyakorolt hatása lehet.

Összefoglalva a D-hormon funkciói az emberi szervezetben rendkívül szerte ágazóak. A VDR közvetítésével a kalcitriol nemcsak a kalcium-anyagcsere és a csontok elengedhetetlen hormonja, hanem számos egyéb szervrendszer finom regulátora. Genomiális hatásai révén gének százalékait befolyásolja, ami megmagyarázza immunmoduláns, endokrin-metabolikus, kardioprotektív, daganatellenes és neuroprotektív hatásait is. A D-vitamin, ami secosteroid hormon, megfelelő szintje fontos a teljes szervezet homeosztázisához.

1.5. A D-vitamin-anyagcserét befolyásoló genetikai tényezők

A D-vitamin anyagcsere folyamatát, az azokban résztvevő enzimeket korábban ismertettem. Ezek mindegyikét specifikus gének szabályozzák. Ezek az alábbiak [225]:

DHCR7 - terméke, a 7-dehidrokoleszterol-reduktáz;

GC - D-vitamin kötő fehérje;

CYP2R1 - 25-hidroxiláz enzim;

CYP27B1 - 1 α -hidroxiláz enzim;

VDR - D-vitamin-receptor;

CYP24A1 - 24-hidroxiláz enzim végzi;

Ismerünk néhány ritka, monogénes D-vitamin-anyagcsere betegséget is: például a CYP27B1 gén inaktiváló mutációi a D-vitamin-dependens rachitis 1A típusát okozzák (melyben a kalcidiol nem alakul át kalcitriollá) [226], a CYP2R1 ritka mutációi pedig hasonló klinikumú 1B típusú betegséget eredményezhetnek [227]. Ugyancsak klasszikus példa a hereditér D-vitamin-rezisztens angolkór, amelyet a VDR gén funkcióvesztő mutációi idéznek elő: ilyenkor hiába termelődik elegendő kalcitriol, a receptor hiánya vagy működésképtelensége miatt a célsejteken nem tud hatást kifejteni [228].

1.5.1. A D-vitamin-anyagcserében részt vevő kulcsfontosságú gének és polimorfizmusaik

Az elmúlt évtizedekben számos kutatás tárta fel, hogy a D-vitamin útvonal kulcsgéneiben előforduló egynukleotidos polimorfizmusok (SNP-k) befolyásolhatják a D-vitamin szintjét és biológiai hatásait. A leggyakrabban vizsgált gének közé tartozik a DHCR7, CYP2R1, CYP27B1, CYP24A1, GC, VDR és RXR.

DHCR7 (7-dehidrokoleszterol-reduktáz)

A *DHCR7* gén a 7-dehidrokoleszterol reduktáz enzim termeléséért felelős, amely a bőrben a D-vitamin prekursor 7-DHC anyagcseréjét szabályozza. Ennek a génnek a közönséges variánsai is hatással lehetnek a D-vitamin státuszra. Nagy populációgenetikai vizsgálatok igazolták, hogy a *DHCR7/NADSYN1* génterületen található gyakori polimorfizmusok – például az rs12785878 – szignifikáns összefüggést mutatnak a szérum 25(OH)D₃ szintekkel [229]. Egyes változatok a D-vitamin-hiány fokozott kockázatával járnak: például kimutatták, hogy az rs12785878 *T* allélja gyakoribb D-vitamin-hiányos egyéneknél. Ugyanakkor egyes vizsgálatok szerint bizonyos *DHCR7* variánsok védő hatásúak lehetnek – például Zhang és munkatársai több olyan SNP-t azonosítottak (rs1790349, rs7122671, rs11606033 stb.), amelyek jelenléte mellett kevésbé gyakori a D-vitamin hiány [230]. Mindez arra utal, hogy a bőrszintézis hatékonyságát is befolyásolja a *DHCR7* gén genetikai variabilitása.

CYP2R1 (25-hidroxiláz)

A *CYP2R1* gén a legfőbb 25-hidroxiláz enzimet kódolja, amely a kolekalciferol 25(OH)D₃-má alakítását végzi a májban. A *CYP2R1* bizonyos gyakori polimorfizmusai

erősen befolyásolják a keringő D-vitamin szintet. Az egyik legismertebb variáns az rs10741657, amely a gén 5' régiójában helyezkedik el: ennek A allélját hordozókban jellemzően alacsonyabb 25(OH)D₃-szint mérhető. Egy nagy esetszámú vizsgálat alapján az rs10741657 variáns hatása akár több ng/ml-rel is csökkentheti a 25(OH)D₃ koncentrációt [229]. Számos további *CYP2R1* SNP-t is azonosítottak, melyek kisebb mértékben, de hozzájárulhatnak az egyéni D-vitamin státusz variációjához – ilyenek például az rs12794714, rs2060793, rs1993116 vagy rs10766197 polimorfizmusok [231]. Összességében a *CYP2R1* genetikai variációja a D-vitamin metabolizmus egyik fontos determinánsa, és részben megmagyarázza, miért különbözhetnek jelentősen az emberek 25(OH)D₃ szintjei hasonló életmód mellett is.

CYP27B1 (1 α -hidroxiláz)

A *CYP27B1* gén terméke az 1 α -hidroxiláz enzim, amely a vesében (és bizonyos sejtekben lokálisan) a 25(OH)D₃-t aktív kalcitriollá alakítja. Számos polimorfizmusát írták le, melyek befolyásolhatják ezt az aktivációs lépést. Az rs10877012 jelű SNP a promotor régióban helyezkedik el. Ennek a variánsnak a jelenlétét összefüggésbe hozták a csökkent szérumban 25(OH)D₃-szintekkel [232]. Az rs10877012 valószínűleg a gén expressziós szintjét mérsékli, ami kevesebb 1 α -hidroxiláz enzimtermelést és így alacsonyabb kalcitriol szintet eredményezhet. További vizsgált variánsok a *CYP27B1*-ben: például az 5' régióban elhelyezkedő rs4646536, valamint egy intronikus polimorfizmus, az rs703842 – mindkettőt a D-vitamin-hiány gyakoribb előfordulásával hozták összefüggésbe [233]. Bár a variánsok hatása egyenként mérsékelt, összességében befolyásolhatják az egyén kalcitriol-termelési kapacitását. A *CYP27B1* ritka, homozigóta mutációi teljes enzimhiányt okoznak, ami súlyos rachitisként jelentkezik (VDDR1A) – a polimorfizmusok természetesen ennél jóval enyhébb eltéréseket idéznek elő, de hozzájárulhatnak a kalcitriol elérhetőségének egyéni különbségeihez.

CYP24A1 (24-hidroxiláz)

A *CYP24A1* gén a D-vitamin lebontását végző 24-hidroxiláz enzimet kódolja, amely mind a 25(OH)D₃, mind az 1,25(OH)₂D₃ inaktiválását katalizálja. Polimorfizmusai befolyásolhatják a D-vitamin metabolitok lebomlási sebességét és így a D-vitamin hatástartamát. Egy vizsgálat egy intronban elhelyezkedő változatot, az rs17219315-t azonosította, amely szignifikánsan összefüggött a szérumban 25(OH)D₃ koncentrációval.

Emellett bizonyos *CYP24A1* allélok a D-vitamin-pótlás hatékonyságát is módosíthatják: Barry és munkatársai kimutatták, hogy az rs2209314, rs2762939 és rs6013897 SNP-k hordozói eltérően reagálhatnak a kolekalciferol-pótlásra [234]. Ez arra utal, hogy a lebontó enzim genetikai variációja meghatározhatja, mennyire emelkedik meg egy beteg a D-vitamin szintje pótlás hatására. Öröklött *CYP24A1* mutációk (mindkét allélt érintve) familiaris hypercalcaemiát okozhatnak a kalcitriol lebontás teljes kiesése miatt, de ezek extrém ritkák [200]; a gyakoribb polimorfizmusok ennél sokkal enyhébb, de mérhető hatást fejthetnek ki a D-vitamin metabolitok egyensúlyára.

GC (D-vitamin-kötő fehérje, DBP)

A *GC* gén a D-vitamin-kötő fehérjét kódolja, amely a keringésben a D-vitamin fő szállító molekulája. A *GC* gén polimorfizmusai befolyásolhatják a DBP szerkezetét, kötőképességét és mennyiségét, ezáltal közvetve a biológiailag hozzáférhető D-vitamin szintet. Két gyakori exonikus variáns, rs7041 és rs4588 [235], a 11. exonban aminosavcsereket eredményez (Glu→Asp illetve Thr→Lys), és e változatok hatására eltérő kötőfehérje-izotípusok jönnek létre. Az rs7041 és rs4588 által meghatározott haplotípusok (gyakran *Gc1* és *Gc2* allélként említve) különböző affinitással kötik a D-vitamint: a *Gc2* variánsok általában alacsonyabb 25(OH)D₃ szintekkel járnak együtt a populációs vizsgálatokban [236]. Ezenkívül számos intronikus SNP-t is azonosítottak a *GC* génben, amelyek a DBP expresszióját vagy a D-vitamin megkötésének hatékonyságát befolyásolhatják. Ilyen például az rs2282679, rs1155563 vagy rs7041 intronikus/regulátor variáns, amelyekről kimutatták, hogy hordozóikban alacsonyabb a 25(OH)D₃ koncentráció [237]. Figyelemre méltó, hogy a *GC* gén bizonyos alléljeinek eloszlása etnikumonként is változik, ami hozzájárulhat a különböző népcsoportok D-vitamin szintjeiben megfigyelt különbségekhez. Összességében a *GC* polimorfizmusai a D-vitamin biológiai hozzáférhetőség egyik genetikai szabályozó tényezőjét jelentik.

VDR (D-vitamin receptor)

A *VDR* gén kódolja a D-vitamin receptor fehérjét, amelyen keresztül a kalcitriol kifejti genomiális hatásait. A *VDR* gén rendkívül polimorf: eddig több száz variánsát azonosították, bár ezek funkcionális következménye gyakran nem egyértelmű. A legintenzívebben tanulmányozott polimorfizmusok a történelmi elnevezésük szerint FokI, BsmI, ApaI és TaqI helyek, amelyekről kiderült, hogy számos élettani folyamatban

és betegségben szerepet játszhatnak. Fontos kiemelni, hogy ezek valójában restrikciós endonukleázokról elnevezett SNP-k: a FokI a gén 2. exonján belüli start kodon variáció (rs2228570, korábban rs10735810), míg a BsmI (rs1544410), ApaI (rs7975232) és TaqI (rs731236) a 8–9. exon/intron környéki variánsok [238].

FokI (rs2228570): ez a polimorfizmus a VDR gén 2. exonjában egy alternatív start kodont érint. Az *F* allél (C nukleotid) jelenléte egy rövidebb (3 aminosavval rövidebb) VDR fehérjét eredményez az *f* allélhoz képest. Ez a rövidebb VDR hatékonyabban aktiválhatja a génátírást, azaz funkcionálisan hiperaktív receptorváltozatnak tekinthető. Érdekes módon a FokI *F* allélját hordozók körében kissé alacsonyabb átlagos 25(OH)D₃-szinteket figyeltek meg. Ennek egyik magyarázata, hogy a fokozott VDR aktivitás erőteljesebb negatív feedbacket indíthat (például fokozott CYP24A1 kifejeződésen keresztül), ami gyorsítja a D-vitamin lebomlását. A FokI polimorfizmus tehát nemcsak a receptor fehérje szerkezetét befolyásolja, hanem a D-vitamin anyagcsere dinamikáját is [239].

TaqI (rs731236): a VDR gén 9. exonjában lévő T>C átváltás, mely a kódolt fehérje C-terminális régiójának szinonim változását jelenti. Bár aminosavcsere nincs, a TaqI hely egy CpG dinukleotidot foglal magában, így az itt fellépő variáció epigenetikai szinten hat: módosítja a gén környezetének metilációját. Bizonyos adatok arra utalnak, hogy a TaqI polimorfizmus kapcsolódhat a VDR gén kifejeződésének finomhangolásához metilációs mechanizmusokon át, ami közvetve hat a D-vitamin érzékenységre [205, 238, 240].

BsmI (rs1544410): a 8. intronban elhelyezkedő variáns (A>G báziscserével), amely nem változtatja meg a VDR fehérje szekvenciáját, de hatással van az mRNS stabilitására. Kimutatták, hogy a BsmI *B* allélja (A nukleotid) hosszabb ideig stabilan fennmaradó mRNS-t eredményezhet, míg a *b* allél hajlamosabb az mRNS degradációra [238]. Ezenkívül egy vizsgálat szerint a BsmI genotípus befolyásolta az UV-B sugárzás hatására bekövetkező 25(OH)D₃-szint emelkedés mértékét is: feltehetően a VDR-RXR-CYP24A1 interakció módosításán keresztül. Ez arra utal, hogy a BsmI polimorfizmus az UV-fényre adott D-vitamin válasz egyéni eltéréseinek egyik tényezője lehet [241].

ApaI (rs7975232): szintén a 8. intron területén található (C>A változat). Ennek funkcionális hatása kevésbé tisztázott, egyes tanulmányok önmagában nem találtak

jelentős befolyást, de mivel erősen kapcsoltsági egyensúlyban van a BsmI variánssal, gyakran együtt vizsgálják a kettőt. Az ApaI A allélról néhány vizsgálat felvetette, hogy talán védő hatású lehet bizonyos betegségekkel szemben, de a bizonyítékok nem egyértelműek [238].

A VDR gén promoter régiójában is ismertek polimorfizmusok, mint például a Cdx2 (rs11568820) és GATA (rs1156882) helyek, amelyek a gén 1. exonja előtt, illetve után találhatóak. Ezekről kimutatták, hogy csökkentik a VDR promoter aktivitását, ezáltal potenciálisan a receptor alacsonyabb bázisszintű kifejeződéséhez vezetnek [242]. Bár e promoter-variánsok ritkábban kutattak, hozzájárulhatnak a szöveti VDR expresszió egyéni különbségeihez.

Fontos hangsúlyozni, hogy a VDR gén polimorfizmusainak funkcionális és klinikai következményei sok esetben még nem teljesen tisztázottak. Mégis, számos asszociációs vizsgálat szerint e variánsok egy része szoros kapcsolatot mutat különböző betegségekkel és élettani folyamatokkal, beleértve a csontanyagcserét, immunrendszeri funkciókat és az anyagcserét.

RXR (retinoid X receptor)

A D-vitamin receptor hatásának kifejtéséhez szükséges heterodimer partnere az RXR (leggyakrabban az RXR α izoforma, melyet az *RXRA* gén kódol). Az RXR önmagában a 9-cisz-retinsav ligand hatására aktiválódó nukleáris receptor, de VDR-rel párosulva a D-vitamin-jel továbbításában vesz részt. Az RXR génpolimorfizmusok hatása a D-vitamin útvonalra kevésbé kutatott, létezik bizonyíték arra, hogy egyes RXR α variánsok korrelálhatnak a D-vitamin metabolitok szintjével. Például egy tanulmányban az *RXRA* gén rs3132299 és rs9409929 számú SNP-je a szérum 1,25(OH) $_2$ D $_3$ szinttel, míg az rs877954 az 25(OH)D $_3$ szinttel mutatott szignifikáns összefüggést [243]. Ez alapján elképzelhető, hogy az RXR gén öröklött eltérései is befolyásolhatják a D-vitamin hatásmechanizmusát, bár jóval kevesebb adat áll rendelkezésre, mint a fenti fő génjeink esetén.

1.5.2. A genetikai eltérések és a D-vitamin ellátottság összefüggései

A D-vitamin ellátottság – noha erősen függ életmódbeli tényezőktől – jelentős genetikai meghatározottsággal is bír. Iker- és családvizsgálatok alapján a 25(OH)D $_3$ szint

örökölhetősége magas lehet: egyes elemzések mindössze ~23%-ra teszik, míg mások akár 80%-ra [244-247]. Ez a széles tartomány azt tükrözi, hogy a különböző vizsgálatokban eltérő környezeti variabilitás volt jelen; mindazonáltal a konzervatív becslések szerint is legalább a D-vitamin szint variációjának negyede genetikai eredetű. A genetikai hajlamosító tényezők több gén együttes hatásából adódnak, melyek közül a legfontosabbak éppen azok, amiket fentebb tárgyaltam. Genom-wide asszociációs vizsgálatok (GWAS) következetesen kimutatták, hogy a DHCR7/NADSYN1, CYP2R1, GC és CYP24A1 gének bizonyos gyakori variánsai szoros kapcsolatban állnak a szérumban 25(OH)D₃ koncentrációval [229, 237, 247]. E génhelyek mindegyike kis mértékben befolyásolja a D-vitamin szintet (egy allél tipikusan néhány ng/ml-rel módosíthatja a 25(OH)D₃-t), de együttesen már jelentősebb genetikai komponenssel magyarázzák a populációs eltéréseket. Például a GC gén rs2282679 jelű intronikus polimorfizmusa önmagában a szérumszint variációjának ~3-5%-áért felel [237], a DHCR7 gén közelében levő rs12785878 hasonló nagyságrendű hatású [239], míg a CYP2R1 rs10741657 és a CYP24A1 bizonyos SNP-i kisebb, de kimutatható hatást gyakorolnak [238]. Ezeket a hatásokat megerősítette több független kohorsz vizsgálat és egy 77 tanulmányt összegző szisztematikus áttekintés is, amely szerint a variációk közül a GC és CYP2R1 gének SNP-i a legtöbb tanulmányban (több mint az esetek felében) szignifikáns kapcsolatot mutattak a D-vitamin szinttel [238]. Ez arra utal, hogy genetikailag determinált egyéni különbségek vannak abban, ki mekkora 25(OH)D₃ szintet ér el azonos környezeti feltételek mellett.

A D-vitamin-hiány családi halmozódása is megfigyelhető: gyakran egy család tagjai hasonló D-vitamin státusszal rendelkeznek, ami részben azonos életmódjuknak, de részben közös genetikai háttérüknek is köszönhető. Az örökletesség szerepére utal, hogy azokban az esetekben, amikor egyébként alacsony a D-vitamin szintet befolyásoló külső tényezők hatása, a genetikai eltérés hatása felerősödik. Például az északi országokban élő, napfényben szegény környezetű populációkban a genetikai variánsok jobban prognosztizálják, kinek lesz súlyos D-vitamin hiánya télen. Ezzel szemben a napfényben gazdagabb régiókban a környezeti faktorok részben elfedhetik a genetikai különbségeket. Mindazonáltal a jelenlegi becslések szerint a fő ismert génvariánsok együttes hatása akár ~10-15%-ban magyarázhatja a 25(OH)D₃ szintek változékonyságát, a maradék genetikai hatás pedig további (még nem azonosított) génekből és több gén kölcsönhatásaiból

adódhat. A genetikai információ a jövőben segíthet azonosítani azokat, akiknél nagyobb valószínűséggel alakul ki D-vitamin-hiány, és akik talán fokozott pótlást igényelnek ennek megelőzésére.

1.5.3. Epigenetikai tényezők a D-vitamin anyagcserében és a receptor aktivációban

Az utóbbi évek kutatásai rámutattak, hogy nemcsak a DNS szekvencia változásai, hanem az epigenetikai módosulások is fontos szerepet játszhatnak a D-vitamin anyagcsere és hatásmechanizmus szabályozásában. Ilyen mechanizmus például a DNS metiláció, hisztonfehérjék acetilációja/foszforilációja, illetve a nem-kódoló RNS-ek hatása. E folyamatok dinamikusan reagálnak a környezeti hatásokra (táplálkozás, vitamin- és hormonszintek, életmód), és így hidat képeznek a környezeti és a genetikai válaszok között. Ma már bizonyított, hogy a D-vitamin is képes bizonyos gének epigenetikai szabályozását módosítani, ugyanakkor a D-vitamin szintet magát is befolyásolják epigenetikai tényezők [248].

A leggyakoribb epigenetikai mechanizmus a promoter régiók CpG szigeteinek DNS-metilációja, amely általában gátolja az adott gén transzkripcióját [249]. A D-vitamin-anyagcserében részt vevő gének promoter metilációs státusza és az egyén D-vitamin szintje között összefüggés van. Becslések szerint a DNS-metilációs különbségek a D-vitamin szint populációs variációjának mintegy 18%-át magyarázhatják, és hozzájárulnak a D-vitamin-hiány kockázatához [250]. Tanulmányok kimutatták, hogy a *CYP2R1* gén promoterének metilációja érzékeny a D-vitamin ellátottságra: azoknál az alanyoknál, akik megfelelő D-vitamin szinttel rendelkeznek vagy D-vitamin pótlást kapnak, a *CYP2R1* CpG helyei kevésbé metiláltak, mint a D-vitamin hiányos egyéneknél [225]. Mivel a metiláció a gén kifejeződés csökkenésével jár, ez a megfigyelés arra utal, hogy D-vitamin jelenlétében növekszik a 25-hidroxiláz gén expressziója, míg hiány esetén a fokozott metiláció gátolja a *CYP2R1* kifejeződését – mintegy „takarékoskodva” a D-vitaminnal. Hasonló összefüggéseket találtak más géneknél is: a *CYP24A1*, *CYP27B1*, *GC*, *RXRA* és *VDR*, sőt a *DHCR7* gének metilációs mintázata korrelált a szérumban 25(OH)D₃ vagy 1,25(OH)₂D₃ szintekkel [250]. Ez azt jelenti, hogy a D-vitamin státusz nemcsak eredménye, de potenciálisan okozója is lehet az epigenetikai változásoknak: a tartósan alacsony D-vitamin szint egyes gének epigenetikus elcsendesítéséhez vezethet, ami tovább súlyosbíthatja a hiányt.

Érdekes interakció figyelhető meg az étrendi hatásokkal is: bizonyos mikrotápanyagok, például a B₁₂-vitamin és a folát státusz befolyásolhatja a D-vitamin-gének metilációját. Egy vizsgálat szerint a megfelelő B₁₂-vitamin ellátottság alacsonyabb *CYP27B1* metilációval társult, míg a folsavszint a *VDR* gén metilációját befolyásolta [251].

Az epigenetikai tényezők a D-vitamin terápia hatásait is modulálhatják. Újabb kutatásokban az embereket D-vitamin pótlásra adott válaszuk alapján csoportokra osztották: gyenge, közepes és jó responderek. A pótlásra rosszabbul reagálók csoportjában sokszor kifejezettebb volt bizonyos gének promoter metilációja, illetve eltért a D-vitamin-célgének (melyeket a VDR szabályoz) kifejeződés-mintázata is a pótlást követően [252]. Ezek a megfigyelések vezettek a személyre szabott D-vitamin adagolás koncepciójához. Eszerint genetikai és epigenetikai profil alapján a jövőben meghatározható lehet, hogy kinek van szüksége az átlagnál nagyobb dózisú D-vitamin bevitelre ahhoz, hogy elérje a kívánt szérumszintet, illetve ki az, aki genetikailag jobb hasznosítója a D-vitaminnak és kisebb dózis is elegendő számára. Az epigenetikai markerek – mivel környezeti hatások révén módosíthatók – akár terápiás célpontot is jelenthetnek. Például, ha egy fontos D-vitamin-metabolizáló gén erősen metilált és alulexpresszált valakinél, elvileg olyan beavatkozásokat lehet keresni, amelyek csökkentik a metilációt (pl. demetiláló szerek vagy életmódbeli intervenciók), ezzel növelve a gén aktivitását és javítva a D-vitamin státuszt [250].

Összefoglalva az eddigi genetikai eredményeket, a D-vitamin-ellátottság meghatározásában biztosan szerepet játszanak a környezeti tényezők mellett a genetikai eltérések is. Az eddigi genetikai vizsgálatok azonban olyan populációkon történtek, ahol a környezeti hatások nem egyenletesen érintették a vizsgált személyeket, azaz a D-vitamin-ellátottság elsősorban azoktól függött. A környezeti hatások miatti nagy „zaj” miatt a genetikai eltérések kisebb hatása rejtve maradhat. Emiatt alapvetően olyan populáción lenne szükséges a genetikai eltérések és a D-vitamin-szintek közötti összefüggést vizsgálni, ami a lehetőségekig függetlenített a környezeti hatásoktól.

2. Célkitűzések

Első lépésként egy olyan modell populáció létrehozását tűztük ki célul, amelyben a D-vitamin-ellátottság a lehetőségekig függetlenített a környezeti tényezőktől, így a D-vitamin szinteket elsősorban az adott egyén genetikai háttere, polimorfizmusai határozzák meg.

Ebben a speciális modell populációban az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

- a) Befolyásolják-e a D-vitamin anyagcsere útvonalat kódoló gének polimorfizmusai a teljes-, a szabad-, illetve a biológiailag elérhető 25(OH)D₃-vitamin szinteket?
- b) Mely gének milyen polimorfizmusai felelősek a genetikai determinációért?
- c) Mekkora a genetikai meghatározottság mértéke a különböző D-vitamin szinteken?
- d) Különbözik-e a biológiailag elérhető (tehát a szöveti szinten a hormonhatásért felelős) 25(OH)D₃-vitamin szint genetikai determinációja a teljes 25(OH)D₃ szinten megfigyelhetőtől?

Következő vizsgálatunkban azt elemeztük, hogy fennálló D-vitamin hiány esetén a feltöltő adagú D₃-vitamin egyes adagolási sémái között (gyors vs. lassú telítés) van-e különbség a biztonságosságban és hatásosságban.

3. Módszerek

3.1. D-vitamin ellátottságot befolyásoló genetikai tényezők

3.1.1. Vizsgálati elrendezés és résztvevők

Keresztmetszeti vizsgálatunkban a teljes felnőtt magyar lakosságra reprezentatív mintát választottunk ki. A felnőtt lakosság 1/10 000-ed részét (n=831) választottuk ki véletlenszerűen az alábbi módszerrel:

Első lépésben a Nemzeti Egészségbiztosítási alapkezelő 2012. évi családorvos adatbázisából (n=6415) véletlenszerűen kiválasztottunk 20 családorvost. A kiválasztás során egyenlő földrajzi eloszlásra törekedtünk: közép-Magyarországról 4, a Dunántúlról 8, a Duna-Tisza közéről 3 és a Tiszántúlról 5 praxist kerestünk meg. Ezek között 4 fővárosi, 10 városi és 6 falusi körzet volt. A 20-ból 15 vizsgálóhely fogadta el a felkérést.

A második lépés során kerültek kiválasztásra a vizsgált személyek. Ennek során az országos életkor és nem eloszlásra reprezentatív mintát választottunk:

- 18-29 éves férfiak: 9%
- 18-29 éves nők: 9%
- 30-59 éves férfiak: 27%
- 30-59 éves nők: 27%
- 60 év feletti férfiak: 11%
- 60 év feletti nők: 17%

Az alanyokat a saját betegnyilvántartásukból a családorvosok választották ki azok közül, akiknek a vezetékneve ugyanolyan betűvel kezdődött, mint a családorvosé.

Azon betegek, akik valamilyen panasz, betegség miatt jelentek meg, nem pedig a vizsgálatra történt behívásra, nem kerültek beválasztásra. Egyéb beválasztási vagy kizárási kritériumot nem alkalmaztunk.

A vizsgálatot úgy időzítettük, hogy a vérvétel, vizsgálat az összes résztvevőnél egy héten belül történjen meg. A mintavétel ideje a téli napfényhiányos időszak legvégén történt: azelőtt, hogy tavasszal két egymás utáni napon lett volna folyamatos napsütés. Ez a vizsgálat évében április első hete volt, ami szokatlanul késői. A körülmények ismeretében ekkor volt várható a legnagyobb mértékű D-vitamin-hiány a populációban.

3.1.2. Vizsgálatok

Minden alanytól kórelőzményt vettek fel (különös tekintettel D-vitamin szedésre, vitaminok, étrendkiegészítők használatára), fizikális vizsgálat és alapvető élettani paraméterek mérése történt, illetve mérték az alanyok testtömegét és testmagasságát. Emellett a résztvevők kérdőívet töltöttek ki, melyben a D-vitamin ellátottságot esetlegesen befolyásoló életmódbeli szokásokra és az ismert krónikus betegségek fennálltára kérdeztünk rá. Ezen felül vérvétel történt. Minden alany vizsgálata 2013. április utolsó hetében történt, mely a 2013-as tavasz két egymás utáni napsütéses napja előtt volt, így a napsugárzásból eredő UV-B sugárzás D-vitamin szintet emelő hatását kiküszöböltük.

Minden alany tájékozott beleegyezés, írásos beleegyező nyilatkozat aláírása után került be a vizsgálatba. Vizsgálatunkat az Egészségügyi Tudományos Tanács – Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága (ETT-TUKEB) hagyta jóvá, és minden tekintetben megfelelt a Helsink Deklarációban foglaltaknak.

3.1.3. Biológiai minták vétele, kezelése, laboratóriumi vizsgálatok

Az alanyoktól éhomi vérvétel történt, standardizált, kereskedelmi forgalomban elérhető egyszerhasználatos mintavételi eszközökkel. A mintákat 25°C alatti hőmérsékleten, a mintavétel napján szállították a laboratóriumba, ahol a biokémiai paraméterek aznap mérésre kerültek. A genotipizálásra vett mintákat a laboratóriumba érkezésük után a DNS izolálásáig ellenőrzötten -70°C-on tároltuk.

A teljes 25(OH)D₃-vitamin és a parathormon szintek mérése direkt kompetitív kemilumineszcencia módszerrel, automatával (LIAISON analyzer DiaSorin, USA) történt. A t-25OHD intra- és inter-assay variációs koefficiense (CV) 4,1-7,7% és 7,7-10,9% volt csökkenő koncentrációk (60,0-19,8 nmol/l) mellett. A módszer funkcionális érzékenysége 5,4 nmol/l volt. A laboratórium részt vesz a Vitamin D External Quality Assessment Scheme (DEQAS) programban, így a D-vitamin mérés standardizált volt.

A D-vitamin-kötő fehérje méréséhez poliklonális nyúl immunglobulinnal (A0021; Dako) végzett immun-turbidimetriát végeztünk, ami minden Gc-globulin altípust mért. A vizsgálat szintén laborautomatán (Modular, Roche, Mannheim, Németország) történt. A

módszer méréstartománya 30-900 mg/l, a detekciós limit 7,6 mg/l. A CV 3,5-6,1%-nak adódott 405-95 mg/l csökkenő koncentrációk mellett.

Az albumin szinteket kolorimetriával, automatával (Roche, modular analyzer), a kalcium és foszfát szinteket pedig Beckman Coulter AU 5800 analyzer automatával mértük. A CV egyik esetben sem haladta meg a 2%-ot.

A biológiailag elérhető D-vitamin szinteket a Powe-egyenlettel [253], a szabad D-vitamint pedig a Bikle formulával [254] számoltuk, mivel a vizsgálat idején a direkt mérés még nem volt elérhető.

3.1.4. SNP-k kiválasztása, genotipizálás

A D-vitamin-anyagcserében szerepet játszó gének közül az alábbiakat választottuk ki:

- nicotinamid-adenin-dinukleotid-szintetáz (NADSYN1)
- 7-dehidrokoleszterin-reduktáz (DHCR7)
- D-vitamin kötő fehérje (GC)
- D-vitamin 25-hidroxiláz (CYP2R1)
- D-vitamin 24-hidroxiláz (CYP24A1).

Mivel napsugárzás hatása a vizsgálati populációban elhanyagolható, a bőr pigmentáltságát befolyásoló géneket nem vizsgáltuk. A D-hormon előállításáért 1- α -hidroxiláz nem a D-vitamin ellátottságért, hanem a biológiai hatásért felelős elsősorban, így ezt sem vizsgáltuk.

Ezután az SNP-eket két lépcsőben választottuk ki: elsőként a korábbi vizsgálatokban a D-vitamin ellátottsággal összefüggést mutató polimorfizmusokat kerestük meg. Ezek az alábbiak voltak: rs4588, rs7041 (GC); rs4809959, rs927650, rs2209314 és rs2762939 (CYP24A1) [255].

Második lépésben a HapMap adatbázisból kerestük ki azokat az SNP-eket, melyek esetében a minor allél frekvenciája legalább 20%. Ez az alábbi eredménnyel járt: rs1993116, rs10500804, rs11023374 (CYP2R1); rs17467825, rs222054 (GC); rs7935125 (NADSYN1/DHCR7) és rs4809960, rs6022999, rs2181874, rs2585428, rs3787555, rs2244719, rs2762941 (CYP24A1). Ezek közül az rs7935125 (NADSYN1/DHCR7), rs222054 (GC), rs11023374 (CYP2R1), rs3787555, rs2244719, és rs2762941

(CYP24A1) polimorfizmusokról vizsgálatunkkor még nem volt D-vitamin anyagcserével kapcsolatos publikáció a PubMeden.

A vizsgált SNP-k adatait az 1. táblázatban tüntettem fel.

*1. táblázat: a vizsgált SNP-k referencia- és variáns alléljai. *-gal azokat az SNP-eket jelöltük, amelyekre vonatkozóan a vizsgálat értékelésekor az irodalomban nem találtunk eredményt.*

Gén	SNP	ref. allél	var. allél
NADSYN1	rs7935125*	C	A
GC	rs17467825	A	G
	rs222054*	C	G
	rs4588	G	T
	rs7041	A	C
CYP2R1	rs1993116	A	G
	rs10500804	T	G
	rs11023374*	T	C
VDR	rs3890733	C	T
	rs2853564*	G	A
	rs2107301	G	A
	rs2239179	T	C
	rs2239182	T	C
	rs7299460	C	T
	rs4760648	C	T
	rs1544410	G	A
	rs2228570	A	G
	rs7302235*	T	C
CYP24A1	rs4809959	A	G
	rs927650	T	C
	rs4809960	T	C
	rs2209314	T	C

	rs6022999	A	G
	rs2181874*	G	A
	rs2585428	C	T
	rs3787555*	C	A
	rs2762939	G	C
	rs2244719*	C	T
	rs2762941*	G	A

Az alanyok DNS-ét EDTA-val antikoagulált perifériás vérből izoláltuk High Pure PCR Template Purification kittel (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország). A genotipizálás Sequenom MASSarray Analyzer 4 (Sequenom, San Diego, California, USA) tömegspektrométer segítségével történt.

3.1.5. Statisztikai elemzés

A folyamatos változók esetében az adatokat átlag \pm SD formátumban, kategorikus változók esetében frekvencia (százalék) formában tüntettük fel. A normál-eloszlást a formális tesztek mellett a hisztogramok megtekintésével ellenőriztük.

Az egyes paraméterek D-vitamin ellátottságra és a DBP szintre gyakorolt hatását lineáris regresszióval vizsgáltuk. Az univariációs teszten összefüggést mutató paramétereket ($p < 0,1$) többszörös lineáris regressziós modellben, a paraméterek lépésenkénti eltávolításával vizsgáltuk.

A genetikai meghatározók vizsgálata előtt először power számítást végeztünk: ennek során figyelembe vettük egyrészt a f-25OHD eloszlását a jelen populációban, illetve irodalmi adatokat D-vitamin-hiányos egyénekről [256] 8-10 ng/ml standard deviációval, másrészt a f-25OHD szintekben általunk megfigyelt genotípusok közötti különbséget (2,5-4 ng/ml). Így 10 ng/ml SD-t feltételezve, 0,05-ös alfa-érték mellett 80% power értéket kaptunk arra, hogy 2,7-6 ng/ml különbséget ki tudunk mutatni 5%-os és 50%-os allél frekvenciák esetén.

Összesen 19 SNP-t vizsgáltunk. Haplotípus blokk analízissel ellenőriztük linkage equilibrium vagy disequilibrium fennálltát, míg a Hardy-Weinberg eloszlásnak megfelelést Chi-négyzet próbával vizsgáltuk.

A vizsgált SNP-k közül 7-ről publikáltak korábban összefüggést a D-vitamin metabolizmussal. A fennmaradó 12 esetében csak feltételeztük az összefüggés fennállását. Emiatt a p-értékek korrekciójára volt szükség: ehhez a Benjamini-Hochberg módszert használtuk 10%-os false discovery rate-tel. Korrigált $p < 0,05$ értéket fogadtuk el szignifikánsnak.

Az egyes SNP-k és teljes-, szabad-, biológiailag elérhető 25(OH)D₃-vitamin és a D-vitamin-kötő fehérje szintek közötti összefüggést egyutas ANOVA segítségével vizsgáltuk. Azon SNP-ket, amik az univariációs analízisben összefüggést mutattak a D-vitamin szinttel, bevontuk egy multivariációs lineáris regressziós modellbe, ahol a változók fő hatását és az egyes SNP-k interakcióját vizsgáltuk. Kimeneti változók a D-vitamin szintek és a DBP voltak. A modellt nemre és BMI-re korrigáltuk. A statisztikai erő javítása érdekében azokat az SNP-ket és interakciókat, amik a modellben nem mutatkoztak szignifikánsnak, eltávolítottuk.

A statisztikai elemzéseket és adatbázis karbantartását IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0 (IBM Corp. Released 2012 Armonk, New York, USA) programmal végeztük. A haplotípus blokk analízisek HaploView [257] szoftverrel történtek.

3.2. D-vitamin telítő dózis különböző adagolási sémáinak összehasonlítása

3.2.1. Vizsgálati elrendezés és résztvevők

A randomizált, kontrollált, nyílt, többcentrumú vizsgálat célja két eltérő D-vitamin-feltöltési protokoll összehasonlítása volt magyar felnőttek körében, akiket 2018 augusztusa és 2019 május között hét hazai helyszínről toboroztunk. A beválasztási kritériumok az alábbiak voltak:

- 18–70 éves életkor;
- szérum-25-hidroxi-D₃-vitamin < 20 ng/ml;
- a premenopauzában lévő nők mind orális fogamzásgátlót szedtek.

Kizárási kritériumok:

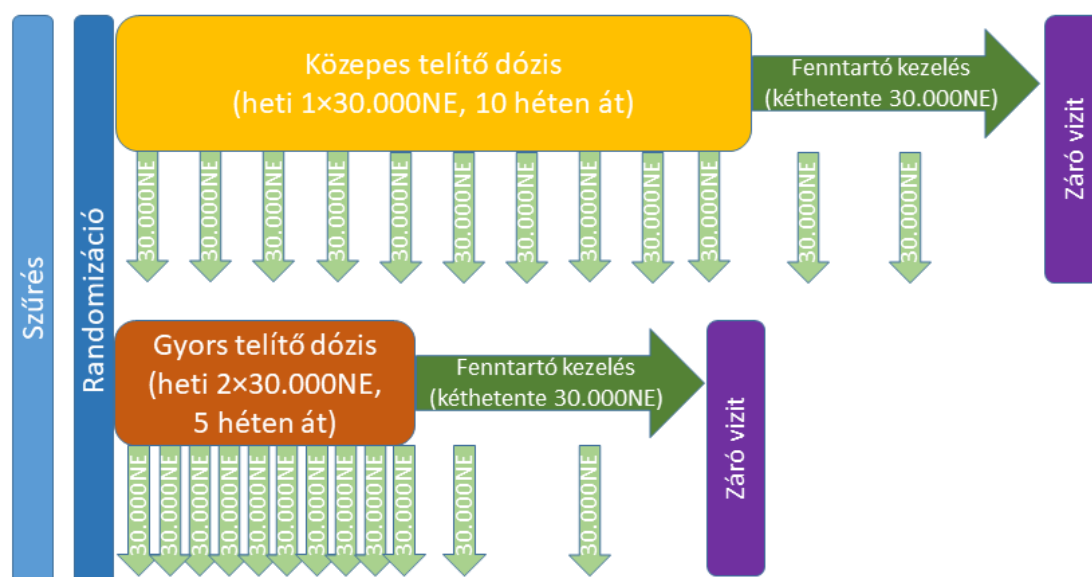
- jelentős obezításban (BMI > 36 kg/m²);
- hypercalcaemia (se-Ca > 2,60 mmol/L);
- hypercalciuria vagy egy éven belül vesekövesség;

- krónikus vesebetegség (CKD \geq 3. stádium);
- szívelégtelenség vagy angina pectoris;
- alkohol- vagy kábítószer függőség;
- bármely olyan komorbid állapot, gyógyszereszedés vagy életmódbeli tényező, amely a D-vitamin-, kalcium- vagy csontanyagcserét befolyásolhatta;
- napi >1000NE D-vitamin szedése a megelőző két hónapban;
- várandósság;
- részvétel beavatkozással járó klinikai vizsgálatban 3 hónapon belül;
- >4 napos, tervezett utazás magas UV-B indexű területre vagy rendszeres (>2/hónap) szolárium használat;
- az alábbi gyógyszerek szedése: szívglikozidok; magnézium, vagy azt tartalmazó antacidok; kolesztiramin; orlistat; tiazidok; mikroszomális enzim induktorok; szisztémás kortikoszteroidok; foszfátok; hashajtók; lipid-felszívódást befolyásoló gyógyszerek.

A vizsgálat során a résztvevőknek 50-es faktorszámú naptej alkalmazása kötelező volt. Étrendi megszorítást nem alkalmaztunk. Minden alany írásbeli beleegyező nyilatkozatot tett. A protokollt az Egészségügyi Tudományos Tanács Etikai Bizottsága hagyta jóvá (27875-0/2018-EKL), továbbá előzetesen regisztráltuk a clinicaltrials.gov (NCT04476511) és az EudraCT (2018-000508-40) adatbázisokban.

A résztvevőket egyszerű véletlen besorolással két csoportba osztottuk: KTD (közepes telítő dózis) és GyTD (gyors telítő dózis). Mindkét kar kereskedelmi forgalomban elérhető, filmtablettás, 30.000 NE-es kolekalciferol-készítményt kapott. A KTD csoportban heti egyszer 30.000NE-t kaptak 10 héten át, míg a GyTD-ban heti kétszer 30.000NE-t 5 héten át. A feltöltést mindkét esetben 4 hetes fenntartó szakasz követte, amelyben kéthetente egyszer 30.000 NE-t szedtek.

Elsődleges végpont a 25(OH)D₃-szint emelkedése volt. Másodlagos végpontok voltak a fenntartó fázis utáni 25(OH)D₃-értékek, a kalcium- és csontanyagcsere-markerek (PTH, CTX, P1NP), valamint a biztonságossági események (mellékhatások, esések, egyensúly- vagy törési események).



3.2.2. Vizsgálatok

A protokoll négy vizitből állt: szűrés, randomizáció, feltöltés vége és fenntartás vége. A szűrő-, valamint a 3. és 4. vizit alkalmával éhomi vérvétel történt 25(OH)D₃, PTH, CTX, P1NP, szérumkalcium és rutin kémiai paraméterek mérésére; vizeletmintákat a reggeli második ürítésből gyűjtöttek.

Az izomerőt és a funkcionális állapotot az ötismétléses székről felállási követtük: a résztvevők karjukat keresztbe téve a mellkason a lehető leggyorsabban álltak fel ülésből ötször; az időt másodpercekben rögzítettük.

3.2.3. Laboratóriumi vizsgálatok

A biztonságossági laborokat (elektrolitok, máj- és vesefunkció, lipidek, glükóz stb.) közvetlenül a mintavételkor analizálták egy Beckman Coulter AU5800 automata készülékkel.

A 25(OH)D₃ mennyiségi meghatározása teljesen automatizált, kompetitív kemilumineszcens immunoassay-jel (LIAISON, DiaSorin) történt; az inter- és intraassay variációs koefficiensek 7,7–10,9%-ig, illetve 4,9–7,7%-ig terjedtek, a funkcionális érzékenység 2,16 ng/ml volt.

A CTX-et és a P1NP-et elektro-kemilumineszcens immunoassay-jel (Elecsys, Roche) határozták meg kalibrációs görbék alapján.

A vizelet-kalciumürítést a kalcium/kreatinin hányadossal becsültük.

3.2.4. Statisztikai elemzés

A folytonos változókat átlag \pm szórás, a kategorikusakat abszolút- és relatív gyakoriság formájában mutatjuk be. A normalitást Shapiro–Wilk-próba, a varianciahomogenitást Levene-teszttel ellenőriztük. A csoportok közötti különbségeket egyszeri ANOVA-val (folytonos adatok) vagy χ^2 -/Fisher-próbával (kategorikus adatok) vizsgáltuk. Összefüggésekhez uni- és multivariábilis lineáris regressziót alkalmaztunk. A feltöltés és fenntartás időbeni hatását, illetve a két kezelési séma közötti interakciót vegyes-modell-ANOVA-val (mixed ANOVA) értékeltük; szignifikáns fő- vagy interakciós hatások esetén Bonferroni-korrekcióval ellátott páronkénti összehasonlítást végeztünk. A kétoldalú, korrigált $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Az analízisek az IBM SPSS Statistics 28.0 (IBM Corp. Released 2021. IBM Corp. Armonk, NY.) szoftverrel készültek.

4. Eredmények

4.1. D-vitamin ellátottságot befolyásoló genetikai tényezők

A vizsgáltba 892 résztvevőt hívtunk meg. Hiányos kórelőzményi vagy demográfiai adatok, illetve vérminták miatt 223 személyt kellett kizárni, így 669 személy adatait elemeztük.

4.1.1. D-vitamin szintek, eloszlás

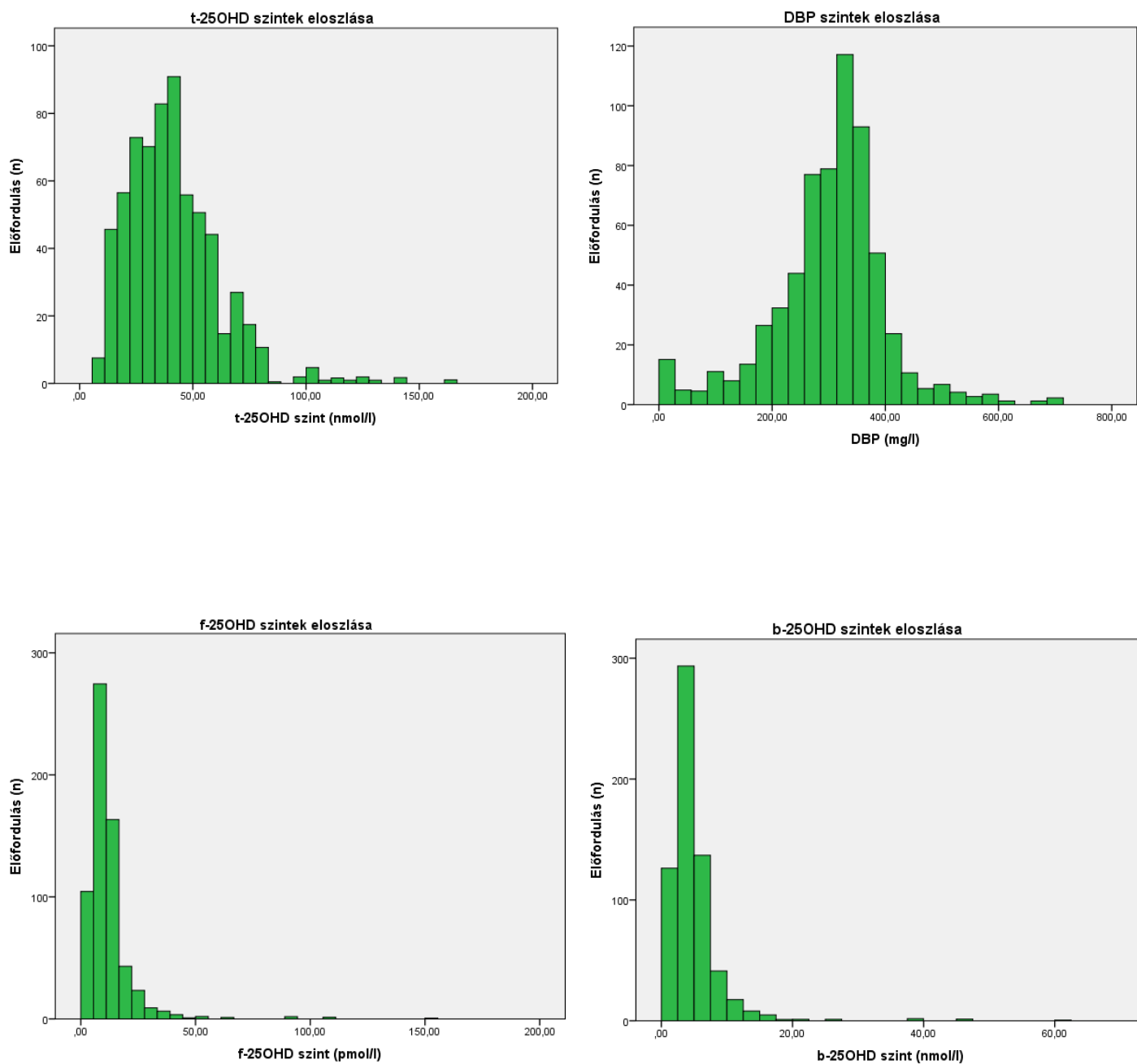
A D-vitamin ellátottsággal, illetve az azt befolyásoló tényezőkkel kapcsolatos eredményeket Dr. Szabó Boglárka ismerteti doktori értekezésében. Itt csak röviden, a modell populáció kialakításához szükséges adatokat mutatom be.

A tél legvégén a populáció átlagos teljes-25(OH)D₃-vitamin szintje (t-25OHD) 41,3±20,6 nmol/l volt. Ha nem vesszük figyelembe azokat, akik D-vitamint tartalmazó gyógyszert vagy étrendkiegészítőt szedtek (n=99), az átlag 38,4±17,2 nmol/l-nek adódott. A D-vitamin szintek követték a normál eloszlást. A populáció 94%-ának volt a t-25OHD szintje a normál tartomány alsó határa (75 nmol/l) alatt. Az alanyok 30%-ának kritikusan alacsony 30 nmol/l alatti t-25OHD szintje volt.

Az átlagos D-vitamin-kötőfehérje szint 308,9±92,1 mg/l volt, az értékek normál eloszlásúak voltak.

A biológiailag elérhető (b-) 25OHD szint átlagosan 4,4±2,5 nmol/l, a szabad (f-) pedig 10,8±6,2 pmol/l volt. A szabad és a biológiailag elérhető 25OHD szintek között nagyon szoros korreláció volt kimutatható ($r=0,98$; $p<0,0001$). Erre tekintettel a későbbi statisztikai elemzésekben már csak a f-25OHD szinttel számoltunk.

A D-vitamin szintek és a DBP eloszlását a 4. ábrán mutatom be.



4. ábra. A teljes-, szabad-, és biológiailag elérhető 25-OH-D-vitamin szintek (t-, f-, b-25OHD), illetve a D-vitamin-kötő fehérje (DBP) szintjeinek eloszlása a vizsgált populációban.

4.1.2. A D-vitamin ellátottságot befolyásoló tényezők

A t-25OHD szinttel a vizsgált paraméterek közül sem a nem, sem az életkor nem mutatott összefüggést. Nem volt különbség a t-25OHD szintek tekintetében a lakóhely típusa, a munkahely vagy a szabadban eltöltött idő szerint sem. Ugyanakkor szignifikánsan

magasabb volt azok t-25OHD szintje, akik szoláriumba jártak vagy a tél folyamán trópusi utazáson vettek részt. Természetesen a D₃-vitamint szedők t-25OHD szintje is magasabbnak adódott. A testtömegindex is negatív korrelációt mutatott t-25OHD szintekkel.

A f-25OHD ugyanakkor alacsonyabb volt a nők körében, amit a magasabb DBP szinttel lehetett magyarázni. Az életkor, a lakóhely típusa, a munkakör és szabadban töltött idő a f-25OHD szinttel sem mutatott összefüggést. Szemben a t-25OHD szinttel, a f-25OHD már nem korrelált a testtömegindex-szel. A trópusi utazás, szolárium használat és a D₃-vitamin szedés a f-25OHD szintekre is pozitív hatással volt.

4.1.3. Modell populáció kialakítása

Egy olyan modell populáció kialakítását tűztük ki célul, melyben a D-vitamin ellátottság, az aktuális D-vitamin szintek a lehetőségekig függetlenítettek a környezeti tényezőktől, így azt elsősorban genetikai tényezők határozzák meg.

Ehhez a fenti, teljes magyar lakosságra reprezentatív populációból kizártuk azokat, akiknél fennállt valamely D-vitamin szintet befolyásoló környezeti tényező:

- trópusi utazás a tél folyamán
- szolárium használat a tél folyamán
- D₃-vitamin tartalmú készítmény szedése a megelőző időszakban.

Így a 669 fős teljes populációból 207 főt zártunk ki, így a vizsgált modell populáció 462 főből állt. A vizsgált személyek jellemzőit a 2. táblázatban mutatjuk be:

2. táblázat: a vizsgált személyek jellemzői. *: szignifikáns különbség a modell, és a kizárt populáció között.

Paraméter	Modell populáció (n=462)	Kizárt személyek (n=207)	p-érték
Életkor (év±SD)	49,6±16,6	49,7±15,4	0,108
Testmagasság (m±SD)	1,70±0,10	1,70±0,09	0,367
Testtömeg (kg±SD)	75,7±15,9	76,3±17,3	0,258
BMI (kg/m ²)	26,0±4,5	26,1±5,0	0,354

<i>Nem (n(%))</i>			
<i>férfi</i>	228 (49%)	86 (42%)	0,066
<i>nő</i>	234 (51%)	121 (58%)	
<i>t-25OHD</i> (<i>nmol/l±SD</i>)	14,73±6,96	20,38±9,55	<0,001*
<i>b-25OHD</i> (<i>nmol/l±SD</i>)	3,89±2,05	7,02±6,72	<0,001*
<i>f-25OHD</i> (<i>pmol±SD</i>)	9,52±5,00	17,34±16,08	<0,001*
<i>DBP (mg/l±SD)</i>	309,2±84,4	285,9±129,8	0,007*
<i>PTH (ng/l±SD)</i>	27,0±18,0	22,6±10,4	0,034*

A modell populáció és a kizárt személyek között nem volt különbség az antropometriai adatokban, lakóhely jellegében és a foglalkozásukban. A kizárt személyek között kissé magasabb volt a nők aránya. A D-vitamin szintek értelemszerűen szignifikánsan nagyobbak voltak a kizárt személyek között, hiszen a kizárási kritériumok mind a D-vitamin szintekre pozitív hatást gyakorló tényezők voltak.

A nemek között a D-vitamin szintekben csekély különbség volt (13,9±6,3 vs. 15,6±7,5 és 8,7±4,7 vs. 10,2±5,2) mind a modell, mind a teljes populációban, a férfiak javára. A testtömeg index-szel egyik D-vitamin szint sem mutatott összefüggést a modell populációban.

4.1.4. Genetikai vizsgálatok eredménye

Minden vizsgált SNP eloszlása megfelelt a Hardy-Weinberg equilibriumnak. A vizsgált SNP-k nem alkottak haplotípus blokkokat, illetve nem álltak linkage disequilibriumban, kivéve az ismertén kapcsolt rs7041 és rs4588 polimorfizmusokat.

Univariációs vizsgálatokban a t-25OHD szinttel szignifikáns összefüggést mutattak az rs7935125 (NADSYN1), az rs222054 és rs7041 (GC), az rs2762939, rs2762941 és rs2209314 (CYP24A1) polimorfizmusok. A DBP szint az rs2209314 (CYP24A1), rs17467825, rs4588 (GC) genetikai variációkkal függött össze. A Benjamini-Hochberg

korrekció után a szabad- és biológiailag elérhető D-vitamin szintek egy vizsgált polimorfizmussal sem mutattak kapcsolatot.

A teljes 25-OHD szinttel az egyutas ANOVA során összefüggést mutató SNP-eket egy multivariációs lineáris modellben vizsgáltuk tovább. A modellt igazítottuk életkorra, nemre és testtömeg indexre is. Két SNP-t (rs2762939 és rs2209314) eltávolítottunk a modellből mert nem javítottak az illeszkedésen. A modellbe beemeltük az rs7935125 (NADSYN1) és rs2762941 (CYP24A1) polimorfizmusok interakcióját is, mert az szignifikáns volt a korrelációs vizsgálat során.

A modellből az eta-square értékek alapján a t-25OHD varianciájának 13,1%-át magyarázzák a vizsgált genetikai markerek, melyből 7,8% az rs7935125 (NADSYN1) és rs2762941 (CYP24A1) polimorfizmusok felelősek. A legkedvezőtlenebb (rs2762941-AA, rs7935125-CC) és a legkedvezőbb (rs2762941-GG, rs7935125-AA) haplotípusok esetében a t-25OHD szintek közötti különbség igen nagy, 89% (20,2 vs. 38,3 nmol/l). A modell részletes eredményeit a 3. táblázatban mutatom be.

3. táblázat: a teljes 25-OHD szint és genotípus összefüggése, multivariációs lineáris modell alapján.

Paraméter	B	Std. error	P-érték	Eta-square
<i>rs7041</i>	-2.959	0.905	0.005	2.6%
	-1.228	0.718		
<i>rs7935125</i>	-5.787	2.844	0.005	2.7%
	-3.031	2.179		
<i>rs2762941</i>	0.830	1.956	0.006	2.6%
	3.291	1.969		
<i>rs222054</i>	-3.008	1.261	0.004	2.7%
	-1.157	1.266		
<i>rs7935125*rs2762941 interakció</i>	4.966	3.299	0.040	2.5%
	1.195	3.209		
	3.247	2.371		
	-0.697	2.378		
<i>Számolt genetikai hatás</i>			NA	13.1%
<i>Nem</i>	1.817	0.617	0.003	2.2%
<i>BMI</i>	-0.130	0.067	0.053	0.9%
<i>Modell</i>			0.000	16.7%

4.1.5. Genetikai polimorfizmusok összefüggése a szérum kalcium-, foszfát és parathormon szintekkel

Univariációs vizsgálatokban a PTH szinttel szignifikáns összefüggést mutatott az alábbi három CYP2R1 polimorfizmus: rs1993116; rs10500804; rs11023374.

A szérum kalcium szinttel CYP2R1 rs1993116 polimorfizmusa mutatott korrelációt. A foszfát szint pedig a VDR rs2853564 és rs4760648 variánsaival korrelált.

A PTH szinttel az univariációs vizsgálattal összefüggést mutató SNP-eket egy multivariációs lineáris modellben vizsgáltuk tovább. A modellt igazítottuk életkorra, nemre és kreatininre is. A modell alapján az rs11023374 és rs1993116 SNP-k mutattak szignifikáns összefüggést a PTH szinttel, függetlenül a nemtől, életkortól és vesefunkciótól. A modell részletes eredményeit a 4. táblázatban ismertetem.

4. táblázat: a parathormon szint és genotípus összefüggése, multivariációs lineáris modell alapján.

Paraméter	B	Std. error	P-érték	Eta-square
<i>rs11023374</i>	3,128		0,045	1.8%
<i>rs1993116</i>	1,789		0,017	1.0%
<i>életkor</i>	30,819		0,000	8,3%
<i>b25OHD</i>	16,313		0,000	4,6%
<i>Modell</i>			0.000	16.7%

4.1.6. Genetikai polimorfizmusok és testtömeg index összefüggése

A testtömegindex-szel az alábbi három polimorfizmus mutatott szignifikáns összefüggést, Benjamini-Hochberg korrekció után is:

- rs11023374 (CYP2R1);
- rs2853564 (VDR);
- rs7302235 (VDR).

Mindhárom SNP-t bevontuk egy többváltozós lineáris modellbe, amelyet igazítottunk a szérum DBP, a t-25OHD és f-25OHD szintekre. Amint az alábbi táblázat is mutatja, az rs2853564 és az rs11023374 továbbra is szignifikáns kapcsolatban maradt a BMI-vel, míg az rs7302235 nem bizonyult szignifikáns tényezőnek. A két szignifikáns SNP a

BMI varianciájának 3,2 %-át magyarázta (egyenként 1,6 %-ot). A legkedvezőbb és a legkedvezőtlenebb haplotípusok közötti hatásméret számottevő, 0,70–1,56 kg/m² (5. táblázat).

5. táblázat: a testtömegindex és a genotípus összefüggése multivariációs lineáris modell alapján.

Paraméter	B	Std. error	p-érték	Eta-square
<i>rs11023374</i>	1,080	0,444	0,015	1,6%
<i>rs2853564</i>	-1,557	0,633	0,014	1,6%
<i>rs7302235</i>	-0,699	0,453	0,124	0,6%
számolt genetikai hatás				3,2%
<i>t-25OHD</i>	0,019	0,082	0,858	0%
<i>f-25OHD</i>	0,296	0,224	0,751	0%
<i>DBP</i>	-0,016	0,005	0,002	2,5%

4.2. D-vitamin telítő dózis különböző adagolási sémáinak összehasonlítása

A vizsgálatban 69 D-vitamin-hiányos személy vett részt. Adataikat a 6. táblázatban mutatom be.

6. táblázat: A vizsgálatban résztvevő személyek adatai a vizsgálat kezdetén.

	Közepes telítő dózis	Gyors telítő dózis	p érték
<i>Alanyok száma</i>	35	34	
<i>Nem</i>			
<i>férfi</i>	30 (86%)	22 (65%)	0,043
<i>nő</i>	5 (14%)	12 (35%)	
<i>Életkor (év)</i>	51,2±14,9	47,7±14,4	0,314
<i>Testtömeg (kg)</i>	72,9±16,7	75,4±15,3	0,520
<i>BMI (kg/m²)</i>	26,4±5,2	26,2±4,9	0,925
<i>Kalcium bevitel (mg/nap)</i>	718,3±450,6	716,7±437,5	0,988
<i>Se 25(OH)D szint (ng/ml)</i>	14,1±4,0	14,9±3,8	0,455

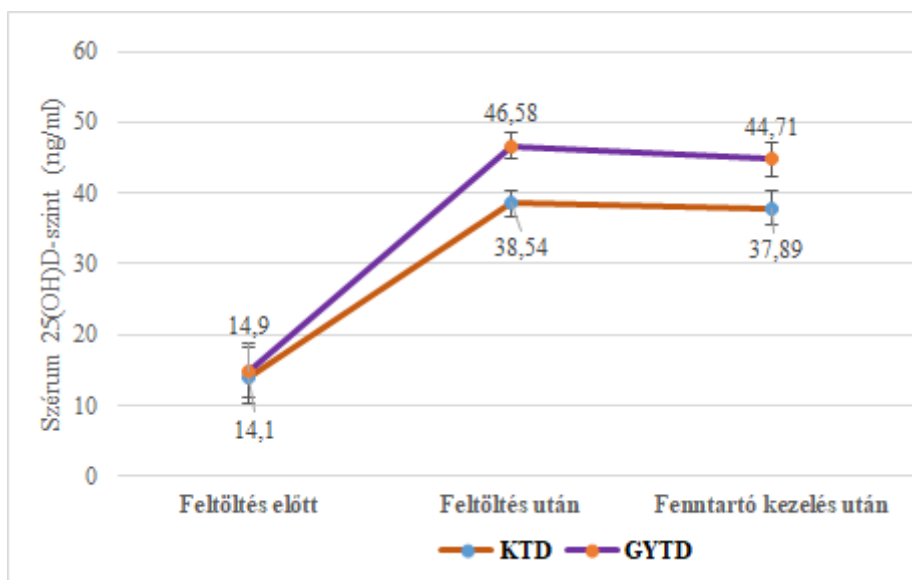
<i>Se Ca (mmol/l)</i>	2,4±0,1	2,4±0,1	0,115
<i>Se P (mmol/l)</i>	1,1±0,1	1,0±0,2	0,024
<i>Vizelet Ca/kreat.</i>	0,3±0,3	0,3±0,2	0,385

A feltöltő fázisban a szérum 25(OH)D₃-vitamin-szintje szignifikánsan, jelentősen emelkedett (a növekedés mértéke 27,84±1,4 ng/ml volt az összes résztvevő esetében). A két telítési séma szerinti csoportok között a kiindulási 25(OH)D₃-szint nem különbözött (14,36±0,65 vs. 14,85±0,65 ng/ml), viszont a telítés végére szignifikáns különbség alakult ki (KTD: 38,80±1,80 vs. GyTD: 46,09±1,80 ng/ml, p=0,006).

A telítő adag hatására bekövetkező 25(OH)D₃-vitamin-szint változást a testsúly és a kezdeti 25(OH)D₃-szint befolyásolta szignifikánsan, míg a résztvevők életkora és neme nem volt rá hatással.

A fenntartó fázisban a 25(OH)D₃-szintek nem csökkentek jelentősen, a két csoport közötti különbség is tartós volt. Az átlagos 25(OH)D₃-szint a telítés végére 38,5±1,84 ng/ml volt az KTD-csoportban és 46,58±1,87 ng/ml a GyTD-csoportban (p=0,003). A fenntartó kezelés végén az értékek 37,89±2,34 és 44,71±2,40 ng/ml-nek adódtak, a különbség szignifikáns maradt (p=0,047).

A GyTD-csoportban az egyének szignifikánsan nagyobb aránya érte el a >30 ng/ml célértéket közvetlenül a feltöltő kezelés után (79% vs. 100%, p=0,011). A fenntartó kezelést követően a két csoportban hasonló volt a céltartományon belüli egyének aránya (74% vs. 84% az KTD-és a GyTD-csoportban, p=0,561; 5. ábra).



5. ábra: 25-OH-D-vitamin szintek alakulása a közepes- és gyors feltöltő dózisok (KTD, GyTD) alkalmazása után, és a fenntartó időszak végén.

A feltöltés hatására a szérumszintje csak igen kis mértékben (0,025 mmol/l-rel), de szignifikánsan nőtt. Két esetben észleltek enyhe hypercalcaemiát – egy esetben az KTD-csoportban (2,71 mmol/l) és egy esetben a GyTD-csoportban (2,68 mmol/l), a feltöltés utáni viziten. A fenntartó kezelés alatt a szérumszintjében nem volt szignifikáns változás. Enyhe hypercalcaemia egy esetben, a mérsékelt telítő csoportban volt megfigyelhető (2,71 mmol/l).

Az átlagos foszfátszintek szintén enyhe, de szignifikáns emelkedést mutattak a feltöltés során. A foszfátszintek elsősorban a GyTD-csoportban nőttek. A fenntartó fázisban nem volt megfigyelhető változás a foszfátszintekben.

A reggeli vizelet kalcium/kreatinin aránnyal számolt kalciumkiválasztását sem a feltöltő adag, sem a fenntartó adag nem változtatta meg szignifikánsan.

Az ismételt székről felállás ideje szignifikánsan javult mind a feltöltő, mind a fenntartó kezelés után. A két csoport között e tekintetben nem volt megfigyelhető szignifikáns különbség.

A P1NP-és CTX-szintekben összességében nem volt megfigyelhető szignifikáns változás. Ugyanakkor a csoportok között a P1NP tekintetében különbség volt

megfigyelhető, a regressziós modell alapján a mérsékelt telítés mellett szignifikáns csökkenés ($-6,35 \pm 15,1$, $p=0,02$), míg a gyors telítési csoportban nominális emelkedés látszott ($2,36 \pm 12,2$, $p=0,526$).

A vizsgálat teljes időtartama alatt két esét jelentettek a résztvevők. Mindkettő a mérsékelt feltöltési csoport feltöltő fázisában történt. A fenntartó adagolás során esét nem jelentettek.

5. Megbeszélés

A D-vitamin megfelelő szintje alapvető fontosságú az emberi egészség számos területén. A D-vitamin-hiány világszerte elterjedt, földrajzi szélességtől és gazdasági helyzettől függetlenül sok országban gyakori. Hagyományosan a csont- és kalcium-anyagcserével kapcsolták össze, de ma már ismert, hogy a D-vitamin hiánya számos egyéb kedvezőtlen egészségkimenetellel társul. Ilyen a szív-érrendszeri betegségek, anyagcserezavarok, cukorbetegség, bizonyos daganatok, valamint az elhízás is. Különösen figyelemre méltó az elhízás és a D-vitamin státusz közötti fordított kapcsolatot: az elhízott egyének körében gyakoribb a D-vitamin-hiány, bár az ok-okozati összefüggés nem tisztázott, és több mechanizmus együttes hatása valószínűsíthető. A D-vitamin státuszt számos környezeti tényező (pl. napsugárzás, étrend, évszak) befolyásolja, ugyanakkor ikervizsgálatok és genetikai kutatások rámutattak a genetikai háttér szerepére is. Kutatásunk ezen a területen három fő kérdést vizsgált: (1) mely genetikai tényezők – különös tekintettel néhány kulcsgén SNP-variánsaira – befolyásolják a 25(OH)D₃-vitamin szintet; (2) hogyan függ össze a testtömegindex (BMI) genetikai meghatározottsága a D-vitamin útvonal bizonyos géneivel; valamint (3) milyen különbségek vannak két eltérő D-vitamin pótlási séma hatékonyságában és biztonságosságában D-vitamin-hiányos egyének kezelésében.

5.1 Genetikai eredmények megbeszélése

A D-vitamin szint genetikai meghatározottsága: országosan reprezentatív mintán végzett vizsgálat előzetes információt szolgáltat a teljes, szabad és biológiailag elérhető D-vitamin-szintek (t-25OHD, f-25OHD, b-25OHD) genetikai meghatározóiról oly módon, hogy a vizsgálati terv segítségével minimalizálta a környezeti és egyéb nem genetikai hatásokat. A vizsgált SNP-k a t-25OHD-szint variációjának 13,1 %-át magyarázták. A GC-gén polimorfizmusai a teljes, de nem a szabad vagy a biológiailag elérhető 25OHD-szintekkel mutattak kapcsolatot. Két új SNP-t (NADSYN1 és CYP24A1 génekben) azonosítottunk, amelyek gyenge asszociációt mutattak az f-25OHD-szinttel, azonban a Benjamini–Hochberg-korrektíót követően a kapcsolat már nem bizonyult szignifikánsnak. Genetikai hatás kizárólag a t-25OHD-szinteken volt kimutatható, $R^2 = 0,13$ értéket elérve.

A testtömegindex és a D-vitamin génjei közötti kapcsolatot két polimorfizmus – egy a VDR (D-vitamin receptor) génben és egy a CYP2R1 génben – szignifikáns összefüggést mutatott a BMI-vel. Érdekes módon ez a kapcsolat a D-vitamin-szinttől függetlenül is fennmaradt, vagyis ezen genetikai variánsok a testtömeg-index alakulására önálló, D-vitamin státuszától független hatást gyakorolhatnak. Ugyan a hatás mértéke nem nagy (a BMI varianciájának néhány százalékát magyarázzák), de rámutat egy esetleges biológiai kapcsolatra a D-vitamin útvonal génjei és az elhízás között.

A parathormon szintje két vizsgált polimorfizmussal mutatott összefüggést, mely hatását többváltozós lineáris regressziós modellel is megerősítettük. A hatás a variancia csak kis százalékért felel, de vizsgáltunk fókuszában nem a PTH/kalcium-anyagcsere útvonal, hanem a D-vitamin ellátottság állt. Mindkét polimorfizmus PTH szinttel való összefüggését elsőként figyeltük meg.

Kutatásunk a jelzett négy gén (NADSYN1, GC, CYP24A1, CYP2R1) variánsaira fókuszált, amelyek szerepét korábbi nemzetközi vizsgálatok is kiemelték. Vizsgálatunkban a napsugárzás hatását a lehetőségekig kizártuk, így a bőrpigmentációt befolyásoló géneket nem vizsgáltuk. Mivel minden, a D-vitamin ellátottságot befolyásoló egyéb környezeti tényező hatását is minimalizálta a vizsgálati elrendezés, vizsgálatunk az első olyan, amely más hatásoktól a lehetőségekig függetlenített populáción vizsgálta a genetikai polimorfizmusok hatását a D-vitamin ellátottságra.

Korábbi vizsgálatokban a t-25OHD-szintek genetikai meghatározottsága rendkívül változó volt: 1–4 %-tól egészen 77 %-ig terjedt. A GWA-vizsgálatok általában nagyon alacsony örökletességet mutattak (mindössze 1–4 %) [229, 237], míg ikervizsgálatok (TwinsUK – 43 %, kanadai ikerkohorsz – 77 %) jóval nagyobb genetikai hatást jeleztek [258, 259]. Ezzel összhangban a linkage vizsgálatok is jelentős örökletességet (28–80%) mutattak [245, 247]. A módszertani különbségeken túl az eltérő eredmények hátterében a D-vitamin-szinteket befolyásoló környezeti és életmódbeli tényezők eltérő súlya állhat.

A legnagyobb eddigi genom-wide asszociációs vizsgálatok szerint az általunk is vizsgált gének tartoznak a t-25OHD legfőbb genetikai determinánsai közé. Például egy 79 ezer főt meghaladó GWAS hat nagy lókuszt jelentőségét mutatta ki, köztük a GC gén (a D-vitamin kötő fehérje génje), a DHCR7/NADSYN1 régió, valamint a CYP2R1 és a CYP24A1 gének hatását [260]. Ezek a variánsok összességében a 25(OH)D₃-vitamin

szint varianciájának kb. 7–8%-át magyarázzák a kaukázusi populációban. Saját eredményeink, miszerint e gének polimorfizmusai befolyásolják a D-vitamin szintet, összhangban vannak az irodalmi adatokkal és sikeresen igazolták e lókuszek jelentőségét a magyar populációban is. Két új SNP-t azonosítottunk a t-25OHD-szinttel összefüggésben: rs7935125 (NADSYN1) és rs2762941 (CYP24A1). Mindkettő nem kódoló régióban helyezkedik el, így közvetlenül nem módosítja az aminosavsorrendet, de befolyásolhatja a transzkripciós faktorok kötődését. Ezt támasztja alá, hogy az rs7935125 az Ikaros-családba tartozó cinkujjas fehérjék-1 (IKZF1) kötőhelyén, míg az rs2762941 több transzkripciós faktor (BCL3, MAFF, MAFK, SIN3A) kötőhelyének környékén található [261].

Lehetséges továbbá, hogy az rs7935125 kapcsolatban áll az rs12785878-cal (amelyet GWA-vizsgálat hozott összefüggésbe a t-25OHD-szinttel), bár ez szintén intronikus SNP [229, 261].

Egy eddig nem ismert összefüggést is kimutattunk az rs222054 (GC) és a t-25OHD-szint között. Ezt a polimorfizmust korábban vizsgálták, de mivel nem felelt meg a Hardy–Weinberg-egyensúly kritériumainak, kizárták a további elemzésből [246]. Funkciójáról vagy más polimorfizmusokkal való kapcsoltságáról a szakirodalom nem közöl részleteket.

Negyedikként az rs7041 (GC) mutatott szignifikáns asszociációt a t-25OHD-szintekkel. Ez a D-vitamin-kötő fehérje jól ismert polimorfizmusa, melyet több tanulmány is összefüggésbe hozott a keringő t-25OHD-szinttel [230, 262, 263]. Vizsgálatunk megerősítette ezt a kapcsolatot.

Az rs2762941 mellett két további CYP24A1 SNP (rs2762939 és rs2209314) mutatott univariációs analízisben összefüggést a t-25OHD-szinttel, azonban a BMI-re, életkorra és nemre történő korrekció után a kapcsolat megszűnt. Barry és mtsai kimutatták az rs2762939 genotípus és a D-vitamin-szint kapcsolatát egészséges, nem-hispán felnőttekben, ám ott a BMI hatását nem vették figyelembe, ami eltérő következtetésekhez vezethetett [234].

A szérumban lévő DBP-szintek genetikai meghatározóit is vizsgáltuk. Megerősítettük az rs4588 szerepét, és nem szignifikáns kapcsolatot találtunk az rs7041 és a DBP-szintek között

[264, 265]. Szignifikáns asszociációt mutattunk ki viszont az rs17467825 és az rs2209314 SNP-k, valamint a DBP-szint között. Az rs17467825 a GC gén 3'-UTR régiójában helyezkedik el, és erős linkage equilibriumban van funkcionális variánsokkal, amelyek befolyásolják a DBP mRNS-stabilitását. Song és mtsai kimutatták, hogy ez az SNP haplotípust alkot az rs7041-gyel és az rs4588-cal, és hatással van a DBP-szintre parodontitises betegeknél [265].

Eredményeink megerősítik az rs4588 és az rs17467825 fontosságát a DBP-metabolizmusban, ugyanakkor nem tudtuk hatást kimutatni a t-25OHD-szintekre, jóllehet korábbi vizsgálatok különböző etnikai csoportokban már találtak ilyen összefüggést [266, 267].

A legújabb adatok arra utalnak, hogy a klasszikus D-vitamin anyagszere-géneken túl további genetikai tényezők is közrejátszanak: például egy koreai GWAS egy új gént (ACTE1P) és a PDE3B gén variánsát is azonosította a D-vitamin-hiány kockázati tényezőjeként, a már ismert GC és NADSYN1 mellett [268]. Emellett egy 2023-as, több etnikumra kiterjedő vizsgálat 143 független genetikai lókuszt talált, amelyek összefüggenek a D-vitamin szinttel, köztük olyan géneket is, amelyek a bőrpigmentációban és a lipidanyagcserében vesznek részt [269]. Az eredmények megerősítik, hogy a D-vitamin státusz genetikai háttere összetett: van néhány nagyobb hatású génvariáns (mint amelyeket vizsgáltunk), de mellettük számos kisebb hatású variáns és gén-környezet interakció befolyásolja a szinteket. Érdekes módon egyes variánsok hatása a környezeti tényezőktől is függhet: például kimutatták, hogy bizonyos GC és CYP2R1 SNP-k hatása nyáron jelentkezik erősebben, míg télen – amikor a napsugárzás limitált – nem szignifikáns. Összességében saját genetikai eredményeink jól illeszkednek a nemzetközi trendekbe, és hozzájárulnak ahhoz a növekvő mennyiségű adathoz, amely a személyre szabott D-vitamin ellátás genetikai aspektusát hangsúlyozza.

A szabad vagy biológiailag elérhető 25OHD-szintek genetikai meghatározóiról kevés adat áll rendelkezésre. Yao és mtsai hipotézis-vezérelt elemzésben vizsgáltak bizonyos SNP-eket, de egyik sem mutatott jelentős kapcsolatot [270]. Hasonlóképpen jelen vizsgálatunkban sem találtunk szignifikáns asszociációt az f-25OHD-szint és a vizsgált SNP-k között. A genetikai hatás az f-25OHD esetében jóval kisebbnek bizonyult, mint a t-25OHD-nél. Meglepő módon a DBP-szintekkel összefüggő SNP-k nem mutattak

kapcsolatot az f-25OHD-szinttel populációinkban. Ennek oka szelekciós is lehet: a D-hormon számos létfontosságú élettani folyamathoz szükséges, rendkívül konzervált molekula. A biológiailag elérhető D-hormon szint változás olyan károsodáshoz, funkcióvesztéshez vezethet, ami miatt az azt jelentősen befolyásoló genetikai variációk nem tudtak elterjedni.

A testtömegindex genetikai hátterét illetően számos, a D-vitamin anyagcserétől független gén ismert (pl. FTO, MC4R és több száz további lókuszt) mint az elhízás fő hajlamosító tényezői [271]. Ugyanakkor egyre több adat utal arra, hogy a D-vitamin útvonal bizonyos génei is befolyásolhatják az elhízás kockázatát vagy a testösszetételt [272-275], ezért a rendelkezésre álló genetikai adatainkat a BMI-vel összefüggésben is megvizsgáltuk. Vizsgálatunkban a VDR gén (rs2853564) és a CYP2R1 egy variánsáról (rs11023374) igazoltuk, hogy összefüggést mutat a testtömeg-indexszel. A hatás független volt a D-vitamin szérumszintjétől. A VDR (D-vitamin-receptor) gén polimorfizmusait korábban több metabolikus betegség, köztük az elhízás vonatkozásában is vizsgálták. Szisztematikus áttekintések szerint [276] bizonyos VDR génvariánsok (klasszikus SNP-jei, pl. TaqI, BsmI, FokI, ApaI) és az elhízás között van kapcsolat: például a TaqI polimorfizmus T allélje magasabb obezitás-kockázattal és nagyobb derék-csípő körfogattal társul, míg a BsmI SNP BB genotípusa szintén hajlamosító az elhízásra és 2-es típusú diabetesre [277-279]. Ezek az irodalmi adatok alátámasztják, hogy a VDR gén variánsai hatással lehetnek az adipogenezisre vagy az energia-háztartásra, ami összhangban van az általunk talált összefüggéssel. Ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy nem minden tanulmány jut ugyanilyen következtetésre: vannak ellentmondó eredmények is, és a VDR polimorfizmusok és obezitás kapcsolatát nem minden esetben igazolták, így további vizsgálatokkal erősítendő meg ezen kapcsolat általános érvényessége.

A CYP2R1 gén esetében eddig kevesebb figyelem irányult az elhízással való közvetlen kapcsolatra. A CYP2R1 variánsok elsősorban a D-vitamin szint variációjának magyarázatában ismertek. Felmerül annak lehetősége, hogy a génnek a D-vitamin anyagcserén túli, pleiotróp hatásai is lehetnek az anyagcserére. Ezt támasztja alá néhány újabb külföldi vizsgálat is: brazil serdülők körében például kimutatták, hogy a CYP2R1 rs10741657 SNP homozigóta minor genotípusa jelentősen növelte a metabolikus szindróma kockázatát (OR ~3,9) és a hajlamot hiperglikémiára [280]. Bár a populáció és a vizsgált végpontok különböznek, ezek az adatok összességében arra utalnak, hogy a D-

vitamin metabolizmus-gének variánsai (mint a CYP2R1 vagy a VDR) komplex módon hathatnak az anyagcserére és az elhízással összefüggő kockázati tényezőkre is.

Tanulmányunknak vannak korlátai: a vizsgálat keresztmetszeti jellegű, így nem értékeltük, hogyan változik a genetikai hatás a t-25OHD-szintre D-vitamin-kezelés vagy UV-B expozíció után. A szabad és biológiailag elérhető 25OHD-szinteket nem mértük, hanem számítottuk, mivel a direkt meghatározás a vizsgálat idején nem állt rendelkezésre. Korábbi eredmények alapján azonban a számított és mért értékek szorosan korrelálnak, így a számított adatok megbízhatónak tekinthetők [254]. Az f-25OHD számításánál nem vettük figyelembe a GC genotípusokat, hanem a széles körben használt Bikle-képletet alkalmaztuk [254], amely csak a DBP- és a szérumalbumin-koncentrációt tartalmazza, de nem számol a DBP affinitás genetikai variációival. Bár a GC genotípust is figyelembe vevő Chun-módszer [281] pontosabb lehet, ez elsősorban etnikailag heterogén populációkban bír jelentőséggel [282, 283]. Mi egy etnikailag homogén populációval dolgoztunk, és következetesen kívántunk maradni korábbi, genetikai adatok nélkül készült publikációkhoz. Ráadásul, mivel a t-25OHD-szint rendkívül alacsony, a Chun-féle eSS-modellek f-25OHD-értékei korábbi beszámolóknak megegyeztek a Bikle-képlettel, így a torzítás minimális. Nem vizsgáltunk minden, a 25OHD-útvonalban szereplő gént és azok összes SNP-jét; például a CYP3A4, CYP27A1 és CYP27B1 kimaradt. A vizsgált SNP-k kiválasztását korábbi bizonyítékok alapján végeztük, új, ígéretes célpontokat is bevonva.

A vizsgálat erőssége a minta országosan reprezentatív volta. Populációnkban a vizsgálatot a tél legvégén végeztük, amikor a 25(OH)D szintek a legalacsonyabbak. Ezzel minimalizáltuk az egyéni különbségeket okozó évszakos ingadozást. Kizártuk azokat, akiknél a környezeti tényezők torzíthatnak volna (pl. szolárium használat, D-vitamin szedés, speciális étrend), így a genetikai faktorok hatása relatíve felerősödhetett és nagyobb eséllyel mutathattunk ki genetikai hatásokat az egységesen alacsony D-vitamin-szintű alanyokban.

Erősségnek tartjuk, hogy vizsgáltuk nemcsak a teljes 25(OH)D szintet, hanem a szabad és bioaktív 25(OH)D frakciót is, lehetővé téve, hogy a D-vitamin-kötő fehérje (GC gén terméke) variánsainak hatását pontosabban megértsük. Ezek a megközelítések növelik az eredményeink megbízhatóságát és újszerű értékét.

5.2 D-vitamin pótlási sémák eredményeinek megbeszélése

Egy randomizált, kontrollált vizsgálatban összevetettük egy lassabb D-vitamin pótlási protokollt (heti egyszer 30.000 NE D₃ 10 héten át) egy gyorsított sémával (heti kétszer 30.000 NE D₃ 5 héten át). Mindkét kezelési mód összdózisa azonos volt (300.000 NE). Eredményeink szerint mindkét módszer hatékonyan és biztonságosan korigálta a D-vitamin hiányt, azonban a rövidebb időtartamú, intenzívebb adagolás gyorsabb és nagyobb mértékű 25(OH)D₃ szint emelkedést eredményezett az első 5 hét alatt. Ugyanakkor a kezelés végére (10–14. hét) a 25(OH)D₃ szintek mindkét csoportban a megfelelő tartományba kerültek.

Az Institute of Medicine (IOM) és az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) a D-vitamin-pótlás felső határértékét 4000 NE/napban határozza meg [284]; vizsgálatunkban azonban egyik csoportban sem figyeltünk meg kedvezőtlen hatásokat – hypercalciuriát, a csontanyagcsere-markerek kedvezőtlen változását, eséseket vagy töréseket. Emellett igazoltuk, hogy a sikeres telítést követően a kéthetenként adott 30.000 NE fenntartó dózis képes megőrizni a korábban elért megfelelő D-vitamin-ellátottságot.

A 25(OH)D₃ viszonylag hosszú, 11–30 nap közötti felezési ideje miatt a napi D-vitamin-adagolást általában nem tartják szükségesnek. Számos tanulmány azonban arra utal, hogy bár egyetlen nagy dózis gyorsan emelheti a 25(OH)D₃-szintet [263], ez a hatás rövid ideig tart [285]. Nagyon nagy (>100.000 NE) egyszeri dózisokkal összefüggésben kedvezőtlen eseményeket, például fokozott esés- és töréskockázatot [286], valamint a csontreszorpció markereinek emelkedését írták le [287]. Ezzel szemben a kisebb heti vagy havi adagok általában hatékonyak és biztonságosnak bizonyultak, és a heti vagy havi terápia az adherencia szempontjából is optimálisnak tűnik [288-290].

Korábban munkacsoportunk kimutatta, hogy azonos kumulatív dózisu D-vitamin napi, heti és havi adagolása egészséges, D-vitamin-hiányos páciensekben hasonlóan hatékony és biztonságos. Ugyanakkor azt is megfigyeltük, hogy a napi 1000 NE-nek megfelelő adag nem elegendő a 25(OH)D₃ 30 ng/ml-es célértékének eléréséhez három hónap alatt [291].

A lassú, fokozatos pótlás a legtöbb esetben megfelelő, olyan klinikai helyzetekben, ahol a D-vitamin-szint gyors normalizálása szükséges, nagyobb telítési dózis rutinszerű

alkalmazása válhat indokolttá. Ez klinikailag akkor előnyös, ha a D-vitamin státusz mielőbbi rendezésére törekszünk (például téli időszak végén, vagy bizonyos akut helyzetekben, pl. combnyaktörött betegekben). Korábban is felmerült, hogy a D-vitamin gyors pótlása hasznos lehet például műtétek előtt vagy egyes fertőzések kapcsán – újabb adatok szerint a gyors pótlás potenciálisan javíthat bizonyos kimeneteleket, például csökkentheti a műtéti szövődeményeket vagy a fertőzés (pl. COVID-19 betegség) súlyosságát.

De Niet és mtsai két adagolási sémát – napi 2000 NE-t, illetve havi 50.000 NE-t, azonos, 150.000 NE-s kumulatív dózissal – hasonlítottak össze [292]. Mindkét beavatkozás elegendő volt ahhoz, hogy a 25(OH)D₃-szintet a 105. napra 20 ng/ml fölé emelje valamennyi betegnél, ugyanakkor az átlagos szérumszint egyik csoportban sem érte el a 30 ng/ml-t. Az első 14 napban a nagyobb dózissal kezelt csoportban szignifikánsan magasabb 25(OH)D₃-szintet mértek, ám ez a különbség a 25. napra eltűnt.

Mérsékelt D-vitamin-hiányban szenvedő alanyok körében Shieh és mtsai átlagosan 27,6±12,2 ng/ml-es 25(OH)D₃-szint-emelkedést tapasztaltak ötszöri, heti két alkalommal adott 50.000 NE-s protokoll mellett [293]. Ez az intervenció az ötödik hét végére >50 ng/ml-es átlagos 25(OH)D₃-szintet eredményezett. Mi kisebb kumulatív dózissal (300.000 NE) értünk el 46,09 ± 1,80 ng/ml átlagos 25(OH)D₃-szintet az MLD-csoportban öt hét alatt, a betegek többségénél megfelelő D-vitamin-ellátottság alakult ki.

A teljes adag rövidebb idő alatt történő beadása vizsgálatunkban szignifikánsan magasabb 25(OH)D₃-szintet eredményezett. A gyorsabb telítés hatása a négyhetes fenntartási fázis végéig fennmaradt. Eredményeink összhangban állnak Fassio és mtsai megfigyeléseivel, ahol a heti 50.000 NE-s dózis magasabb 25(OH)D₃-szintet eredményezett, mint a kéthetenkénti 100.000 NE [193]. Terápiás válaszuk is hasonló: a heti 50.000 NE-t kapó résztvevők 92 %-a érte el a 30 ng/ml-t meghaladó 25(OH)D₃-szintet; vizsgálatunkban ez az arány az GyTD-csoportban (heti 2×30 000 NE) öt hét után 100 % volt. Megjegyzendő, hogy kiinduláskor a 25(OH)D₃-szint nálunk kissé magasabb volt. Fassio és mtsai azt is igazolták, hogy a telítési szakasz (napi 10.000 NE nyolc héten át) által elért D-vitamin-szint napi 1000 NE-s fenntartó dózissal nem tartható fenn [193]. Ezzel szemben vizsgálatunkban a kéthetenként adott 30.000 NE-s fenntartó adag (napi átlag 2142 NE) megakadályozta a D-vitamin-szint szignifikáns csökkenését.

Vizsgálatunkban alkalmazott D-vitamin-adag biztonságosnak bizonyult. A vizelet kalciumszintje nem emelkedett, hypercalciuria nem alakult ki, és csupán enyhe hypercalcaemiát észleltünk három esetben a telítési fázis végén (kettőt az KTD- és egyet az GyTD-csoportban). Egyik sémánál sem értük el a toxicitás határát (100 ng/ml feletti t25OHD szintet).

Csonttörés nem fordult elő, az esések száma pedig statisztikai elemzésre túl alacsony volt. Az irodalmi adatokkal [294] összhangban a székről ismételt felállási teszt egyértelmű izomerő-javulást mutatott.

A csontbiokémiai paraméterek közül a csontreszorpciót jelző CTX nem változott a vizsgálat során, míg a csontképződés markere, a PINP az KTD-csoportban emelkedett. Eredményeink arra utalnak, hogy ez a D₃-vitamin-adagolási séma nem jár azokkal a kedvezőtlen csontanyagcsere-hatásokkal, amelyeket egyes tanulmányok az egyszeri nagy dózisokkal összefüggésben leírtak [287].

Tanulmányunknak vannak bizonyos korlátai. Először is, a résztvevők száma viszonylag alacsony volt. A kis esetszám miatt azonban további kutatások szükségesek annak igazolására, hogy ez az adagolási rend a mindennapi gyakorlatban is biztonságosan alkalmazható. Másodszor, a specifikus kizárási kritériumok miatt biztonságossági adataink nem tükrözik maradéktalanul a valós élet valamennyi aspektusát. Harmadszor, jóllehet a szérum 25(OH)D₃ mérésének arany standardja a folyadékkromatográfiás–tandem tömegspektrometria, eredményeink a könnyebben elérhető kemilumineszcens immunoassay-n alapulnak. Végül, bár a D-vitamin-hiány kezelésének legfontosabb szempontját a klinikai kimenetek jelentik, ezek értékelése meghaladta jelen vizsgálat kereteit. A vizsgálat nyílt (open-label) jellege nem igazán jelent torzítást, mivel a primer végpontunk egy objektív laboratóriumi érték (szérum 25(OH)D₃ koncentráció) volt.

A klinikai vizsgálatunk erőssége, hogy prospektív, kontrollált és randomizált felépítésű volt, ami erős evidencia szintet biztosít a két adagolási séma összehasonlításához. A bevont alanyok homogén módon D-vitamin-hiányosak voltak, így a kiindulási állapot hasonló volt a csoportok között. További erősség, a biztonságosság megfelelő monitorizálása volt.

6. Következtetések

Kutatásunk hozzájárult a D-vitamin-hiány komplex kérdéskörének jobb megértéséhez mind a genetikai, mind a klinikai vonatkozásokban. Megerősítettük, hogy a 25(OH)D₃ szint jelentős részben genetikai tényezők által befolyásolt, beleértve a NADSYN1/DHCR7, GC, CYP2R1 és CYP24A1 géneket, amelyek a D-vitamin anyagcsere kulcspontjai. Igazoltuk, hogy a biológiailag elérhető- és a szabad D-vitamin szint független a genetikai polimorfizmusoktól. Feltártunk több eddig nem ismert, a teljes-25(OH)-D₃-vitamin szintet befolyásoló variánst. Új összefüggést tártunk fel a D-vitamin útvonal gének és az elhízás között, amikor kimutattuk, hogy egy VDR és egy CYP2R1 polimorfizmus – a D-vitamin szinttől függetlenül – kapcsolatban áll a testtömegindexszel.

A gyors D-vitamin-pótlás két sémájának összehasonlításával végzett vizsgálatunkkal megállapítottuk, hogy a 300.000 NE összdózisú, heti 2×30.000NE adagú pótlás hatékonyabb, de ugyanolyan biztonságos, mint a heti 1×30.000NE adagolása. Ezzel a hiányállapot gyorsan rendezhető anélkül, hogy jelentős mellékhatásokat okoznánk.

Természetesen további kutatások szükségesek eredményeink megerősítéséhez és kiterjesztéséhez, de úgy véljük, hogy munkánk egy szilárd tudományos alapot nyújt ahhoz, hogy a D-vitamin-hiány prevenciója és kezelése a jövőben hatékonyabbá és célzottabbá váljon.

7. Összefoglalás

Bevezetés: A D-hormon a klasszikus kalcium- és csontanyagcsere szabályozási szerepén túl szerepet játszik az immunválasz, kardiometabolikus folyamatok, daganatképződés mechanizmusában is. A D-vitamin-ellátottságot számos környezeti tényező befolyásolja, ugyanakkor egyre több bizonyíték utal arra, hogy a genetikai hatás is jelentős.

Célkitűzés: Első lépésben a D-vitamin-ellátottság genetikai meghatározottságát vizsgáltuk olyan modellpopulációban, ahol a környezeti tényezők hatása minimálisra csökkentett. Következő vizsgálatunkban két különböző D-vitamin-feltöltési séma hatásosságát és biztonságosságát hasonlítottuk össze D-vitamin-hiányos felnőtteken.

Módszerek: A genetikai vizsgálat keresztmetszeti elrendezésben, a felnőtt magyar lakosságra reprezentatív mintán történt. A környezeti tényezőktől függetlenített modellpopuláció 472 főt tartalmazott. A genetikai analízis a D-vitamin-anyagcsere kulcsgénjeinek 19 SNP-jére terjedt ki, lineáris regressziós modellekkel és haplotípus-analízissel.

A D-vitamin-kezelés két módját randomizált, kontrollált, nyílt vizsgálatban elemeztük: heti $1\times$ vs. vagy $2\times 30.000\text{NE}$ kolekalciferol 10 vs. 5 héten át (mindkét csoportban 300.000NE összdózis). A fő végpont a $25(\text{OH})\text{D}_3$ -szint emelkedése volt.

Eredmények: Több SNP mutatott szignifikáns összefüggést a teljes $25(\text{OH})\text{D}_3$ -szinttel, köztük az rs7935125 (NADSYN1) és az rs2762941 (CYP24A1). A vizsgált genetikai variánsok a teljes D-vitamin-szint varianciájának 13,1%-át magyarázták. A szabad és biológiailag elérhető D-vitamin-szintek nem függték a genetikai státusztól.

Mindkét D-vitamin kezelési séma hatékonyan növelte a $25(\text{OH})\text{D}_3$ -szintet, azonban a gyors telítés szignifikánsan nagyobb emelkedést eredményezett ($46,09\pm 1,80$ vs. $38,80\pm 1,80$ ng/ml, $p=0,006$), és a különbség a fenntartó fázis után is megmaradt. Mindkét séma biztonságos. Az izomerő mindkét csoportban javult.

Következtetések: A vizsgálat elsőként igazolta környezeti tényezőktől függetlenített populációban a D-vitamin-ellátottság genetikai meghatározottságát. A szabad és biológiailag elérhető D-vitamin-szintek genetikai függetlensége a hormonális rendszer konzervált jellegére utal. A D-vitamin-pótlási vizsgálat eredményei szerint a gyors telítési séma hatékonyabban emeli a $25(\text{OH})\text{D}_3$ -szintet, míg mindkét protokoll biztonságos és eredményes. Az eredmények hozzájárulnak a D-vitamin-hiány genetikai hátterének megértéséhez és a személyre szabott pótlási stratégiák fejlesztéséhez.

8. Irodalomjegyzék

1. Pietrzak, K. (2019) Christiaan Eijkman (1856-1930). *J Neurol*, 266: 2893–2895.
2. Mettier, S.R. and W.B. Chew. (1932) The Anemia of Scurvy : Effect of Vitamin C Diet on Blood Formation in Experimental Scurvy of Guinea Pigs. *J Exp Med*, 55: 971–979.
3. Norum, K.R. and H.J. Grav. (2002) [Axel Holst and Theodor Frolich--pioneers in the combat of scurvy]. *Tidsskr Nor Laegeforen*, 122: 1686–1687.
4. Piro, A., G. Tagarelli, P. Lagonia, A. Tagarelli, and A. Quattrone. (2010) Casimir Funk: his discovery of the vitamins and their deficiency disorders. *Ann Nutr Metab*, 57: 85–88.
5. O'Riordan, J.L. and O.L. Bijvoet. (2014) Rickets before the discovery of vitamin D. *Bonekey Rep*, 3: 478.
6. MozoÅowski, W. (1939) Jäccaron;drzej Sniadecki (1768–1838) on the Cure of Rickets. *Nature*, 143: 121–121.
7. Mellanby, E., *A further investigation of the part played by accessory food factors in the aetiology of rickets*. 1918.
8. McCollum, E.V., N. Simmonds, J.E. Becker, and P.G. Shipley. (1922) STUDIES ON EXPERIMENTAL RICKETS: XXI. AN EXPERIMENTAL DEMONSTRATION OF THE EXISTENCE OF A VITAMIN WHICH PROMOTES CALCIUM DEPOSITION. *Journal of Biological Chemistry*, 53: 293–312.
9. Huldschinsky, K. (1919) Heilung von Rachitis durch künstliche Höhensonne. *Dtsch Med Wochenschr*, 45: 712–713.
10. Steenbock, H. (1924) The Induction of Growth Promoting and Calcifying Properties in a Ration by Exposure to Light. *Science*, 60: 224–225.
11. Windaus, A., Heß, A. (1926) Sterine und antirachitisches Vitamin. *Nachrichten von der Gesellschaft der Wissenschaften zu Göttingen, Mathematisch-Physikalische Klasse*, 1926: 174–184.
12. Askew, F.A., R.B. Bourdillon, H.M. Bruce, R.G.C. Jenkins, and T.A. Webster. (1930) The distillation of vitamin D. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 107: 76–90.

13. Windaus, A., A. Lüttringhaus, and M. Deppe. (1931) Über das krystallisierte Vitamin D1. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 489: 252–269.
14. Windaus, A. and F. Bock. (1937) Über das provitaminaus demsterin derschweineschwarte. *Z Physiol Chem*, 245: 168–170.
15. Windaus, A., H. Lettre, and F. Schenck. (1935) 7-Dehydrocholesterol.
16. Esvelt, R., H. Schnoes, and H. DeLuca. (1978) Vitamin D3 from rat skins irradiated in vitro with ultraviolet light. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 188: 282–286.
17. Holick, M., J. Frommer, S. McNeill, N. Richtand, J. Henley, and J. Potts Jr. (1977) Photometabolism of 7-dehydrocholesterol to previtamin D3 in skin. *Biochemical and biophysical research communications*, 76: 107–114.
18. DeLuca, H. *The functional metabolism of vitamin D3*. in *Calcium, Parathyroid Hormone and the Calcitonins: Proceedings of the Fourth Parathyroid Conference. Excerpta Medica: Amsterdam*. 1972.
19. Lawson, D., D. Fraser, E. Kodicek, H. Morris, and D.H. Williams. (1971) Identification of 1, 25-dihydroxycholecalciferol, a new kidney hormone controlling calcium metabolism. *Nature*, 230:
20. Norman, A.W., J.F. Myrtle, R.J. Miogett, H.G. Nowicki, V. Williams, and G. Popjaák. (1971) 1, 25-dihydroxycholecalciferol: identification of the proposed active form of vitamin D3 in the intestine. *Science*, 173: 51–54.
21. TANAKA, Y., H. FRANK, and H. DeLuca. (1973) Biological activity of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 in the rat. *Endocrinology*, 92: 417–422.
22. Holick, M.F. (2003) Vitamin D: A millenium perspective. *J Cell Biochem*, 88: 296–307.
23. Strewler, G.J. (2001) FGF23, hypophosphatemia, and rickets: has phosphatonin been found? *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98: 5945–5946.
24. Brumbaugh, P.F. and M.R. Haussler. (1975) Specific binding of 1alpha,25-dihydroxycholecalciferol to nuclear components of chick intestine. *J Biol Chem*, 250: 1588–1594.
25. Baker, A.R., D.P. McDonnell, M. Hughes, T.M. Crisp, D.J. Mangelsdorf, M.R. Haussler, J.W. Pike, J. Shine, and B.W. O'Malley. (1988) Cloning and expression

- of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85: 3294–3298.
26. Schule, R., K. Umesono, D.J. Mangelsdorf, J. Bolado, J.W. Pike, and R.M. Evans. (1990) Jun-Fos and receptors for vitamins A and D recognize a common response element in the human osteocalcin gene. *Cell*, 61: 497–504.
 27. ORR, W.J., L.E. HOLT, JR., L. WILKINS, and F.H. BOONE. (1923) THE CALCIUM AND PHOSPHORUS METABOLISM IN RICKETS, WITH SPECIAL REFERENCE TO ULTRAVIOLET RAY THERAPY. *American Journal of Diseases of Children*, 26: 362–372.
 28. Carlsson, A., M. Lindqvist, and T. Magjrusson. (1952) Tracer experiments on the effect of vitamin D on the skeletal metabolism of calcium and phosphorus.
 29. Bauer, G.C., A. Carlsson, and B. Lindquist. (1955) Evaluation of accretion, resorption and exchange reactions in the skeleton. *Kungl. Fysiograf. Sällskapets I. Lund Forhandlingar*, 25: 318.
 30. Yamamoto, M., Y. Kawanobe, H. Takahashi, E. Shimazawa, S. Kimura, and E. Ogata. (1984) Vitamin D deficiency and renal calcium transport in the rat. *The Journal of clinical investigation*, 74: 507–513.
 31. Fraser, D. and E. Kodicek. (1973) Regulation of 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase activity in kidney by parathyroid hormone. *Nature New Biology*, 241: 163–166.
 32. Holick, M.F., P. Pang, and M. Schreiber. (1989) Phylogenetic and evolutionary aspects of vitamin D from phytoplankton to humans. *Vertebrate endocrinology: fundamentals and biomedical implications*, 3: 7–43.
 33. Bikle, D.D. (2014) Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol*, 21: 319–329.
 34. Wacker, M. and M.F. Holick. (2013) Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermatoendocrinol*, 5: 51–108.
 35. Holick, M.F., X.Q. Tian, and M. Allen. (1995) Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D₃ in the skin of poikilothermic animals. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92: 3124–3126.
 36. Slominski, A.T., A. Chairprasongsuk, Z. Janjetovic, T.K. Kim, J. Stefan, R.M. Slominski, V.S. Hanumanthu, C. Raman, S. Qayyum, Y. Song, Y. Song, U.

- Panich, D.K. Crossman, M. Athar, M.F. Holick, A.M. Jetten, M.A. Zmijewski, J. Zmijewski, and R.C. Tuckey. (2020) Photoprotective Properties of Vitamin D and Lumisterol Hydroxyderivatives. *Cell Biochem Biophys*, 78: 165–180.
37. Webb, A.R., L. Kline, and M.F. Holick. (1988) Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D3: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D3 synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab*, 67: 373–378.
 38. Holick M. F., J.M., *The UV Advantage*. 2003, USA: iBooks.
 39. Matsuoka, L.Y., L. Ide, J. Wortsman, J.A. MacLaughlin, and M.F. Holick. (1987) Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. *J Clin Endocrinol Metab*, 64: 1165–1168.
 40. Matsuoka, L.Y., J. Wortsman, M.J. Dannenberg, B.W. Hollis, Z. Lu, and M.F. Holick. (1992) Clothing prevents ultraviolet-B radiation-dependent photosynthesis of vitamin D3. *J Clin Endocrinol Metab*, 75: 1099–1103.
 41. Holick, M.F. (1994) McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D--new horizons for the 21st century. *Am J Clin Nutr*, 60: 619–630.
 42. Cheng, J.B., D.L. Motola, D.J. Mangelsdorf, and D.W. Russell. (2003) De-orphanization of cytochrome P450 2R1: a microsomal vitamin D 25-hydroxylase. *J Biol Chem*, 278: 38084–38093.
 43. Aiba, I., T. Yamasaki, T. Shinki, S. Izumi, K. Yamamoto, S. Yamada, H. Terato, H. Ide, and Y. Ohyama. (2006) Characterization of rat and human CYP2J enzymes as Vitamin D 25-hydroxylases. *Steroids*, 71: 849–856.
 44. Gallus, G.N., M.T. Dotti, A. Mignarri, A. Rufa, P. Da Pozzo, E. Cardaioli, and A. Federico. (2010) Four novel CYP27A1 mutations in seven Italian patients with CTX. *Eur J Neurol*, 17: 1259–1262.
 45. Hosseinpour, F., I. Ibranovic, W. Tang, and K. Wikvall. (2003) 25-Hydroxylation of vitamin D3 in primary cultures of pig hepatocytes: evidence for a role of both CYP2D25 and CYP27A1. *Biochem Biophys Res Commun*, 303: 877–883.
 46. Inoue, K., J. Inazawa, H. Nakagawa, T. Shimada, H. Yamazaki, F.P. Guengerich, and T. Abe. (1992) Assignment of the human cytochrome P-450 nifedipine oxidase gene (CYP3A4) to chromosome 7 at band q22.1 by fluorescence in situ hybridization. *Jpn J Hum Genet*, 37: 133–138.

47. Rahmaniyan, M., K. Patrick, and N.H. Bell. (2005) Characterization of recombinant CYP2C11: a vitamin D 25-hydroxylase and 24-hydroxylase. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 288: E753–760.
48. Zhu, J.G., J.T. Ochalek, M. Kaufmann, G. Jones, and H.F. DeLuca. (2013) CYP2R1 is a major, but not exclusive, contributor to 25-hydroxyvitamin D production in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110: 15650–15655.
49. Cali, J.J. and D.W. Russell. (1991) Characterization of human sterol 27-hydroxylase. A mitochondrial cytochrome P-450 that catalyzes multiple oxidation reaction in bile acid biosynthesis. *J Biol Chem*, 266: 7774–7778.
50. Repa, J.J., E.G. Lund, J.D. Horton, E. Leitersdorf, D.W. Russell, J.M. Dietschy, and S.D. Turley. (2000) Disruption of the sterol 27-hydroxylase gene in mice results in hepatomegaly and hypertriglyceridemia. Reversal by cholic acid feeding. *J Biol Chem*, 275: 39685–39692.
51. Salen, G. and R.D. Steiner. (2017) Epidemiology, diagnosis, and treatment of cerebrotendinous xanthomatosis (CTX). *J Inherit Metab Dis*, 40: 771–781.
52. Pedersen, J.I., J.G. Ghazarian, N.R. Orme-Johnson, and H.F. DeLuca. (1976) Isolation of chick renal mitochondrial ferredoxin active in the 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase system. *J Biol Chem*, 251: 3933–3941.
53. Fraser, D., S.W. Kooh, H.P. Kind, M.F. Holick, Y. Tanaka, and H.F. DeLuca. (1973) Pathogenesis of hereditary vitamin-D-dependent rickets. An inborn error of vitamin D metabolism involving defective conversion of 25-hydroxyvitamin D to 1 α ,25-dihydroxyvitamin D. *N Engl J Med*, 289: 817–822.
54. Sriver, C.R., T.M. Reade, H.F. DeLuca, and A.J. Hamstra. (1978) Serum 1,25-dihydroxyvitamin D levels in normal subjects and in patients with hereditary rickets or bone disease. *N Engl J Med*, 299: 976–979.
55. Panda, D.K., D. Miao, M.L. Tremblay, J. Sirois, R. Farookhi, G.N. Hendy, and D. Goltzman. (2001) Targeted ablation of the 25-hydroxyvitamin D 1 α -hydroxylase enzyme: evidence for skeletal, reproductive, and immune dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98: 7498–7503.
56. Zehnder, D., R. Bland, M.C. Williams, R.W. McNinch, A.J. Howie, P.M. Stewart, and M. Hewison. (2001) Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin d(3)-1 α -hydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab*, 86: 888–894.

57. Martinez, I., R. Saracho, J. Montenegro, and F. Llach. (1996) A deficit of calcitriol synthesis may not be the initial factor in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant*, 11 Suppl 3: 22–28.
58. Isakova, T., P. Wahl, G.S. Vargas, O.M. Gutierrez, J. Scialla, H. Xie, D. Appleby, L. Nessel, K. Belovich, J. Chen, L. Hamm, C. Gadegbeku, E. Horwitz, R.R. Townsend, C.A. Anderson, J.P. Lash, C.Y. Hsu, M.B. Leonard, and M. Wolf. (2011) Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int*, 79: 1370–1378.
59. Kim, M.S., R. Fujiki, H. Kitagawa, and S. Kato. (2007) 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ -induced DNA methylation suppresses the human CYP27B1 gene. *Mol Cell Endocrinol*, 265-266: 168–173.
60. Murayama, A., K. Takeyama, S. Kitanaka, Y. Kodera, T. Hosoya, and S. Kato. (1998) The promoter of the human 25-hydroxyvitamin D $_3$ 1 α -hydroxylase gene confers positive and negative responsiveness to PTH, calcitonin, and 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$. *Biochem Biophys Res Commun*, 249: 11–16.
61. Kaufmann, M., S.M. Lee, J.W. Pike, and G. Jones. (2015) A High-Calcium and Phosphate Rescue Diet and VDR-Expressing Transgenes Normalize Serum Vitamin D Metabolite Profiles and Renal Cyp27b1 and Cyp24a1 Expression in VDR Null Mice. *Endocrinology*, 156: 4388–4397.
62. Adams, J.S., F.R. Singer, M.A. Gacad, O.P. Sharma, M.J. Hayes, P. Vouros, and M.F. Holick. (1985) Isolation and structural identification of 1,25-dihydroxyvitamin D $_3$ produced by cultured alveolar macrophages in sarcoidosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 60: 960–966.
63. Esteban, L., M. Vidal, and A. Dusso. (2004) 1 α -Hydroxylase transactivation by gamma-interferon in murine macrophages requires enhanced C/EBP β expression and activation. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89-90: 131–137.
64. Overbergh, L., K. Stoffels, M. Waer, A. Verstuyf, R. Bouillon, and C. Mathieu. (2006) Immune regulation of 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase in human monocytic THP1 cells: mechanisms of interferon-gamma-mediated induction. *J Clin Endocrinol Metab*, 91: 3566–3574.
65. Hewison, M.B., R.; Giovannucci, E.; Goltzman, D.; Meyer, M.; Welsh, J. [ed], *Feldman and Pike's Vitamin D*. Vol. Volume I. 2024: Academic Press (Elsevier).

66. Brunette, M.G., M. Chan, C. Ferriere, and K.D. Roberts. (1978) Site of 1,25(OH)₂ vitamin D₃ synthesis in the kidney. *Nature*, 276: 287–289.
67. Monkawa, T., T. Yoshida, S. Wakino, T. Shinki, H. Anazawa, H.F. Deluca, T. Suda, M. Hayashi, and T. Saruta. (1997) Molecular cloning of cDNA and genomic DNA for human 25-hydroxyvitamin D₃ 1 alpha-hydroxylase. *Biochem Biophys Res Commun*, 239: 527–533.
68. Moestrup, S.K. and P.J. Verroust. (2001) Megalin- and cubilin-mediated endocytosis of protein-bound vitamins, lipids, and hormones in polarized epithelia. *Annu Rev Nutr*, 21: 407–428.
69. Leheste, J.R., B. Rolinski, H. Vorum, J. Hilpert, A. Nykjaer, C. Jacobsen, P. Aucouturier, J.O. Moskaug, A. Otto, E.I. Christensen, and T.E. Willnow. (1999) Megalin knockout mice as an animal model of low molecular weight proteinuria. *Am J Pathol*, 155: 1361–1370.
70. Shah, K.K., O.D. Gulati, and K.G. Hemavathi. (1986) Investigation of some effects of levamisole on dog blood pressure. *Indian J Physiol Pharmacol*, 30: 55–62.
71. Meyer, M.B., N.A. Benkusky, M. Kaufmann, S.M. Lee, R.R. Redfield, G. Jones, and J.W. Pike. (2019) Targeted genomic deletions identify diverse enhancer functions and generate a kidney-specific, endocrine-deficient Cyp27b1 pseudo-null mouse. *J Biol Chem*, 294: 9518–9535.
72. Kozai, M., H. Yamamoto, M. Ishiguro, N. Harada, M. Masuda, T. Kagawa, Y. Takei, A. Otani, O. Nakahashi, S. Ikeda, Y. Taketani, K. Takeyama, S. Kato, and E. Takeda. (2013) Thyroid hormones decrease plasma 1alpha,25-dihydroxyvitamin D levels through transcriptional repression of the renal 25-hydroxyvitamin D₃ 1alpha-hydroxylase gene (CYP27B1). *Endocrinology*, 154: 609–622.
73. Bell, N.H., P.H. Stern, E. Pantzer, T.K. Sinha, and H.F. DeLuca. (1979) Evidence that increased circulating 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D is the probable cause for abnormal calcium metabolism in sarcoidosis. *J Clin Invest*, 64: 218–225.
74. Harrell, G.T. and S. Fisher. (1939) Blood Chemical Changes in Boeck's Sarcoid with Particular Reference to Protein, Calcium and Phosphatase Values. *J Clin Invest*, 18: 687–693.

75. Taylor, R.L., H.J. Lynch, Jr., and W.G. Wysor, Jr. (1963) Seasonal influence of sunlight on the hypercalcemia of sarcoidosis. *Am J Med*, 34: 221–227.
76. Albright, F., E.L. Carroll, E.F. Dempsey, and P.H. Henneman. (1956) The cause of hypercalcuria in sarcoid and its treatment with cortisone and sodium phytate. *J Clin Invest*, 35: 1229–1242.
77. Adams, J.S., S.Y. Ren, J.E. Arbelle, N. Horiuchi, R.W. Gray, T.L. Clemens, and S. Shany. (1994) Regulated production and intracrine action of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the chick myelomonocytic cell line HD-11. *Endocrinology*, 134: 2567–2573.
78. Reichel, H., H.P. Koeffler, R. Barbers, and A.W. Norman. (1987) Regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ production by cultured alveolar macrophages from normal human donors and from patients with pulmonary sarcoidosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 65: 1201–1209.
79. Bacchetta, J., J.L. Sea, R.F. Chun, T.S. Lisse, K. Wesseling-Perry, B. Gales, J.S. Adams, I.B. Salusky, and M. Hewison. (2013) Fibroblast growth factor 23 inhibits extrarenal synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D in human monocytes. *J Bone Miner Res*, 28: 46–55.
80. Adams, J.S. and M.A. Gacad. (1985) Characterization of 1 alpha-hydroxylation of vitamin D₃ sterols by cultured alveolar macrophages from patients with sarcoidosis. *J Exp Med*, 161: 755–765.
81. Chun, R.F., A.L. Lauridsen, L. Suon, L.A. Zella, J.W. Pike, R.L. Modlin, A.R. Martineau, R.J. Wilkinson, J. Adams, and M. Hewison. (2010) Vitamin D-binding protein directs monocyte responses to 25-hydroxy- and 1,25-dihydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, 95: 3368–3376.
82. Ren, S., L. Nguyen, S. Wu, C. Encinas, J.S. Adams, and M. Hewison. (2005) Alternative splicing of vitamin D-24-hydroxylase: a novel mechanism for the regulation of extrarenal 1,25-dihydroxyvitamin D synthesis. *J Biol Chem*, 280: 20604–20611.
83. Liu, P.T., S. Stenger, H. Li, L. Wenzel, B.H. Tan, S.R. Krutzik, M.T. Ochoa, J. Schaubert, K. Wu, C. Meinken, D.L. Kamen, M. Wagner, R. Bals, A. Steinmeyer, U. Zugel, R.L. Gallo, D. Eisenberg, M. Hewison, B.W. Hollis, J.S. Adams, B.R.

- Bloom, and R.L. Modlin. (2006) Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, 311: 1770–1773.
84. Krutzik, S.R., M. Hewison, P.T. Liu, J.A. Robles, S. Stenger, J.S. Adams, and R.L. Modlin. (2008) IL-15 links TLR2/1-induced macrophage differentiation to the vitamin D-dependent antimicrobial pathway. *J Immunol*, 181: 7115–7120.
85. Montoya, D., M.S. Inkeles, P.T. Liu, S. Realegeno, R.M. Teles, P. Vaidya, M.A. Munoz, M. Schenk, W.R. Swindell, R. Chun, K. Zavala, M. Hewison, J.S. Adams, S. Horvath, M. Pellegrini, B.R. Bloom, and R.L. Modlin. (2014) IL-32 is a molecular marker of a host defense network in human tuberculosis. *Sci Transl Med*, 6: 250ra114.
86. Teles, R.M., T.G. Graeber, S.R. Krutzik, D. Montoya, M. Schenk, D.J. Lee, E. Komisopoulou, K. Kelly-Scumpia, R. Chun, S.S. Iyer, E.N. Sarno, T.H. Rea, M. Hewison, J.S. Adams, S.J. Popper, D.A. Relman, S. Stenger, B.R. Bloom, G. Cheng, and R.L. Modlin. (2013) Type I interferon suppresses type II interferon-triggered human anti-mycobacterial responses. *Science*, 339: 1448–1453.
87. Kong, X.F., X.H. Zhu, Y.L. Pei, D.M. Jackson, and M.F. Holick. (1999) Molecular cloning, characterization, and promoter analysis of the human 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96: 6988–6993.
88. Plataniias, L.C. and E.N. Fish. (1999) Signaling pathways activated by interferons. *Exp Hematol*, 27: 1583–1592.
89. Imada, K. and W.J. Leonard. (2000) The Jak-STAT pathway. *Mol Immunol*, 37: 1–11.
90. Wightman, P.D., M.E. Dahlgren, and R.J. Bonney. (1982) Protein kinase activation of phospholipase A2 in sonicates of mouse peritoneal macrophages. *J Biol Chem*, 257: 6650–6652.
91. Adams, J.S., S.Y. Ren, J.E. Arbelle, S. Shany, and M.A. Gacad. (1995) Coordinate regulation of nitric oxide and 1,25-dihydroxyvitamin D production in the avian myelomonocytic cell line HD-11. *Endocrinology*, 136: 2262–2269.
92. Stadler, J., J. Trockfeld, W.A. Schmalix, T. Brill, J.R. Siewert, H. Greim, and J. Doehmer. (1994) Inhibition of cytochromes P4501A by nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91: 3559–3563.

93. Sakaki, T., N. Sawada, K. Komai, S. Shiozawa, S. Yamada, K. Yamamoto, Y. Ohyama, and K. Inouye. (2000) Dual metabolic pathway of 25-hydroxyvitamin D3 catalyzed by human CYP24. *Eur J Biochem*, 267: 6158–6165.
94. Esvelt, R.P., H.K. Schnoes, and H.F. DeLuca. (1979) Isolation and characterization of 1 alpha-hydroxy-23-carboxytetranorvitamin D: a major metabolite of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Biochemistry*, 18: 3977–3983.
95. Demers, C., J. Lemay, G.N. Hendy, and M. Gascon-Barre. (1997) Comparative in vivo expression of the calcitriol-24-hydroxylase gene in kidney and intestine. *J Mol Endocrinol*, 18: 37–48.
96. Nowacka, A., M. Sniegocki, D. Bozilow, and E.A. Ziolkowska. (2025) CYP24A1 in Small Intestinal Vitamin D Metabolism and Clinical Implications. *Nutrients*, 17:
97. Tomon, M., H.S. Tenenhouse, and G. Jones. (1990) Expression of 25-hydroxyvitamin D3-24-hydroxylase activity in Caco-2 cells. An in vitro model of intestinal vitamin D catabolism. *Endocrinology*, 126: 2868–2875.
98. Toell, A., M.M. Gonzalez, D. Ruf, A. Steinmeyer, S. Ishizuka, and C. Carlberg. (2001) Different molecular mechanisms of vitamin D(3) receptor antagonists. *Mol Pharmacol*, 59: 1478–1485.
99. St-Arnaud, R. (1999) Targeted inactivation of vitamin D hydroxylases in mice. *Bone*, 25: 127–129.
100. Schlingmann, K.P., M. Kaufmann, S. Weber, A. Irwin, C. Goos, U. John, J. Misselwitz, G. Klaus, E. Kuwertz-Broking, H. Fehrenbach, A.M. Wingen, T. Guran, J.G. Hoenderop, R.J. Bindels, D.E. Prosser, G. Jones, and M. Konrad. (2011) Mutations in CYP24A1 and idiopathic infantile hypercalcemia. *N Engl J Med*, 365: 410–421.
101. Dinour, D., P. Beckerman, L. Ganon, K. Tordjman, Z. Eisenstein, and E.J. Holtzman. (2013) Loss-of-function mutations of CYP24A1, the vitamin D 24-hydroxylase gene, cause long-standing hypercalciuric nephrolithiasis and nephrocalcinosis. *J Urol*, 190: 552–557.
102. Sarvaideo, J.L., J.M. Colon-Franco, R. Kumar, and J.L. Shaker. (2025) Hypercalcemia due to CYP24A1 variants in five unrelated patients: diagnostic and clinical considerations. *JBMR Plus*, 9: ziaf102.

103. Kagi, L., C. Bettoni, E.M. Pastor-Arroyo, U. Schnitzbauer, N. Hernando, and C.A. Wagner. (2018) Regulation of vitamin D metabolizing enzymes in murine renal and extrarenal tissues by dietary phosphate, FGF23, and 1,25(OH)₂D₃. *PLoS One*, 13: e0195427.
104. Hirschfeld, J. (1959) Immune-electrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobins. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 47: 160–168.
105. Daiger, S.P., M.S. Schanfield, and L.L. Cavalli-Sforza. (1975) Group-specific component (Gc) proteins bind vitamin D and 25-hydroxyvitamin D. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 72: 2076–2080.
106. Bouillon, R., F. Schuit, L. Antonio, and F. Rastinejad. (2019) Vitamin D Binding Protein: A Historic Overview. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 10: 910.
107. Henderson, C.M., S.L. Fink, H. Bassyouni, B. Argiropoulos, L. Brown, T.J. Laha, K.J. Jackson, R. Lewkonja, P. Ferreira, A.N. Hoofnagle, and J.L. Marcadier. (2019) Vitamin D-Binding Protein Deficiency and Homozygous Deletion of the GC Gene. *N Engl J Med*, 380: 1150–1157.
108. Cooke, N.E., H.F. Willard, E.V. David, and D.L. George. (1986) Direct regional assignment of the gene for vitamin D binding protein (Gc-globulin) to human chromosome 4q11-q13 and identification of an associated DNA polymorphism. *Hum Genet*, 73: 225–229.
109. Harper, M.E. and A. Dugaiczky. (1983) Linkage of the evolutionarily-related serum albumin and alpha-fetoprotein genes within q11-22 of human chromosome 4. *Am J Hum Genet*, 35: 565–572.
110. Schoentgen, F., M.H. Metz-Boutigue, J. Jolles, J. Constans, and P. Jolles. (1986) Complete amino acid sequence of human vitamin D-binding protein (group-specific component): evidence of a three-fold internal homology as in serum albumin and alpha-fetoprotein. *Biochim Biophys Acta*, 871: 189–198.
111. Haddad, J.G., Jr. and J. Walgate. (1976) 25-Hydroxyvitamin D transport in human plasma. Isolation and partial characterization of calcifidiol-binding protein. *J Biol Chem*, 251: 4803–4809.

112. Verboven, C., A. Rabijns, M. De Maeyer, H. Van Baelen, R. Bouillon, and C. De Ranter. (2002) A structural basis for the unique binding features of the human vitamin D-binding protein. *Nat Struct Biol*, 9: 131–136.
113. Malik, S., L. Fu, D.J. Juras, M. Karmali, B.Y. Wong, A. Gozdzik, and D.E. Cole. (2013) Common variants of the vitamin D binding protein gene and adverse health outcomes. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 50: 1–22.
114. Arnaud, J. and J. Constans. (1993) Affinity differences for vitamin D metabolites associated with the genetic isoforms of the human serum carrier protein (DBP). *Hum Genet*, 92: 183–188.
115. Boutin, B., R.M. Galbraith, and P. Arnaud. (1989) Comparative affinity of the major genetic variants of human group-specific component (vitamin D-binding protein) for 25-(OH) vitamin D. *J Steroid Biochem*, 32: 59–63.
116. Kawakami, M., C.B. Blum, R. Ramakrishnan, R.B. Dell, and D.S. Goodman. (1981) Turnover of the plasma binding protein for vitamin D and its metabolites in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, 53: 1110–1116.
117. Mendel, C.M. (1989) The free hormone hypothesis: a physiologically based mathematical model. *Endocr Rev*, 10: 232–274.
118. Nielson, C.M., K.S. Jones, R. Bouillon, G. Osteoporotic Fractures in Men Research, R.F. Chun, J. Jacobs, Y. Wang, M. Hewison, J.S. Adams, C.M. Swanson, C.G. Lee, D. Vanderschueren, S. Pauwels, A. Prentice, R.D. Smith, T. Shi, Y. Gao, J.M. Zmuda, J. Lapidus, J.A. Cauley, I. Schoenmakers, and E.S. Orwoll. (2016) Role of Assay Type in Determining Free 25-Hydroxyvitamin D Levels in Diverse Populations. *N Engl J Med*, 374: 1695–1696.
119. Takacs, I., M. Dank, J. Majnik, G. Nagy, A. Szabo, B. Szabo, Z. Szekanecz, I. Sziller, E. Toldy, A. Tisler, Z. Valkusz, S. Varbiro, N. Wikonkal, and P. Lakatos. (2022) [Hungarian consensus recommendation on the role of vitamin D in disease prevention and treatment]. *Orv Hetil*, 163: 575–584.
120. Reboul, E. (2015) Intestinal absorption of vitamin D: from the meal to the enterocyte. *Food Funct*, 6: 356–362.
121. Sitrin, M.D., K.L. Pollack, M.J. Bolt, and I.H. Rosenberg. (1982) Comparison of vitamin D and 25-hydroxyvitamin D absorption in the rat. *Am J Physiol*, 242: G326–332.

122. Krawitt, E.L. and B.F. Chastenay. (1980) 25-hydroxy vitamin D absorption test in patients with gastrointestinal disorders. *Calcif Tissue Int*, 32: 183–187.
123. Niramitmahapanya, S., S.S. Harris, and B. Dawson-Hughes. (2011) Type of dietary fat is associated with the 25-hydroxyvitamin D3 increment in response to vitamin D supplementation. *J Clin Endocrinol Metab*, 96: 3170–3174.
124. Raimundo, F.V., M.A. Lang, L. Scopel, N.A. Marcondes, M.G. Araujo, G.A. Faulhaber, and T.W. Furlanetto. (2015) Effect of fat on serum 25-hydroxyvitamin D levels after a single oral dose of vitamin D in young healthy adults: a double-blind randomized placebo-controlled study. *Eur J Nutr*, 54: 391–396.
125. Silva, M.C., G.A.M. Faulhauber, E.N. Leite, K.R. Goulart, J.M.A. Ramirez, F.M. Cocolichio, and T.W. Furlanetto. (2015) Impact of a cholesterol membrane transporter's inhibition on vitamin D absorption: A double-blind randomized placebo-controlled study. *Bone*, 81: 338–342.
126. Compston, J.E., A.L. Merrett, F.G. Hammett, and P. Magill. (1981) Comparison of the appearance of radiolabelled vitamin D3 and 25-hydroxy-vitamin D3 in the chylomicron fraction of plasma after oral administration in man. *Clin Sci (Lond)*, 60: 241–243.
127. Dueland, S., J.I. Pedersen, P. Helgerud, and C.A. Drevon. (1982) Transport of vitamin D3 from rat intestine. Evidence for transfer of vitamin D3 from chylomicrons to alpha-globulins. *J Biol Chem*, 257: 146–150.
128. Mawer, E.B., J. Backhouse, C.A. Holman, G.A. Lumb, and S.W. Stanbury. (1972) The distribution and storage of vitamin D and its metabolites in human tissues. *Clin Sci*, 43: 413–431.
129. De Pergola, G., T. Martino, R. Zupo, D. Caccavo, C. Pecorella, S. Paradiso, F. Silvestris, and V. Triggiani. (2019) 25 Hydroxyvitamin D Levels are Negatively and Independently Associated with Fat Mass in a Cohort of Healthy Overweight and Obese Subjects. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 19: 838–844.
130. Fraser, D.R. (2022) Physiological significance of vitamin D produced in skin compared with oral vitamin D. *J Nutr Sci*, 11: e13.
131. Jones, G., D.E. Prosser, and M. Kaufmann. (2014) Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. *J Lipid Res*, 55: 13–31.

132. Wagner, D., H.E. Hanwell, K. Schnabl, M. Yazdanpanah, S. Kimball, L. Fu, G. Sidhom, D. Rousseau, D.E. Cole, and R. Vieth. (2011) The ratio of serum 24,25-dihydroxyvitamin D(3) to 25-hydroxyvitamin D(3) is predictive of 25-hydroxyvitamin D(3) response to vitamin D(3) supplementation. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 126: 72–77.
133. Need, A.G., P.D. O'Loughlin, H.A. Morris, P.S. Coates, M. Horowitz, and B.E. Nordin. (2008) Vitamin D metabolites and calcium absorption in severe vitamin D deficiency. *J Bone Miner Res*, 23: 1859–1863.
134. Chungchunlam, S.M.S. and P.J. Moughan. (2024) Comparative bioavailability of vitamins in human foods sourced from animals and plants. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 64: 11590–11625.
135. Silva, M.C. and T.W. Furlanetto. (2018) Intestinal absorption of vitamin D: a systematic review. *Nutr Rev*, 76: 60–76.
136. Mawer, E.B., J. Backhouse, M. Davies, L.F. Hill, and C.M. Taylor. (1976) Metabolic fate of administered 1,25-dihydroxycholecalciferol in controls and in patients with hypoparathyroidism. *Lancet*, 1: 1203–1206.
137. Avioli, L.V., S.W. Lee, J.E. McDonald, J. Lund, and H.F. DeLuca. (1967) Metabolism of vitamin D₃-3H in human subjects: distribution in blood, bile, feces, and urine. *J Clin Invest*, 46: 983–992.
138. Jung, R.T., M. Davie, J.O. Hunter, T.M. Chalmers, and D.E. Lawson. (1978) Abnormal vitamin D metabolism in cirrhosis. *Gut*, 19: 290–293.
139. Mawer, E.B., K. Schaefer, G.A. Lumb, and S.W. Stanbury. (1971) The metabolism of isotopically labelled vitamin D₃ in man: the influence of the state of vitamin D nutrition. *Clin Sci*, 40: 39–53.
140. Kanis, J.A., C.M. Taylor, D.L. Douglas, T. Cundy, and R.G. Russell. (1981) Effects of 24,25-dihydroxy-vitamin D₃ on its plasma level in man. *Metab Bone Dis Relat Res*, 3: 155–158.
141. Leeuwenkamp, O.R., H.E. van der Wiel, P. Lips, W.J. van der Vijgh, R. Barto, H. Greuter, and J.C. Netelenbos. (1993) Human pharmacokinetics of orally administered (24 R)-hydroxycalcidiol. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 31: 419–426.

142. Jones, G. and M. Kaufmann. (2021) Diagnostic Aspects of Vitamin D: Clinical Utility of Vitamin D Metabolite Profiling. *JBMR Plus*, 5: e10581.
143. Mawer, E.B. and S.W. Stanbury. (1968) Metabolism of vitamin D₃ in man. *Biochem J*, 110: 53P.
144. Smith, J.E. and D.S. Goodman. (1971) The turnover and transport of vitamin D and of a polar metabolite with the properties of 25-hydroxycholecalciferol in human plasma. *J Clin Invest*, 50: 2159–2167.
145. Teegarden, D., S.C. Meredith, and M.D. Sitrin. (1991) Determination of the affinity of vitamin D metabolites to serum vitamin D binding protein using assay employing lipid-coated polystyrene beads. *Anal Biochem*, 199: 293–299.
146. Safadi, F.F., P. Thornton, H. Magiera, B.W. Hollis, M. Gentile, J.G. Haddad, S.A. Liebhaber, and N.E. Cooke. (1999) Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *J Clin Invest*, 103: 239–251.
147. Jones, K.S., S. Assar, D. Harnpanich, R. Bouillon, D. Lambrechts, A. Prentice, and I. Schoenmakers. (2014) 25(OH)D₂ half-life is shorter than 25(OH)D₃ half-life and is influenced by DBP concentration and genotype. *J Clin Endocrinol Metab*, 99: 3373–3381.
148. Jones, K.S., L.J. Bluck, L.Y. Wang, and W.A. Coward. (2008) A stable isotope method for the simultaneous measurement of vitamin K₁ (phylloquinone) kinetics and absorption. *Eur J Clin Nutr*, 62: 1273–1281.
149. Macdonald, H.M., A.D. Wood, L.S. Aucott, A.J. Black, W.D. Fraser, A. Mavroeydi, D.M. Reid, K.R. Secombes, W.G. Simpson, and F. Thies. (2013) Hip bone loss is attenuated with 1000 IU but not 400 IU daily vitamin D₃: a 1-year double-blind RCT in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*, 28: 2202–2213.
150. Ilahi, M., L.A. Armas, and R.P. Heaney. (2008) Pharmacokinetics of a single, large dose of cholecalciferol. *Am J Clin Nutr*, 87: 688–691.
151. Duplessis, C.A., E.B. Harris, D.E. Watenpaugh, and W.G. Horn. (2005) Vitamin D supplementation in underway submariners. *Aviat Space Environ Med*, 76: 569–575.
152. Batchelor, A.J., G. Watson, and J.E. Compston. (1982) Changes in plasma half-life and clearance of 3H-25-hydroxyvitamin D₃ in patients with intestinal malabsorption. *Gut*, 23: 1068–1071.

153. Piel, C.F., B.S. Roof, and L.V. Avioli. (1973) Metabolism of tritiated 25-hydroxycholecalciferol in chronically uremic children before and after successful renal homotransplantation. *J Clin Endocrinol Metab*, 37: 944–948.
154. Avioli, L.V., T.F. Williams, J. Lund, and H.F. DeLuca. (1967) Metabolism of vitamin D₃-3H in vitamin D-resistant rickets and familial hypophosphatemia. *J Clin Invest*, 46: 1907–1915.
155. Clements, M.R., M. Davies, M.E. Hayes, C.D. Hickey, G.A. Lumb, E.B. Mawer, and P.H. Adams. (1992) The role of 1,25-dihydroxyvitamin D in the mechanism of acquired vitamin D deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 37: 17–27.
156. Piccolo, B.D., G. Dolnikowski, E. Seyoum, A.P. Thomas, E.R. Gertz, E.C. Souza, L.R. Woodhouse, J.W. Newman, N.L. Keim, S.H. Adams, and M.D. Van Loan. (2013) Association between subcutaneous white adipose tissue and serum 25-hydroxyvitamin D in overweight and obese adults. *Nutrients*, 5: 3352–3366.
157. Tobias, D.K., H. Luttmann-Gibson, S. Mora, J. Danik, V. Bubes, T. Copeland, M.S. LeBoff, N.R. Cook, I.M. Lee, J.E. Buring, and J.E. Manson. (2023) Association of Body Weight With Response to Vitamin D Supplementation and Metabolism. *JAMA Netw Open*, 6: e2250681.
158. Best, C.M., D.V. Riley, T.J. Laha, H. Pflaum, L.R. Zelnick, S. Hsu, K.E. Thummel, K.E. Foster-Schubert, J.N. Kuzma, G. Cromer, I. Larson, D.K. Hagman, K. Heshelman, M. Kratz, I.H. de Boer, and A.N. Hoofnagle. (2021) Vitamin D in human serum and adipose tissue after supplementation. *Am J Clin Nutr*, 113: 83–91.
159. Burild, A., H.L. Frandsen, M. Poulsen, and J. Jakobsen. (2015) Tissue content of vitamin D₃ and 25-hydroxy vitamin D₃ in minipigs after cutaneous synthesis, supplementation and deprivation of vitamin D₃. *Steroids*, 98: 72–79.
160. Burild, A., C. Lauridsen, N. Faqir, H.M. Sommer, and J. Jakobsen. (2016) Vitamin D₃ and 25-hydroxyvitamin D₃ in pork and their relationship to vitamin D status in pigs. *J Nutr Sci*, 5: e3.
161. Wang, Y., M.L. Borchert, and H.F. DeLuca. (2012) Identification of the vitamin D receptor in various cells of the mouse kidney. *Kidney Int*, 81: 993–1001.
162. Chow, E.C., H.P. Quach, R. Vieth, and K.S. Pang. (2013) Temporal changes in tissue 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃, vitamin D receptor target genes, and

- calcium and PTH levels after 1,25(OH)₂D₃ treatment in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 304: E977–989.
163. Quach, H.P., K. Noh, S.Y. Hoi, A. Bruinsma, G.M.M. Groothuis, A.P. Li, E.C.Y. Chow, and K.S. Pang. (2018) Alterations in gene expression in vitamin D-deficiency: Down-regulation of liver Cyp7a1 and renal Oat3 in mice. *Biopharm Drug Dispos*, 39: 99–115.
 164. Lemieszek, M.K., M. Chojnacki, I. Pasnik, W. Gawrys, A. Wilczynska, I. Lesniowska, and J. Anisiewicz. (2024) Beneficial Impact of Inhaled 25(OH)-Vitamin D₃ and 1,25(OH)₂-Vitamin D₃ on Pulmonary Response in the Murine Model of Hypersensitivity Pneumonitis. *Int J Mol Sci*, 25:
 165. Fu, X., G.G. Dolnikowski, W.B. Patterson, B. Dawson-Hughes, T. Zheng, M.C. Morris, T.M. Holland, and S.L. Booth. (2019) Determination of Vitamin D and Its Metabolites in Human Brain Using an Ultra-Pressure LC-Tandem Mass Spectra Method. *Curr Dev Nutr*, 3: nzz074.
 166. Eyles, D.W., S. Smith, R. Kinobe, M. Hewison, and J.J. McGrath. (2005) Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. *J Chem Neuroanat*, 29: 21–30.
 167. Prosser, D.E., M. Kaufmann, B. O'Leary, V. Byford, and G. Jones. (2007) Single A326G mutation converts human CYP24A1 from 25-OH-D₃-24-hydroxylase into -23-hydroxylase, generating 1alpha,25-(OH)₂D₃-26,23-lactone. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104: 12673–12678.
 168. Holick, M.F., N.C. Binkley, H.A. Bischoff-Ferrari, C.M. Gordon, D.A. Hanley, R.P. Heaney, M.H. Murad, C.M. Weaver, and S. Endocrine. (2011) Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 96: 1911–1930.
 169. Sempos, C.T., H.W. Vesper, K.W. Phinney, L.M. Thienpont, P.M. Coates, and D.S.P. Vitamin. (2012) Vitamin D status as an international issue: national surveys and the problem of standardization. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 243: 32–40.
 170. <https://www.deqas.org/>. 01/09/2025].

171. Dawson-Hughes, B., R.P. Heaney, M.F. Holick, P. Lips, P.J. Meunier, and R. Vieth. (2005) Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int*, 16: 713–716.
172. Priemel, M., C. von Domarus, T.O. Klatte, S. Kessler, J. Schlie, S. Meier, N. Proksch, F. Pastor, C. Netter, T. Streichert, K. Puschel, and M. Amling. (2010) Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-hydroxyvitamin D in 675 patients. *J Bone Miner Res*, 25: 305–312.
173. Sahota, O., M.K. Mundy, P. San, I.M. Godber, N. Lawson, and D.J. Hosking. (2004) The relationship between vitamin D and parathyroid hormone: calcium homeostasis, bone turnover, and bone mineral density in postmenopausal women with established osteoporosis. *Bone*, 35: 312–319.
174. Kinyamu, H.K., J.C. Gallagher, K.M. Petranick, and K.L. Ryschon. (1996) Effect of parathyroid hormone (hPTH[1-34]) infusion on serum 1,25-dihydroxyvitamin D and parathyroid hormone in normal women. *J Bone Miner Res*, 11: 1400–1405.
175. Oskarsson, V., M. Eliasson, V. Salomaa, J. Reinikainen, S. Mannisto, L. Palmieri, C. Donfrancesco, S. Sans, S. Costanzo, G. de Gaetano, L. Iacoviello, G. Veronesi, M.M. Ferrario, T. Padro, B. Thorand, C. Huth, T. Zeller, S. Blankenberg, A.S. Anderson, H. Tunstall-Pedoe, K. Kuulasmaa, S. Soderberg, and R.E.i. BiomarCa. (2022) Influence of geographical latitude on vitamin D status: cross-sectional results from the BiomarCaRE consortium. *Br J Nutr*, 128: 2208–2218.
176. Cui, A., T. Zhang, P. Xiao, Z. Fan, H. Wang, and Y. Zhuang. (2023) Global and regional prevalence of vitamin D deficiency in population-based studies from 2000 to 2022: A pooled analysis of 7.9 million participants. *Front Nutr*, 10: 1070808.
177. Rahman, A. and A. Elmi. (2021) Air pollutants are negatively associated with vitamin D-synthesizing UVB radiation intensity on the ground. *Sci Rep*, 11: 21480.
178. Yang, C., D. Li, Y. Tian, and P. Wang. (2021) Ambient Air Pollutions Are Associated with Vitamin D Status. *Int J Environ Res Public Health*, 18:
179. Spiro, A. and J.L. Buttriss. (2014) Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe. *Nutr Bull*, 39: 322–350.

180. El-Mallah, C., A. Yarparvar, V. Galetti, O. Obeid, M. Boutros, G. Safadi, R. ZeinEddine, N.E.H. Ezzeddine, M. Kouzeiha, D. Kobayter, J.P. Wirth, M. Abi Zeid Daou, F. Asfahani, N. Hilal, R. Hamadeh, F. Abiad, and N. Petry. (2025) The Sunshine Paradox: Unraveling Risk Factors for Low Vitamin D Status Among Non-Pregnant Women in Lebanon. *Nutrients*, 17:
181. Zajkas, G., L. Biro, E. Greiner, I. Szorad, H. Agoston, A. Balazs, J. Vitrai, D. Hermann, J. Boros, R. Nemeth, Z. Keki, and E. Martos. (2007) [Dietary survey in Hungary, 2003-2004. Micronutrients: vitamins]. *Orv Hetil*, 148: 1593–1600.
182. Jaaskelainen, T., S.T. Itkonen, A. Lundqvist, M. Erkkola, T. Koskela, K. Lakkala, K.G. Dowling, G.L. Hull, H. Kroger, J. Karppinen, E. Kyllonen, T. Harkanen, K.D. Cashman, S. Mannisto, and C. Lamberg-Allardt. (2017) The positive impact of general vitamin D food fortification policy on vitamin D status in a representative adult Finnish population: evidence from an 11-y follow-up based on standardized 25-hydroxyvitamin D data. *Am J Clin Nutr*, 105: 1512–1520.
183. Calvo, M.S., S.J. Whiting, and C.N. Barton. (2004) Vitamin D fortification in the United States and Canada: current status and data needs. *Am J Clin Nutr*, 80: 1710S–1716S.
184. Force, U.S.P.S.T., A.H. Krist, K.W. Davidson, C.M. Mangione, M. Cabana, A.B. Caughey, E.M. Davis, K.E. Donahue, C.A. Doubeni, J.W. Epling, Jr., M. Kubik, L. Li, G. Ogedegbe, D.K. Owens, L. Pbert, M. Silverstein, J. Stevermer, C.W. Tseng, and J.B. Wong. (2021) Screening for Vitamin D Deficiency in Adults: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*, 325: 1436–1442.
185. Hwalla, N., A.S. Al Dhaheri, H. Radwan, H.A. Alfawaz, M.A. Fouda, N.M. Al-Daghri, S. Zaghoul, and J.B. Blumberg. (2017) The Prevalence of Micronutrient Deficiencies and Inadequacies in the Middle East and Approaches to Interventions. *Nutrients*, 9:
186. Lin, S., L. Jiang, Y. Zhang, J. Chai, J. Li, X. Song, and L. Pei. (2021) Socioeconomic status and vitamin D deficiency among women of childbearing age: a population-based, case-control study in rural northern China. *BMJ Open*, 11: e042227.

187. Raymond-Lezman, J.R. and S.I. Riskin. (2023) Benefits and Risks of Sun Exposure to Maintain Adequate Vitamin D Levels. *Cureus*, 15: e38578.
188. Aburjai, T.A.-K., S.; Abuirjeie, M. (1998) Vitamin D3 and its metabolites in tomato, potato, egg plant and zucchini leaves. *Phytochemistry*, 49: 2497–2499.
189. Japelt, R.B. and J. Jakobsen. (2013) Vitamin D in plants: a review of occurrence, analysis, and biosynthesis. *Front Plant Sci*, 4: 136.
190. Armas, L.A., B.W. Hollis, and R.P. Heaney. (2004) Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 89: 5387–5391.
191. Holick, M.F., R.M. Biancuzzo, T.C. Chen, E.K. Klein, A. Young, D. Bibuld, R. Reitz, W. Salameh, A. Ameri, and A.D. Tannenbaum. (2008) Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, 93: 677–681.
192. Benedik, E. (2022) Sources of vitamin D for humans. *Int J Vitam Nutr Res*, 92: 118–125.
193. Fassio, A., G. Adami, M. Rossini, A. Giollo, C. Caimmi, R. Bixio, O. Viapiana, S. Milleri, M. Gatti, and D. Gatti. (2020) Pharmacokinetics of Oral Cholecalciferol in Healthy Subjects with Vitamin D Deficiency: A Randomized Open-Label Study. *Nutrients*, 12:
194. Demay, M.B., A.G. Pittas, D.D. Bikle, D.L. Diab, M.E. Kiely, M. Lazaretti-Castro, P. Lips, D.M. Mitchell, M.H. Murad, S. Powers, S.D. Rao, R. Scragg, J.A. Tayek, A.M. Valent, J.M.E. Walsh, and C.R. McCartney. (2024) Vitamin D for the Prevention of Disease: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 109: 1907–1947.
195. Ingstad, F., L.B. Solberg, L. Nordsletten, P.M. Thorsby, I. Hestnes, and F. Frihagen. (2021) Vitamin D status and complications, readmissions, and mortality after hip fracture. *Osteoporos Int*, 32: 873–881.
196. Chiodini, I., D. Gatti, D. Soranna, D. Merlotti, C. Mingiano, A. Fassio, G. Adami, A. Falchetti, C. Eller-Vainicher, M. Rossini, L. Persani, A. Zambon, and L. Gennari. (2021) Vitamin D Status and SARS-CoV-2 Infection and COVID-19 Clinical Outcomes. *Front Public Health*, 9: 736665.
197. Rupprecht, M., S. Wagenpfeil, J. Schope, R. Vieth, T. Vogt, and J. Reichrath. (2023) Meta-Analysis of European Clinical Trials Characterizing the Healthy-

- Adult Serum 25-hydroxyvitamin D Response to Vitamin D Supplementation. *Nutrients*, 15:
198. Bouden, S., M. Ben Messaoud, O. Saidane, L. Rouached, A. Ben Tekaya, I. Mahmoud, R. Tekaya, C. Dziri, and L. Abdelmoula. (2025) Effect of cholecalciferol versus calcifediol on serum 25(OH)D concentrations: a systematic review with meta-analysis. *Eur J Clin Nutr*, 79: 296–305.
 199. Webb, A.R., B.R. DeCosta, and M.F. Holick. (1989) Sunlight regulates the cutaneous production of vitamin D₃ by causing its photodegradation. *J Clin Endocrinol Metab*, 68: 882–887.
 200. Cappellani, D., A. Brancatella, R. Morganti, S. Borsari, F. Baldinotti, M.A. Caligo, M. Kaufmann, G. Jones, C. Marcocci, and F. Cetani. (2021) Hypercalcemia due to CYP24A1 mutations: a systematic descriptive review. *Eur J Endocrinol*, 186: 137–149.
 201. Jones, G., D. Vriezen, D. Lohnes, V. Palda, and N.S. Edwards. (1987) Side-chain hydroxylation of vitamin D₃ and its physiological implications. *Steroids*, 49: 29–53.
 202. Shephard, R.M. and H.F. Deluca. (1980) Plasma concentrations of vitamin D₃ and its metabolites in the rat as influenced by vitamin D₃ or 25-hydroxyvitamin D₃ intakes. *Arch Biochem Biophys*, 202: 43–53.
 203. Jones, G. (2008) Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr*, 88: 582S–586S.
 204. Huang, P., V. Chandra, and F. Rastinejad. (2010) Structural overview of the nuclear receptor superfamily: insights into physiology and therapeutics. *Annu Rev Physiol*, 72: 247–272.
 205. Usategui-Martin, R., D.A. De Luis-Roman, J.M. Fernandez-Gomez, M. Ruiz-Mambrilla, and J.L. Perez-Castrillon. (2022) Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms Modify the Response to Vitamin D Supplementation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 14:
 206. Nagy, L., H.Y. Kao, J.D. Love, C. Li, E. Banayo, J.T. Gooch, V. Krishna, K. Chatterjee, R.M. Evans, and J.W. Schwabe. (1999) Mechanism of corepressor binding and release from nuclear hormone receptors. *Genes Dev*, 13: 3209–3216.

207. Perissi, V., L.M. Staszewski, E.M. McInerney, R. Kurokawa, A. Kronen, D.W. Rose, M.H. Lambert, M.V. Milburn, C.K. Glass, and M.G. Rosenfeld. (1999) Molecular determinants of nuclear receptor-corepressor interaction. *Genes Dev*, 13: 3198–3208.
208. Weikum, E.R., X. Liu, and E.A. Ortlund. (2018) The nuclear receptor superfamily: A structural perspective. *Protein Sci*, 27: 1876–1892.
209. Meyer, M.B., N.A. Benkusky, C.H. Lee, and J.W. Pike. (2014) Genomic determinants of gene regulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ during osteoblast-lineage cell differentiation. *J Biol Chem*, 289: 19539–19554.
210. Rochel, N. (2022) Vitamin D and Its Receptor from a Structural Perspective. *Nutrients*, 14:
211. Veldurthy, V., R. Wei, L. Oz, P. Dhawan, Y.H. Jeon, and S. Christakos. (2016) Vitamin D, calcium homeostasis and aging. *Bone Res*, 4: 16041.
212. Snegarova, V. and D. Naydenova. (2020) Vitamin D: a Review of its Effects on Epigenetics and Gene Regulation. *Folia Med (Plovdiv)*, 62: 662–667.
213. Zmijewski, M.A. (2022) Nongenomic Activities of Vitamin D. *Nutrients*, 14:
214. Bikle, D.D. (2012) Vitamin D and bone. *Curr Osteoporos Rep*, 10: 151–159.
215. Li, Y., P. Zhao, B. Jiang, K. Liu, L. Zhang, H. Wang, Y. Tian, K. Li, and G. Liu. (2023) Modulation of the vitamin D/vitamin D receptor system in osteoporosis pathogenesis: insights and therapeutic approaches. *J Orthop Surg Res*, 18: 860.
216. Giannini, S., A. Giusti, S. Minisola, N. Napoli, G. Passeri, M. Rossini, and L. Sinigaglia. (2022) The Immunologic Profile of Vitamin D and Its Role in Different Immune-Mediated Diseases: An Expert Opinion. *Nutrients*, 14:
217. Argano, C., L. Mirarchi, S. Amodeo, V. Orlando, A. Torres, and S. Corrao. (2023) The Role of Vitamin D and Its Molecular Bases in Insulin Resistance, Diabetes, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Disease: State of the Art. *Int J Mol Sci*, 24:
218. Ajabshir, S., A. Asif, and A. Nayer. (2014) The effects of vitamin D on the renin-angiotensin system. *J Nephropathol*, 3: 41–43.
219. Seraphin, G., S. Rieger, M. Hewison, E. Capobianco, and T.S. Lisse. (2023) The impact of vitamin D on cancer: A mini review. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 231: 106308.

220. Dallavalasa, S., S.V. Tulimilli, V.G. Bettada, M. Karnik, C.A. Uthaiiah, P.G. Anantharaju, S.M. Nataraj, R. Ramashetty, O.A. Sukocheva, E. Tse, P.V. Salimath, and S.V. Madhunapantula. (2024) Vitamin D in Cancer Prevention and Treatment: A Review of Epidemiological, Preclinical, and Cellular Studies. *Cancers (Basel)*, 16:
221. Berridge, M.J. (2017) Vitamin D and Depression: Cellular and Regulatory Mechanisms. *Pharmacol Rev*, 69: 80–92.
222. Anjum, I., S.S. Jaffery, M. Fayyaz, Z. Samoo, and S. Anjum. (2018) The Role of Vitamin D in Brain Health: A Mini Literature Review. *Cureus*, 10: e2960.
223. Farghali, M., S. Ruga, V. Morsanuto, and F. Uberti. (2020) Can Brain Health Be Supported by Vitamin D-Based Supplements? A Critical Review. *Brain Sci*, 10:
224. Anwar, M.J., S.K. Alenezi, and A.H. Alhowail. (2023) Molecular insights into the pathogenic impact of vitamin D deficiency in neurological disorders. *Biomed Pharmacother*, 162: 114718.
225. Voltan, G., M. Cannito, M. Ferrarese, F. Ceccato, and V. Camozzi. (2023) Vitamin D: An Overview of Gene Regulation, Ranging from Metabolism to Genomic Effects. *Genes (Basel)*, 14:
226. Cayir, A., H. Demirbilek, A. Turkyilmaz, S. Turan, A. Bereket, F. Darendeliler, M.N. Ozbek, S.B. Koca, E. Unal, D. Okdemir, I. Esen, E. Eren, R. Yildirim, S. Cetinkaya, K.C. Sahin, A. Anik, A.S. Donmez, A.P. Ozturk, E. Bayramoglu, M. Buyukinan, F. Gurbuz, K. Demir, S. Kilinc, G. Buyukyilmaz, S.B. Kaygusuz, G. Celmeli, B.S. Eklioglu, S. Acar, F. Dursun, I. Turan, B. Ozkaya, E. Kurnaz, R.T. Baran, and B. Ozkan. (2025) Genotype, Phenotype Characteristics and Long-Term Follow-Up of Patients with Vitamin D-Dependent Rickets Type IA: A Nationwide Multi-Centre Retrospective Cross-Sectional Study. *Horm Res Paediatr*, 1–9.
227. Menon, J.C., A. Kumari, S.M. Sajjan, and P. Dabadghao. (2024) Novel Mutation in CYP2R1 Causing Vitamin D-Dependent Rickets Type 1b. *JCEM Case Rep*, 2: luae024.
228. Mehak, N.U., S. Aftab, A.A. Qureshi, A. Saeed, and H.A. Cheema. (2025) Vitamin D dependent rickets type 2A: a case series of two siblings with novel

- mutation in vitamin D receptor gene responded to high dose oral calcium and calcitriol. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 38: 761–766.
229. Wang, T.J., F. Zhang, J.B. Richards, B. Kestenbaum, J.B. van Meurs, D. Berry, D.P. Kiel, E.A. Streeten, C. Ohlsson, D.L. Koller, L. Peltonen, J.D. Cooper, P.F. O'Reilly, D.K. Houston, N.L. Glazer, L. Vandenput, M. Peacock, J. Shi, F. Rivadeneira, M.I. McCarthy, P. Anneli, I.H. de Boer, M. Mangino, B. Kato, D.J. Smyth, S.L. Booth, P.F. Jacques, G.L. Burke, M. Goodarzi, C.L. Cheung, M. Wolf, K. Rice, D. Goltzman, N. Hidiroglou, M. Ladouceur, N.J. Wareham, L.J. Hocking, D. Hart, N.K. Arden, C. Cooper, S. Malik, W.D. Fraser, A.L. Hartikainen, G. Zhai, H.M. Macdonald, N.G. Forouhi, R.J. Loos, D.M. Reid, A. Hakim, E. Dennison, Y. Liu, C. Power, H.E. Stevens, L. Jaana, R.S. Vasan, N. Soranzo, J. Bojunga, B.M. Psaty, M. Lorentzon, T. Foroud, T.B. Harris, A. Hofman, J.O. Jansson, J.A. Cauley, A.G. Uitterlinden, Q. Gibson, M.R. Jarvelin, D. Karasik, D.S. Siscovick, M.J. Econs, S.B. Kritchevsky, J.C. Florez, J.A. Todd, J. Dupuis, E. Hypponen, and T.D. Spector. (2010) Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet*, 376: 180–188.
230. Zhang, Z., J.W. He, W.Z. Fu, C.Q. Zhang, and Z.L. Zhang. (2013) An analysis of the association between the vitamin D pathway and serum 25-hydroxyvitamin D levels in a healthy Chinese population. *J Bone Miner Res*, 28: 1784–1792.
231. Sedky, N.K., M.F. Abdel Rahman, S.I. Hassanein, and M.Z. Gad. (2018) Genetic Variants of CYP2R1 Are Key Regulators of Serum Vitamin D Levels and Incidence of Myocardial Infarction in Middle-Aged Egyptians. *Curr Pharm Biotechnol*, 19: 265–273.
232. McGrath, J.J., S. Saha, T.H. Burne, and D.W. Eyles. (2010) A systematic review of the association between common single nucleotide polymorphisms and 25-hydroxyvitamin D concentrations. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 121: 471–477.
233. Yu, S., X. Li, Y. Wang, Z. Mao, Y. Xie, L. Zhang, C. Wang, and W. Li. (2019) Family-based Association between Allele T of rs4646536 in CYP27B1 and vitamin D deficiency. *J Clin Lab Anal*, 33: e22898.
234. Barry, E.L., J.R. Rees, J.L. Peacock, L.A. Mott, C.I. Amos, R.M. Bostick, J.C. Figueiredo, D.J. Ahnen, R.S. Bresalier, C.A. Burke, and J.A. Baron. (2014)

- Genetic variants in CYP2R1, CYP24A1, and VDR modify the efficacy of vitamin D3 supplementation for increasing serum 25-hydroxyvitamin D levels in a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 99: E2133–2137.
235. Engelman, C.D., T.E. Fingerlin, C.D. Langefeld, P.J. Hicks, S.S. Rich, L.E. Wagenknecht, D.W. Bowden, and J.M. Norris. (2008) Genetic and environmental determinants of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels in Hispanic and African Americans. *J Clin Endocrinol Metab*, 93: 3381–3388.
236. Lauridsen, A.L., P. Vestergaard, A.P. Hermann, C. Brot, L. Heickendorff, L. Mosekilde, and E. Nexø. (2005) Plasma concentrations of 25-hydroxy-vitamin D and 1,25-dihydroxy-vitamin D are related to the phenotype of Gc (vitamin D-binding protein): a cross-sectional study on 595 early postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*, 77: 15–22.
237. Ahn, J., K. Yu, R. Stolzenberg-Solomon, K.C. Simon, M.L. McCullough, L. Gallicchio, E.J. Jacobs, A. Ascherio, K. Helzlsouer, K.B. Jacobs, Q. Li, S.J. Weinstein, M. Purdue, J. Virtamo, R. Horst, W. Wheeler, S. Chanock, D.J. Hunter, R.B. Hayes, P. Kraft, and D. Albanes. (2010) Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet*, 19: 2739–2745.
238. Krasniqi, E., A. Boshnjaku, K.H. Wagner, and B. Wessner. (2021) Association between Polymorphisms in Vitamin D Pathway-Related Genes, Vitamin D Status, Muscle Mass and Function: A Systematic Review. *Nutrients*, 13:
239. Slater, N.A., M.L. Rager, D.E. Havrda, and A.F. Harralson. (2017) Genetic Variation in CYP2R1 and GC Genes Associated With Vitamin D Deficiency Status. *J Pharm Pract*, 30: 31–36.
240. Jiang, L.L., C. Zhang, Y. Zhang, F. Ma, and Y. Guan. (2022) Associations between polymorphisms in VDR gene and the risk of osteoporosis: a meta-analysis. *Arch Physiol Biochem*, 128: 1637–1644.
241. Orlow, I., Y. Shi, P.A. Kanetsky, N.E. Thomas, L. Luo, S. Corrales-Guerrero, A.E. Cust, L. Sacchetto, R. Zanetti, S. Rosso, B.K. Armstrong, T. Dwyer, A. Venn, R.P. Gallagher, S.B. Gruber, L.D. Marrett, H. Anton-Culver, K. Busam, C.B. Begg, M. Berwick, and G.E.M.S. Group. (2018) The interaction between vitamin D receptor polymorphisms and sun exposure around time of diagnosis influences melanoma survival. *Pigment Cell Melanoma Res*, 31: 287–296.

242. Meyer, V. and L. Bornman. (2018) Cdx-2 polymorphism in the vitamin D receptor gene (VDR) marks VDR expression in monocyte/macrophages through VDR promoter methylation. *Immunogenetics*, 70: 523–532.
243. Hibler, E.A., P.W. Jurutka, J.B. Egan, C. Hu, E.C. LeRoy, M.E. Martinez, P.A. Thompson, and E.T. Jacobs. (2010) Association between polymorphic variation in VDR and RXRA and circulating levels of vitamin D metabolites. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 121: 438–441.
244. Arguelles, L.M., C.B. Langman, A.J. Ariza, F.N. Ali, K. Dilley, H. Price, X. Liu, S. Zhang, X. Hong, B. Wang, H. Xing, Z. Li, X. Liu, W. Zhang, X. Xu, and X. Wang. (2009) Heritability and environmental factors affecting vitamin D status in rural Chinese adolescent twins. *J Clin Endocrinol Metab*, 94: 3273–3281.
245. Shea, M.K., E.J. Benjamin, J. Dupuis, J.M. Massaro, P.F. Jacques, R.B. D'Agostino, Sr., J.M. Ordovas, C.J. O'Donnell, B. Dawson-Hughes, R.S. Vasan, and S.L. Booth. (2009) Genetic and non-genetic correlates of vitamins K and D. *Eur J Clin Nutr*, 63: 458–464.
246. Signorello, L.B., J. Shi, Q. Cai, W. Zheng, S.M. Williams, J. Long, S.S. Cohen, G. Li, B.W. Hollis, J.R. Smith, and W.J. Blot. (2011) Common variation in vitamin D pathway genes predicts circulating 25-hydroxyvitamin D Levels among African Americans. *PLoS One*, 6: e28623.
247. Wjst, M., J. Altmuller, C. Braig, M. Bahnweg, and E. Andre. (2007) A genome-wide linkage scan for 25-OH-D(3) and 1,25-(OH)₂-D₃ serum levels in asthma families. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 103: 799–802.
248. Kowalowka, M., I. Gorna, M. Karazniewicz-Lada, D. Kusyk, J. Przyslawski, and S. Drzymala-Czyz. (2025) Nutri-Epigenetic Regulation of Vitamin D-Impact on Metabolism and Biological Functions: Narrative Review. *Metabolites*, 15:
249. Fetahu, I.S., J. Hobaus, and E. Kallay. (2014) Vitamin D and the epigenome. *Front Physiol*, 5: 164.
250. Forouhari, A., M. Heidari-Beni, S. Veisi, P. Poursafa, and R. Kelishadi. (2023) Effect of epigenetics on vitamin D levels: a systematic review until December 2020. *Arch Public Health*, 81: 106.
251. Beckett, E.L.D., K.; Martin, C.; Jones, P.; Furst, J.; King, K.; Niblett, S.; Yates, Z.; Veysey, M.; Lucock, M. (2016) Relationship between methylation status of

- vitamin D-related genes, vitamin D levels, and methyl-donor biochemistry. *J Nutr&Intermed Metab*, 6: 8–15.
252. Chen, L., Y. Dong, J. Chen, Y. Huang, and H. Zhu. (2020) Epigenetics Predicts Serum 25-Hydroxyvitamin D Response to Vitamin D(3) Supplementation in African Americans. *Mol Nutr Food Res*, 64: e1900738.
 253. Powe, C.E., C. Ricciardi, A.H. Berg, D. Erdenesanaa, G. Collerone, E. Ankers, J. Wenger, S.A. Karumanchi, R. Thadhani, and I. Bhan. (2011) Vitamin D-binding protein modifies the vitamin D-bone mineral density relationship. *J Bone Miner Res*, 26: 1609–1616.
 254. Bikle, D.D., E. Gee, B. Halloran, M.A. Kowalski, E. Ryzen, and J.G. Haddad. (1986) Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin D in serum and its regulation by albumin and the vitamin D-binding protein. *J Clin Endocrinol Metab*, 63: 954–959.
 255. Dastani, Z., R. Li, and B. Richards. (2013) Genetic regulation of vitamin D levels. *Calcified tissue international*, 92: 106–117.
 256. Shao, B., S. Jiang, X. Muyiduli, S. Wang, M. Mo, M. Li, Z. Wang, and Y. Yu. (2017) Vitamin D pathway gene polymorphisms influenced vitamin D level among pregnant women. *Clin Nutr*,
 257. Barrett, J.C., B. Fry, J. Maller, and M.J. Daly. (2005) Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*, 21: 263–265.
 258. Hunter, D., M. De Lange, H. Snieder, A.J. MacGregor, R. Swaminathan, R.V. Thakker, and T.D. Spector. (2001) Genetic contribution to bone metabolism, calcium excretion, and vitamin D and parathyroid hormone regulation. *J Bone Miner Res*, 16: 371–378.
 259. Orton, S.M., A.P. Morris, B.M. Herrera, S.V. Ramagopalan, M.R. Lincoln, M.J. Chao, R. Vieth, A.D. Sadovnick, and G.C. Ebers. (2008) Evidence for genetic regulation of vitamin D status in twins with multiple sclerosis. *Am J Clin Nutr*, 88: 441–447.
 260. Jiang, X., P.F. O'Reilly, H. Aschard, Y.H. Hsu, J.B. Richards, J. Dupuis, E. Ingelsson, D. Karasik, S. Pilz, D. Berry, B. Kestenbaum, J. Zheng, J. Luan, E. Sofianopoulou, E.A. Streeten, D. Albanes, P.L. Lutsey, L. Yao, W. Tang, M.J. Econs, H. Wallaschofski, H. Volzke, A. Zhou, C. Power, M.I. McCarthy, E.D.

- Michos, E. Boerwinkle, S.J. Weinstein, N.D. Freedman, W.Y. Huang, N.M. Van Schoor, N. van der Velde, L. Groot, A. Enneman, L.A. Cupples, S.L. Booth, R.S. Vasan, C.T. Liu, Y. Zhou, S. Ripatti, C. Ohlsson, L. Vandenput, M. Lorentzon, J.G. Eriksson, M.K. Shea, D.K. Houston, S.B. Kritchevsky, Y. Liu, K.K. Lohman, L. Ferrucci, M. Peacock, C. Gieger, M. Beekman, E. Slagboom, J. Deelen, D.V. Heemst, M.E. Kleber, W. Marz, I.H. de Boer, A.C. Wood, J.I. Rotter, S.S. Rich, C. Robinson-Cohen, M. den Heijer, M.R. Jarvelin, A. Cavadino, P.K. Joshi, J.F. Wilson, C. Hayward, L. Lind, K. Michaelsson, S. Trompet, M.C. Zillikens, A.G. Uitterlinden, F. Rivadeneira, L. Broer, L. Zgaga, H. Campbell, E. Theodoratou, S.M. Farrington, M. Timofeeva, M.G. Dunlop, A.M. Valdes, E. Tikkanen, T. Lehtimäki, L.P. Lyytikäinen, M. Kahonen, O.T. Raitakari, V. Mikkilä, M.A. Ikram, N. Sattar, J.W. Jukema, N.J. Wareham, C. Langenberg, N.G. Forouhi, T.E. Gundersen, K.T. Khaw, A.S. Butterworth, J. Danesh, T. Spector, T.J. Wang, E. Hyppönen, P. Kraft and D.P. Kiel. (2018) Genome-wide association study in 79,366 European-ancestry individuals informs the genetic architecture of 25-hydroxyvitamin D levels. *Nat Commun*, 9: 260.
261. Boyle, A.P., E.L. Hong, M. Hariharan, Y. Cheng, M.A. Schaub, M. Kasowski, K.J. Karczewski, J. Park, B.C. Hitz, S. Weng, J.M. Cherry, and M. Snyder. (2012) Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *Genome Res*, 22: 1790–1797.
262. Petersen, R.A., L.H. Larsen, C.T. Damsgaard, L.B. Sorensen, M.F. Hjorth, R. Andersen, I. Tetens, H. Krarup, C. Ritz, A. Astrup, K.F. Michaelsen, and C. Molgaard. (2017) Common genetic variants are associated with lower serum 25-hydroxyvitamin D concentrations across the year among children at northern latitudes. *Br J Nutr*, 117: 829–838.
263. Sinotte, M., C. Diorio, S. Berube, M. Pollak, and J. Brisson. (2009) Genetic polymorphisms of the vitamin D binding protein and plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in premenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 89: 634–640.
264. Braun, A., R. Bichlmaier, and H. Cleve. (1992) Molecular analysis of the gene for the human vitamin-D-binding protein (group-specific component): allelic differences of the common genetic GC types. *Hum Genet*, 89: 401–406.

265. Song, W., X. Wang, Y. Tian, X. Zhang, R. Lu, and H. Meng. (2016) GC Gene Polymorphisms and Vitamin D-Binding Protein Levels Are Related to the Risk of Generalized Aggressive Periodontitis. *Int J Endocrinol*, 2016: 5141089.
266. Elkum, N., F. Alkayal, F. Noronha, M.M. Ali, M. Melhem, M. Al-Arouj, A. Bennakhi, K. Behbehani, O. Alsmadi, and J. Abubaker. (2014) Vitamin D insufficiency in Arabs and South Asians positively associates with polymorphisms in GC and CYP2R1 genes. *PLoS One*, 9: e113102.
267. Nissen, J., L.B. Rasmussen, G. Ravn-Haren, E.W. Andersen, B. Hansen, R. Andersen, H. Mejborn, K.H. Madsen, and U. Vogel. (2014) Common variants in CYP2R1 and GC genes predict vitamin D concentrations in healthy Danish children and adults. *PLoS One*, 9: e89907.
268. Kim, Y.A., J.W. Yoon, Y. Lee, H.J. Choi, J.W. Yun, E. Bae, S.H. Kwon, S.E. Ahn, A.R. Do, H. Jin, S. Won, D.J. Park, C.S. Shin, and J.H. Seo. (2021) Unveiling Genetic Variants Underlying Vitamin D Deficiency in Multiple Korean Cohorts by a Genome-Wide Association Study. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 36: 1189–1200.
269. Revez, J.A., T. Lin, Z. Qiao, A. Xue, Y. Holtz, Z. Zhu, J. Zeng, H. Wang, J. Sidorenko, K.E. Kemper, A.A.E. Vinkhuyzen, J. Frater, D. Eyles, T.H.J. Burne, B. Mitchell, N.G. Martin, G. Zhu, P.M. Visscher, J. Yang, N.R. Wray, and J.J. McGrath. (2020) Genome-wide association study identifies 143 loci associated with 25 hydroxyvitamin D concentration. *Nat Commun*, 11: 1647.
270. Yao, P., L. Sun, L. Lu, H. Ding, X. Chen, L. Tang, X. Xu, G. Liu, Y. Hu, Y. Ma, F. Wang, Q. Jin, H. Zheng, H. Yin, R. Zeng, Y. Chen, F.B. Hu, H. Li, and X. Lin. (2017) Effects of Genetic and Nongenetic Factors on Total and Bioavailable 25(OH)D Responses to Vitamin D Supplementation. *J Clin Endocrinol Metab*, 102: 100–110.
271. Keller, M., S.I.A. Svensson, K. Rohde-Zimmermann, P. Kovacs, and Y. Bottcher. (2023) Genetics and Epigenetics in Obesity: What Do We Know so Far? *Curr Obes Rep*, 12: 482–501.
272. Bienertova-Vasku, J., F. Zlamal, A. Pohorala, O. Mikes, M. Goldbergova-Pavkova, J. Novak, Z. Splichal, and H. Pikhart. (2017) Allelic variants in vitamin

- D receptor gene are associated with adiposity measures in the central-European population. *BMC Med Genet*, 18: 90.
273. Khan, R.J., P. Riestra, S.Y. Gebreab, J.G. Wilson, A. Gaye, R. Xu, and S.K. Davis. (2016) Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms Are Associated with Abdominal Visceral Adipose Tissue Volume and Serum Adipokine Concentrations but Not with Body Mass Index or Waist Circumference in African Americans: The Jackson Heart Study. *J Nutr*, 146: 1476–1482.
274. Khan, S.M., S. El Hajj Chehadeh, M. Abdulrahman, W. Osman, and H. Al Safar. (2018) Establishing a genetic link between FTO and VDR gene polymorphisms and obesity in the Emirati population. *BMC Med Genet*, 19: 11.
275. Ochs-Balcom, H.M., R. Chennamaneni, A.E. Millen, P.G. Shields, C. Marian, M. Trevisan, and J.L. Freudenheim. (2011) Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with adiposity phenotypes. *Am J Clin Nutr*, 93: 5–10.
276. Reis, A.F., O.M. Hauache, and G. Velho. (2005) Vitamin D endocrine system and the genetic susceptibility to diabetes, obesity and vascular disease. A review of evidence. *Diabetes Metab*, 31: 318–325.
277. Grundberg, E., H. Brandstrom, E.L. Ribom, O. Ljunggren, H. Mallmin, and A. Kindmark. (2004) Genetic variation in the human vitamin D receptor is associated with muscle strength, fat mass and body weight in Swedish women. *Eur J Endocrinol*, 150: 323–328.
278. Ye, W.Z., A.F. Reis, D. Dubois-Laforgue, C. Bellanne-Chantelot, J. Timsit, and G. Velho. (2001) Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity in type 2 diabetic subjects with early age of onset. *Eur J Endocrinol*, 145: 181–186.
279. Filus, A., A. Trzmiel, J. Kuliczowska-Plaksej, U. Tworowska, D. Jedrzejuk, A. Milewicz, and M. Medras. (2008) Relationship between vitamin D receptor BsmI and FokI polymorphisms and anthropometric and biochemical parameters describing metabolic syndrome. *Aging Male*, 11: 134–139.
280. Araujo, E., S. Lima, O.A. Galdino, R.F. Arrais, K.S.C. de Souza, and A.A. de Rezende. (2022) Association of CYP2R1 and VDR Polymorphisms with Metabolic Syndrome Components in Non-Diabetic Brazilian Adolescents. *Nutrients*, 14:

281. Chun, R.F., B.E. Peercy, J.S. Adams, and M. Hewison. (2012) Vitamin D binding protein and monocyte response to 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D: analysis by mathematical modeling. *PLoS One*, 7: e30773.
282. Kamboh, M.I. and R.E. Ferrell. (1986) Ethnic variation in vitamin D-binding protein (GC): a review of isoelectric focusing studies in human populations. *Hum Genet*, 72: 281–293.
283. Lauridsen, A.L., P. Vestergaard, and E. Nexø. (2001) Mean serum concentration of vitamin D-binding protein (Gc globulin) is related to the Gc phenotype in women. *Clin Chem*, 47: 753–756.
284. Kimball, S.M. and M.F. Holick. (2020) Official recommendations for vitamin D through the life stages in developed countries. *Eur J Clin Nutr*, 74: 1514–1518.
285. Bacon, C.J., G.D. Gamble, A.M. Horne, M.A. Scott, and I.R. Reid. (2009) High-dose oral vitamin D3 supplementation in the elderly. *Osteoporos Int*, 20: 1407–1415.
286. Sanders, K.M., A.L. Stuart, E.J. Williamson, J.A. Simpson, M.A. Kotowicz, D. Young, and G.C. Nicholson. (2010) Annual high-dose oral vitamin D and falls and fractures in older women: a randomized controlled trial. *JAMA*, 303: 1815–1822.
287. Rossini, M., S. Adami, O. Viapiana, E. Fracassi, L. Idolazzi, M.R. Povino, and D. Gatti. (2012) Dose-dependent short-term effects of single high doses of oral vitamin D(3) on bone turnover markers. *Calcif Tissue Int*, 91: 365–369.
288. Chel, V., H.A. Wijnhoven, J.H. Smit, M. Ooms, and P. Lips. (2008) Efficacy of different doses and time intervals of oral vitamin D supplementation with or without calcium in elderly nursing home residents. *Osteoporos Int*, 19: 663–671.
289. Dalle Carbonare, L., M.T. Valenti, F. Del Forno, E. Caneva, and A. Pietrobelli. (2017) Vitamin D: Daily vs. Monthly Use in Children and Elderly-What Is Going On? *Nutrients*, 9:
290. Ish-Shalom, S., E. Segal, T. Salganik, B. Raz, I.L. Bromberg, and R. Vieth. (2008) Comparison of daily, weekly, and monthly vitamin D3 in ethanol dosing protocols for two months in elderly hip fracture patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 93: 3430–3435.

291. Takacs, I., B.E. Toth, L. Szekeres, B. Szabo, B. Bakos, and P. Lakatos. (2017) Randomized clinical trial to comparing efficacy of daily, weekly and monthly administration of vitamin D(3). *Endocrine*, 55: 60–65.
292. De Niet, S., M. Coffiner, S. Da Silva, B. Jandrain, J.C. Souberbielle, and E. Cavalier. (2018) A Randomized Study to Compare a Monthly to a Daily Administration of Vitamin D(3) Supplementation. *Nutrients*, 10:
293. Shieh, A., R.F. Chun, C. Ma, S. Witzel, B. Meyer, B. Rafison, L. Swinkels, T. Huijs, S. Pepkowitz, B. Holmquist, M. Hewison, and J.S. Adams. (2016) Effects of High-Dose Vitamin D2 Versus D3 on Total and Free 25-Hydroxyvitamin D and Markers of Calcium Balance. *J Clin Endocrinol Metab*, 101: 3070–3078.
294. Chiang, C.M., A. Ismaeel, R.B. Griffis, and S. Weems. (2017) Effects of Vitamin D Supplementation on Muscle Strength in Athletes: A Systematic Review. *J Strength Cond Res*, 31: 566–574.

9. Saját publikációk jegyzéke

A dolgozathoz kapcsolódó közlemények:

Takacs I, Bakos B, Nemeth Z, Toth BE, **Szili B**, Lakatos P.: *Controlled randomized open label clinical study comparing the safety and efficacy of loading schedules in vitamin D deficient patients.* J Steroid Biochem Mol Biol. 2023 Jul. 231:106330. doi: 10.1016/j.jsbmb.2023.106330; **IF: 2,7**

Bakos B, **Szili B**, Szabó B, Horváth P, Kirschner G, Kósa JP, Toldy E, Lakatos P, Tabák ÁG, Takács I.: *Genetic variants of VDR and CYP2R1 affect BMI independently of serum vitamin D concentrations.* BMC Med Genet. 2020 Jun 13. 21(1):129. doi: 10.1186/s12881-020-01065-3.; **IF: 2,103**

Szili B, Szabó B, Horváth P, Bakos B, Kirschner G, Kósa JP, Toldy E, Putz Z, Lakatos P, Tabák Á, Takács I.: *Impact of genetic influence on serum total- and free 25-hydroxyvitamin-D in humans.* J Steroid Biochem Mol Biol. 2018 Oct. 183:62-67. doi: 10.1016/j.jsbmb.2018.05.007.; **IF: 3,785**

Szabó B, Tabák ÁG, Toldy E, Szekeres L, **Szili B**, Bakos B, Balla B, Kósa JP, Lakatos P, Takács I.: *The role of serum total and free 25-hydroxyvitamin D and PTH values in defining vitamin D status at the end of winter: a representative survey.* J Bone Miner Metab. 2017 Jan;35(1):83-90. doi: 10.1007/s00774-015-0729-4.; **IF: 2,472**

Bakos, B; Horvath, P; **Szili, B**; Szabo, B; Lakatos, P; Tabak, AG; Toldy, E; Takacs, I: *Two previously uninvestigated snps are responsible for half of the genetic influence on 25oh-vitamin-d levels in a population free of confounding environmental factors.* Osteopor. Int. 2016; 27:Suppl 1., S492-S492.

Szili, B; Bakos, B; Szabo, B; Horvath, P; Tabak, A; Toldy, E; Lakatos, P; Takacs, I. *The effect of genetic variants of vitamin d pathway on the variance of serum PTH level.* Osteopor. Intern. 2016. 27:Suppl.1, S486-S486.

További közlemények:

Folyóiratcikkek:

Sümege, LD; Varga, M; Kadocsa, V; **Szili, B**; Stempler, M; Lakatos, PA; Németh, Z; Takács, I. *Effect of Moderately High-Dose Vitamin D3 Supplementation on Mortality in Patients Hospitalized for COVID-19 Infection*. *Nutrients*. 2025; 17:507.; **IF: 5,0 (2024)**

Kiss, A; **Szili, B**; Bakos, B, Tóbiás, B; Balla, B; Takács, I; Lakatos, P; Kósa, J.: *A differenciált pajzsmirigyrák rizikója mint első és második primer tumor*. *Orv Hetil*. 2025.; 166:253-262.; **IF: 0,9 (2024)**

Bakos, B; Solymosi, T; **Szili, B**; Vincze, Á.; Mészáros, S; Stempler, M; Ármós, R; Kiss, A; Bakos, A; Szücs, N; Reismann, P; Tőke, J; Pusztai, P; Lakatos, P; Takács, I.: *Psychological factors and obesity, not thyroid biomarkers, predict thyroid-dependent quality of life in treated hypothyroidism: a cross-sectional study*. *BMC Endocr Dis*. 2025; 136:12.; **IF: 3,3 (2024)**

Tuttle, KR; Hauske, SJ; Canziani, ME; Caramori, ML; Cherney, D; Cronin, L; Heerspink, HJL; Hugo, C; Nangaku, M; Rotter, RC; Silva, A; Shah, SV; Sun, Z; Urbach, D; de Zeeuw, D; Rossing, P on behalf of the **ASi in CKG group**: *Efficacy and safety of aldosterone synthase inhibition with and without empagliflozin for chronic kidney disease: a randomised, controlled, phase 2 trial*. *Lancet* 2024; 403:10424

Armos, R; Bojtor, B; Papp, M; Illyes, I; Lengyel, B; Kiss, A; **Szili, B**; Tobias, B; Balla, B; Piko, H; Illes, A; Putz, Z; Kiss, A; Toth, E; Takacs, I; Kosa, JP; Lakatos, P. *MicroRNA Profiling in Papillary Thyroid Cancer*. *Int J Mol Sci*. 2024; 17:9362.; **IF: 4,9**

Nagy, ZF; Árvai, K; Lakatos, P; Debreceni, I; **Szili, B**; Istenes, I; Bődör, C; Demeter, J. *Case report: Comprehensive clinical, pathological and genetic investigations to decipher the background of cyclic thrombocytopenia*. *Path Oncol Res*. 2024; 30:1611914.; **IF: 2,3**

Stempler, M; Bakos, B; Solymosi, T; Kiss, A; Ármós, RL; **Szili, B**; Mészáros, S; Tőke, J; Szücs, N; Reismann, P; Pusztai, P; Lakatos, PA; Takács, I. *Analysis of factors*

influencing the dose of levothyroxine treatment in adequately controlled hypothyroid patients of different etiologies Heliyon. 2024; 20:e39639; **IF: 3,6**

Kiss, A; **Szili, B**; Bakos, B; Ármós, R; Putz, Z; Árvai, K; Kocsis-Deák, B; Tobiás, B; Balla, B; Pikó, H; Dank, M; Kósa, JP; Takács, I; Lakatos, P. *Comparison of surgical strategies in the treatment of low-risk differentiated thyroid cancer.* BMC Endocr Dis 2023.23:23.; **IF: 2,8**

Bakos, B; Kiss, A; Árvai, K; **Szili, B**; Kocsis-Deák, B; Tobiás, B; Putz, Z; Ármós, R; Balla, B; Kósa, J; Dank, M; Valkusz, Z; Takács, I; Tabák, Á; Lakatos, P. *Co-occurrence of thyroid and breast cancer is associated with an increased oncogenic SNP burden.* BMC Cancer. 2021; 21:706.; **IF: 4,638**

Szabó, B; **Szili, B**; Bakos, B; Takács, I. *A kalciumhiány jelentősége Magyarországon* Orvostov Szemle 2018. 25:49-52.

Szili, B; Lakatos, P. *Pajzsmirigy- és gyomor-autoimmunitás: tireogasztrikus szindróma.* Orvostov Szemle. 2018. 25:47-50.

Gaal-Weisinger, J; Mucsi, O; Körösmezey, G; **Szili, B**; Eid, H; Kiss, R; Bödör, C; Tárkányi, I; Nagy, Z; Demeter, J. *Újdonságok és tapasztalatok a krónikus mieloid leukémia tirozinkináz-gátló kezelésében [Novelties and experience with tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukemia].* Magyar Onkol. 2014.; 61:67-74.

Horváth, P; Balla, B; Kósa, JP; Tobiás, B; **Szili, B**; Kirschner, G; Győri, G; Kató, K; Lakatos, P; Takács, I. *Strong effect of SNP rs4988300 of the LRP5 gene on bone phenotype of Caucasian postmenopausal women.* J Bone Miner Metab. 2016; 34:79-85. **IF: 2,423**

Szili, B.; Görög, D; Gerlei, Z; Győri, G; Lakatos, P; Takács, I. *Rapid height growth after liver transplantation in adulthood.* Growth Horm&IGF Res. 2016; 29:1-3. **IF: 1,828**

Szili, B. *A Magyar Osteoporosis és Osteoarthrológia Társaság állásfoglalása a K2-vitamin csontanyagcserére gyakorolt hatásairól 2016. február 19.* Magyar Reumat. 2016; 57:21-24.

Takács, I; Bittner, N; Bakos, B; Benkő, I; Dank, M; Horváth, V; Salamon, A; Szabó, B; Szekeres, L; **Szili, B**; Sziller, I.; Toldy, E.; Valkusz, Zs.; Várbíró, Sz ; Bodolay, E.; Kovács, T.; Szabó, A.; Wikonkál, N., Lakatos P. *Harmadik magyarországi konszenzus a D-vitamin szerepéről a betegségek megelőzésében és kezelésében.* Orvostov Szemle. 2016; 23:13-26.

Balla, B; Tobias, B; Kosa, JP; Podani, J; Horvath, P; Nagy, Z; Horanyi, J; Jaray, B; Szekely, E; Krenacs, L; Árvai, K; Dank, M; Putz, Z; Szabó, B; **Szili, B**; Valkusz, Z; Vasas, B; Győri, G; Lakatos, P; Takács, I. *Vitamin D-neutralizing CYP24A1 expression, oncogenic mutation states and histological findings of human papillary thyroid cancer.* J Endocr Inv. 2015; 38:313-321. **IF: 1,994**

Gaál-Weisinger, J; **Szili, B**; Körösmezey, G; Tárkányi, I; Nagy, Z; Demeter, J. *A CML kezelésében alkalmazott tirozin-kináz-gátlók anyagcserehatásai.* Orvostov Szemle. 2015; 9:45-48.

Szili, B; Takács, I. *Van-e szerepe a K2-vitaminnak az osteoporosis prevenciójában, terápiájában?* LAM 2014; 4:4-11.

Szili, B; Takács, I. *A szisztémás glukokortikoszteroid kezelés mellékhatásai.* Med Thor. 2014; 67:303-310.

Szili, B. *Leiden-mutáció a klinikai gyakorlatban.* Magyar Orv. 2014; 22:18-20.

Szili, B; Bakos, B; Kató, K; Kirschner, G; Tóbiás, B; Balla, B; Horváth, P. *A D3-vitamin-kezelés különböző adagolási sémáinak összehasonlítása.* LAM. 2014; 4:163-168.

Szili, B; Takács, I. *Szérum kalciumeltérések értékelése a mindennapi gyakorlatban.* Magyar Orv. 2013; 21:13-16.

Bakos, B; Takacs, I; Nagy, Z; Kosa, JP; Balla, B; Tobias, B; Halaszlaki, C; **Szili, B;** Lakatos, P. *Long term efficacy of radioiodine treatment in hyperthyroidism.* Exp Clin Endocr & Diab. 2013; 121:494-497. **IF: 1,760**

Szili, B.; Nagy, Z. *A pajzsmirigybetegségek felismerése, differenciálása és kezelése a háziorvosi gyakorlatban.* Családorv Fórum. 2012. 12: 17-23.

Pálfi, E; Bakos, B; **Szili, B;** Kósa, J; Lakatos, P; Takács, I. *A primer hyperparathyreosis klinikai megjelenési formái napjainkban - különös tekintettel a cardiovascularis hatásra.* Magyar Belorv Arch. 2012; 65:312-317.

Bakos, B; Takács, I; Ternai, Z; Nagy, Zs; Kósa, PJ; Balla, B; Tóbiás, B; Halászlaki, Cs; **Szili, B;** Lakatos, P. *A hyperthyreosisok radiojódkezelésének hosszú távú hatékonysága.* Magyar Belorv Arch. 2011; 64:289-293.

Bikov, A; Gajdocsy, R; Huszar, E; **Szili, B;** Lazar, Z; Antus, B; Losonczy, G; Horvath, I. *Exercise increases exhaled breath condensate cysteinyl leukotriene concentration in asthmatic patients.* J Asthma. 2010; 47:1057-1062. **IF: 1,341**

Bikov, A; **Szili, B;** Horváth, I. *A pulmonalis rehabilitáció hatásossága COPD-ben és egyéb krónikus tüdőbetegségekben.* Med Thor. 2008; 61:30-34.

Kullmann, T; Barta, I; Lazar, Z; **Szili, B;** Barat, E; Valyon, M; Kollai, M; Horvath, I. *Exhaled breath condensate pH standardised for CO2 partial pressure.* 2007; Eur Respir J. 29:496-501. **IF: 5,349**

Szili, B; Bikov, A; Kollai, M; Horváth, I. *A kilégzett levegő kondenzátumának pH-ja: új lehetőség a gyulladós légúti betegségek vizsgálatában: [The pH of the exhaled breath*

condensate: New method for investigation of inflammatory airway diseases]. Orv Hetil 2007; 148:1217-1224.

Bikov, A; **Szili, B**; Huszár, É; Lázár, Z; Kollai, M; Horváth, I. *Terhelés-indukált bronchoconstrictio.* Med Thor. 2006; 59:209-214.

Horvath, I; **Szili, B**; Kullmann, T. The effect of gas standardisation on exhaled breath condensate pH. Eur Respir J. 2006; 28: 252-253. **IF: 5,349**

Könyvfejezet

Szili, B; Lakatos, P. *Thyroid nodular diseases, thyroid tumours*

In: Takács, I (szerk.) Internal Medicine 1. – endocrine diseases / metabolic disorders / kidney diseases / gastroenterological diseases

Budapest: Semmelweis Kiadó (2025) 56-62.

Szili, B. *Gout.* In: Takács, I (szerk.) Internal Medicine 1. – endocrine diseases / metabolic disorders / kidney diseases / gastroenterological diseases; Budapest, Semmelweis Kiadó (2025) 182-185.

Szili, B; Lakatos, P. *A pajzsmirigy göbös megbetegedései, pajzsmirigy tumorok.* In: Takács, István (szerk.) Belgyógyászat 1 tantárgyi jegyzet; Budapest: Semmelweis Kiadó (2024) 61-67.

Szili, B. *Köszvény.* In: Takács, István (szerk.) Belgyógyászat 1 tantárgyi jegyzet Budapest, Magyarország: Semmelweis Kiadó (2024) 186-189.

Lakatos, P; Szili, B; Bakos, B; Takacs, I; Putz, Z; Istenes, I. *Thyroid Hormones, Glucocorticoids, Insulin, and Bone.* HANDBOOK OF EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY. 2020; 93-120.

10. Köszönetnyilvánítás

A doktori értekezés elkészítése hosszú folyamat, amely nem valósulhatott volna meg sok ember támogatása, segítsége és biztatása nélkül. Ezúton szeretném kifejezni őszinte hálámat mindazoknak, akik szakmai vagy személyes hozzájárulásukkal segítették munkámat.

Elsőként szeretném megköszönni témavezetőmnek, Prof. Takács Istvánnak a folyamatos szakmai iránymutatást, a gondolkodásomat formáló kérdéseket, valamint azt a bizalmat és támogatást, amely végigkísérte kutatómunkámat. Tanácsai, kritikai észrevételei és bátorítása meghatározó szerepet játszottak abban, hogy ez az értekezés megszülethessen. Intézetvezetőként is lehetőséget biztosított számomra a kutatómunka végzésére és szakmai fejlődésemre. Az a támogató szakmai környezet, amelyben dolgozhattam, nagyban hozzájárult a munka megvalósításához.

Köszönettel tartozom Prof. Lakatos Péternek is inspiráló szakmai gondolataiért, segítségéért és mindazért a támogatásért, amelyet a kutatás során nyújtott.

Hálás vagyok mindazoknak a kollégáknak és munkatársaknak, akikkel a mindennapi klinikai és tudományos munka során együtt dolgozhattam, közülük is kiemelném Dr. Bakos Bencét. A közös gondolkodás, a szakmai beszélgetések és a támogató légkör sokszor új nézőpontokat és lendületet adtak a kutatáshoz.

Külön szeretném megköszönni az asszisztensek és laboratóriumi munkatársak lelkiismeretes és odaadó munkáját, akik nélkül a vizsgálatok megvalósítása és az adatok gyűjtése nem lett volna lehetséges.

Végül, de mindenekelőtt szeretném kifejezni hálámat családomnak. Türelmük, szeretetük és folyamatos támogatásuk nélkül ez az értekezés nem készülhetett volna el. Ők adták azt a biztos hátteret, amely lehetővé tette, hogy ezt a hosszú utat végigjárjam.