

A D-vitamin anyagcserét befolyásoló genetikai tényezők vizsgálata

Doktori tézisek
Dr. Szili Balázs

Belgyógyászati és Onkológiai Klinika
Semmelweis Egyetem



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 bizottság elnöke:

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

Komplex vizsga bizottság tagok:

Dr. Szücs Nikolette, Ph.D., egyetemi docens

Dr. Kovács Gábor, Ph.D., főorvos

Budapest, 2026

1. Bevezetés

A D-vitamin az emberi szervezet egyik legösszetettebb endokrin rendszere, amely klasszikus szerepe szerint a kalcium- és foszfátanyagcsere szabályozásán keresztül biztosítja a csont mineralizációját és a csontanyagcsere egyensúlyát. Az elmúlt évtizedek kutatásai azonban egyértelművé tették, hogy a D-hormon ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -vitamin) hatásai messze túlmutatnak a csontrendszeren: szerepet játszik az immunválasz modulálásában, a sejtdifferenciációban, a kardiovaszkuláris és metabolikus folyamatok szabályozásában, valamint számos krónikus betegség patomechanizmusában.

A D-vitamin különlegessége, hogy nem klasszikus vitamin, hanem prohormon: UV-B sugárzás hatására a bőrben keletkezik 7-dehidrokoleszterinből, majd kétlépcsős hidroxiláció után válik biológiailag aktív hormonná. A májban történő 25-hidroxilációt követően keletkező $25(\text{OH})\text{D}_3$ a fő keringő forma, amely a D-vitamin-ellátottság legelfogadottabb biomarkere. A vesében, illetve számos extrarenalis szövetben végbemenő 1α -hidroxiláció eredményezi az aktív D-hormont.

A D-vitamin státuszt számos környezeti tényező befolyásolja: földrajzi szélesség, évszak, napsugárzás, bőrpigmentáció, életkor, testtömegindex, táplálkozás, gyógyszeresedés. E tényezők mellett egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy

genetikai variánsok is jelentősen hozzájárulnak a szérumban a 25(OH)D₃ szint variabilitásához. A legnagyobb genom-wide asszociációs vizsgálatok (GWAS) a GC (D-vitamin-kötő fehérje), a DHCR7/NADSYN1 régió, valamint a CYP2R1 és CYP24A1 gének szerepét azonosították a teljes 25(OH)D₃ szint genetikai determinánsaiként.

Az irodalomban ugyanakkor jelentős eltérés mutatkozik a D-vitamin-szintek örökletességére vonatkozó becslésekben: a GWAS vizsgálatok alacsony (1–8%), míg ikervizsgálatok jóval magasabb (akár 70% feletti) genetikai meghatározottságot jeleztek. E különbségek hátterében az egyes vizsgálatokban a környezeti hatások eltérő kontrolláltsága állhat.

A D-vitamin-ellátottság klinikai szempontból nemcsak genetikai, hanem terápiás kérdés is. A D-vitamin-hiány rendkívül gyakori jelenség Magyarországon, különösen a téli hónapok végén. A hiányállapot kezelése során többféle adagolási séma alkalmazható, azonban nem teljesen tisztázott, hogy az azonos összdózisú, de eltérő időtartamú feltöltési protokollok között van-e különbség hatásosság és biztonságosság tekintetében.

Dolgozatomban ezért a D-vitamin-ellátottság genetikai determinációját, valamint a D-vitamin-pótlás két különböző feltöltési sémájának klinikai hatásait vizsgáltam.

2. Célkitűzések

Kutatásaim két fő kérdéskör köré szerveződtek:

2.1. A D-vitamin ellátottságot befolyásoló genetikai tényezők

Elsődleges célom egy olyan modell populáció létrehozása volt, amelyben a D-vitamin-ellátottság a lehetőségekhez mérten függetlenített a környezeti tényezőktől, így a szérum D-vitamin szinteket döntően az egyén genetikai háttere határozza meg

A vizsgálat során az alábbi kérdésekre kerestem választ:

- 1.) Befolyásolják-e a D-vitamin-anyagcsere útvonal kulcsgénjeinek polimorfizmusai a teljes (t-25OHD), a szabad (f-25OHD) és a biológiailag elérhető (b-25OHD) 25(OH)D₃ szinteket?
- 2.) Mely gének és mely konkrét SNP-k felelősek a genetikai determinációért?
- 3.) Mekkora a genetikai meghatározottság mértéke a különböző D-vitamin frakciók esetében?
- 4.) Különbözik-e a szabad vagy biológiailag elérhető D-vitamin genetikai determinációja a teljes 25(OH)D₃ szintétől?

2.2. D-vitamin telítő dózis különböző adagolási sémáinak összehasonlítása

Második vizsgálatomban azt elemeztem, hogy D-vitamin-hiány esetén a feltöltő adagú D₃-vitamin két különböző adagolási sémája (közepes vs. gyors telítés) között van-e különbség:

- 1.) a szérum 25(OH)D₃ szint emelkedésének mértékében,
- 2.) a fenntartó fázis utáni ellátottságban,
- 3.) a kalcium- és csontanyagcsere-markerek változásában,
- 4.) a biztonságossági paraméterek tekintetében.

3. Módszerek

3.1. A 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) hívtuk meg véletlenszerű módszerrel.

A vizsgálatot a tél legvégére időzítettük, amikor a téli napfényhiány miatt várhatóan a legnagyobb mértékű a D-vitamin-hiány.

3.1.2. Vizsgálatok

Minden alanytól kórelőzményt vettek fel (különös tekintettel D-vitamin szedésre, vitaminok, étrendkiegészítők használatára), fizikális vizsgálat történt, illetve mérték az alanyok testtömegét és testmagasságát. Kérdőívvel vizsgáltuk a D-vitamin ellátottságot esetlegesen befolyásoló életmódbeli szokásokat.

3.1.3. Biológiai minták vétele, kezelése, laboratóriumi vizsgálatok

Az alábbi laboratóriumi paramétereket vizsgáltuk:

- szérum teljes 25(OH)D-vitamin-szint (t25OHD);

- szérum D-vitamin-kötő fehérje (DBP);
- szérum albumin, kalcium, foszfát, parathormon.

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

1.1.1. 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).

Vizsgáltuk a korábbi vizsgálatokban a D-vitamin ellátottsággal összefüggést mutató polimorfizmusokat: rs4588, rs7041 (GC); rs4809959, rs927650, rs2209314 és rs2762939 (CYP24A1).

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

1.1.2. Statisztikai elemzés

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.

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

A p-értékek korrekciójára 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 multivariációs lineáris regressziós modellel vizsgáltuk. A modellt nemre és BMI-re korrigáltuk.

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 szoftverrel történtek.

3.2 D-vitamin telítő dózis különböző adagolási sémáinak összehasonlítása

3.2.1 Vizsgálati elrendezés és résztvevők

Randomizált, kontrollált, nyílt, többcentrumú vizsgálatot végeztünk hét hazai helyszínről toborzott felnőttek részvételével. A fő beválasztási kritériumok a 18-70 év közötti életkor és a D-vitamin-hiány fennállása (szérum 25-OH-D-vitamin-szint <20 ng/ml) volt.

A főbb kizárási kritériumok a jelentős obesitas, kalcium-anyagcsere zavarok, D-vitamin-ellátottságot befolyásoló tényező fennállása és felszívódási zavarok voltak.

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 szak 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 *Laboratóriumi vizsgálatok*

Mértük a teljes 25(OH)-D-vitamin szintet, a csontforgalmat jelző prokollagén-1 N-terminális propeptid (P1NP) és kollagén- β -crosslaps értékeket szérumból. A kalcium-anyagcsere paraméterek közül a szérum kalcium, foszfát, albumin és parathormon szinteket, valamint vizelet kalcium/kreatinin hányadost mértünk.

3.2.3 *Statisztikai elemzés*

A csoportok közötti különbségeket egyszeri ANOVA-val (folytonos adatok) vagy χ^2 -/Fisher-próbával (kategorikus adatok) vizsgáltuk. Összefüggésekhez uni- és multivariációs lineáris regressziót alkalmaztunk. A feltöltés és fenntartás időbeni hatását, illetve a két kezelési séma közötti interakciót vegyes-modell-ANOVA-val értékeltük; szignifikáns fő- vagy interakciós hatások esetén Bonferroni-korrekción után páronkénti összehasonlítást végeztünk.

4. Eredmények

4.1. A D-vitamin ellátottságot befolyásoló genetikai tényezők

A D-vitamin ellátottságot a környezeti tényezők közül az alábbiak befolyásolták:

- szolárium használat,
- trópusi utazás,
- D-vitamin szedés.

Ezek alapján a modell populációba azokat vontuk be, akiknél a fenti tényezők nem álltak fenn. Ezekben az egyéneknél a vizsgálatkor, a tél legvégén alappal feltételezhetjük, hogy a D-vitamin ellátottságukat kizárólag a genetikai tényezők befolyásolják. A modell populáció 472 főből állt, alapadataik nem különböztek a teljes populációtól.

Univariációs analízis során 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. Multivariációs modell 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 parathromon értékével az rs11023374 és rs1993116 SNP-k mutattak szignifikáns összefüggést a PTH szinttel, függetlenül a nemtől, életkortól és vesefunkciótól.

A testtömegindex-szel az alábbi három polimorfizmus mutatott szignifikáns összefüggést, Benjamini-Hochberg korrekció után is: rs11023374 (CYP2R1); rs2853564 (VDR); rs7302235 (VDR). A multivariációs modellben az rs2853564 és az rs11023374 maradt szignifikáns, ezek a BMI varianciájának 3,2 %-át magyarázták.

4.2. D-vitamin telítő dózis különböző adagolási sémáinak összehasonlítása

A vizsgálatban 69 személy vett részt (17 nő, 52 férfi). A gyors- és a közepes telítési csoport között az életkor, testtömeg-index, napi kalcium bevitel és D-vitamin-ellátottság tekintetében. A D-vitamin feltöltés hatására 25OHD szint átlagosan $27,84 \pm 1,4$ ng/ml-rel nőtt. A telítés végére a két csoport között szignifikáns különbség alakult ki (KTD: $38,80 \pm 1,80$ vs. GyTD: $46,09 \pm 1,80$ ng/ml, $p=0,006$), mely a fenntartó kezelés végén is fennmaradt. A biztonságosság tekintetében nem volt különbség a két dózis között. Az izomerő mindkét csoportban javult.

5. Következtetések

- Vizsgálatunk volt az első, amely a környezeti tényezőktől a lehetőségekig függetlenített, reprezentatív populációban elemezte a D-vitamin ellátottságot befolyásoló genetikai tényezőket.
- A teljes 25(OH)D₃ szint jelentős mértékben genetikai meghatározottság alatt áll. Az általunk vizsgált SNP-k a variancia 13%-át magyarázzák.
- A GC, DHCR7/NADSYN1, CYP2R1 és CYP24A1 gének szerepe a magyar populációban is igazolható.
- Két új SNP-t azonosítottunk a t-25OHD szinttel összefüggésben (NADSYN1 és CYP24A1 génekben).
- A szabad és biológiailag elérhető D-vitamin szintek függetlenek voltak a genetikai polimorfizmusoktól, ami a hormonális rendszer konzervált jellegére utal.
- Új összefüggést találtunk a D-vitamin útvonal génjei és a testtömeg-index között (VDR és CYP2R1 génekben), melyek hatása a D-vitamin-szintektől függetlenül volt kimutatható.

- A 300.000 NE összdózisú, 5 hét alatt, heti 2×30.000 NE adagú kolekalciferol gyorsabban és nagyobb mértékben emeli a 25(OH)D₃ szintet, mint a 10 hét alatt, heti 1×30.000 NE dózis.
- Mindkét feltöltő kezelési forma biztonságos.
- A kéthetenkénti fenntartó dózis hatékonyan stabilizálja az elért ellátottságot.
- A D-vitamin-kezelés hatékonyan javítja az izomerőt.

Eredményeink hozzájárulnak a D-vitamin-hiány genetikai hátterének jobb megértéséhez. Az adatok rámutatnak a D-vitamin anyagcsere és metabolikus útvonalak, túlsúly összefüggéseire is.

A pótlással kapcsolatos eredmények segítenek hatékonyabb, személyre szabott D-vitamin-kezelési protokollok, algoritmusok kidolgozásához.

6. Jelölt publikációi

Disszertációhoz kapcsolódó közlemények:

- Takacs, I.; Bakos, B.; Nemeth, Z.; Toth, B.E.; 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; 231:106330; **IF: 2,7**
- Bakos, B.; Szili, B.; Szabo, B.; Horvath, P.; Kirschner, G.; Kosa, J.P.; Toldy, E.; Lakatos, P.; Tabak, A.G.; Takacs, I.: *Genetic variants of VDR and CYP2R1 affect BMI independently of serum vitamin D concentrations*. BMC Med Genet. 2020; 21:129.; **IF: 2,103**
- Szili, B.; Szabó, B.; Horváth, P.; Bakos, B.; Kirschner, G.; Kósa, J.P.; 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; 183:62-67.; **IF: 3,785**
- Szabó, B.; Tabák, Á.G.; Toldy, E.; Szekeres, L.; Szili, B.; Bakos, B.; Balla, B.; Kósa, J.P.; 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; 35:83-90.;

IF: 2,472

IF (disszertációhoz kapcsolódó közlemények): **11,06.**

IF (disszertációhoz nem kapcsolódó közlemények): **47,482.**

Σ IF: 58,542