

A D-vitamin-anyagcsere molekuláris genetikája, a D-vitamin-hiány klinikai vonatkozásai

Doktori értekezés

Dr. Bakos Bence

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Takács István D.Sc., egyetemi tanár

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

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Hosszúfalusi Nóra Ph.D., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Sallai Ágnes Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Kovács Gábor László Ph.D., főorvos

Budapest
2022

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	4
I. Bevezetés (irodalmi háttér)	8
I.1. A D-vitamin anyagcseréje és farmakológiája	8
I.1.1. A D-vitamin evolúciós története	8
I.1.2. A D-vitamin felfedezésének története.....	8
I.1.3. A D-vitamin szintézise	9
I.1.4. A D ₂ -vitamin.....	10
I.1.5. A D-vitamin aktivációja	11
I.1.6. A D-vitamin lebomlása	12
I.1.7. A D-vitamin transzportja.....	12
I.1.8. A D-vitamin intracelluláris jelátvittele.....	13
I.2. A D-vitamin szkeletális hatásai.....	14
I.2.1. Kalciumabszorpció.....	14
I.2.2. A D-vitamin veseműködésre gyakorolt hatásai	15
I.2.3. A D-vitamin direkt hatásai a csontrendszerre	15
I.2.4. A D-vitamin indirekt csonthatásai	16
I.3. A D-vitamin extraszkeletális hatásai.....	18
I.3.1. A D-vitamin hatásai a bőrben.....	18
I.3.2. A D-vitamin hatása az izomerőre és az elesésekre	19
I.3.3. Immunrendszerre gyakorolt hatások	20
I.3.4. Daganatképződésre gyakorolt hatások	21
I.3.5. Szív- és érrendszeri hatások	22
I.3.6. Egyéb potenciálisan jelentős hatások.....	23
I.3.7. A D-vitamin-hiány hatása a mortalitásra	23

I.4. A D-vitamin-anyagcsere polimorfizmusainak klinikai jelentősége	24
I.5. A D-vitamin-hiány klinikai vonatkozásai	25
I.5.1. A D-vitamin ellátottság definíciója és diagnosztikája.....	25
I.5.2. A D-vitamin ellátottságot befolyásoló endogén és exogén tényezők	26
I.5.3. A D-vitamin-pótlás indikációi, dozírozása, mellékhatásai	28
I.6. Az obezitás epidemiológiája	29
I.7. Az obezitás okainak áttekintése.....	31
I.8. Az obezitás genetikai háttere.....	34
I.9. A D-vitamin-hiány és az obezitás összefüggései	35
II. Célkitűzések.....	37
II.1. A D-vitamin-szintet befolyásoló genetikai tényezők vizsgálata.....	37
II.2. A D-vitamin-anyagcsere polimorfizmusainak hatása a kalcium-anyagcsere paramétereire	37
II.3. Az obezitás és a D-vitamin-anyagcsere genetikai összefüggéseinek vizsgálata	37
III. Módszerek	39
III.1. A vizsgálat felépítése, vizsgálati alanyok.....	39
III.2. Laboratóriumi vizsgálatok.....	40
III.3. Genetikai elemzés.....	41
III.4. In silico elemzés	44
III.5. Statisztikai módszerek	44
IV. Eredmények.....	46
IV.1. A vizsgálati alanyok klinikai jellemzői.....	46
IV.2. A D-vitamin-hiány laboratóriumi jellemzői.....	47
IV.3. A genetikai elemzés eredményei.....	53
IV.3.1. A D-vitamin-hiányt befolyásoló genetikai tényezők.....	53
IV.3.2. A kalcium-anyagcserét befolyásoló genetikai tényezők	56

IV.3.3. A BMI-t befolyásoló genetikai tényezők	58
V. Megbeszélés.....	60
V.1. A D-vitamin-hiány laboratóriumi jellemzői	60
V.2. A D-vitamin-hiányt befolyásoló genetikai polimorfizmusok.....	62
V.2.1. Patofiziológiai magyarázat	63
V.2.2. Klinikai implikációk	66
V.2.3. További lehetséges kutatási irányok.....	67
V.3. A kalcium-anyagcserét befolyásoló genetikai polimorfizmusok	68
V.3.1. Patofiziológiai magyarázat	69
V.3.2. Klinikai implikációk	72
V.3.3. További lehetséges kutatási irányok.....	72
V.4. A D-vitamin genetika és a BMI összefüggései.....	73
V.4.1. Patofiziológiai magyarázat	74
V.4.2. Klinikai implikációk	75
V.4.3. További lehetséges kutatási irányok.....	76
V.5. A vizsgálat erősségei és korlátai.....	77
VI. Következtetések.....	79
VII. Összefoglalás	80
VIII. Summary.....	81
IX. Irodalomjegyzék.....	82
X. Saját publikációk jegyzéke	120
A PhD értekezés alapját képező publikációk (IF: 11,539):	120
Egyéb publikációk (IF: 10,359):	121
XI. Köszönetnyilvánítás	122

Rövidítések jegyzéke

7-DHC	7-dehidrokoleszterin
95% CI	95%-os konfidencia intervallum
A	adenin
AGS	American Geriatric Society
AIC	Akaike információs kritérium
ALP	alkalikus foszfatáz
AMI	akut myocardialis infarctus
ANOVA	varianciaanalízis
ÁNTSZ	Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálat
ATP	adenozin-5'-trifoszfát
b-25(OH)-D	bioaktív 25-hidroxi-D-vitamin
B7-H1	B7 homolog 1
BCL3	B-cell lymphoma 3-encoded protein
BMD	csont ásványi anyag sűrűség
BMI	testtömegindex
C	citozin
Ca	kalcium
cMYC	c-myelocytomatosis oncogene product
COPD	idült obstruktív tüdőbetegség
CYP24A1	24-hidroxiláz
CYP27A1	szterol-27- hidroxiláz.
CYP27B1	25-hidroxi-D-vitamin-1-alfa-hidroxiláz
CYP2R1	D-vitamin-25-hidroxiláz
CYP3A4	citokróm P450 3A4
DBP	D-vitamin kötőfehérje
DCM	dilatatív cardiomyopathia
DEFB4	béta-defenzin 4
DEXA	kettős energiájú röntgen foton elnyelődés
DNS	dezoxiribonukleinsav
E2F	E2 transzkripció faktor

EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
eQTL	expression quantitative trait loci
f-25(OH)-D	szabad 25-hidroxi-D-vitamin
FAM _{57B2}	family with sequence similarity 57, member B
FGF23	fibroblaszt növekedési faktor 23
FTO	fat mass and obesity-associated protein
G	guanin
GC	D-vitamin kötőfehérje génje
GFR	glomerulus filtrációs ráta
GGT	gamma-glutamil transzferáz
GOT	glutamát-oxálacetát aminotranszferáz
GPT	glutamát-piruvát-transzamináz
GWAS	genome-wide association study
HBD2	béta-defenzin 2
HSP70	70 kilodaltonos hősokk-fehérje
HVDRR	D-vitamin rezisztens rachitis
IBD	gyulladásos bélbetegség
IL-6	interleukin-6
IOF	International Osteoporosis Foundation
IOM	Institute of Medicine
ISZB	ischaemiás szívbetegség
K	kálium
LC-MS/MS	folyadékkromatográfiával kiegészített tömegspektrometria
LDH	laktát dehidrogenáz
LRP5	LDL Receptor Related Protein 5
MAF	minor allél frekvencia
MAFF	musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F
MAFK	musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog K
MARRS	membrane associated, rapid response steroid-binding
MALDI-TOF	matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight
MC4R	melanocortin 4 receptor
Mg	magnézium

mRNS	hírvivő ribonukleinsav
Na	nátrium
NAD	nikotinamid-adenin-dinukleotid
NADSYN1	glutamin-dependens nikotinamid-adenin-dinukleotid szintetáz
NAFLD	nem alkoholos eredetű zsírmáj
NASH	nem alkoholos eredetű steatohepatitis
NE	nemzetközi egység
NIH	National Institutes of Health
NOD2	nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2
NOF	National Osteoporosis Foundation
OR	esélyhányados
OTÁP	Országos Táplálkozás és Tápláltsági Állapot Vizsgálat
PTH	parathormon
UV	ultraibolya
P	foszfát
PRR	pattern recognition receptor
PAI	plazminogén-aktivátor inhibitor
PCOS	policisztás petefészek szindróma
PCR	polimeráz-láncreakció
PCSK1	prohormon konvertáz 1
PPAR γ	peroxiszóma proliferáció aktiválta receptor
RANK	receptor activator of nuclear factor- κ B
RNS	ribonukleinsav
RXR	retinoid X receptor
RXRG	retinoid X receptor gamma
SIN3A	paired amphipathic helix protein Sin3a
SM	sclerosis multiplex
SNP	single nucleotide polymorphism
T	timin
t-25(OH)-D	teljes 25-hidroxi-D-vitamin
T1DM	1-es típusú diabetes mellitus
T2DM	2-es típusú diabetes mellitus

TBC	tuberculosis
TGF- β	transzformáló béta növekedési faktor
TRPV5	transient receptor potential vanilloid subfamily member 5
TRPV6	transient receptor potential vanilloid subfamily member 6
VDDR1A	D-vitamin dependens rachitis 1A típus
VDDR1B	D-vitamin dependens rachitis 1B típus
VDR	D-vitamin receptor
vs	versus

I. Bevezetés (irodalmi háttér)

I.1. A D-vitamin anyagcseréje és farmakológiája

I.1.1. A D-vitamin evolúciós története

A D-vitamin aktív formája, a kalcitriol filogenetikai értelemben az egyik legősibb szteránvázas hormon (1). Bár legismertebb funkciója gerincesekben a kalcium- és csontanyagcsere szabályozása, gerinctelen élőlényekben, sőt szinte valamennyi állat- és növényfajban jelen van. Gerinceseken kívül betöltött funkciói egyelőre nem egyértelműek. A legelfogadottabb nézet szerint az UV fény DNS-t károsító hatása elleni védekezésben játszik szerepet (1). Ezt az elképzelést alátámasztja, hogy a D-vitamin UV abszorpciós spektruma átfed a DNS, az RNS és a fehérjék abszorpciós spektrumával. Más elméletek szerint az egyszerű organizmusok a D-vitamin-szinteken keresztül nyerhetnek információt az őket érő napsugárzás mennyiségéről. A pro-D-vitamin D-vitaminná történő átalakulása során megváltozik a molekula rigiditása, ami a sejtmembrán magas pro-D-vitamin tartalma esetén a kation permeabilitás változását okozza. Így a D-vitamin és a kalcium a sejteket ért fényhatás másodlagos hírvivőjeként szolgálhat. A molekula evolúciós jelentőségét jól mutatja, hogy olyan fito- és zooplankton fajokban is képződik, melyek több mint 750 millió éve változatlan formában vannak jelen az élővilágban.

I.1.2. A D-vitamin felfedezésének története

A D-vitamin jelentőségének és szkeletális hatásainak felismeréséhez az osteomalacia XVI-XIX. századi endémiás elterjedése vezetett. A városiasodás és az ipari forradalom miatt bekövetkezett életmódváltozás azt eredményezte, hogy az embereket egyre kevesebb napsugárzás érte. A XIX. század végére az európai és észak-amerikai nagyvárosokban élő gyermekek 90%-a valamilyen mértékű osteomalaciában szenvedett (2). Sniadecki lengyel és Palm angol kutatók voltak az elsők, akik az osteomalacia okát egymástól függetlenül a napfény hiányában keresték. Kezelésként pedig mindketten rendszeres napozást javasoltak (3, 4). Ezzel körülbelül egyidőben Bretonneau francia orvos csukamájolajjal ért el átütő sikereket. Őt ezen a nyomon Trousseau és Mellanby követték (5, 6). Az ő munkásságuk vezetett ahhoz az elképzeléshez, hogy a betegség hátterében valamilyen táplálkozási hiányállapot áll. Kezdetben az akkor már ismert A-

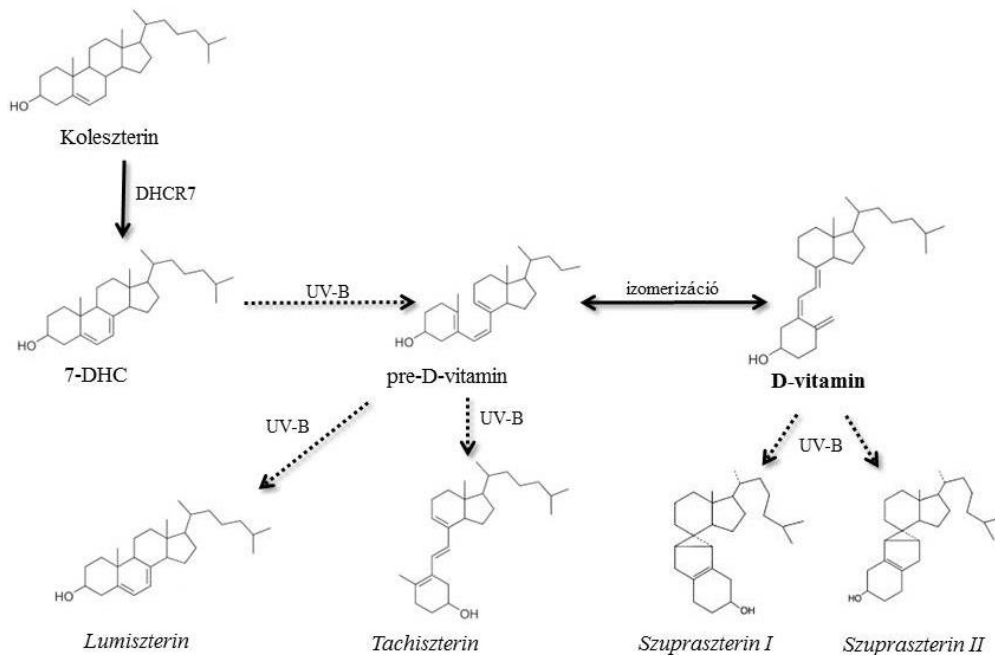
vitamint tették felelőssé a csukamájolaj rachitis-ellenes hatásáért, később azonban McCollum és mtsai. igazolták, hogy más anyagról van szó, melyet D-vitaminnak kereszteltek el. A XX. század elején Huldschinsky, Hess és Hunter voltak az elsők, akik az “angolkór” kezelésére sikeresen használtak mesterséges UV sugárzást (7). A két elméletet végül Steenbock, Black, Hess és Weinstock kísérletei kapcsolták össze, akik számos ételféleség UV besugárzását követően azok rachitis-ellenes hatásáról számoltak be (8, 9). Hess 1926-ban állt elő a mai napig elfogadott elmélettel, hogy fiziológiás viszonyok között a D-vitamin a bőrben UV fény hatására alakul ki előanyagaiból (10). A D-vitamin előanyagának kezdetben a tiszta koleszterint gondolták. A D₃-és D₂-vitaminok tényleges előanyagainak, a 7-dehidrokoleszterinnek és a sitosterinnek a felfedezéséhez többek között Adolf Windaus Nobel-díjas vegyész kutatásai vezettek el (11). A D-vitamin aktivációjának további lépéseit a XX. század második felében írták le. Deluca nevéhez fűződik a 25(OH)D₃-vitamin (kalcifediol) leírása (12), míg az aktív 1,25(OH)₂D₃-vitamint először Holick és mtsai. állították elő 1972-ben (13).

1.1.3. A D-vitamin szintézise

A D-vitamin szintézise előanyagából, a 7-dehidrokoleszterinből (pro-D-vitamin/7-DHC) az epidermis és a dermis sejteiben, UV-B sugárzás hatására, két lépésben történik. A rendelkezésre álló 7-DHC mennyiségét a 7-dehidrokoleszterin reduktáz (DHCR7) enzim aktivitása befolyásolja. Az enzim mutációi hatással lehetnek a 25(OH)D-vitamin szérumkoncentrációjára (14). A szervezetben zajló szintézisek többségétől eltérően a D-vitamin képződéséhez nincs szükség enzimekre. Az aktiváló funkciót a 290-315 nm közötti hullámhossz tartományba eső fény tölti be, melynek hatására a 7-DHC 9-es és 10-es szénatomja közötti kötés felszakadásával 10-szekoszterin (pre-D-vitamin) jön létre. A pre-D-vitamin izomerizációjával pedig kialakul a D-vitamin (D₃) molekula (15).

További UV-B sugárzás hatására a pre-D-vitamin molekula fotoizomerizációja következik be, melynek hatására inaktív lumiszterin and tachiszterin képződik. A D₃ molekula maga is fényérzékeny. Amennyiben a bőrből nem jut tovább a keringésbe, inaktív szupraszterin I illetve szupraszterin II irányába alakul át. Ezek a fotokémiai reakciók felelősek azért, hogy a bőrben képződő D-vitamin mennyisége kb. 30 perc UV-B sugárzás hatására eléri maximumát, és még hosszantartó napsugárzás esetén sem

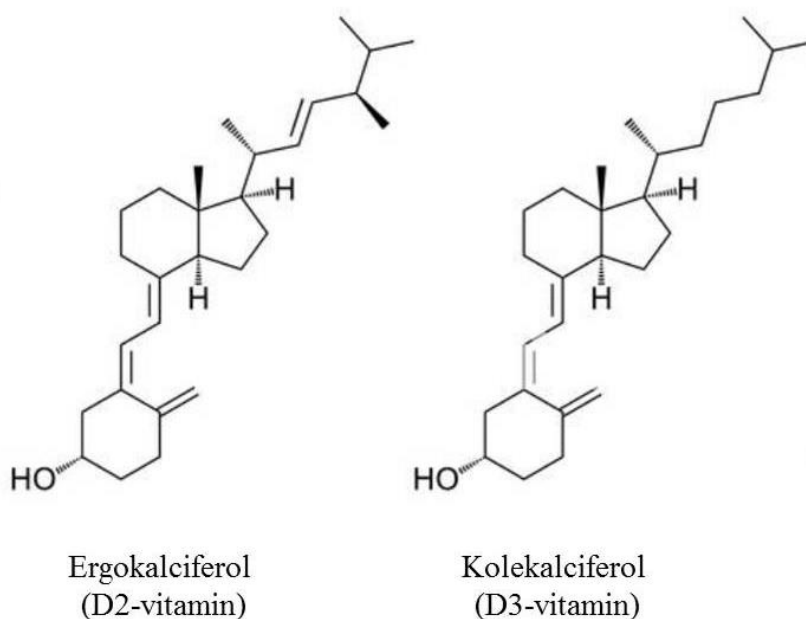
alakul ki endogén D-hipervitaminosis. A fent részletezett reakciókat az 1. ábra foglalja össze.



1. ábra: A D-vitamin szintézise a bőrben. (Saját ábra Holick és mtsai. (2) nyomán.)

1.1.4. A D₂-vitamin

A D₂-vitamin a D-vitamin növényekben és gombákban szintetizált formája, előanyaga az ergoszterin. Molekuláris szerkezetét a 2. ábra szemlélteti. A D₃-vitaminhoz képest szerkezeti különbségek csak az oldalláncban találhatók: a 22-es és 23-as szénatom között kettős kötés van, illetve a 24-es szénatom metilált. Emberben a D₂-vitamin forrása kizárólag a táplálék illetve a gyógyszeres szupplementáció. Míg Európában utóbbi célra szinte kizárólag a D₃-vitamin terjedt el, Amerikában mindkét vegyület használják. Bár a D₂-vitamin farmakokinetikája és biológiai hatása a D₃-vitaminéhoz hasonló, hatékonysága attól eltérő. Azonos mennyiségű D₃ és D₂ adagolását követően a szérum kalcifediol szintje a D₃-mal kezelt egyéneknél nagyobb és tartósabb emelkedést mutat (16).



2. ábra: A D₂ és D₃-vitamin közti szerkezeti eltérések. (Képek forrása: Wikimedia Commons)

1.1.5. A D-vitamin aktivációja

A bőrben szintetizálódó, illetve a táplálékkal bevitt D₃-vitamin két hidroxilációs lépésben alakul kalcitriollá, mely a molekula aktív hormonális formája. Az első 25-hidroxilációs lépés elsősorban a májban történik, fő enzime a CYP2R1. A fehérje mind a D₃-, mind a D₂-vitamin hidroxilációjára képes. Funkcionális inaktiválása egerekben a 25(OH)D-vitamin-szintek kb. 50%-os csökkenését idézi elő (17), míg emberben az enzim igen ritkán előforduló veleszületett funkciózavarai a D-vitamin dependens rachitis 1B típusát (VDDR1B) okozzák (18). A második, 1-alfa hidroxilációs lépést a mitokondriális 25(OH)D-vitamin 1-alfa-hidroxiláz (CYP27B1) katalizálja. A kalcitriolképződés fő színhelye a vese, de alacsonyabb szintű enzimaktivitás és 1-alfa hidroxiláció számos egyéb szövetben, például a bőrben, más hámsejtekben, csontban, placentában és immunsejtekben is kimutatható. Az extrarenálisan képződő kalcitriol, elsősorban autokrin/parakrin mechanizmussal, a molekula non-szkeletális hatásait alakítja ki. A vesében a CYP27B1 aktivitásának elsődleges serkentője a parathormon, míg legfőbb gátlói az FGF23 és maga a kalcitriol. Ez utóbbi klasszikus negatív feedback kör, a szérum kalciumszint szabályozásának kulcsfontosságú eleme. Az egyéb szövetekben az 1-alfa-hidroxiláz legfontosabb regulátorai a lokális citokinek, pl. a

tumor nekrozis faktor, illetve az interferon- γ . Ez a szérum kalciumszinttől független szabályozás magyarázza a granulomatózus betegségekben és a lymphomákban előforduló kalcitriol mediálta hypercalcaemia kialakulását. A CYP27B1 inaktiváló mutációi a D-vitamin dependens rachitis legsúlyosabb, 1A típusát okozzák (VDDR1A) (19).

1.1.6. A D-vitamin lebomlása

A D-vitamin inaktivációjának kulcsenzime a 24-hidroxiláz (CYP24A1), mely a legtöbb szövetben megtalálható, és mind a 25(OH)D-vitamin, mind a kalcitriol inaktivációját végzi. Az enzim 24- és 23-hidroxilációt egyaránt katalizál, azonban a vizsgálatok többsége szerint emberben az előbbi dominál. A reakció végterméke a biológiailag inaktív kalcitriolsav. A CYP24A1 aktivitása a kalcitriol koncentrációval arányosan nő. Ez a lebomlás oldalán az endogén D-hipervitaminózis elkerülésére irányuló szabályozás alapja. A CYP24A1 inaktiváló mutációi gyermekkori hypercalcaemiához, illetve visszatérő vesekövességhez vezethetnek (20).

A CYP3A4 a máj egyik legfontosabb gyógyszermetabolizáló enzime, melynek a D-vitamin anyagcseréjében mind aktiváló (25-hidroxilációs), mind inaktiváló (23- és 24-hidroxilációs) funkciója ismert. A CYP2R1 veleszületett vagy szerzett zavaraiiban részben ez az enzim veszi át a 25-hidroxiláció feladatát, ugyanakkor olyan aktiváló mutációja is ismert, mely fokozott kalcitriol inaktivációhoz vezet (D-vitamin dependens rachitis 3-as típus) (21). Egyes gyógyszerek pl. a rifampin a CYP3A4 expresszió indukciójával a kalcifediol és kalcitriol fokozott inaktivációját idézhetik elő, és szélsőséges esetben osteomaláciát okoznak.

1.1.7. A D-vitamin transzportja

A 25(OH)D-vitamin és a kalcitriol - a többi szteroidhormonhoz hasonlóan - a vérben leginkább fehérjékhez kötődve van jelen. Mindkét molekula szállítását kb. 85%-ban a D-vitamin kötőfehérje (DBP/GC globulin), 15%-ban pedig az albumin végzi.

A szabad frakció kalcifediol esetén kb. 0,03%, míg kalcitriol esetén átlagosan 0,4% (22). A DBP szintjét és ezen keresztül a szérum össz-25(OH)D-vitamin valamint 1,25(OH)₂D-vitamin koncentrációját több kórkép és gyógyszer is befolyásolja, magának a D-vitaminnak illetve metabolitjainak azonban nincs ilyen hatása. A DBP szintet az ösztrogének, a dexamethason és az IL-6 növeli, míg a TGF- β és a parathormon

csökkenti. Az emberi gének közül a DBP gén rendelkezik a legtöbb ismert variánssal (kb. 120). Eddig azonosított polimorfizmusainak száma pedig az 1300-at közelíti (23). Poszttranszlációs módosítások révén a fehérje potenciális változatainak száma még ennél is nagyobb (24). Az egyes változatok D-vitamin kötő képessége eltérő lehet, ennek klinikai jelentősége azonban egyelőre nem egyértelmű (25, 26).

Egyes sejttípusok, főleg a vese, a mellékpajzsmirigy és a placenta sejtei a megalin–cubilin komplexen keresztül képesek a fehérjéhez kötött D-vitamin frakciók felvételére. Ennek az útvonalnak az élettani szerepét demonstrálja, hogy egerekben a megalin és/vagy a cubilin genetikai inaktiválása súlyos osteomaláciához vezet. A DBP teljes vagy részleges hiánya azonban, bár az össz-kalcifediol és kalcitriol szintek jelentős csökkenéséhez vezet, megfelelő étrendi D-vitamin bevitel esetén nem okoz az egerekben tüneteket (27). Ebből adódik a feltételezés, hogy a DBP a D-vitamin anyagcserében elsősorban rezervoár funkciót tölt be. Az elmúlt években már emberben is leírtak DBP hiányos állapotot, és a klinikai kép az állatmodelleknél tapasztaltakhoz hasonlóan tünetszegénynek bizonyult (28). A relatíve intakt kalcium-anyagcsere magyarázata ezekben az esetekben az, hogy a szabad 25(OH)-, ill. 1,25(OH)₂D-vitamin-koncentrációk a fizioiógias tartományban maradnak. A legtöbb szövet számára ugyanis a 25(OH)D-vitaminnak és a kalcitriolnak csak ez a szabad frakciója hozzáférhető. A szabad kalcifediol felvételének és sejten belüli transzportjának legfontosabb szereplője a HSP70 fehérje. Ez a molekula a 25(OH)D-vitamin plazmamembránon keresztül felvételét, mitokondriális transzportját, illetve a mitokondriumban képződő 1,25(OH)₂-D₃-vitamin sejtmagba történő szállítását egyaránt facilitálja (29).

1.1.8. A D-vitamin intracelluláris jelátvitel

A kalcitriol a célszervekben genomikus és non-genomikus hatásokat is kifejt, melyeket a nukleáris receptor szupercsaládba tartozó D-vitamin receptor (VDR) mediál. A fehérje 427 aminosavat, egy ligand és egy receptorkötő domént, ez utóbbiban pedig két cink-ujj motívumot tartalmaz. Legnagyobb mennyiségben a kalcium anyagcsere szerveiben (vékonybél, csont, vese) található. Kisebb mennyiségben ugyanakkor szinte valamennyi sejttípusban előfordul (30). Ide tartoznak a hasnyálmirigy, a bőr, a hypophysis, az emlő és az immunrendszer sejtei, melyekben a VDR expressziója jelentős variabilitást mutat (31). Jelenlétét emellett többféle daganatban, pl. prosztatata- és vastagbélrákban is kimutatták (30, 31). Más szteroidreceptorhoz hasonlóan a ligandkötést követően a VDR

is dimerizálódik; elsősorban a retinoid X receptorral (RXR) képez heterodimert. Ezt követően a dimer a DNS D-vitamin rezponzív szakaszaihoz kötődve számos koaktivátor és korepresszor fehérjével lép további interakcióba. Részben ezek jelenléte vagy hiánya magyarázza a különböző szövetekben gyakran gyökeresen eltérő hatásokat. Jó példa erre, hogy a vese sejtjeiben a kalcitriol a már korábban részletezett módon csökkenti a CYP27B1 aktivitását, míg a makrofágokban, vagy a placenta sejtjeiben ez a gátló hatás hiányzik. Több sejt típusban pl. a szőrtüszőkben, a VDR-nek kalcitrioltól független, azaz ligand independens, konstitutív szerepe is van (32). A VDR közvetve vagy közvetlenül a teljes emberi genom kb. 3%-ára gyakorol hatást. Ezeket részleteiben a szkeletális, illetve az extraszkeletális funkciókat tárgyaló fejezetrészekben ismertetem. A kalcitriol nongenomiális hatásokkal is bír, melyek részben sejtmembránban lokalizált VDR-en keresztül, részben egyéb receptorokon (pl. 1,25D3-MARRS, FAM₅₇B₂), alakulnak ki. (33). Leírtak már kalcitriol hatására közvetlen kalcium- és kloridcsatorna-, illetve különböző membrán kináz- és foszfatáz-aktivációt is (34). Ezen folyamatok klinikai jelentősége azonban egyelőre nem tisztázott.

A VDR inaktíváló mutációja emberben kalcitriol rezisztens rachitist okoz, melyet a jelenlegi nomenklatura D-vitamin rezisztens rachitisnek (HVDRR) és II-es típusú D-vitamin dependens rachitisnek egyaránt nevez (35). A betegségokozó mutációk egyaránt érinthetik a DNS-kötő, a ligandkötő, a heterodimerizációért valamint a koaktivátor-kötésért felelős fehérjerészeket. Mindez felhívja a figyelmet arra, hogy a kalcitriol élettani hatásának kialakulásához a receptor valamennyi funkciója nélkülözhetetlen.

I.2. A D-vitamin szkeletális hatásai

Gerincesekben a D-vitamin elsődleges szerepe a kalcium-anyagcsere szabályozása, melynek legfontosabb célszervei a bél, a csontrendszer és a vesék. A D-vitamin-anyagcsere veleszületett vagy szerzett zavara gyermekkorban a növekedés lassulásához, illetve rachitishoz, felnőttkorban pedig osteomaláciához, szekunder hyperparathyreosishoz, illetve emelkedett törésrizikóhoz vezet.

I.2.1. Kalciumabszorpció

A D-vitamin kalcium-anyagcserére gyakorolt hatásának legfontosabb komponense az intestinalis kalciumfelszívódás fokozása. Jelenlegi ismereteink szerint a

kalciumabszorpció nagyobb részben a disztális vékonybélben történik passzív diffúzió útján. A proximális vékonybélben emellett aktív transzcelluláris abszorpció is zajlik, melynek különösen kalciumhiányos táplálkozás esetén van jelentősége. Korábban a D-vitamin hatás színhelyének elsősorban a duodenumot tartották, az elmúlt években azonban több olyan eredmény is napvilágot látott, melyek arra engednek következtetni, hogy az ileumban, sőt a colonban is van D-vitamin dependens kalciumfelszívódás (36, 37). Ennek az elképzelésnek megfelelnek azok az eredmények is, melyek a VDR jelenlétét a bélhám teljes hosszában kimutatták (38).

VDR knockout egérmodellben, illetve HVDRR-ben szenvedő betegekben a D-vitaminhiány csonttünetei emelt adagú orális, vagy iv. kalciumpótlással kivédhetők (39, 40). Állatkísérletekben intakt intestinalis VDR expresszió mellett a csonttünetek még abban az esetben is hiányoznak, ha a többi szövetben a receptor nincs jelen (36). A kalcitriol hatására a bélhamban fokozódik a transzcelluláris kalciumtranszportban résztvevő calbindin- és a TRPV6 fehérjék expressziója, melyek a D-vitamin hatás legfontosabb mediátorainak tekinthetők. Ugyanakkor ezeknek a fehérjéknek a funkcionális inaktiválása állatmodellben nem okoz osteomaláciát, ami a folyamatban további transzporterek részvételét is valószínűsíti.

1.2.2. A D-vitamin veseműködésre gyakorolt hatásai

A vese nem csak a D-vitamin aktív formájának legfontosabb forrása, hanem a kalcitriol hatásának egyik elsődleges célszerve is. A D-vitamin metabolizmusával kapcsolatban korábban már említettem, hogy a kalcitriol a vesében saját szintézisét a CYP27B1 enzim gátlásán, illetve a CYP24A1 serkentésén keresztül limitálja.

Kalciumhiányos állapotban az $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a PTH-val szinergizmusban fokozza a disztális tubulusok kalciumreabszorpciók képességét. A hatás a PTH receptorok, a calbindin, illetve az apicalis TRPV5 kalciumcsatorna expressziójának fokozásával jön létre. Utóbbi a bélben található TRPV6-tal 73.4%-os szerkezeti homológiát mutat.

1.2.3. A D-vitamin direkt hatásai a csontrendszerre

A kalcitriol a csontokban több különböző mechanizmussal fokozza az osteoclastogenezist. Növeli az osteoblastokban a RANK-ligand expressziót, illetve a stromális-sejtek és az osteoclast prekursorok közti kölcsönhatást. Emellett az osteoblastokban fokozza a mineralizációt gátló fehérjék, pl. az osteopontin szintézisét.

Mindezek a folyamatok elsősorban a szérum kalciumszint állandóságának fenntartását szolgálják, azaz elégtelen kalciumbevitel esetén a PTH mellett a kalcitriol is a csontból történő kalciummobilizáció irányába hat (41).

Közvetett bizonyítékok alapján az a következtetés vonható le, hogy megfelelő kalciumellátottság esetén a D-vitaminnak a közvetlen csontépítő hatásai dominálnak, melyeknek jelentős része az LRP5 jelátviteli útvonalon jön létre (42).

1.2.4. A D-vitamin indirekt csonthatásai

A rachitis és az osteomalacia legtöbb tünete nem a kalcitriol direkt csonthatásainak elmaradásával, hanem a hypocalcaemiával, a szekunder hyperparathyreosisal illetve a következményes hypophosphataemiával összefüggésben alakul ki. Ennek megfelelően állatmodellekben a VDR-nek a porc és/vagy csontszövetben történő szelektív inaktiválása ionzavar nélkül, önmagában nem vezet kóros fenotípushoz. A teljesen VDR hiányos egerek csonttünetei pedig, ahogy arról korábban már szó volt, nagy dózisu orális vagy iv. kalciumpótlással kivédhetők.

A rachitis vezető patofiziológiai eltérése a növekedési porc deformációja, melynek sejtszintű oka a chondrocyták differenciálódásának elmaradása, és a hypertrophiás chondrocyták csökkent apoptosisa (43). A tünetek először a növekedésben leginkább érintett területeken, a distális alkaron, a térdben és a costochondralis ízületek körül jelentkezik. Előrehaladott betegségben típusos csont-ízületi eltérések alakulnak ki. Ezek a craniotabes, a rachitises olvasó, a dongalábak a Harrison-barázda, az ulna és a distalis radius görbülete, illetve a csukló duzzanata. A kialakuló deformitás típusa nagymértékben függ a csontok aktuális terhelésétől, így a beteg gyermek életkorától.

A rachitis kockázata csecsemő és kisgyermekkorban kifejezetten nagy. Az 1 év alatti gyermekek direkt napoztatása kerülendő, de mivel az anyatej D-vitamin tartalma a csecsemő szükségleteit nem fedezi, a legtöbb országban, így hazánkban is, ebben a korcsoportban a D-vitamin-pótlás kötelező. Ez napi 400 NE-t jelent, melynek elmaradása esetén a rachitis kockázata drámaian növekszik.

Felnőttkori osteomalaciában a súlyos D-vitamin-hiány a kalciumfelszívódást rontva csökkenő szérum kalcium koncentrációhoz, és ezen keresztül szekunder hyperparathyreosishoz vezet. Az emelkedő PTH szint hatására a szérum kalcium többnyire a normál tartományban marad, ám ennek ára a csont-turnover gyorsulása és a

fokozott renális foszfátvesztés. A fokozott csontbontás, a csökkent kalcium x foszfát szorzat és a kalcitriol közvetlen csont hatásainak kiesése egyaránt hozzájárul az osteomaláciára jellemző mineralizációs defektushoz. Szövettanilag ez mint a mineralizálatlan osteoidállomány felszaporodása (>15ug vastagság, illetve >10% térfogat), illetve mint a mineralizációs idő megnyúlása (>100 nap) jelentkezik. Utóbbi kimutatására sorozatos tetracyclin jelölést követő mintavétel kapcsán van lehetőség. Radiológiai vizsgálatokkal a corticalis csont elvékonyodása, elmosott trabecularis csontszerkezet illetve jelentősen csökkent BMD igazolható, melyeket bikonkáv csigolyadeformitás, Looser féle pseudofracturák, illetve súlyos esetben a csöves csontok deformációja kísérhet. A mineralizációs defektus és az inhomogén csontszerkezet fokozott törékenységhez vezet, melyhez gyakran izomgyengeség, illetve diffúz izom és/vagy csontfájdalom társul. Utóbbi tüneteket sokszor tévesen fibromyalgiának, vagy szisztémás autoimmun betegségnek tulajdonítják.

Enyhébb D-vitamin-hiányban a PTH szint szintén emelkedik, de többnyire még a normál tartományon belül marad. A PTH emelkedés, a csontdenzitás és a csont hisztomorfometriája szempontjából optimális szérumszintekről a különböző vizsgálatokban némiképp eltérő eredményeket közöltek. Ezzel együtt a szekunder hyperparathyreosis laboratóriumi és hisztomorfometriai jelei számos vizsgálatban már a 75 nmol/l-es értékek alatt kimutathatók voltak (44-46). Tekintettel arra, hogy a D-vitamin farmakológiai pótlásával toxikus szinteket gyakorlatilag lehetetlen elérni, a hazai ajánlások is ezt a 75 nmol/l-es határértéket fogadják el a D-vitamin-hiány határértékének.

Intervenciós vizsgálatok is megerősítik a D-vitamin- és kalciumpótlás csontokra gyakorolt kedvező hatásait. A randomizált vizsgálatok és meta-analízisek alapján osteoporotikus egyéneknél a kezelés eredményeképpen 1% körüli BMD növekedésre lehet számítani (47). A D-vitamin-pótlás törésrizikóra gyakorolt hatása a vizsgálatok sokszínűsége miatt nehezen megítélhető. A megjelent tanulmányok a D-vitamin adagolási séma, a kalciumszupplementáció, a betegek összetétele és a kiindulási D-vitamin-szintek tekintetében egyaránt jelentősen különböznek egymástól. A vizsgálatokat feldolgozó meta-analízisek szintén elég vegyes képet mutatnak, hiszen az eredményeket jelentősen befolyásolja, hogy az eddig megjelent több tucat randomizált vizsgálatból az elemzésbe melyeket vették be.

A rendelkezésre álló adatok alapján annyit biztosan elmondhatunk, hogy D-vitaminhiányos, idős, osteoporotikus betegekben az együttes kalcium és 800NE-t meghaladó D-vitamin-pótlás a csípőtáji és egyéb non-vertebrális törések kockázatát jelentősen, akár 15-20%-kal is csökkentheti (48-50). Néhány vizsgálatban az egyszeri extrém nagy dózissal történő D-vitamin kezeléssel kapcsolatban az esések és a törések rizikójának emelkedését írták le, ezért ezt a kezelési formát ma már nem alkalmazzuk (51).

I.3. A D-vitamin extraszkeletális hatásai

Az elmúlt évtizedekben a D-vitaminnal kapcsolatos tudományos érdeklődés középpontjába a hormon extraszkeletális hatásai kerültek. Az ezzel kapcsolatos vizsgálatokat a VDR és CYP27B1 fentebb vázolt széles körű szöveti jelenléte, valamint a kalcitriol extenzív génexpressziós hatásai tették indokolttá. Bár a témában megjelent közlemények száma a 90-es évek óta exponenciálisan növekszik, számos kérdés továbbra is megválaszolatlan. A D-vitaminnak markáns extraszkeletális hatást tulajdonító eredmények jelentős része in vitro, állatkísérletes és obszervációs adatokon alapul, az intervenciós vizsgálatok sok esetben rosszul szervezettek voltak, és ellentmondásos eredményeket hoztak. Mindezek következtében a mai napig nem rendelkezünk egységes képpel sem az extraszkeletális hatások szempontjából optimális szérumszintekről, sem pedig a D-vitamin-hiány pontos szerepéről az egyes kórképek kialakulásában, vagy a pótlás hasznáról ezen betegségek kezelésében.

I.3.1. A D-vitamin hatásai a bőrben

A bőr nem csak a D-vitamin forrása, hanem egyúttal egyik fontos célszerve is. Ez az egyetlen olyan szövet, melyben a D-vitamin-anyagcsere valamennyi enzime megtalálható. Ennek megfelelően a kalcitriol hatása elsősorban a bőrben termelt D-vitamin lokális aktivációját követően autokrin-parakrin mechanizmussal jön létre. A kalcitriol szerepét az epidermis sejtjeinek differenciációjában, proliferációjában, carcinogenezisében, valamint a sebgyógyulásban számos vizsgálat igazolta. Egérmodellben a VDR funkcionális inaktiválásakor jelentkező epidermalis differenciálódási zavar kalciumpótlással részben visszafordítható, míg a CYP27B1 inaktiválásakor a defektus irreverzibilis (52). A VDR hiányos egerekben a kontrollálatlan keratinocita proliferáció következtében megnő az epidermalis tumorok előfordulási gyakorisága (53-55).

A sebgyógyulás mind D-vitamin-hiányos, mind VDR hiányos egérmodellekben kóros (56, 57). Ennek hátterében a VDR–TGF- β interakció zavarát feltételezik. A VDR inaktiválása a fentiekén túl a szőrnövekedést is súlyosan károsítja. Ez a jelenség azonban nem lép fel sem D-vitamin-hiány esetén, sem az 1 α -hidroxiláz inaktiválásakor (58).

A D-vitamin és a bőr vonatkozásában a legtöbb klinikai adat a psoriasisal kapcsolatban áll rendelkezésre. A D-vitamin, illetve a kalcitriol pótlás egyaránt csökkenti a betegség tüneteit (59, 60). A topicalis 1,25(OH) $_2$ D $_3$ illetve különböző D-vitamin analógok pozitív hatásairól szintén sok adat áll rendelkezésre (61, 62).

Emberben a bőrrák kockázata és a D-vitamin-hiány kapcsolata nehezen vizsgálható, hiszen az UV sugárzás egyszerre javítja a D-vitamin ellátottságot, és fokozza az összes bőrrák típus kialakulásának rizikóját. Az adatok ennek megfelelően ellentmondásosak (63-66).

1.3.2. A D-vitamin hatása az izomerőre és az elesésekre

Éretlen izomsejtekben a VDR relatíve kis mennyiségben expresszálódik. Érett myocitákban a jelenlétéről ellentmondásosak az adatok (67). Sejtkultúrában a kalcitriol az izomsejtek proliferációját gátolja, míg érésüket serkenti. Ennek megfelelően VDR hiányos egerekben a II-es típusú izomrostok kisebbek és éretlenek (68).

Emberben súlyos D-vitamin-hiány, illetve a CYP27B1 veleszületett hiánya esetén az izomműködés drasztikusan romlik. Ebben feltehetően az alacsony kalcium- és foszfátszinteknek is szerepe van. Mindazonáltal kisebb mértékű izomerő-csökkenés már enyhe D-vitamin-hiány esetén is kimutatható, és ez a D-vitaminnak az izomerő fenntartásában játszott közvetlen szerepére utal. Számos jó minőségű randomizált intervenciós vizsgálatban, illetve ilyeneket feldolgozó meta-analízisben igazolták, hogy a D-vitamin-hiány gyógyszeres korrekciója javítja az egyensúlyt és az izomerőt (69-71). Ez - különösen idős, igazoltan D-vitamin-hiányos egyéneknél - az esések kockázatának csökkenését is magával hozza (72). Ugyanakkor nagy dózisú kezelés kapcsán több közlemény az esési és törési kockázat emelkedéséről számol be. Ez a hatás elsősorban intermittáló havi- (73, 74), vagy éves- (75) adagolás kapcsán jelentkezett, egy vizsgálatban ugyanakkor napi 4000 NE-t meghaladó dózisonál is leírták (76). Utóbbi tanulmány alapján felmerül a lehetőség, hogy ez a paradox hatás elsősorban a 112.5 nmol/l-t meghaladó szérumban kalcifediol szinteknél jelentkezik.

1.3.3. Immunrendszerre gyakorolt hatások

A D-vitamin aktiváció enzimeit és a VDR az immunrendszer valamennyi sejtjében megtalálhatók. Ahogy korábban már szó volt róla, a CYP27B1 aktivitást és a kalcitriol szintézist az immunrendszer sejtjeiben nem a kalcium homeosztázis tényezői, hanem különféle mintázatfelismerő receptorok (PRR) és citokinek szabályozzák (77). Az ezek hatására helyileg képződő kalcitriol a VDR-en keresztül a veleszületett immunitás számos kulcsfontosságú fehérjéjének átírását fokozza. Ilyenek például a NOD2, a cathelicidin vagy a DEFB4/HBD2 (78). Ezzel szemben úgy tűnik, hogy a szerzett immunitásban a D-vitaminnak elsődlegesen tolerogén szerepe van. A dendritikus sejtek fenotípusának és citokinválasztásának módosítása révén a kalcitriol mérsékli a T-sejt mediálta gyulladásos folyamatokat és fokozza a regulárotos T-sejtek proliferációját. Autoimmun betegségeket modellező állatkísérletekben a D-vitamin-hiány fokozta az 1-es típusú diabetes (T1DM) (79), a sclerosis multiplex (80), a rheumatoid arthritis (81) és a gyulladásos bélbetegségek (80) kialakulásának kockázatát. Az immunrendszer által aktivált D-vitaminnak a granulomatózus- és egyes hematológiai betegségekhez társuló hypercalcaemiában patogenetikai szerepe van.

Számos vizsgálatban igazolódott, hogy a D-vitamin-hiány fokozza a légúti infekciók kockázatát, a hiány korrekciója pedig segítheti a megelőzést illetve gyorsítja a gyógyulást (82). A pozitív összefüggés bakteriális és virális kórokozók, valamint TBC esetén egyaránt kimutatható (83-86). A hatás elsősorban súlyos kezdeti D-vitamin-hiány esetén jelentős. A napi vagy heti adagolás hatékonyabbnak tűnik a ritkább, de nagyobb dózisu kezelésnél.

Az autoimmun betegségek közül a legtöbb humán adat a D-vitamin-hiány és a sclerosis multiplex (SM) vonatkozásában áll rendelkezésre. Egy prospektív obszervációs vizsgálatban megfigyelték, hogy a D-vitamin-hiány jelentősen fokozza a későbbi SM kialakulásának esélyét (87). Számos, a kérdést vizsgáló mendeli randomizációs vizsgálatban összefüggés mutatkozott az alacsonyabb D-vitamin-szintekre hajlamosító SNP-k és az SM kialakulási kockázata között (88-90). A D-vitamin kezelésnek a már kialakult betegségre gyakorolt hatása ellentmondásos, a vizsgálatokban résztvevő betegek száma pedig az obszervációs vizsgálatokénál jóval alacsonyabb (91).

A D-vitamin-hiány és a későbbi T1DM kialakulása között több nagy cohortban is szignifikáns összefüggés és kb. kétszeres betegségrizikó mutatkozott (92). Retrospektív

elemzésekben a hiány korrekciója a diabetes előfordulását jelentősen, akár 30%-kal is csökkentette (93). A D-vitamin-szinteket befolyásoló genetikai polimorfizmusok és a T1DM kapcsolatát eddig csak egyetlen mendeli randomizációs vizsgálat dolgozta fel, melynek során ugyan mérsékelt, de statisztikailag szignifikáns összefüggést találtak (94). Korai diabetes esetén több vizsgálatban is a D-vitamin és a kalcitriol pótlás kedvező hatásáról számoltak be (95-97). A betegség későbbi szakaszában, a β -sejtek pusztulását követően azonban, ez a hatás már nem volt regisztrálható (91).

Régóta ismert tény, hogy gyulladássos bélbetegségekben a D-vitamin-hiány előfordulási gyakorisága kiemelkedően magas (98). Számos új eredmény viszont – elsősorban a Crohn-betegséget illetően - arra enged következtetni, hogy a D-vitamin-hiány a kialakulásban oki szerepet is játszik. A veleszületett immunitásban fontos VDR target gének ugyanis jelentős átfedést mutatnak a Crohn betegség kialakulására hajlamosító régiókkal (pl. NOD2, DEFB4/HBD2, B7-H1) (99, 100). Az IBD kialakulása nagylétszámú, reprezentatív, prospektív vizsgálatokban is mutatott összefüggést a D-vitamin hiánnyal (101, 102). A D-vitamin-pótlás pedig randomizált intervenció vizsgálatokban csökkentette a Crohn-betegség aktivitását (103-105).

1.3.4. Daganatképződésre gyakorolt hatások

A legtöbb daganatban jelen van a VDR, emellett gyakori a CYP27B1 és a CYP24A1 expressziója is. A ráksejtekben az utóbbiak aktivitása jellemzően magasabb, mint a környező egészséges szövetek sejtjeiben (106). A kalcitriol nagy koncentrációban számos daganatos sejtvonalban a G₁ fázisban gátolja a sejtciklust és ezáltal a proliferációt. E hatás közvetítői egyebek között a cMYC, a TGF- β , a ciklin dependens kinázok, az E2F transzkripciós faktorok, illetve különböző prosztaglandinok (107).

A VDR hiányos egerekben a spontán daganatképződés nem gyakoribb, mint a vad példányokban, ugyanakkor esetükben különféle carcinogén hatásokra számos daganattípus - pl. a bőr- a vastagbél- és az emlőrák - előfordulási gyakorisága megnő (108-110). A CYP24A1 túlexpressziója állatmodellekben növeli az emlőrák kockázatát, míg a CYP27B1 funkcionális inaktiválása egyszerre több daganattípus előfordulásának gyakoriságát emeli (111). A kalcitriol és analógjai a preklinikai vizsgálatokban adjuváns tumorelles hatást mutattak, alkalmazhatóságukat azonban a mellékhatásként fellépő hypercalcaemia jelentősen korlátozta (112).

A napsugárzás mennyisége és többféle belszervi daganat okozta halálozási adat között fordított összefüggés áll fenn, melyre már a XX. század első felében felfigyeltek (113). A D-vitamin-hiányos állapot és a tumorrizikó közötti összefüggés a vastagbélrák esetében a legegységelműbb (114). Egyéb daganattípusokat illetően - pl. emlő-, húgyhógyag-, prosztatata-, és tüdőrák - az adatok egyelőre ellentmondásosak (115-117). A jobb D-vitamin státusz számos obszervációs vizsgálatban kisebb daganatrizikóval, vagy már meglévő malignitás esetén hosszabb túléléssel társult (116, 118-120). Ugyanakkor a mendeli randomizációs vizsgálatok kizárólag ováriumtumrok (121) esetében találtak összefüggést az alacsonyabb D-vitamin-szintekkel járó polimorfizmusok és a daganatok kialakulásának kockázata között. A randomizált intervenciós vizsgálatok száma alacsony. Bár vannak pozitív eredmények (122, 123), a legtöbb nagy vizsgálatban az önállóan vagy kalciummal együtt adott D-vitamin - a kontrollhoz képest - nem csökkentette a daganatok előfordulási gyakoriságát (124-127). Érthető módon az ezeket feldolgozó meta-analízisek sem találtak jelentős hatást (117).

1.3.5. Szív- és érrendszeri hatások

A VDR target génjei között található a cardiovascularis betegségek szempontjából fontos fehérjék is. Ilyen a renin, a plazminogén-aktivátor inhibitor (PAI), és a thrombomodulin (128, 129). A VDR vagy a CYP27B1 genetikai inaktiválása egerekben fokozott trombózishajlamot, csökkent fibrinolízist, hyperreninaemiát, hypertoniát és cardialis hypertrophiát okoz (130). Utóbbi nem kizárólagosan a hypertonia következménye, ugyanis a VDR szívizomban történő szelektív inaktiválása esetén is megjelenik.

Emberben a D-vitamin státusz mind a hypertonia előfordulási gyakoriságával, mind a cardiovascularis rizikóval fordított összefüggést mutat, melyet tucatnyi obszervációs vizsgálat, illetve számos ezeket feldolgozó meta-analízis igazolt (131-133). Mendeli randomizációs vizsgálatokban az alacsonyabb D-vitamin-szintekre hajlamosító mutációk mellett a hypertonia kockázatának növekedését figyelték meg (134), a cardiovascularis rizikó tekintetében viszont nem volt kimutatható összefüggés (135, 136). Ugyanakkor több tanulmányban azonosítottak olyan variánsokat, melyek a lipidprofil és a D-vitamin-szinteket egyidejűleg befolyásolják (137). Ez alapján felmerül, hogy az obszervációs vizsgálatokban észlelt összefüggés háttérében közös genetikai rizikófaktorok állhatnak. A D-vitamin-pótlás hypertoniára és cardiovascularis

kockázatra gyakorolt hatását vizsgáló intervenciós vizsgálatok száma nagy. A vizsgálatok időtartamának, a résztvevők összetételének és D-vitamin státuszának, illetve az alkalmazott dózisok heterogenitása miatt azonban igen nehéz végleges következtetéseket levonni. A témát az átlagos lakosság körében feldolgozó meta-analízisek többsége nem mutatott ki érdemi vérnyomáscsökkentő vagy egyéb cardiovascularis-rizikót csökkentő hatást (138, 139). Korántsem tisztázott azonban, hogy más-e a helyzet igazolt D-vitamin-hiány, és/vagy magas cardiovascularis kockázat esetén.

1.3.6. Egyéb potenciálisan jelentős hatások

Az SM mellett a D-vitamin-hiányt több más neurodegeneratív betegséggel is összefüggésbe hozták. Ezek közül kiemelhető az Alzheimer-kór (140). Egy 2016-os mendeli randomizációs vizsgálatban az alacsonyabb D-vitamin-szintekre hajlamosító SNP-k az Alzheimer-kór kockázatát 25%-kal emelték (141).

A D-vitamin státusz és a reprodukciós endokrin rendszer kapcsolatát is alátámasztja néhány adat. Egerekben a calcitriol adása csökkenti az aromatáz enzim aktivitását, a VDR hiányos állatokban pedig a hím nemi funkciók romlása észlelhető. A terhességi D-vitamin-hiány növeli mind az anyai, mind a magzati szövődmények kockázatát. A D-vitamin pótlása egyebek között kedvező irányba befolyásolja a születési súlyt, csökkenti a preeclampsia kockázatát, és hosszabb távon még a kisgyermekkorú légúti tünetekre is kihatással van (142).

A fentiek mellett a D-vitamin-hiányt összefüggésbe hozták a nem-alkoholos zsírmáj, illetve hepatitis (143), valamint a COPD kialakulásának emelkedett kockázatával is (144).

1.3.7. A D-vitamin-hiány hatása a mortalitásra

Az eddigiek alapján joggal várnánk, hogy a D-vitamin-hiánya, illetve a D-vitamin-anyagcsere zavara kimutatható hatással legyen az összhalálózásra. Az erre irányuló obszervációs vizsgálatok (145, 146), illetve az ezeket feldolgozó meta-analízisek (147) valóban világszerte konzisztensen magasabb mortalitást igazolnak, különösen az 50 nmol/l alatti D-vitamin-szintek esetén.

Arra a kérdésre, hogy a D-vitamin-hiány mennyiben a súlyos társbetegségek obligát kísérője, és mennyiben játszik tényleges oki szerepet a halálózásban, a mendeli

randomizációs vizsgálatok, illetve intervenciós tanulmányok alapján próbálhatunk meg válaszolni. Néhány kisebb betegmintán végzett vizsgálat során a genetikai alapon alacsonyabb D-vitamin-szint és a mortalitás között nem találtak összefüggést (148, 149). Ugyanakkor egy ezeknél nagyságrendekkel nagyobb mintán készült dán tanulmányban mind az össz-, mind a daganatos halálozás tekintetében jelentős és szignifikáns összefüggést igazoltak (150). A D-vitamin-pótlást vizsgáló randomizált intervenciós vizsgálatok, illetve az ezeket feldolgozó meta-analízisek (151-153) szintén szignifikáns, bár valamivel kisebb, 5-10% körüli mortalitáscsökkenést mutattak ki.

Mivel az optimális D-vitamin státusz egyes betegségek vagy szervrendszerek szempontjából történő definiálása az ellentmondásos eredmények sokasága miatt rendre nehézségekbe ütközik, több szerző a mortalitási adatokban látja az extraszkeletális egészség szempontjából optimális D-vitamin státusz meghatározásának kulcsát. Ezek az adatok a jövőben következetes, jól értelmezhető kemény végpontot szolgáltathatnak a különböző ajánlások megfogalmazásához.

I.4. A D-vitamin-anyagcsere polimorfizmusainak klinikai jelentősége

A D-vitamin szerteágazó hatásainak feltérképezésével együtt egyre jobban megismerjük a háttérben álló molekuláris biológiai mechanizmusokat és a D-vitamin-anyagcsere genetikáját. Az elmúlt évtizedben a D-vitamin-anyagcsere veleszületett súlyos zavarainak hátterében számos új mutációt azonosítottak (35). A major betegség okozó mutációk mellett a jóval gyakoribb egypontos nukleotid-polimorfizmusok vagy SNP-k szintén komoly szerephez jutnak, különösen az alap kutatásban. Ezeknek a genetikai variánsoknak és a hordozásukhoz társuló biológiai különbségeknek a feltérképezése jelentősen segíti a D-vitamin-anyagcsere mélyebb megértését. Az újgenerációs szekvenálási módszerek elterjedésével pedig a különböző SNP-k diagnosztikája az elkövetkező évtizedekben a hétköznapi orvosi ellátás és a preventív törekvések fontos részévé válhat.

A D-vitamin-szinteket befolyásoló genetikai eltérések részletes megismerése a 2000-es évek elején kezdődött (154). Az eddigi vizsgálati eredmények alapján a szérumban a kalcifediol és kalcitriol szintek jelentős poligénes befolyás alatt állnak, a D-vitamin-szintekre potenciálisan hatást gyakorló polimorfizmusok száma több száz (14, 155-158). Az ilyen SNP-k magyarázhatják az egyéni, illetve a populációs különbségeket a D-

vitamin-hiány gyakoriságában, illetve a D-vitamin-pótlás hatékonyságában (159). Emellett alapot szolgáltatnak az olyan, korábban már részletezett mendeli randomizációs vizsgálatok számára, melyek a D-vitamin-hiány biológiai hatásait a hiányra hajlamosító genetikai polimorfizmusok és az egyes végpontok közti összefüggések feltérképezésén keresztül vizsgálják.

A D-vitamin-anyagcsere polimorfizmusainak D-vitamin-szintektől független hatását egyes betegségek előfordulási gyakoriságára már a 90-es években felvetették. A vizsgálatok fókuszában ekkor elsősorban a VDR gén illetve különböző csontanyagcsere-betegségek álltak (160, 161). Az azóta eltelt időben a molekuláris genetikai vizsgálatok a D-vitamin-hiánnyal összefüggésbe hozott valamennyi kórképre kiterjedtek. A legtöbbet vizsgált polimorfizmusokkal (pl. FokI - rs2228570, TaqI-rs731236, BsmI - rs1544410, ApaI - rs7975232) és azok hatásaival több ezer közlemény foglalkozik. Felismerhető ebben a statisztikában a kandidáns génvizsgálatok egyik problémája, hogy az újabb kutatások sok esetben a korábban már vizsgált polimorfizmusokra fókuszálnak, és figyelmen kívül hagyják a kisebb gyakoriságú, vagy kevésbé ismert variánsokat. Részben ez, valamint az SNP-k nagy száma és a vizsgálható végpontok sokfélesége az, ami miatt a téma a mai napig kimeríthetetlennek tűnik.

I.5. A D-vitamin-hiány klinikai vonatkozásai

I.5.1. A D-vitamin ellátottság definíciója és diagnosztikája

A magasabb szérumszint koncentráció és a hosszabb felezési idő miatt a D-vitamin státusz diagnosztikájának elsődleges eszköze a vér kalcifediol szintek meghatározása (162). A rendelkezésre álló eljárások aranystandardja a folyadékkromatográfiával kiegészített tömegspektrometria (LC-MS/MS). A mérés során a fehérjéhez kötött és a szabad 25(OH)D-vitamin-koncentráció összegét, mint totál D-vitamin-szintet határozzák meg. A kalcifediol fehérjéhez kötött formája hőre és fényre nem érzékeny, a minta különleges kezelést nem igényel. A kalcitriol koncentrációjának közvetlen meghatározására csak ritkán, pl. D-vitamin dependens rachitis, vagy ismeretlen eredetű hypercalcaemia diagnosztikájában lehet szükség. A szabad 25(OH)D-vitamin koncentrációját leggyakrabban a DBP és az albuminszintek alapján számolják (163).

Ahogy erről már korábban szó volt, az extraszkeletális hatások szempontjából ideális D-vitamin-szintek meghatározása továbbra is intenzív kutatás és sok vita tárgyát képezi.

Ugyanakkor az ajánlások még a csontrendszer szempontjából kívánatos D-vitamin ellátottságot illetően sem egységesek. Bizonyítottnak látszik, hogy 50 nmol/l (20 ng/ml) alatti szérumszintek esetén a szekunder hyperparathyreosis rizikója meredeken nő, a csontminőség pedig ezzel párhuzamosan romlik. Egyes társaságok, pl. az amerikai Institute of Medicine (IOM) ennek megfelelően az 50 - 100 nmol/l (20 - 40 ng/ml) közötti D-vitamin-szintek fenntartását szorgalmazzák. Ugyanakkor, ahogy korábban is láttuk, több adat is arra utal (46), hogy a D-vitamin-hiányra jellemző csonteltérések akár 50-75 nmol/l (20-30 ng/ml) közötti értékeknél is jelentkezhetnek. Ennek megfelelően több nemzetközi társaság - National Osteoporosis Foundation (NOF), International Osteoporosis Foundation (IOF), American Geriatric Society (AGS), és a hazai D-vitamin konszenzus (164-167) is a 75 nmol/l értéket jelöli meg a normál tartomány alsó határának.

A normál tartomány felső határa ugyancsak viták tárgyát képezi. Tünetes hypercalcaemia csak extrém magas (>100 ng/ml = 250 nmol/l) értékeknél jelentkezik. Egyes vizsgálatokban U-alakú összefüggést írtak le a D-vitamin-ellátottság és különböző kórképek, pl. az elesések (75) vagy egyes daganattípusok (168, 169) előfordulási gyakorisága és mortalitása között. A kockázat növekedéséről jellemzően 100-125 nmol/l feletti értékek mellett számolnak be. Az össz-mortalitás tekintetében az adatok szórványosak, és kevésbé meggyőzőek (170).

1.5.2. A D-vitamin ellátottságot befolyásoló endogén és exogén tényezők

A Egyenlítő felé távolodva az ősztől tavaszig tartó időszakban jelentősen romlik a lakosság D-vitamin ellátottsága. Az első olyan közlemény, mely a rachitises esetek évszakos ingadozásáról beszámol, 1897-ből származik (171). A háttérben meghúzódó okok közül a napsugárzás erejének és a szabadban töltött idő mennyiségének csökkenését, illetve a teljes testet takaró ruházat szerepét sokáig egyformán fontosnak tartották. A 90-es évek óta (1) viszont egyértelművé vált, hogy a legkritikusabb szerepet a napsugárzás mennyiségének és benne az UV-B fény arányának csökkenése játssza. November és március között a 7-dehidrokoleszterin -> pre-D-vitamin átalakulás már a 42. szélességi körön sem következik be. Augusztus és október, valamint március és július között a folyamat eredményessége változó. A

fentiekből következik, hogy a hazai viszonyok között nagy hatékonyságú endogén D-vitamin-szintézis kizárólag május és szeptember között történhet.

A bőr szintetikus képessége az életkorral jelentősen romlik. Az epidermis 7-dehidrokoleszterin tartalmának csökkenése már a 20. életév után kimutatható (172). Ugyanaz az UV-B sugárdózis, mely a 22-30 éves korosztályban 24 órán belül ideális szérumban 25OH-D-vitamin-szinteket eredményez, a 62-80 évesek körében csak minimálisan emelkedést okoz (173). A bőr takarása érthető módon rontja a D-vitamin ellátottságot. A 8-as fényvédő faktor feletti naptejek hatása gyakorlatilag ezzel megegyező (174). Fontos még megjegyezni, hogy az üvegablakok és a plexiüveg gyakorlatilag a teljes UV spektrumot kiszűrik. Így tehát az ezeken keresztül érkező napsugárzás a D-vitamin-szintézis szempontjából ugyancsak hatástalan. A bőrben található melanin szintén hatékonyan védi a bőrt az UV-B sugárzástól. Ez magyarázatot ad arra, hogy az északi féltekén élő fekete bőrű emberek körében miért gyakoribb a D-vitamin-hiányos állapot.

Bár a modern szoláriumokban használt mesterséges UV sugárzás nagyobbik része az UV-A tartományba esik, a rendelkezésre álló tanulmányok szerint a szoláriumozás a természetes napfényhez hasonlóan emeli a D-vitamin-szintet (175, 176). Ezt a tényt hangsúlyozva a gyártók az elmúlt évtizedekben igyekeztek a szoláriumozás jótékony egészségügyi hatásait kommunikálni. A rendszeres szoláriumhasználat azonban semmiképp nem jelentheti a D-vitamin státusz rendezésének valid alternatíváját, hiszen a melanoma kialakulásának kockázatát sokszorosára emeli (177).

Gyakorlatilag valamennyi belgyógyászati betegség és számos élettani állapot hajlamosít a D-vitamin-hiány létrejöttére. A teljes felsorolást az 1. táblázat tartalmazza. Népegészségügyi jelentősége miatt a felsorolásból kiemelhető az elhízás, a graviditás és az időskor.

1. táblázat: A D-vitamin-hiány rizikóját növelő állapotok. (Saját táblázat Takács és mtsai. (167) nyomán.)

D-vitamin-hiányra hajlamosító	
Betegségek	Egyéb rizikófaktorok
Malabszorpció	Túlsúly
Gyulladásos bélbetegségek	Idős kor
Krónikus májbetegség	Várandósság
Daganatos betegség	Bentlakásos intézmény
Szívelégtelenség	Kevés napfényen töltött idő
Krónikus vesebetegség	(pl. éjszakai műszakban dolgozók)
	Ruhaviselet, napvédő krémek használata
	Sötét bőrszín

1.5.3. A D-vitamin-pótlás indikációi, dozírozása, mellékhatásai

Szemben pl. az amerikai vagy angol gyakorlattal, hazánkban nem terjedt el az ételek D-vitaminnal történő fortifikációja. Az átlagos hazai étrenddel bevitt D-vitamin mennyisége így naponta kb. 80 NE, tehát gyakorlatilag elhanyagolható (178). Ennek eredményeként megfelelő farmakológiai pótlás nélkül a fentebb felsorolt rizikóállapotokban egész évben hiányállapot várható, míg egészséges személyeknél ez a téli időszakokra korlátozódik.

A hazai D-vitamin konszenzus rachitis/osteomalacia megalapozott klinikai gyanúja, illetve a felsorolt kockázati tényezők jelenléte esetén javasolja a szérum calcifediol szint mérését. A laborvizsgálattal igazolt D-vitamin-hiányban felnőtteknél – kivétel ez alól a várandósság - néhány hétig telítő dózis, majd napi 1500-2000 NE fenntartó adag alkalmazása ajánlott. Osteoporotikus betegeknek napi 1000 NE élethosszig tartó pótlás javasolható, melyet megfelelő adagú kalciumpótlással kell kiegészíteni. A fentiek

mellett a hazai ajánlás a téli időszakra a teljes lakosság körében történő gyógyszeres D-vitamin-pótlást is szorgalmazza (167). A hosszú felezési idő miatt, a várandós állapotot leszámítva, a hetente vagy havonta egy dózisban történő pótlás is megfelelő (179). Malabszorpcióval járó állapotokban jóval több D-vitamin bevitelére lehet szükség.

A farmakológiai D-vitamin-pótlás biztonságosságát számos randomizált vizsgálat és meta-analízis elemezte. Egyszeri 300 000 NE adása mellett jelentős mellékhatást egyik vizsgálatban sem igazoltak (180-183). A tartós pótlás mellett kialakuló esetleges hypercalcaemia, hypercalciuria és vesekövesség tekintetében az adatok némileg ellentmondásosak. Az egyes vizsgálatok között nyilvánvaló különbségek vannak a betegek szelekciójában, a pótlás dózisában, a követés időtartamában, a vizsgált elsődleges végpontokban és az egyidejűleg adott kalcium mennyiségében (184, 185). Bizonyos meta-analízisek a kezelés mellett a hypercalcaemia, a nephrolithiasis és a veseelégtelenség előfordulási gyakoriságának kb. 50%-os emelkedését írták le (186), más tanulmányokban viszont a D-vitamin-pótlás és a vesekövesség között nem találtak összefüggést (187). Tartós pótláskor, különösen terhelt anamnézis esetén, javasolt a szérum kalcium szintek és a vizelettel történő kalciumürítés követése.

Több vizsgálatban úgy találták, hogy a hypercalcaemia kialakulásának kockázata 10 000 NE -t meghaladó napi adagolás felett ugrásszerűen megnő (188, 189). D-vitamin-túladagolás következtében kialakult súlyos, tünetes hypercalcaemiát elsősorban napi 40 000 NE-t tartósan meghaladó bevitel kapcsán jelentettek (190). Ilyen eseteket elsősorban ipari és egyéb balesetek kapcsán észleltek (191).

I.6. Az obezitás epidemiológiája

Túlsúlyról illetve elhízásról a szervezet megnövekedett zsírtartalma esetén beszélünk. A zsírszövet mennyisége, azaz a testzsírszázalék közvetlenül mérhető pl. impedancia alapú testösszetétel méréssel, DEXA scannel, vagy vízkiszorításos módszerekkel (192). Férfiaknál 25, nőknél 33% feletti testzsír százalék esetén áll fenn elhízás, míg 21-25 illetve 31-33% közé eső értékek esetén túlsúly a megnevezés. Mivel a fenti módszerek széles körben, rutinszerűen nem érhetők el, a hétköznapi gyakorlatban a testzsír mennyiségének becslése különböző közvetett mérőszámokon keresztül történik. Ilyenek a testtömegindex ($BMI = \text{testsúly(kg)}/\text{testmagasság(m)}^2$), a has és derékkörfogat, illetve a különböző bőrredők vastagsága. Egyszerűsége és jó reprodukálhatósága miatt a

legszélesebb körben a BMI használata terjedt el, mely a testzsírszázalékkal a legtöbb esetben igen jól korrelál (193). Kivételt jelentenek az izomtömeg mennyiségének extrém szélsőségeivel járó állapotok, pl. sarcopeniás betegek illetve versenysportolók, akiknél a BMI jelentősen alul, illetve túlbecsülheti a zsírszövet mennyiségét. A testtömegindex alapú becslés másik potenciális hátránya, hogy nem veszi figyelembe a nemek illetve rasszok közti különbségeket. A testsúlyt, illetve a túlsúly mértékét a BMI alapján a 2. táblázatban feltüntetett módon kategorizáljuk.

2. táblázat: Testsúly kategóriák a BMI alapján. (Saját táblázat az NIH ajánlása (194) alapján):

Sovány	BMI <18,5 kg/m ²
Normál testsúly	BMI 18,5 - 24,9 kg/m ²
Túlsúly	BMI 25 - 29,9 kg/m ²
I. fokú elhízás	BMI 30 - 34,9 kg/m ²
II. fokú elhízás	BMI 35 - 39,9 kg/m ²
III. fokú (morbid) elhízás	BMI ≥40 kg/m ²

A túlsúly szűrésének másik elterjedt módszere a haskörfogat mérése. Férfiakban 102 cm, nőkben pedig 88 cm felett beszélünk elhízásról. A haskörfogat értéke a BMI-nél érzékenyebben jelezheti a zsigeri zsírszövet mennyiségét és az ezzel járó kedvezőtlenebb metabolikus státuszt (195). Meghatározásának a rizikóbecslés szempontjából elsősorban a 25-35 kg/m² közötti BMI tartományban lehet jelentősége. 35 feletti BMI esetén a haskörfogat gyakorlatilag mindig kóros.

Az obezitás legalább 200 további betegséggel áll ok-okozati összefüggésben (196), a legfontosabbakat ezek közül a 3. táblázat tartalmazza. A túlsúly által közvetve okozott életminőség romlás és mortalitástöbblet igen jelentős. Az elmúlt 30 évben az elhízás, mint első számú megelőzhető mortalitási rizikótényező, átvette a dohányzás helyét (197). Az elhízott betegek várható élettartama, a túlsúly mértékétől függően, átlagosan 5-20 évvel alacsonyabb (198). Az obezitással összefüggő kórképek esetében a túlsúly csökkenésével sokszor jelentős javulás érhető el (199), ugyanakkor az elhízás megelőzésére irányuló egyéni vagy népesség szintű prevenciós és terápiás beavatkozások egyike sem nevezhető kifejezetten sikeresnek. A drámaian növekvő

gyakoriság mellett a kezelések korlátozott sikere a másik oka annak, hogy az elhízás korunk egyik vezető népegészségügyi problémája. Számos nemzetközi szervezet, pl. a World Obesity Federation, az elhízást a vele összefüggő társállapotoktól függetlenül is önálló, progresszív és krónikus kórképnek tartja (200).

3. táblázat: Az elhízással összefüggő legfontosabb társbetegségek. (Saját táblázat Haslam és mtsai. (196) nyomán.)

metabolikus	hyperlipidaemia, prediabetes, T2DM, NAFLD/NASH
pulmonális	alvási apnoe, Pickwick sy, COPD
cardiovascularis	hypertonia, atherosclerosis, AMI, ISZB, DCM
neuropszichiátriai	stroke, demencia, depresszió
mozgásszervi	osteoarthritis
gastrointestinalis	epekövesség
daganatok	emlő, ovarium, prostata, máj, vese, colon

Az elhízás előfordulási gyakorisága az elmúlt 40 évben gyakorlatilag az egész világon növekedett (201). 2015-ben 108 millió gyermek és 604 millió felnőtt volt érintett (202). Napjainkban az elhízottak száma a 2 milliárdot is meghaladja (203). Az elhízás prevalenciája 1980 óta több mint 70 országban, így hazánkban is, több mint kétszeresére nőtt. Az utolsó rendelkezésre álló adatok (204) szerint – ezek sajnálatos módon 2014-ből származnak - hazánkban a lakosság 65%-a túlsúlyos vagy elhízott. A nők körében az átlagos BMI 25,8 kg/m², míg férfiaknál 27,4 kg/m². Az elhízás gyakorisága a férfiak között 28,2%, a nők között 31,5%. Morbid obezitás 2,6 illetve 3,3%-nál áll fenn. Ezekkel az eredményekkel Magyarország a világ 4. legelhízottabb országa. A 2019-es Országos Táplálkozás és Tápláltsági Állapot Vizsgálat (OTÁP) felmérés adatai a jelen dolgozat írásakor még nem elérhetők.

1.7. Az obezitás okainak áttekintése

Túlsúly alakul ki az energiafelhasználást tartósan meghaladó energiabevitel esetén. Néhány veleszületett illetve szerzett kórkép a táplálékfelvétel jelentős növelése, vagy az energiafelhasználás csökkentése révén szekunder következményként önmagában is elhízáshoz vezet. Ilyenek a hypothalamus sérülés következtében kialakuló hyperphagia,

az endokrin kórképek körül a hypothyreosis, a Cushing szindróma, és a PCOS, valamint a következő fejezetben említésre kerülő ritka monogénes betegségek.

A primer obezitás hátterében jellemzően több endogén és exogén „bioszociális” tényező valamely kombinációja áll, és ezek a sajátságok komplex módon gyakorolnak hatást a kalóriabevitel és kalóriafelhasználás egyensúlyára. Nagyjából elkülöníthetők a táplálékfelvételre, az alapanyagcserére, illetve a fizikai aktivitásra ható faktorok. Ezeket a 4. táblázat foglalja össze (205). Egy másik felosztás az egyénre jellemző élettani-, pszichológiai-, táplálkozási- és testmozgásbeli tényezők, valamint a tágabb közösséget jellemző pszichés attitűdök, testmozgással kapcsolatos szokások, illetve ételmiszeripari jellegzetességek elkülönítésére épül (206). Több szakértői csoport az elhízásra hajlamosító endogén és exogén faktorok különböző kombinációja és az ezekkel járó eltérő cardiovascularis rizikó alapján obezitás-fenotípusok elkülönítését szorgalmazza (207). Ezen fenotípusoknak a jövőben a terápiaválasztás szempontjából lehet jelentősége.

Az elmúlt évtizedekben komoly előrelépések történtek az energiahomeosztázist szabályozó komplex neurohormonális rendszerek feltérképezésében. A vizsgálatok során számos ponton igazolódott, hogy elhízott egyéneknél ezek a rendszerek a megnövekedett testsúly fenntartása illetve a további súlygyarapodás irányába hatnak (208-210). A „takarékos gén” elmélet ezt azzal magyarázza, hogy az ember evolúciója során a szelektív nyomás a minél hatékonyabb energiatárolás irányába hatott. Így azok a táplálékfelvételt és energiafelhasználást szabályozó mechanizmusok, melyek lehetővé tették a hosszabb éhezési periódusok túlélését, a jelenlegi „obezogén” környezetben már az elhízást facilitáló rizikófaktoroként jelennek meg (211). Az elhízás adaptív eredetét továbbgondoló legújabb vizsgálatok sokat foglalkoznak a takarékos epigenotípus elméletével (212). E szerint az elhízásra való egyéni eltérések hátterében nem csak, vagy nem elsősorban genetikai különbségek állnak. Az elmélet szerint a takarékos gének mindenkiben jelen vannak, de az aktuális környezeti hatásokhoz történő alkalmazkodást ezen gének epigenetikus úton történő aktivációja és inaktivációja szabályozza. Az epigenotípust befolyásolhatják olyan, az egyén életében bekövetkezett események, mint a korábbi éhezés, vagy rendszeres testmozgás, de akár a korábbi generációkat ért hatások is, pl. az anyai diabetes.

Mindez részben magyarázattal szolgálhat az obezitást célzó intervenciók általános sikertelenségére, illetve indokolja az obezitás önálló betegségként történő kategorizálását.

4. táblázat: Az elhízást befolyásoló legfontosabb tényezők. (Saját táblázat Sharma és mtsai. (205) nyomán.)

Túlevés	Alapanyagcsere	Fizikai inaktivitás
Szociokulturális hatások	Életkor	Szociokulturális hatások
Ismeretbeli hiányosságok	Nem	Fizikai gátak
Közösségi nyomás	Örökletes tényezők	Krónikus fáradtság
Évészsavarok	Epigenetikus hatások	Izomfájdalom
Érzelemszabályozás	Neuroendokrin faktorok	Ízületi panaszok
Alvászavar	Nappali termogenezis	Edzetlenség
Gyógyszerhatás	Barna zsírszövet mennyisége	Érzelmi gátak
	Izomtömeg/Sarcopenia	Munkahelyi hatások
	Mikrobiom	Gyógyszerhatás
	Gyógyszerhatás	

Az endogén élettani tényezőkön túl a szociokulturális hatások szerepe is jelentős. Többszörösen igazolt, hogy a szűk család szocioökonómiai helyzete és életmódja az elhízást befolyásoló legjelentősebb faktornak tekinthető (206, 213). Egy túlsúlyos szülő vagy testvér, illetve az egyik szülő hiánya a túlsúly kockázatát 1.5-2-szeresére növeli. A dohányos szülő is önálló rizikótényezőt jelent. A magasabb (>3500g) születési súly, illetve a gyermekkori elhízás szintén jelentősen növeli a későbbi obezitás, illetve a metabolikus szindróma kialakulásának kockázatát (214). A tágabb környezetet tekintve jelentős hatással bírnak a kulturálisan elfogadott étkezési szokások, a testképileál, valamint az olyan külső tényezők, mint a lakóhely, a tömegközlekedés vagy a sportolási lehetőségek elérhetősége (206). Jól demonstrálja ezt, hogy az Arizónában és a Mexikóban élő pima indiánok között, az azonos genetikai háttér ellenére, az elhízás előfordulási gyakoriságában több mint háromszoros különbség van (215). Hasonló irányba mutat az a megfigyelés, hogy a bevándorlók elhízási kockázata gyorsan követi

a befogadó országra jellemző szinteket (216). Az összefüggés fordítva is megjelenik: a magas obezitási arányokkal bíró környékről való elköltözés igazoltan csökkenti a későbbi elhízás kockázatát (217).

I.8. Az obezitás genetikai háttere

A jelenlegi nyugati életmódot csökkent fizikai igénybevétel, és korlátlan mennyiségben elérhető, magas kalóriadenzitású, finomított szénhidrátokban és zsírban gazdag élelmiszerek jellemzik. Az elhízás azonban ebben az obezogén környezetben sem szükségszerű. Jelentős egyéni különbségek mutatkoznak az elhízás megelőzését, vagy kezelését célzó életmódbeli, gyógyszeres és műtéti intervenciók sikerességében is. Mindezen különbségek hátterében részben egyéni genetikai különbségek állnak, melyek vizsgálata az elhízás kutatásának egyik legaktuálisabb kérdésköre.

Régóta ismertek elhízással járó monogénes betegségek, melyek általában ritkák, és melyeknél a túlsúly korai életkorban, többnyire valamely súlyos szindróma részeként jelenik meg (218, 219). Az elmúlt években jó pár további magas penetranciájú, szindromatikus és non-szindromatikus obezitást okozó mutációt azonosítottak a leptin (220), a leptin receptor (221), a prohormon konvertáz 1 (PCSK1)(222), a melanocortin 4 receptor (MC4R)(223), a pro-opiomelanocortin (224), és egyéb génekben (225, 226). Bár ezen elhízásformák esetén a célzott kezelésektől is jelentős sikert remélnek (227), a fentiekhez hasonló mutációk a súlyos korai elhízással járó eseteknek csupán 1-4%-át magyarázzák, így az obezitás járványos terjedéséért semmiképp nem tehetők felelőssé (228). A primer obezitás hátterében poligénes etiológia tételezhető fel, viszont a népességszintű GWAS vizsgálatok statisztikai ereje kicsi az obezitásra hajlamosító ritkább, vagy kisebb hatású génvariánsok felismeréséhez. Tovább bonyolítják a képet a gén-gén, gén-környezet, illetve gén-viselkedés interakciók, melyeket az esetek egy részében epigenetikai mechanizmusok mediálnak. Utóbbiakra jó példa, hogy az anya terhesség alatti táplálkozása jelentősen befolyásolhatja a magzat DNS metilációs mintázatának alakulását, melynek következményei akár a későbbi generációkra is továbbörökíthetők (229). Egyes genetikai vizsgálatokban azt találták, hogy az obezitásra hajlamosító genetikai polimorfizmusokat hordozó személyek cukrozott üdítőital fogyasztása szignifikánsan magasabb. Mindezek alapján feltételezhető, hogy az obezitásra ható genetikai tényezők az alapanyagcserét, a táplálékbevitelt és a

viselkedést egyaránt befolyásolják. Mindez magyarázhatja, hogy bár ikervizsgálatok alapján az obezitásban az örökletes tényezők szerepét korábban 60-90% közöttinek becsülték (230), az elmúlt évek GWAS vizsgálatai által azonosított polimorfizmusok a BMI varianciájának csupán ~2%-ával mutatnak ok-okozati összefüggéseket. Asszociációs vizsgálatok alapján eddig kb. 160 genetikai lókuszról feltételezik, hogy poligénes módon, elhízásra hajlamosító kockázati tényezőt jelenthetnek (231). A legismertebb ezek közül a „Fat mass and obesity-associated protein” (FTO - alfa-ketoglutarát-dependens-dioxigenáz) intronikus mutációja, mely a homozigóta egyénekben átlagosan 3 kg testsúly többlettel jár (232). A gén-viselkedés összefüggéseket vizsgálva kapcsolatot találtak az FTO mutáció és a túlevés, illetve a fizikai inaktivitás között is (233). A homozigóta hordozókban az elhízás kockázata 1.67-szeres.

I.9. A D-vitamin-hiány és az obezitás összefüggései

A magas BMI a D-vitamin hiánnyal minden vizsgálat szerint egyértelmű összefüggést mutat. Korántsem egyértelmű azonban, hogy ez ok-okozati kapcsolatot jelent-e, és ha igen, milyen irányút (234). A mechanisztikusabb elképzelések szerint az elhízottak alacsonyabb D-vitamin ellátottságának hátterében elsősorban a zsírszövetben történő fokozott szekvesztráció, esetleg a csökkent szabadtéri fizikai aktivitás és napfényhatás áll (235). Az elmúlt évek kutatásai azonban egy a zsírszövet és a D-vitamin-anyagcsere között fennálló, ennél jóval bonyolultabb kétirányú hormonális kapcsolatra utalnak.

A zsírsejtekben a VDR, a CYP27B1 és a CYP24A1 egyaránt jelen van (236). In vitro vizsgálatok szerint a VDR jelátvitel a PPAR γ útvonalon keresztül befolyásolja a zsírsejtek érését (237, 238). Emellett számos adipokin termelődésére is hatással van (239). Egerekben a zsírszövet közvetett hormonális hatást is gyakorol a D-vitamin anyagcserére. Az adipocyták által termelt leptin fokozza az FGF23 szintézist, ami a vesében gátolja a CYP27B1 aktivitást és ezáltal a kalcitriol szintézist (240). A D-vitamin-anyagcsere zsírszövetre gyakorolt hatását valószínűsíti, hogy a géntechnológiai eljárással VDR hiányossá tett, illetve CYP27B1 hiányos egerek a vad típusnál soványabbak, és a kalóriabevitel fokozásával is nehezebben híznak el (241). Mindez látszólag ellentmondásban van a humán adatokkal. Embereknél a rosszabb D-vitamin státusz egyértelműen az elhízással és a szénhidrát-anyagcsere zavaraival mutat

összefüggést (242). A metabolikus szindróma valamennyi többi komponense is összefüggésbe hozható a D-vitamin hiánnyal (243-245). Az 50 nmol/l alatti D-vitamin-szint a 2-es típusú diabetes és a metabolikus szindróma kockázatát egyaránt kb. 2-szeresére emeli. Az ok-okozati kapcsolatot kutató mendeli randomizációs vizsgálatok során már több tízezer beteg adatait dolgozták föl. Egyes kutatók a magasabb D-vitamin-szintekre hajlamosító variánsok diabetesszel szembeni protektív szerepét mutatták ki (246), míg mások nem tudtak hasonló kapcsolatot igazolni (247). Az intervenciós vizsgálatok eredményei még ennél is ellentmondásosabbak. A megjelent közlemények kb. fele igazolta a D-vitamin-pótlásnak a 2-es típusú diabetesre vagy a metabolikus szindróma egyéb komponenseire gyakorolt előnyös hatását. Több tanulmányban a D-vitamin-pótlás jótékonyan hatott közvetlenül a túlsúlyra is (248, 249). A témában megjelent legnagyobb, norvég vizsgálatban azt találták, hogy a D-vitamin-pótlás csökkenti a diabetes előfordulási gyakoriságát, a hatás azonban nem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak (250). Egyes meta-analízisek szerint már kialakult diabetes esetén a D-vitamin adása javítja a glikémiás kontrollt (251), ugyanakkor ennek ellentmondó eredmények is vannak (252).

II. Célkitűzések

II.1. A D-vitamin-szintet befolyásoló genetikai tényezők vizsgálata

A D-vitamin anyagcserében szerepet játszó gének számos polimorfizmusáról igazolódott, hogy hatással vannak a szérumban lévő D-vitamin-szintekre. A témával foglalkozó kutatások azonban sok esetben nem vették figyelembe a D-vitamin-szintek évszakos illetve napfényfüggő variációját, mely az eddig kapott eredményeket jelentősen torzíthatja.

Vizsgálatunkban egy D-vitamin-szintekre ható környezeti tényezők által lehető legkevésbé befolyásolt, reprezentatív mintán kívántuk feltérképezni a D-vitamin anyagcserében szerepet játszó géneket. A cél olyan polimorfizmusok azonosítása, melyek szignifikáns hatással lehetnek az össz-, a szabad-, vagy a bioaktív kalcifediol szintekre.

II.2. A D-vitamin-anyagcsere polimorfizmusainak hatása a kalcium-anyagcsere paramétereire

A kalcitriol aktivációját, inaktivációját valamint receptorális hatását befolyásoló SNP-k potenciálisan a kalcifediolszintektől függetlenül is hatást gyakorolhatnak a kalcium- és csontanyagcserére.

Ennek megfelelően vizsgálni kívántuk, hogy a D-vitamin anyagcserében szerepet játszó fehérjék polimorfizmusainak van-e az aktuális 25(OH)D-vitamin-szintektől független hatása a kalcium-anyagcsere laboratóriumi paramétereire: a szérumban lévő kalcium-, foszfát-, illetve parathormon szintekre.

II.3. Az obezitás és a D-vitamin-anyagcsere genetikai összefüggéseinek vizsgálata

Az elhízás és a D-vitamin genetikájának összefüggése szintén intenzíven kutatott terület. Az elmúlt évtizedben a témában számos egymásnak ellentmondó publikáció látott napvilágot. Az ellentmondások háttérében itt is felmerül, hogy egyes korábbi vizsgálatok tervezésekor a környezeti tényezőket figyelmen kívül hagyták.

Kutatásunkban egy reprezentatív mintán kívántunk azonosítani olyan polimorfizmusokat a D-vitamin-anyagcsere génjeiben, melyek a D-vitamin-szintekre

ható környezeti tényezők minimalizálása mellett a BMI-t a szérumban a D-vitamin-szintektől függetlenül befolyásolják.

III. Módszerek

III.1. A vizsgálat felépítése, vizsgálati alanyok

Kutatásunk tervezése során két szempontot tekintettünk elsődlegesnek. Az első, hogy a vizsgálati alanyok a felnőtt magyar lakosságra nézve kor, nem és lakhely szerint reprezentatív mintát alkossanak. A második a D-vitamin-szinteket befolyásoló környezeti tényezők minél teljesebb kiküszöbölése volt, annak érdekében, hogy a genetikai adatokkal történő asszociációs elemzések során a torzító hatásokat minimalizáljuk.

A vizsgálati alanyok bevonása budapesti és vidéki háziorvosok közreműködésével, a 2011-es népszámlálás adatai alapján előre meghatározott irányszámok alapján történt, melyeket az 5. táblázat tartalmaz. A felkért háziorvosokat az ÁNTSZ 2012-ben megjelent 6415 háziorvost tartalmazó listájáról véletlenszerűen úgy választottuk ki, hogy az minél jobban tükrözze a lakosság földrajzi eloszlását (2 Budáról, 2 Pestről, 4 Közép-Magyarországról, 8 a Dunántúlról, 3 a Duna-Tisza közéről, és 5 a Tiszántúlról).

5. táblázat: A tervezett vizsgálati minta irányszámai nem és lakhely szerinti bontásban. (Saját táblázat saját adataink (253) alapján.)

	Életkor (év)	Budapest (4 körzet)	Város (10 körzet)	Falu (6 körzet)	Összesen
Nő	18-29	13	39	23	75
	30-59	39	117	68	224
	>60	16	74	43	133
Férfi	18-29	13	39	23	75
	30-59	39	117	68	224
	>60	25	48	27	100
	Összesen	145	434	252	831

Az alanyok bevonására, vizsgálatára és a vérminták levételére 2013 telének legvégén került sor, az első két egymást követő napfényes napot megelőzően. Ez az időpont az adott évben szokatlanul későre, április első hetére esett. A vizsgálatban részt vevő háziorvosok a megadott héten praxisukból az alanyokat a megadott irányszámok mentén

véletlenszerűen hívták be. Beválasztási kritérium egyedül a 18. életév betöltése illetve a cselekvőképesség volt.

A vizsgálati személyek a háziorvosnál tett vizit során részletes szóbeli és írásbeli tájékoztatásban részesültek, a vizsgálatban való részvételükhöz, laboratóriumi és genetikai adataik anonim kezeléséhez írásbeli tájékozott beleegyezésüket adták. A vizit során rögzítésre kerültek az alanyok demográfiai és antropometriai adatai, vitális paraméterei valamint részletes kórtörténete. A gyógyszeres terápia felmérése kapcsán különös figyelmet fordítottunk az esetleges kalcium- és D-vitamin-szupplementációra. Önkitöltős kérdőíven rögzítettük a D-vitamin-szinteket potenciálisan befolyásoló életmód-beli faktorokat: szabadban töltött idő mennyisége, fényvédő krém és szolárium használat, illetve a téli hónapok alatti külföldi üdülések ténye. A genetikai elemzésből a későbbiekben kizártuk azokat a személyeket, akiket a kérdőívek alapján a D-vitamin-szinteket befolyásoló környezeti hatás érhetett.

A vizsgálati tervet az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásaitikai Bizottsága 25OHD3-Mo protokoll-azonosítóval 11998/2013/EKU 163/2013 ügyiratszámom hagyta jóvá. A vizsgálattal kapcsolatos minden tevékenység megfelelt a Helsink Deklarációnak.

III.2. Laboratóriumi vizsgálatok

Az országos felmérés során a vérvétel standardizált metodika szerint, reggel, éhgyomorra történt. A mintákat helyben centrifugálták, majd kettéválasztották. A plazmából a rutin kémiai laborvizsgálatokra, illetve hormonszint meghatározásokra 24 órán belül a Semmelweis Egyetem Központi Laboratóriumában került sor. A minták szállítása és tárolása 4 °C-on, illetve az össz-25(OH)D-vitamin és PTH szintek esetén -20 °C-on, történt. A genetikai vizsgálatokhoz szükséges DNS mintát a vér alakos elemeiből izoláltuk.

Az össz-25(OH)D-vitamin (t-25(OH)-D) és a PTH szintek meghatározásához automatizált immunoassay-t használtunk (LIAISON analyzer DiaSorin, USA). A t-25(OH)-D meghatározás funkcionális érzékenysége 5,4 nmol/l volt, csökkenő koncentrációk (60,0-19,8 nmol/l) mellett az intra-assay variancia 4,1-7,7%, az inter-assay variancia 7,7-10,9% volt. A megengedett relatív hiba 2% alatt maradt.

A DBP szinteket immunoturbidimetriával, poliklonális nyúl antihumán antitest (A0021, Dako) segítségével, automatizált platformon (Modular, Roche, Mannheim, Németország) mértük. A mérési tartomány 25-495 mg/l, a variancia 3,5-6,1%, az érzékenység alsó határa pedig 7,6 mg/l volt.

A szérumból további rutin laborkémiai vizsgálatok történtek, melyekhez Beckman Coulter AU 5800 automatát használtunk (Beckman Coulter, Brea, USA). A szérumból végzett meghatározások: Ca, P, albumin, ALP, Na, K, kreatinin, GOT, GPT, GGT, LDH, koleszterin, triglicerid. A GFR-t a kreatinin értékéből, az életkor, a testsúly és a nem ismeretében a Cockcroft-Gault féle képlettel becsültük (254). Az elemzések során a szérum kalciumszint albuminnal korrigált értékét használtuk.

A szabad (f-25(OH)-D), illetve a biológiailag elérhető 25(OH)D-vitamin-szinteket (b-25(OH)-D) a t-25(OH)-D, a DBP és az albuminszintekből becsültük. Előbbi a fehérjéhez nem kötött frakciót jelöli, melyet a Daniel Bikle által validált képlettel számítottunk (163). Utóbbi a szabad és az albuminhoz között 25(OH)D-vitamin összességét jelöli, melynek becslésére a Camille Powe által javasolt összefüggést használtuk (255).

III.3. Genetikai elemzés

Elemzésünkben a D-vitamin anyagcserében szerepet játszó valamennyi fontosabb gén polimorfizmusait vizsgáltuk. Ezek az alábbiak voltak: glutamin-dependens NAD(+) szintetáz (NADSYN1)/7-dehidrokoleszterin reduktáz (DHCR7), D-vitamin kötő fehérje (GC), 25-hidroxiláz (CYP2R1), 24-hidroxiláz (CYP24A1), D-vitamin receptor (VDR). A NADSYN1 kivételével ezen fehérjék funkcióját a bevezetőben részleteztem. Utóbbi a szervezetben lezajló számos redox reakció kofaktoraként működő NAD koenzim szintéziséért felel. A NADSYN1 gén több polimorfizmusát kapcsolatba hozták a D-vitamin anyagcserével (256). Ennek magyarázata lehet az, hogy a NAD a szteroidhormonok szintézisében is részt vesz, ugyanakkor sokkal valószínűbbnek tűnik a gén lokalizációjának szerepe. A NADSYN1 gén ugyanis az 1. kromoszómán közvetlenül a DHCR7 gén mellett helyezkedik el. Így a génekben, illetve a köztük lévő nem kódoló szakaszon előforduló variánsok potenciálisan mindkét fehérje átíródására hatással lehetnek.

A polimorfizmusok kiválasztása két lépésben történt. Egyrészt olyan SNP-eket választottunk ki, melyek t-25(OH)-D szintekre gyakorolt hatását korábbi vizsgálatok már felvetették. Ezek az alábbiak voltak: rs4588, rs7041 a GC génben; rs4809959, rs927650, rs2209314, és rs2762939 a CYP24A1 génben (14).

Második lépésben olyan polimorfizmusokat választottunk ki a HapMap adatbázisból, melyek minor allél frekvenciája (MAF) 20% felett van, a vizsgált géneket a lehető legteljesebb mértékben lefedik és nincs ismert kapcsoltságuk (kapcsoltsági küszöb $r^2 < 0,8$). Az így kiválasztott SNP-k az alábbiak voltak: rs1993116, rs10500804, rs11023374 a CYP2R1-ben; rs17467825, rs222054 a GC génben; rs7935125 a NADSYN1/DHCR7 régióban; rs4809960, rs6022999, rs2181874, rs2585428, rs3787555, rs2244719, rs2762941 a CYP24A1 génben, valamint rs1544410, rs3890733, rs7302235, rs2853564, rs2107301, rs2228570, rs2239179, rs2239182, rs4760648, és rs7299460 a VDR génben. Összesen tehát 29 SNP-t vizsgáltunk (6. táblázat), melyek közül korábbi vizsgálatokban 7 szignifikáns összefüggést mutatott a D-vitamin-szintekkel.

Az elemzések során három vonatkozásban vizsgáltuk a polimorfizmusok hatását. Az első az egyes SNP-k D-vitamin, illetve DBP szintekre gyakorolt hatása volt. A második az esetleges D-vitamin-szintektől független hatás a kalcium-anyagcsere egyéb paramétereire, úgymint kalcium, foszfát és parathormon koncentrációk. A harmadik a D-vitamin-anyagcsere-gének polimorfizmusainak és a BMI összefüggésének vizsgálata volt.

A DNS mintákat High Pure PCR extrakciós kit (Roche, Meylan, Franciaország) segítségével EDTA-val antikoagulált vérmintákból nyertük. A genotipizálást az Innsbrucki Orvosi Egyetem Genetikai Laboratóriumában végezték MALDI-TOF tömegspektrométerrel (MASSarray Analyzer 4, Sequenom Inc., San Diego, California, USA).

6. táblázat: A genetikai elemzésben szereplő polimorfizmusok összefoglalása. A D-vitamin-szintekkel korábbi vizsgálatokban összefüggést mutató SNP-k aláhúzva szerepelnek. (Saját táblázat saját adataink (257-259) alapján.)

Gén	SNP	referencia allél	variáns allél
NADSYN1/DHCR7	rs7935125	C	A
GC	rs17467825	A	G
	rs222054	C	G
	<u>rs4588</u>	G	T
	<u>rs7041</u>	A	C
CYP2R1	rs1993116	A	G
	rs10500804	T	G
	rs11023374	T	C
CYP24A1	<u>rs4809959</u>	A	G
	<u>rs927650</u>	T	C
	rs4809960	T	C
	<u>rs2209314</u>	T	C
	rs6022999	A	G
	rs2181874	G	A
	rs2585428	C	T
	rs3787555	C	A
	<u>rs2762939</u>	G	C
	rs2244719	C	T
	rs2762941	G	A
VDR	rs1544410	G	A
	rs3890733	C	T
	rs2853564	G	A
	rs7302235	T	C
	rs2107301	C	T
	rs2228570	A	G
	rs2239179	T	C
	rs2239182	T	C
	rs4760648	C	T
	rs7299460	C	T

III.4. In silico elemzés

A kezdeti statisztikai elemzésekben szignifikanciát mutató SNP-k hatásmechanizmusának feltérképezéséhez további in silico vizsgálatokat végeztünk. Az egyéb, korábban dokumentált hatással bíró SNP-vel való esetleges kapcsoltság ellenőrzésére a 1000 Genomes Project CEU referencia adatbázisát (260) és az Ensembl platformot (261) használtuk. Az esetleges szöveti génexpressziós hatás feltérképezéséhez in silico eQTL (expression quantitative trait loci - mennyiségi tulajdonságokat meghatározó lókuszt) analízist végeztünk, melyhez a GTEx adatbázis multi-tissue eQTL adatbázisát (v8) alkalmaztuk (<https://www.gtexportal.org/home/datasets>).

III.5. Statisztikai módszerek

A leíró statisztikai elemzések során a folytonos változókat átlag \pm szórás, a kategorikus változókat százalékos előfordulás formájában adjuk meg.

A változók eloszlásának normalitását az alakmutatók értékelésével, formális statisztikai próbákkal (Kolmogorov–Smirnov, Shapiro–Wilk), illetve a hisztogramok és Q-Q görbék inspekciójával ellenőriztük. Bár a paraméterek eloszlása több esetben eltért a normáltól, a magas esetszám miatt a folytonos változók mintavételi eloszlása a centrális határeloszlás-tétel értelmében normálnak tekinthető. A homoszkedaszticitás teljesülését statisztikailag (Levene-próbával) és grafikusán (a reziduumok és a becült értékek összevetésével) ellenőriztük.

A D-vitamin- és kalcium-anyagcsere paramétereinek közti összefüggéseket egy és többváltozós lineáris modellekben (ANOVA, lineáris regresszió, logisztikus regresszió), valamint mediációs és moderációs modellben értékeltük.

A mintákban az egyes SNP-k közti esetleges nem várt kapcsoltság kimutatására haplotípus blokk elemzést, a Hardy-Weinberg-egyensúly ellenőrzésére χ^2 -próbát használtunk.

Az SNP-k és a kimeneti változók kapcsolatát először lépcsőzetes többváltozós lineáris modellben vizsgáltuk. A független változók beléptetése és az egyes modellek összehasonlítása Akaike információs kritérium (AIC) alapján történt. A polimorfizmusok kezdetben háromszintű kategorikus változóként (homozigóta vad | heterozigóta | homozigóta variáns) kerültek a modellbe. Azon polimorfizmusoknál,

amelyeknél egyváltozós modellben domináns hatás igazolódott, a végleges modell pontosságát úgy javítottuk, hogy a változót kétszintűvé redukáltuk. Az elemzés a Cook-féle D-statisztika alapján kiugrónak talált eseteket figyelmen kívül hagyta, a hiányzó értékeket a mediánnal pótolta.

A fenti szűrésben ígéretesnek tűnő SNP-eket tovább elemeztük. A második modell egyszerre tartalmazta az első lépésben szignifikáns hatást mutató valamennyi SNP-t, valamint az adott dependens változót befolyásoló egyéb mért biológiai paramétereket. Ez az elemzés a kiugró értékek meghagyásával, a hiányzó értékeket tartalmazó esetek kihagyásával, illetve a nem szignifikáns prediktorok lépcsőzetes elhagyásával történt.

Harmadik lépésben vizsgáltuk a lehetséges 2 és 3 irányú kölcsönhatásokat. Ahol élettanilag indokolt volt, mediációs modellben vizsgáltuk a szignifikáns prediktorok hatását potenciálisan közvetítő egyéb változók szerepét is.

A szignifikancia határát mindenhol $p < 0,05$ -ben határoztuk meg.

Az elemzéshez a Haploview szoftvert, az IBM SPSS Statistics for Windows 27-es verzióját (IBM Corp., Armonk, NY., USA), illetve a Process Macro 4.0 verzióját használtuk.

IV. Eredmények

IV.1. A vizsgálati alanyok klinikai jellemzői

A vizsgálatba 831 személyt vontunk be, azonban 167 esetben nem kaptunk értékelhető adatokat (253). Ennek hátterében hiányos adatrögzítés, illetve mintavételi vagy minta tárolási probléma állt. A maradék 664 résztvevő közül 470 olyan volt, akinek genetikai mintája rendelkezésre állt, ugyanakkor nem merült fel kizárási kritérium: gyógyszeres D-vitamin-pótlás, szoláriumhasználat, vagy külföldi utazás. A 664 fős eredeti minta, illetve a genetikai elemzésbe beválogatott 470 fő demográfiai és antropometriai adatait a 7. táblázat foglalja össze.

7. táblázat: A teljes vizsgálati minta, és a genetikai elemzésbe bevont személyek demográfiai és antropometriai adatainak összehasonlítása. (Saját táblázat saját adataink (257, 258) alapján.)

Paraméter	Teljes minta (n=669)	Genetikai elemzés (n=470)	p-érték
Életkor (év ± szórás)	49.62 ± 16.65	49.55 ± 16.63	0.87
Nem (%)			
Férfi	42%	49%	<0.0001
Nő	58%	51%	
Magasság (m ± szórás)	1.69 ± 0.09	1.70 ± 0.1	0.97
Testsúly (kg ± szórás)	74.9 ± 16.0	75.7 ± 15.9	0.90
BMI (kg/m ² ± szórás)	25.8 ± 4.6	26.0 ± 4.5	0.88
Lakhely (%)			
Főváros	23%	14%	0.47
Város	46.5%	57%	
Faluközség	30.5%	29%	
Foglalkozás (%)			
Fizikai munka	38%	39%	0.32
Szellemi munka	62%	61%	

A kizárási kritériumok alkalmazása a legtöbb demográfiai paramétert nem befolyásolta. Egyetlen kivétel a nő:férfi arány volt, mely a genetikai elemzésben részt vevő személyek közt szignifikánsan kisebb volt. Ennek háttérében az állt, hogy az eredeti vizsgálati minta nő tagjai körében mind a gyógyszeres D-vitamin-pótlás, mind a szoláriumhasználat gyakoribb volt, mint a férfiaknál. A genetikai elemzéshez használt minta kor és lakhely szerinti eloszlása a magyar lakosságra nézve reprezentatív volt. A BMI is megfelelt a 2014-es OTÁP felmérésben talált felnőtt populációs átlagnak (204).

IV.2. A D-vitamin-hiány laboratóriumi jellemzői

A genetikai analízisben részt vevő alanyok főbb klinikai paramétereit a 8. táblázat mutatja be. Amint látható, több változó eloszlása is szignifikánsan eltért a normáltól.

A vizsgálati elrendezéséből adódóan gyakorlatilag minden résztvevő D-vitamin-hiányos állapotban volt. Megfelelő t-25(OH)-D ellátottság (>75 nmol/l) mindössze 2,3%-nál igazolódott, míg a résztvevők 79,6%-ánál közepes (<50 nmol/l), vagy súlyos (<25 nmol/l) hiányállapot mutatkozott (3. ábra). A férfiak átlagos t-25(OH)-D szintje ugyan nem jelentősen (39,47 vs 35,23 nmol/l), de szignifikánsan ($p=0,009$) magasabb volt a nőkéénél.

A környezeti tényezőktől független, egységes D-vitamin-hiány mellett, az amúgy jellemző korreláció a t-25(OH)-D szint és a BMI ($r=0,081$, $p=0,098$) illetve az életkor ($r=-0,017$, $p=0,719$) között nem volt statisztikailag szignifikáns. Ugyanakkor a BMI és a DBP ($r=0,257$, $p<0,001$), valamint a DBP és a t-25(OH)-D szintek ($r=0,126$, $p=0,008$) között szignifikáns lineáris összefüggés mutatkozott. A fenti változókat mediációs modellben vizsgálva, a BMI és a D-vitamin közötti kapcsolatnak 34%-a érvényesült a DBP szinteken keresztül. Mindez alapján valószínűsíthető, hogy a BMI és a D-vitamin-szint hagyományos feltételek mellett ismert szignifikáns összefüggése is részben, de nem teljesen a DBP-n keresztül jön létre.

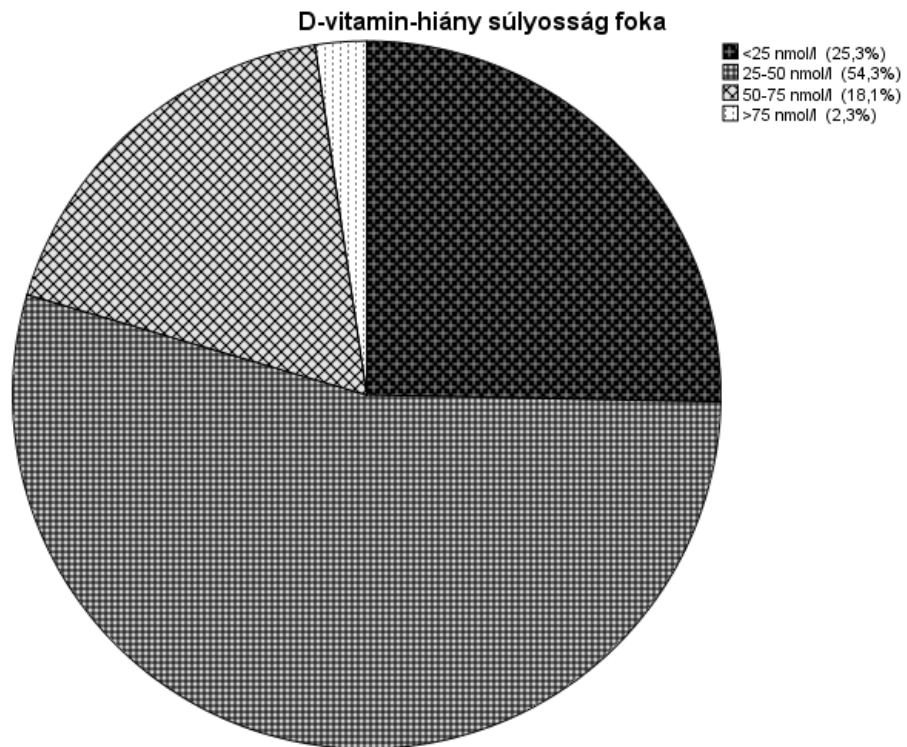
A t-25(OH)-D szintek erős korrelációt mutattak a b-25(OH)-D és az f-25(OH)-D értékekkel ($r=0,745$, ill. $r=0,760$, $p<0,001$ mindkét esetben). A b-25(OH)-D és az f-25(OH)-D szintek között a korreláció gyakorlatilag tökéletes volt ($r=0,979$, $p<0,001$). Erre való tekintettel a későbbi elemzések során a b-25(OH)-D szinteket önálló változóként nem használtuk.

Szignifikáns volt az összefüggés a t-25(OH)-D és a PTH szintek között, melyet a lineárisnál pontosabban írt le egy reciprok függvény (4. ábra). A PTH becslésekor az életkor hatása bizonyult még szignifikánsnak. A két változó együtt a PTH variancia 14%-át magyarázta (9. táblázat). A GFR-nek a PTH-ra gyakorolt hatása nem volt kimutatható. Ennek magyarázataként felmerül, hogy valódi veseelégtelenség az alanyok csak igen kis hányadában fordult elő.

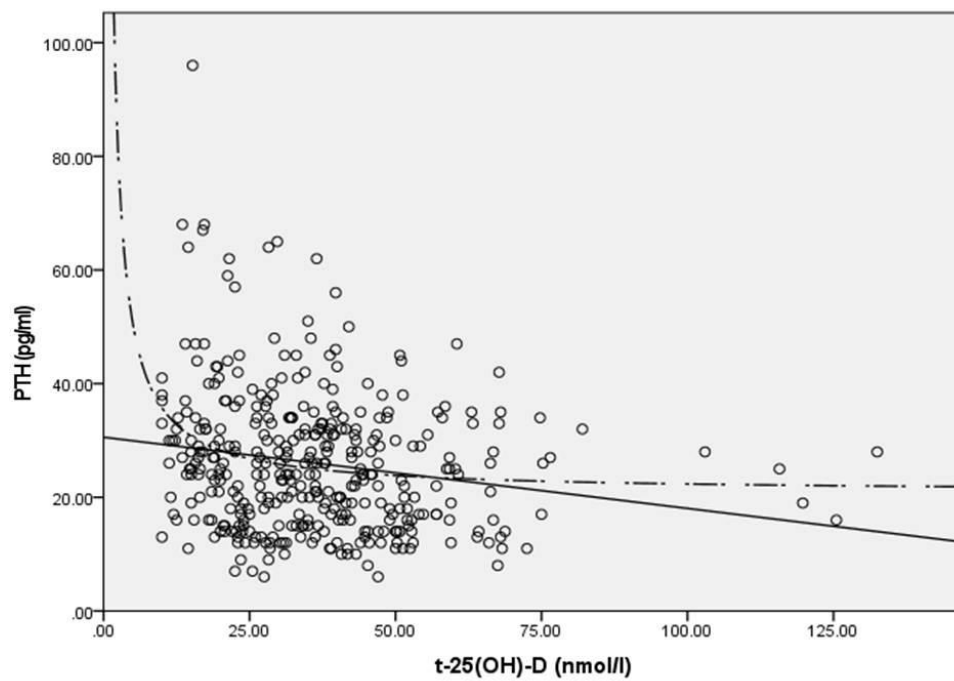
8. táblázat A genetikai elemzésben részt vevő személyekben mért biológiai változók leíró statisztikája. (Saját táblázat.)

Paraméter	Átlag ± szórás	Tartomány (min. - max.)	Ferdeség ± szórás	Csúcsosság ± szórás
Kalcium (mmol/l)	2,26 ± 0,13	1,70 - 2,87	0,19 ± 0,11	4,57 ± 0,22
Foszfát (mmol/l)	1,12 ± 0,18	0,62 - 1,81	0,44 ± 0,11	0,56 ± 0,23
Magnézium (mmol/l)	0,83 ± 0,10	0,46 - 1,58	1,41 ± 0,11	10,25 ± 0,22
t-25(OH)-D (nmol/l)	37,33 ± 17,44	10,0 - 132,5	1,45 ± 0,11	4,73 ± 0,23
b-25(OH)-D (nmol/l)	3,93 ± 2,07	0,00 - 15,0	1,30 ± 0,12	3,00 ± 0,23
f-25(OH)-D (pmol/l)	9,60 ± 5,00	0,00 - 39,15	1,49 ± 0,11	4,19 ± 0,23
DBP (mg/l)	308,9 ± 85,6	69,6 - 709,72	0,14 ± 0,12	1,75 ± 0,23
Albumin (g/l)	44,62 ± 4,10	22,0 - 59,70	-0,98 ± 0,11	4,49 ± 0,23
PTHi (pg/ml)	26,73 ± 18,35	6,00 - 291	8,37 ± 0,13	115,01 ± 0,25
kreatinin (mmol/l)	73,21 ± 20,12	22,00 - 189,0	1,70 ± 0,11	6,14 ± 0,23
GFR (ml/perc)	95,79 ± 23,09	32,95 - 120,0	-0,59 ± 0,21	-0,73 ± 0,24

A D-vitamin-hiány mértékének hatását a PTH-ra az életkorral korrigálva ANOVA-val is vizsgáltuk. Az elemzésben a D-vitamin-hiányt a 3. ábrán bemutatott 4 kategóriába soroltuk. A modell és a prediktorok a regresszióhoz hasonló szignifikancia szinteket és hatásnagyságot mutattak ($r^2=0,14$, életkor: $p<0,001$, D-vitamin-hiány: $p=0,002$). A kontrasztok vizsgálata az 50 nmol/ml t-25(OH)-D értékek alatt mutatott szignifikáns különbséget a PTH szintek között (5. ábra, 10. táblázat).



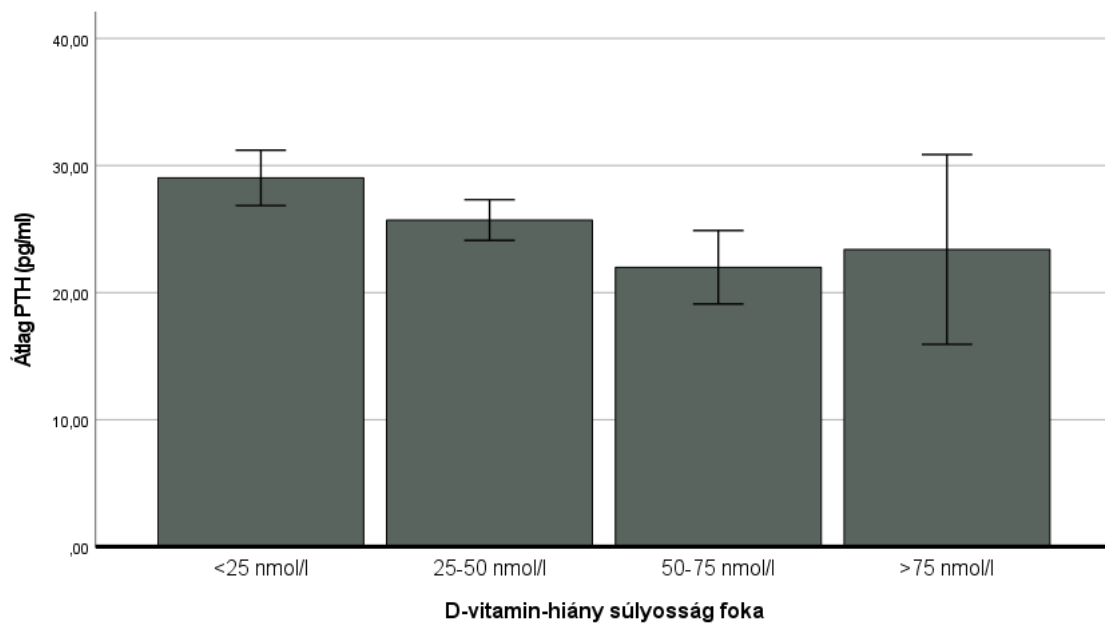
3. ábra: A D-vitamin-hiány mértéke a teljes vizsgálati mintában (n=470 fő). (Saját ábra.)



4. ábra: A PTH és t-25(OH)D-vitamin-szint közötti összefüggés lineáris ($r=0,18$) és reciprok ($r=0,22$) modellel. (Saját ábra.)

9. táblázat: A PTH szintet befolyásoló tényezők statisztikai vizsgálata. A teljes modellre vonatkoztatva $r^2 = 0,14$. (Saját táblázat.)

	B	95% CI	p	η^2
Metszéspont	10,740	6,720 - 14,760	<0,001	0,070
1/t-25(OH)-D	134,047	69,503 - 198,592	<0,001	0,043
Életkor	0,219	0,151 - 0,287	<0,001	0,099



5. ábra: A D-vitamin-hiány súlyosságának hatása a PTH szintekre. (Saját ábra.)

10. táblázat: A PTH szintek összehasonlítása a D-vitamin-hiány súlyossága szerint. (Saját táblázat.)

Kontraszt	B	95% CI	p
<25 nmol/l vs 25 - 50 nmol/l	3,32	0,61 - 6,03	0,016
25 - 50 nmol/l vs 50 - 75 nmol/l	3,72	0,41 - 7,02	0,028
50 - 75 nmol/l vs >75nmol/l	-1,40	-9,41 - 6,60	0,73

Az albuminnal korrigált kalciumértékek átlaga közel esett a normál tartomány aljához, és a résztvevők 13,8%-ánál manifeszt hypocalcaemia ($\text{Ca} < 2,15 \text{ mmol/l}$) állt fenn. Hypophosphataemiát ($\text{P} < 0,8 \text{ mmol/l}$) a vizsgált személyek mindössze 2,8%-ánál, emelkedett PTH értéket ($> 65 \text{ pg/ml}$) pedig 1,3%-ánál észleltünk.

Többváltozós lineáris modellben a kalciumszinttel a BMI, a GFR, a PTH, a szérumban magnézium és a szérumban foszfát mutatott szignifikáns összefüggést. A D-vitamin- és kalciumszintek között ugyanakkor nem volt összefüggés. A magasabb rendű interakciók vizsgálata kapcsán a $\text{Mg} \times \text{PTH} \times \text{GFR}$, illetve a $\text{Mg} \times \text{P} \times \text{GFR}$ interakció is szignifikánsnak bizonyult; azaz a PTH pozitív, illetve a foszfát negatív hatása a kalciumszintekre elsősorban normál magnéziumellátottság és magas GFR esetén érvényesül. Fontos ennek kapcsán megjegyezni, hogy 30-60 ml/perc közti GFR érték az alanyok 7,2%-ánál fordult csak elő, 30 alatti értékek pedig egyáltalán nem voltak. A teljes modellt a 11. táblázat szemlélteti.

11. táblázat: A korrigált kalciumszintet befolyásoló tényezők statisztikai vizsgálata. A teljes modellre vonatkoztatva $r^2 = 0,33$. (Saját táblázat.)

Prediktor	B	95% CI	p	η^2
Metszéspont	4,13	1,56- 6,70	0,002	0,031
P	-3,05	-5,23 - (- 0,82)	0,008	0,022
Mg	-2,332	-5,384 - 0,720	0,13	0,007
GFR	-0,037	-0,064 - 0,009	0,009	0,021
BMI	0,003	0,000 - 0,007	0,039	0,013
PTH	0,040	0,008 - 0,072	0,014	0,019
Életkor	0,001	0,000 - 0,002	0,116	0,008
t-25(OH)-D	-0,001	-0,002 - 0,001	0,532	0,001
GFR x PTH	0,000	-0,001 - 7,6E-5	0,018	0,017
PTH x Mg	-0,047	-0,084 - 0,010	0,013	0,019
GFR x Mg	0,042	0,009 - 0,075	0,012	0,020
P x GFR	0,044	0,021 - 0,068	0,000	0,042
P x Mg	3,691	1,043 - 6,339	0,006	0,023
P x GFR x Mg	-0,052	-0,080 - 0,024	0,000	0,041
GFR x PTH x Mg	0,001	7.5E-5 - 0,001	0,022	0,017

A fenti modellben szignifikanciát mutató prediktoroknak a hypocalcaemia (korrigált kalcium < 2,15 mmol/l) kockázatára gyakorolt hatását logisztikus regresszióban is vizsgáltuk. Az eredményeket a 12. táblázat tartalmazza.

12. táblázat: A kalciumhiány kockázatát befolyásoló tényezők vizsgálata. (Saját táblázat.)

Prediktor	OR	95% CI	p
Konstans	4865,637		
Mg	8,9*10 ⁻⁶	0,000 - 0,013	<0,001
P	0,083	0,010 - 0,707	0,023
GFR	1,025	1,005 - 1,045	0,013
PTH	1,030	1,000 - 1,060	0,049
BMI	0,873	0,794 - 0,960	0,005

A foszfátszintekkel a GFR, a BMI és az életkor mutatott szignifikáns összefüggést. A D-vitamin-szintek hatása itt sem volt szignifikáns. Nem volt kimutatható hatása a magnéziumszinteknek, illetve a PTH-nak sem. Ahogy a kalciumszintek vonatkozásában a foszfát x GFR interakció, úgy a foszfátszintek vonatkozásában a kalcium x GFR interakció is szignifikánsnak mutatkozott. A teljes modellt a 13. táblázat tartalmazza.

13. táblázat: A foszfátszintet befolyásoló tényezők statisztikai vizsgálata. A teljes modellre vonatkoztatva $r^2 = 0,16$. (Saját táblázat.)

Prediktor	B	95% CI	p	η^2
Metszéspont	2.274	0,978 - 3.570	0,001	0,028
GFR	-0,015	-0,028 - (-0,002)	0,019	0,013
Ca	-0,354	-0,917 - 0,208	0,216	0,004
BMI	-0,006	-0,011 - (-0,002)	0,007	0,017
Életkor	-0,003	-0,004 - (-0,001)	0,000	0,032
Mg	0,019	-0,162 - 0,201	0,836	0,000
t-25(OH)-D	0,002	-0,001 - 0,004	0,143	0,005
GFR x Ca	0,006	0,001 - 0,012	0,030	0,011

IV.3. A genetikai elemzés eredményei

A Hardy-Weinberg- egyensúly valamennyi allél esetén teljesült. Szignifikáns kapcsoltság egyedül az rs4588 és az rs7041(GC gén) között állt fenn.

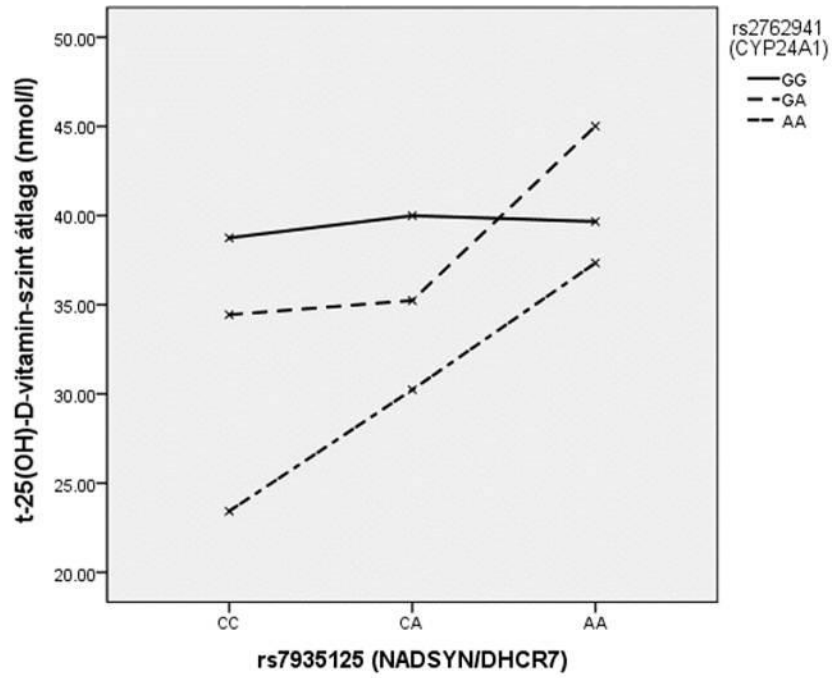
IV.3.1. A D-vitamin-hiányt befolyásoló genetikai tényezők

Az első, szűrő jellegű elemzésben az alábbi variánsokkal kapcsolatban merült fel, hogy szignifikáns hatásuk lehet a t-25(OH)-D szintekre: rs7935125 (NADSYN/DHCR7), rs2762941 (CYP24A1), rs7041 és rs222054 (GC), valamint rs1544410 (VDR).

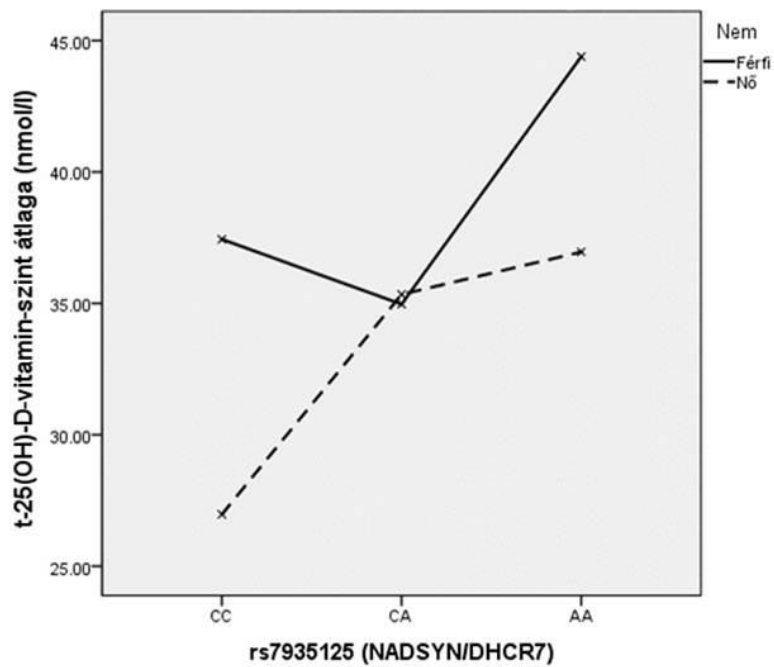
A kiterjesztett modellben, melyben a nemre, a korra és a BMI-re is korrigáltunk, az rs1544410 már nem mutatott szignifikáns hatást. Ugyanakkor a polimorfizmusokkal együtt vizsgálva a BMI hatása már elérte a statisztikai szignifikancia határát. A magasabb rendű interakciók vizsgálatával az rs7935125 x rs2762941 illetve az rs7935125 x nem interakció is szignifikánsnak bizonyult. A teljes modellt a 14. táblázat, az interakciókat az 6. és 7. ábra szemlélteti.

14. táblázat: A t-25(OH)-D szinteket befolyásoló genetikai tényezők statisztikai vizsgálata. Az átláthatóság kedvéért az SNP-k mellett csak a homozigóta vad és homozigóta variáns genotípus közti különbséget jelölő együtthatókat tüntettem fel. A teljes modellre $r^2 = 0,18$. A genetikai hatás kb. 13,7%. (Saját táblázat saját adataink (257) alapján.)

Prediktor	B	95% CI	p	η^2
Metszéspont	51,384	37,103 - 65,665	0,000	0,205
Nem	7,432	2,883 - 11,981	0,003	0,022
Életkor	-0,028	-0,121 - 0,065	0,551	0,001
BMI	-0,369	-0,726 - (-0,011)	0,043	0,010
rs7935125	ld. 6. és 7. ábra		0,010	0,023
rs2762941	ld. 6. ábra		0,008	0,024
rs7041	-6,871	-11,322 - (-2,420)	0,010	0,023
rs222054	-6,119	-12,019 - (-0,219)	0,013	0,022
rs1544410	0,192	-4,245 - 4,630	0,274	0,006
rs7935125 x Nem	ld. 7. ábra		0,023	0,019
rs7935125 x rs2762941	ld. 6. ábra		0,031	0,026



6. ábra: Az rs7935125 hatása a t-25(OH)D-szintekre az rs2762941 különböző genotípusai esetén. (Saját ábra.)



7. ábra: Az rs7935125 eltérő hatása a t-25(OH)D-szintekre a két nemnél. (Saját ábra.)

Mediációelemzéssel vizsgáltuk, hogy a két GC polimorfizmus (rs7041 és rs222054) a t-25(OH)-D szintekre a DBP szinteken keresztül hat-e. Mindkét esetben azt találtuk, hogy bár a polimorfizmusoknak a DBP szintekre van statisztikailag kimutatható hatásuk, a t-25(OH)-D értékére gyakorolt hatás kb. 90%-a ettől függetlenül jön létre.

Az egyes variánsoknak a tél végi D-vitamin-hiány kockázatát befolyásoló hatását többváltozós logisztikus regressziós modellben értékeltük. A variáns allél jelenléte az rs7935125, ill. az rs222054 gének esetében bizonyult szignifikánsnak. A súlyos hiány (t-25(OH)-D<25 nmol/l) kockázatát a hordozásuk kb. 50, ill. 40%-kal csökkentette. A hatás mértéke a közepes D-vitamin-hiányt (t-25(OH)-D<50 nmol/l) vizsgálva is hasonló volt, de a statisztikai szignifikancia határát nem érte el (15. táblázat).

15. táblázat: Az egyes SNP-k jelenlétének hatása a súlyos és közepesen súlyos D-vitamin-hiány kockázatára. (Saját táblázat.)

Prediktor	t-25(OH)-D<25 nmol/l			t-25(OH)-D<50 nmol/l		
	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
Konstans	0,889		0,768	9,574		0,000
Nem	0,781	0,507 - 1,204	0,263	0,644	0,405 - 1,025	0,063
rs7935125	0,489	0,259 - 0,924	0,028	0,596	0,243 - 1,462	0,258
rs222054	0,618	0,396 - 0,964	0,034	0,635	0,394 - 1,022	0,061
rs7041	0,796	0,481 - 1,317	0,374	0,962	0,532 - 1,741	0,899
rs2762941	1,359	0,880 - 2,100	0,167	1,138	0,714 - 1,814	0,586

Próbáltunk azonosítani olyan polimorfizmusokat is, melyek a t-25(OH)-D szinteken túl a szabad D-vitamin szintekre is hatással vannak. A t-25(OH)-D szintekkel kapcsolatban azonosított SNP-k egy része valóban összefüggést mutatott az f-25(OH)-D szintekkel is, ugyanakkor a mediációelemzés szerint a hatásnak gyakorlatilag 100%-a a t-25(OH)-D szinteken keresztül érvényesül. Nem tudtunk olyan polimorfizmust azonosítani, mely a totál D-vitamin-szintektől független hatást gyakorolna a szabad D-vitamin-szintekre.

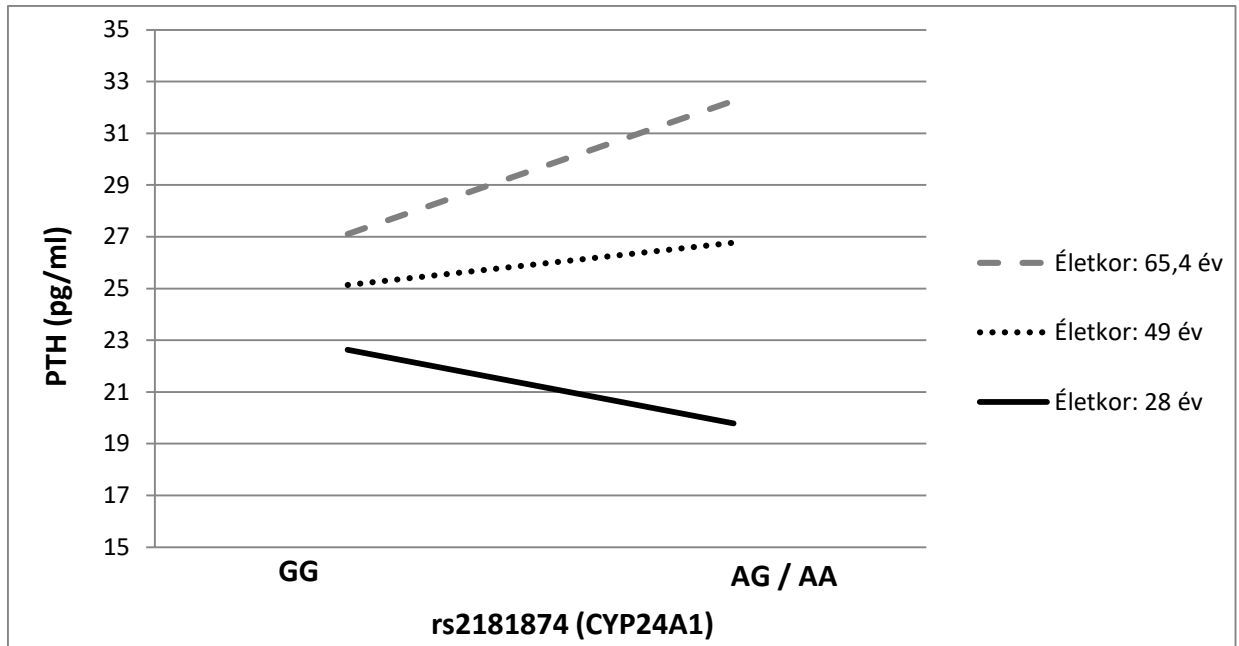
IV.3.2. A kalcium-anyagcserét befolyásoló genetikai tényezők

IV.3.2.1. A parathormon szintet befolyásoló polimorfizmusok vizsgálata

A kezdeti elemzés az alábbi SNP-k esetében mutatott potenciális hatást a PTH szintekre: rs1993116, és rs11023374 (CYP2R1); rs222054 (GC); rs2239182 (VDR); rs2181874 (CYP24A1). A részletes elemzés során az rs2239182 és az rs1993116 szignifikanciája nem maradt meg, az rs222054 hatásával kapcsolatban pedig kiderült, hogy az elsősorban a t-25(OH)-D szinteken keresztül érvényesül. Ez utóbbi egybevág a D-vitamin-szintekkel kapcsolatos elemzésünk eredményeivel. Így tehát a végleges modell a korábban igazolt prediktorok mellett az rs11023374 és rs2181874 polimorfizmusokat tartalmazza. A magasabb rendű interakciók vizsgálatakor szignifikancia mutatkozott az rs2181874 x életkor (8. ábra) esetében. A genetikai faktorokat tartalmazó modell (16. táblázat) a korábbinál lényegesen pontosabbnak bizonyult ($r^2=0,22$ vs 0,14).

16. táblázat: A PTH koncentrációját befolyásoló polimorfizmusok statisztikai vizsgálata. Az átláthatóság kedvéért az SNP-k mellett csak a homozigóta vad és homozigóta variáns genotípus közti különbséget jelölő együtthatókat tüntettem fel. A teljes modellre $r^2 = 0,22$. A genetikai hatás kb. 6,8%. (Saját táblázat saját adataink (259) alapján.)

	B	95% CI	p	η^2
Metszéspont	0,404	-23,051 – 28,860	0,973	0,007
1/t-25(OH)-D	116,653	50,881 - 182,425	0,001	0,037
Életkor	ld. 8. ábra		0,001	0,033
rs11023374	5,926	1,695 - 10,156	0.016	0.026
rs2181874	ld. 8. ábra		0,109	0,014
rs2181874 x Életkor	ld. 8. ábra		0,010	0,028



8. ábra: Az rs2181874 interakciója az életkorral. Az átlagos genetikai hatás a 16. 50. és 84. életkori percentilis mellett ábrázolva. (Saját ábra.)

IV.3.2.2. A kalciumszintet befolyásoló polimorfizmusok vizsgálata

A szűrő jellegű elemzés az alábbi SNP-kel kapcsolatban vetette fel, hogy hatással lehetnek a korrigált kalcium szintekre: rs11023374 (CYP2R1); rs2209314 és rs927650 (CYP24A1); illetve rs17467825 (GC). A részletes elemzés során azonban szignifikáns hatás egyik esetben sem igazolódott.

IV.3.2.3. A foszfátszintet befolyásoló polimorfizmusok vizsgálata

Az első, csak a polimorfizmusokat tartalmazó többváltozós lineáris modellben az alábbi 5 SNP mutatott szignifikáns hatást: rs11023374 (CYP2R1); rs222054 (GC); rs2228570, rs2239182, rs2853564 (VDR). A részletes elemzésben a szignifikancia egyedül az rs2853564 esetében maradt meg. A hatás, bár abszolút értékben minimális, a korábban igazolt prediktorokon túl is jelen volt (17. táblázat).

17. táblázat: A foszfátszintekre ható SNP-k statisztikai vizsgálata. Az átláthatóság kedvéért az SNP mellett csak a homozigóta vad és homozigóta variáns genotípus közti különbséget jelölő együtthatókat tüntettem fel. A teljes modellre $r^2 = 0,17$. A genetikai hatás kb. 1%. (Saját táblázat.)

Prediktor	B	95% CI	p	η^2
Metszéspont	2.325	1,044 - 3.601	< 0,001	0,031
GFR	-0,016	-0,028 - (-0,003)	0,017	0,014
Ca	-0,370	-0,931 - 0,191	0,192	0,004
BMI	-0,007	-0,011 - (-0,002)	0,006	0,019
Életkor	-0,002	-0,004 - (-0,001)	< 0,001	0,029
GFR x Ca	0,006	0,001 - 0,012	0,025	0,012
rs2853564	0,060	0,010-0,110	0,019	0,013

IV.3.3. A BMI-t befolyásoló genetikai tényezők

A kezdeti modellben az rs11023374 (CYP2R1), illetve az rs2853564 (VDR) mutatott szignifikáns összefüggést a BMI-vel. A hatás az életkorra, a nemre és a D-vitamin-szintekre korrigálva is megmaradt (18. táblázat).

18. táblázat: A BMI-re ható SNP-k statisztikai vizsgálata. Az SNP-k mellett a homozigóta vad és variáns hordozó (homo- és heterozigóta együtt) genotípus közti különbséget jelölő együtthatók szerepelnek. A teljes modellre $r^2 = 0,17$. A genetikai hatás kb. 2%. (Saját táblázat saját adataink (258) alapján.)

Prediktor	B	95% CI	p	η^2
Metszéspont	21,391	19,807 - 22,975	< 0,001	0,631
Nem	1,279	0,479 - 2,079	0,002	0,023
Életkor	0,086	0,063 - 0,109	< 0,001	0,115
t-25(OH)-D	-0,046	-0,106 - 0,015	0,137	0,010
rs11023374	0,803	0,016 - 1,591	0,046	0,012
rs2853564	-1,236	-2,341 - (-0,130)	0,029	0,005

A fenti változóknak a túlsúly illetve az elhízás kockázatára gyakorolt hatását bináris logisztikus regressziós modellben vizsgáltuk. Az rs11023374 esetében a variáns allél jelenléte az obezitás kockázatát kb. 50%-kal csökkentette, míg az rs2853564 esetében kb. 50%-kal növelte. Túlsúlynál (BMI>25) mindkét allél, elhízásnál (BMI>30) pedig csak az rs2853564 hatása volt statisztikailag szignifikáns (ld. 19. táblázat).

19. táblázat: Az egyes SNP-k hordozásának hatása a túlsúly és elhízás kockázatára. (Saját táblázat.)

	BMI>25 kg/m ²			BMI>30 kg/m ²		
	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
Konstans	0,138		<0,001	0,141		<0,001
Nem	2,022	1,349 - 3,032	0,001	1,148	0,743 - 1,771	0,534
Kor	1,038	1,025 - 1,051	<0,001	1,013	1,000 - 1,027	0,044
rs11023374	1,579	1,061 - 2,350	0,024	1,456	0,942 - 2,250	0,091
rs2853564	0,509	0,290 - 0,895	0,019	0,437	0,207 - 0,923	0,030

Mivel a korábbi elemzések szerint az rs11023374 polimorfizmusa a PTH-val, az rs2853564-é pedig a foszfátszinttel is összefüggést mutat, mediációelemzéssel vizsgáltuk, hogy ezek, illetve a BMI-re gyakorolt hatások mennyire függetlenek egymástól. Az analízis az rs11023374 esetén nem mutatott a BMI-re gyakorolt, PTH-tól független szignifikáns hatást (p=0,119), míg az rs2853564 foszfátszinttől független, direkt hatása a teljes BMI-re gyakorolt hatás 68%-a volt. Az indirekt útvonal szignifikáns hatása mindkét esetben változatlanul jelen volt.

V. Megbeszélés

V.1. A D-vitamin-hiány laboratóriumi jellemzői

Vizsgálatunk szinte valamennyi résztvevőjénél valamilyen mértékű D-vitamin-hiány igazolódott. A potenciálisan releváns demográfiai és antropometriai adatok közül egyedül az alanyok neme mutatott összefüggést a D-vitamin-szintekkel. Ez a hatás az irodalomban ismert, bár nem teljesen konzisztens. A legtöbb vizsgálatban - a miénkhez hasonlóan - férfiakban jobb D-vitamin ellátottságot írtak le, mint nőkben (262, 263), ugyanakkor a fordítottjára is van példa (264). A nők alacsonyabb átlagos D-vitamin-szintjeinek hátterében elsősorban a BMI-arányosan nagyobb mennyiségű zsírszövetben történő fokozott szekvesztráció, illetve a nemi hormonok D-vitamin-anyagcserére gyakorolt hatása valószínű. Alternatív magyarázatként az eltérő táplálkozás szokások és egyéb életmódbeli tényezők szerepe is felmerül. Mivel vizsgálatunkban az életmódbeli faktorok minimalizálására törekedtünk, eredményeink a nemek közti „endogén” különbségeket erősítik meg. Szintén erre utal az a megfigyelésünk is, hogy a D-vitamin-szinteket befolyásoló egyik SNP (rs7935125) hatása a két nemből eltérőnek bizonyult (ld. V.2.).

Az életkor és a BMI hatása a várakozásokkal szemben nem volt statisztikailag szignifikáns. Ennek magyarázata feltehetően az, hogy mind az időskor, mind a túlsúly elsősorban a szintézis gátlásán keresztül befolyásolja a D-vitamin-szinteket. Egyrészt a korlátozott mobilitás következtében a személy bőrét kevesebb napsugárzás éri, másrészt romlik a bőrben történő szintézis hatékonysága is. A tél legvégén az „egyéb környezeti tényezőktől mentes” populációnkon ezek a hatások a szokásosnál kevésbé érvényesültek, hiszen jelentős D-vitamin-szintézis feltehetően hónapok óta egyik résztvevő szervezetében sem zajlott. A t-25(OH)-D és a DBP, illetve a BMI és a DBP közötti szignifikáns összefüggés felvetette, hogy a túlsúly hatását a D-vitamin-szintekre elsősorban DBP közvetítené, ezt a hipotézist azonban a mediációelemzés nem igazolta.

A kalcium és foszfát szintek – néhány kivételtől eltekintve – a jelentős D-vitamin-hiány ellenére is a normál tartományban mozogtak, ami a kompenzáló mechanizmusok hatékonyságát mutatja (265, 266). Ezek közül legnagyobb jelentősége feltehetően a PTH-nak van. Vizsgálatunkban a D-vitamin és a PTH szintek közt igazolt fordított

összefüggés egybecseng a korábbi irodalmi adatokkal (267). Bár sok esetben a 25(OH)-D és a PTH közti kapcsolatot lineáris regresszióval modellezik, a non-lineáris modellek jellemzően pontosabb leírást adnak (268). A rendelkezésre álló grafikonok mellett az élettani megfontolások is a reciprok ($y=b_0+b_1*1/x$), vagy ahhoz hasonló kapcsolat irányába mutatnak: alacsony D-vitamin-szinteknél a PTH meredeken emelkedik, míg magas értékeknél aszimptotikusan csökken. Elemzésünkben igazolódott az életkornak a PTH szintekre gyakorolt, vesefunkciótól részben független hatása, mely szintén jól dokumentált. A rendszeresen visszatérő tél végi D-vitamin-hiányhoz való élettani adaptáció jeleként értékelhető szekunder hyperparathyreosisnak megfelelő PTH szinteket csak nagyon kevés résztvevőnél mértünk.

A PTH emelkedés elsősorban a közepes - súlyos (<50 nmol/l) D-vitamin-hiányos állapotban volt megfigyelhető. A normál (>75 nmol/l) szintek és az enyhe hiány (50-75 nmol/l) között nem volt kimutatható különbség. Ez jelezheti azt, hogy az átmeneti, enyhe hiány még nem jár szignifikáns biológiai hatással, ugyanakkor adódhat az alacsonyabb statisztikai erőből is, hiszen ezekbe a csoportokba a résztvevőknek csak igen kis hányada került. Ez utóbbi lehetőség mellett szól, hogy korábbi vizsgálatokban már 80 nmol/l alatti D-vitamin-szinteknél igazoltak hatást a PTH szintekre (267).

A szérum korrigált kalciumszintjének szignifikáns prediktorai voltak a P, a Mg, a GFR, a PTH és a BMI értékek. A D-vitaminnak sem egyváltozós, sem többváltozós modellben nem volt hatása a kalciumra. Ez ismét csak a megfelelően működő kompenzációs mechanizmusokra utal, és arra, hogy átmeneti hiányállapotban a kalcium „set-point” a D-vitamin-szintektől függetlenül elérhető. A kalciumszintekre ható tényezőket értékelő modellünkben megjelennek a hagyományos kórélettani hatások: a foszfát és a GFR értékkel való fordított összefüggés. Magasabb rendű interakciókat vizsgálva részben láthatóak a szabályozómechanizmusok komplex összefüggései. A modell értékelésekor kiemelhető, hogy a magnéziumszint gyakorlatilag valamennyi interakcióban jelentős és szignifikáns komponensként van jelen. Élettanilag ismert, hogy a hypomagnesaemia a PTH szintézisét és hatását számos ponton gátolja (269, 270), illetve, az is, hogy a veseelégtelenség okozta hypocalcaemiát is fokozza (271). Ezzel együtt meglepő, hogy a fiziológiás viszonyokat modellező mintánkon az átmeneti D-vitamin-hiány mellett a kalciumhiány messze legjelentősebb prediktora a

magnéziumszint volt (ld. 12. táblázat). A közelmúltban egyes betegcsoportoknál, pl. krónikus veseelégtelenségben szenvedőknél (272), több vizsgálat is felvetette, hogy a magnéziumhiány befolyásolja a törésrizikót. Saját eredményeink alapján is felmerül, hogy a D-vitamin-hiány és az alacsony magnéziumszint nem csak a kalciumszintekre, hanem a csontminőségre, a csontmennyiségre és a törésrizikóra is szinergikus hatással lehet.

Elemzésünkben a foszfátszinttel szignifikánsan összefüggést mutatott a Ca, a GFR, az életkor és a BMI érték. Ezek a hatások a PTH és a D-vitamin-szintektől függetlennek bizonyultak, és többségüknek jól ismert az élettani háttere. Genetikai analízisünk szempontjából kiemelhető a BMI és a foszfátszint összefüggése, mivel az egyik általunk azonosított SNP mindkét paraméterre szignifikáns hatással bírt. Bár az oksági kapcsolat iránya nem egyértelmű, a foszfátszintek és a BMI közötti összefüggést már számos vizsgálatban igazolták (273). Az egyik irányból felmerül, hogy a foszfátnak a hepatikus ATP kínálat befolyásolásán keresztül szerepe van az étvágy szabályozásában. A modern finomított élelmiszerek energia tartalmukhoz képest relatíve kevés foszfátot tartalmaznak, ugyanakkor a bennük lévő nagy mennyiségű szénhidrát jelentős inzulinválaszt eredményezhet, fokozva ezzel a sejtek foszfátfelvételét. Egyes vélekedések szerint mindez a foszfát által mediált étvágy szabályozás kieséséhez és ezen keresztül túlfogyasztáshoz vezet. Az elméletet alátámasztja néhány randomizált intervenciós vizsgálat is, melyben a foszfátpótlás a résztvevőknél szignifikánsan alacsonyabb kalóriabevitelt (274), illetve súlycsökkenést eredményezett (275). Egy közelmúltban megjelent cikkben a familiáris hypophosphataemiás rachitis burosumab kezelése kapcsán a testösszetétel és a BMI javulását igazolták. Ez az eredmény közvetve szintén alátámasztja, hogy a foszfátszint hatást gyakorol a testösszetételre (276). A másik értelmezés szerint a csökkent hepatikus ATP kínálat és a csökkent foszfátszint elsősorban nem okozója, hanem következménye az elhízásnak, az ezt kísérő metabolikus szindrómának és a zsírmájnak (277).

V.2. A D-vitamin-hiányt befolyásoló genetikai polimorfizmusok

A genetikai analízisben a szérum kalcifediol szintekkel 4 genetikai polimorfizmus mutatott szignifikáns összefüggést (257, 278). Ezek az alábbiak voltak: rs7935125

(DHCR7/NADSYN1), rs2762941 (CYP24A1), rs7041 (GC), rs222054 (GC). A hatás a korábbi elemzésben szignifikanciát mutató nemre, illetve a BMI-re és az életkorra történő korrekciót követően is kimutatható volt. Szignifikáns interakció adódott az rs7935125 és a nem, valamint az rs7935125 és az rs2762941 között. A genetikai hatások a t-25(OH)-D szintekben tapasztalható variancia kb. 13,7%-át magyarázták. A kedvezőtlen rs7935125 illetve rs222054 genotípus is kb. kétszeresére növelte a súlyos D-vitamin-hiány kialakulásának kockázatát.

V.2.1. Patofiziológiai magyarázat

Az rs7935125 intronikus variáns a DHCR7/NADSYN1 génben. Közvetlen hatásáról tudomásunk szerint korábban még nem született publikáció. Az *in silico* adatelemzés alapján a mutáció a fehérjeexpresszióra gyakorlatilag valamennyi szövetben, így a bőrben és a májban is jelentős és szignifikáns hatást gyakorol. Ezzel párhuzamosan a referencia populációban ez a variáns több mint 50 NADSYN1, ill. DHCR7 SNP-vel mutat jelentős (D' és r^2 egyaránt $> 0,9$) kapcsoltságot. Ezek nagyobbik része intronikus, de több missense (rs2276360 - NADSYN1, rs1044482 - DHCR7), 3'UTR (rs732934 - NADSYN1) és 5'UTR (rs4944946 - DHCR7) variáns is található közöttük. A kapcsolt intronikus variánsok közül kiemelhető az rs12785878, melynek összefüggését a D-vitamin-szintekkel már korábbi GWAS vizsgálatokban leírták. (279)

Kezdeti modellünkben az rs7935125 variáns allél (A vs. C) hordozása additív módon, locusonként átlagosan kb. 7,5 nmol/l-el növelte a t-25(OH)-D szintet. Ez összhangban van az eQTL elemzés eredményével, ami a variáns hordozás következtében bekövetkező fokozott fehérjeexpresszió lehetőségét veti fel. Ugyanakkor a magasabb rendű interakciók vizsgálata alapján az rs7935125 hatása a két nemnél eltérően érvényesül (7. ábra). Nőknél már a variáns allél heterozigóta hordozásának szignifikáns hatása van, míg férfiaknál csak a homozigóta variáns genotípus jár szignifikánsan magasabb D-vitamin-szintekkel. Szintén eltérő az rs7935125 hatása a különböző rs2762941 genotípusok mellett. Ezt az interakciót részletesen lentebb, ez utóbbi SNP kapcsán tárgyalom.

A fentiek meggyőző, bár közvetett bizonyítékot szolgáltatnak arra, hogy az rs7935125 vagy valamely kapcsolt variáns szignifikánsan befolyásolja a NADSYN1 és/vagy DHCR7 expressziót. A D-vitamin-anyagszere és a D-vitamin-szintek szempontjából ennek döntő szerepe elsősorban a bőrben lehet, ahol a megnövekedett enzimaktivitás

magasabb 7-DHC koncentrációkhoz vezethet. A prekursor megnövekedett hozzáférhetősége potenciálisan hatékonyabb D-vitamin-szintézist tesz lehetővé, melynek különösen a tél elején vagy végén lehet jelentősége, amikor a csökkent UV-B sugárzás mellett a szintetikus kapacitás kicsi, de nem nulla.

Az rs2762941 intronikus SNP a CYP24A1 génben. A D-vitamin-szintekkel kapcsolatban szerepét korábban nem igazolták. Felvetődött ugyanakkor biológiai hatása pl. az emlőrák (280) illetve a szívelégtelenség vonatkozásában (281). In silico vizsgálatokkal jelentős eQTL hatást, vagy szignifikáns kapcsoltságot nem tudtunk igazolni.

Az rs2762941 variáns genotípusa (A vs G) vizsgálatunkban szignifikánsan alacsonyabb átlagos D-vitamin-szintekkel társult. Ez a hatás azonban jelentősen különbözött az rs7935125 genotípus szerint. Legjelentősebb hatása a kalcifediol szintek szempontjából kedvezőtlenebb rs7935125:CC genotípus mellett volt: kb. 8 nmol/l allélonként. A D-vitamin-szintek szempontjából legkedvezőbb rs7935125:AA genotípusnál az rs2762941 hatása nem érvényesült. A másik oldalról vizsgálva az interakciót az rs7935125-nek legkifejezettebb hatása a kedvezőtlenebb rs2762941:AA genotípusnál volt csak, míg az rs2762941:GG genotípus esetén érdemi hatása nem mutatkozott (6. ábra). Úgy tűnik tehát, hogy a két variáns hatása nem additív. A D-vitamin-szintek szempontjából kedvező genotípusok jelenléte plató hatást mutat, mely vizsgálatunkban 40 nmol/l körüli kalcifediol szinteknél következett be.

Bár az rs2762941 fehérjeexpresszióban betöltött szerepére utaló korábbi adatot nem találtunk, a D-vitamin-szintekre gyakorolt jelentős hatása mégis elsősorban erre enged következtetni. Ezt a feltevést alátámasztják azok a korábban hivatkozott irodalmi adatok, melyek a polimorfizmus hatását több különböző kórélettani szituációban is igazolták. Ebbe az irányba mutat az is, hogy az rs2762941-et tartalmazó régió számos transzkripciós faktor kötőhelye (BCL3, MAFF, MAFK, és SIN3A) (282).

A CYP24A1 fokozott aktivitása a kalcifediol és kalcitriol felezési idejét vélhetően csökkenti. Ezt alátámasztja, hogy a gén egyéb locusain már leírtak a D-vitamin-szinteket befolyásoló polimorfizmusokat (279). Az elimináció sebességének olyankor lehet különösen jelentős szerepe a t-25(OH)-D szintek meghatározásában, amikor a kínálat erősen korlátozott, mint pl. a jelen vizsgálati szituációban. A szintézis és az

elimináció egyensúlya egyúttal magyarázhatja az rs7935125 és az rs2762941 közötti interakciót és az általuk mutatott plató hatást. A fokozott eliminációval járó rs2762941 genotípusnak elsősorban a csökkent szintézissel járó rs7935125 genotípussal együtt van kimutatható hatása és fordítva.

Az rs222054 a GC gén utáni nem kódoló szakaszon található. Több korábbi GWAS vizsgálatban a fiatalkori nem alkoholos zsírmáj (NASH) kialakulásával kapcsolatban igazolták szerepét (283). Bár a D-vitamin-anyagcsere paramétereit nem mérték, a cikk szerzői felvetik, hogy a NASH emelkedett kockázatáért a D-vitamin ellátottság változása lehet felelős. Az SNP-vel kapcsolatban szignifikáns eQTL hatásra utaló adatot nem találtunk. A kapcsolsági adatok elemzésekor 10 potenciális kapcsolságot ($D' > 0,9$) mutató intronikus és egyéb nem kódoló variáns találtunk. Ezen kapcsolatok mindegyikét relatíve alacsony, 0,8 alatti r^2 jellemezte, mely részben az eltérő allélgyakoriságok következménye lehet ($MAF \leq 0,20$ minden potenciálisan kapcsolt SNP esetben). Az így azonosított SNP-k közül három olyan is volt, melyet korábbi vizsgálatokban összefüggésbe hoztak a D-vitamin-szintekkel: rs17467825 (284), rs2282679 (285), valamint rs3755967 (286).

Elemzésünkben az rs222054 a DBP mennyiségétől függetlenül befolyásolta a t-25(OH)-D szinteket. Ez elsősorban a fehérje megváltozott D-vitamin kötését valószínűsíti, amire az SNP, illetve a potenciálisan kapcsolt polimorfizmusok nem kódoló szakaszon való pozíciója nem ad közvetlenül magyarázatot. Elképzelhető tehát a polimorfizmusnak olyan missense mutációval való kapcsolsága, mely közvetlenül befolyásolja a fehérje D-vitamin kötését.

Az rs7041 a GC génben lévő missense mutáció, mely a DBP fehérje 432. aminosavát érinti. A variáns DBP (287) és D-vitamin-szintekre gyakorolt hatása többszörösen bizonyított (288). A háttérben egyértelműen a fehérjeszerkezet megváltozása áll. Jelen vizsgálatunkban azt tapasztaltuk, hogy az rs7041 t-25(OH)-D szintekre gyakorolt hatásának többsége a DBP szintektől függetlenül érvényesül, amit leginkább a fehérje kalcifediolkötő-képességének megváltozása magyaráz.

V.2.2. Klinikai implikációk

A t-25(OH)-D szintek örökletességének mértékére vonatkozó becslések igen széles tartományban mozognak. A kezdeti ikervizsgálatokban 40-80% körüli genetikai meghatározottságot találtak (154, 289). A későbbi asszociációs vizsgálatok hasonló nagyságrendű, 28-80% közötti örökletességet igazoltak (290, 291). Az újabb GWAS vizsgálatokban ezt az értéket már jóval alacsonyabbnak találták. A becslések 1-16% között mozognak (155, 279, 285). A D-vitamin-szintekkel összefüggésbe hozott polimorfizmusok száma ma már meghaladja a kétszázat, jelentős részük azonban a kanonikus D-vitamin-anyagcsere útvonalakon kívül esik, így élettani szerepük és hatásmechanizmusuk kevésbé tisztázott (155-158, 284, 286, 288). A szerteágazó eredmények okaként felmerül, hogy az egyes kutatások között jelentős különbségek vannak a vizsgált populáció (etnikum, életkor, társbetegségek) és a környezeti tényezők (évszak, szupplementáció dózisa) tekintetében. Az azonban biztosnak tűnik, hogy a t-25(OH)-D-vitamin-szintek kifejezett poligénes hatás alatt állnak. A hatás kialakításában feltehetően jelentős szerepet játszanak a gén-gén és gén-környezeti kölcsönhatások is. A kérdésnek az alap kutatásban és a klinikumban egyaránt jelentősége van.

A D-vitamin-hiány hatásaival kapcsolatos kohort vizsgálatok eredményei között sokszor jelentős ellentmondások vannak. Ez részben azzal magyarázható, hogy a D-vitamin-hiány mértékéről ilyenkor csak keresztmetszeti adatokkal rendelkezünk, míg a hatás nyilvánvalóan a hiány időtartamától is függ. Erre a problémára kínálnak megoldást a mendeli randomizációs vizsgálatok, melyekben a vizsgált kimenetelt nem a D-vitamin-hiány fennállásával, hanem a D-vitamin-hiányra hajlamosító polimorfizmusok jelenlétével vetjük össze. Az ilyen vizsgálatok előfeltétele a D-vitamin-hiányra hajlamosító, relatíve gyakori és magas penetranciájú variánsok azonosítása. A D-vitamin-hiány klinikai következményeit vizsgáló eddig megjelent mendeli randomizációs vizsgálatok egy részében a vizsgált polimorfizmusok tényleges hatása azonban erősen kérdéses (ld. I.3. fejezet). A megbízható klinikai hatással bíró SNP-k azonosítása, illetve verifikálása az alap kutatás szempontjából tehát kiemelt fontosságú.

Mindemellett a D-vitamin-szinteket és a D-vitamin-hiányt befolyásoló polimorfizmusoknak egyre inkább közvetlen klinikai jelentősége is van. A D-vitamin-pótlást érintő jelenlegi ajánlásokat populációs szinten határozták meg, mégpedig úgy, hogy a legnagyobb hatékonyság mellett egyszersmind biztonságosak is legyenek. Ismert

azonban, hogy jelentős egyéni különbségek vannak abban, hogy a D-vitamin-hiányos állapot milyen adagolással kezelhető, illetve előzhető meg. Az újgenerációs szekvenálási eljárások terjedésével, a költségek csökkenésével az egyéni genetikai diagnosztika és a személyre szabott orvoslás egyre inkább a hétköznapiak részévé válik. A D-vitamin-hiányra hajlamosító genetikai kockázat számszerűsítése segíthet a téli, vagy az egész éves D-vitamin-pótlás szükségességének és dózisának előrejelzésében. A pótlásnak jelen ismereteink szerint élethosszig tartó jelentősége lehet.

Vizsgálatunkban egy több szempontból reprezentatív populációs mintán négy olyan polimorfizmust azonosítottunk, melyek a tél legvégén a környezeti hatásoktól függetlenül befolyásolják a D-vitamin-szinteket. A négyből két polimorfizmus statisztikailag szignifikáns és klinikailag is jelentős hatást gyakorolt a D-vitamin-hiány kialakulásának kockázatára. Az irodalmi adatok és az *in silico* elemzés eredményei valamennyi SNP t-25(OH)-D szintekre gyakorolt hatását erősen alátámasztják.

A vizsgálat felépítéséből adódóan kimondható, hogy ezek a polimorfizmusok a D-vitamin-szintekre a lehető legkedvezőtlenebb környezeti tényezők mellett is kimutatható hatást gyakorolnak. Ez, illetve az SNP-k gyakorisága mind az alap kutatáshoz kapcsolódóan, mind pedig klinikai szempontból kiemelkedővé teszi a gyakorlati jelentőségüket. Szembe állítható ez a korábban hivatkozott vizsgálatokban megismert számos olyan polimorfizmussal, melyek vagy meglehetősen ritkák, vagy hatásuk egyelőre csak normálhoz közeli D-vitamin-szinteknél bizonyított. Bár élettanilag feltétlenül érdeklődésre tartanak számot, az ilyen SNP-k mendeli randomizációban történő, illetve egyéb gyakorlati felhasználhatósága erősen kérdéses.

V.2.3. További lehetséges kutatási irányok

Az rs7041 élettani szerepét több mint 300 publikáció tárgyalja. Hatása jelen vizsgálatunkban is kimutatható volt, mely egyrészt jelzi metodikánk validitását, másrészt bizonyítja, hogy a polimorfizmus hatása a magyar lakosságban is érvényesül. Tekintettel a rendelkezésre álló gazdag irodalmi adatokra, ezzel az SNP-vel kapcsolatban további vizsgálatokat nem tartunk indokoltnak.

A másik három szignifikanciát mutató polimorfizmust illetően érdemes lenne vizsgálni, hogy a D-vitamin-szintekre gyakorolt hatásuk az év további részében, emelkedő, vagy ideális UV-B hatás mellett, érvényesül-e.

Az rs7935125-tel kapcsolatban feltételezzük, hogy hatására a bőrben fokozódik a 7-DHC kínálat, melynek elsősorban csökkent UV-B kitettség esetén lehet klinikai jelentősége. A hipotézis tesztelésére D-vitamin-hiányos résztvevőknél standardizált UV behatást követően lehetne vizsgálni a szérumban t-25(OH)-D emelkedés mértékét és annak összefüggését a genotípussal.

Az rs2762941-gyel kapcsolatban a 24-hidroxiláz fokozott expresszióját feltételezzük. Ezt pl. egyéb okból végzett májbiopsziás mintákon szöveti mRNS expresszióval lehetne vizsgálni. A fokozott 24-hidroxiláz aktivitás a hordozókban feltehetően alacsonyabb kalcitriol szinteket is eredményezhet. Ennek közvetlen mérése szintén lehetőséget adna a hipotézis tesztelésére.

Az rs222054 hatásának hátterében elsősorban a DBP 25(OH)-D kötésének megváltozása merül fel, melyhez a fehérjeszerkezet módosulására lenne szükség. Ennek legvalószínűbb oka egy kapcsolatos öröklődő exonikus polimorfizmus lehet, melynek megbízható kimutatásához a vizsgálati populáción a teljes gén, vagy legalább a gén exonjának teljes szekvenálására lenne szükség.

V.3. A kalcium-anyagcserét befolyásoló genetikai polimorfizmusok

Vizsgálatunkban két SNP-ről igazolódott, hogy a 25(OH)-D-vitamin-szinteken túl is hatást gyakorol a PTH-ra. Ezek a rs11023374 (CYP2R1) és az rs2181874 (CYP24A1) voltak. Utóbbi polimorfizmus hatása szignifikáns interakcióban volt az életkorral. A két polimorfizmus által a PTH szintekre gyakorolt genetikai hatás 6,8% volt, ami főként annak fényében magas, hogy a 25(OH)-D-vitamin-szint és az életkor együttesen a variancia 14%-át magyarázta. Az rs11023374 a PTH mellett a BMI-re is szignifikáns hatást gyakorolt, melyet a következő fejezetben részletezek.

Egy SNP, az rs2853564 (VDR) az összes korábban azonosított biológiai paraméteren (Ca, GFR, BMI, életkor) túl is szignifikáns hatást gyakorolt a foszfátszintre. Bár a

hatásnagyság minimális volt és a polimorfizmus a varianciának csak 1%-át magyarázta, a hatás részben átfedett az rs2853564 BMI-re gyakorolt hatásával (ld. később), mely a polimorfizmus klinikai relevanciáját erősíti.

V.3.1. Patofiziológiai magyarázat

Az rs11023374 intronikus variáns a CYP2R1 génben. A PTH szintekre gyakorolt hatásról irodalmi adat nem ismert. Több vizsgálatban leírták negatív összefüggését a t-25(OH)-D szintekkel (292). A hatását külön vizsgálva téli alacsony és nyári magas D-vitamin ellátottság mellett csak ez utóbbi szituációban volt statisztikailag szignifikáns (293). Egy harmadik vizsgálatban a variáns allél jelenléte negatívan befolyásolta a 25(OH)-D-vitamin-szinteket, de pozitív összefüggést mutatott a BMD-vel (294). Felvetették klinikai hatását az asthma (295), és a prosztatatarák (296) vonatkozásában is. Utóbbi vizsgálatban szignifikáns interakciót írtak le a protektív hatás és a 25(OH)-D-vitamin-szintek között.

Az eQTL analízisben az rs11023374 számos szövetben, többek közt a bőrben ($P=0,006$, $m=0,98$), a vérben ($p<0,001$, $m=1,0$), az agyban ($p<0,001$, $m=0,99$), a szubkután zsírszövetben ($p=0,047$, $m=0,953$), és a pajzsmirigyben ($p<0,001$, $m=1,0$) is emelkedett fehérjeexpresszióval társult. Klinikailag jelentős kapcsoltságot az in silico analízisben nem tudtunk igazolni.

A fenti adatok alapján az rs11023374 a 25-hidroxiláz szöveti expresszióján keresztül fokozhatja a D-vitamin parakrin hatásait. Úgy tűnik, hogy a variáns allél elsősorban megfelelő D-vitamin ellátottság esetén csökkenti a szisztémás t-25(OH)-D szinteket. Vizsgálatunkban - ezzel összhangban - ilyen hatást nem észleltük. A jelenség hátterében felmerül a natív D-vitamin parakrin mechanizmusok által történő felhasználása.

A D-vitamin PTH elválasztásra gyakorolt hatása elsősorban a szérum kalciumszint közvetítésével jön létre. Elképzelhető, hogy az rs11023374 hatása is ezen a módon érvényesül. A parakrin 25-hidroxiláció fokozódása a csontban a kalcitriol koncentráció lokális emelkedése révén kalciumot mobilizálhat (ld. I.2.3.), mely magyarázhatja a variáns allél (C vs T) okozta PTH csökkenést.

Több szerző felvetette a D-vitamin és PTH közötti feedback hátterében a kalcitriol mellékpajzsmirigyben kifejtett lokális hatását is (297). Alátámasztja ezt az elképzelést a D-vitamin-anyagcsere több enzimjének jelenléte a mellékpajzsmirigyben. Elképzelhető

tehát, hogy az rs11023374 a 25-hidroxiáció lokális fokozódásán keresztül a mellékpajzsmirigyben közvetlenül szupprimálja a PTH elválasztást.

Egy harmadik lehetőség, hogy a variáns allél hatása elsődlegesen a testsúlyon keresztül érvényesül. Az rs11023374 hordozása a vizsgálati mintánkban alacsonyabb BMI-vel társult, mely kapcsolat részleteit az V.4.-es fejezet tárgyalja. Bár a jelenség oka nem egyértelmű, több korábbi vizsgálatban igazolták, hogy az elhízás a D-vitamin-szintektől függetlenül is magasabb PTH értékekkel társul (268, 298).

Az rs2181874 intronikus SNP a CYP24A1 génben. Szerepéről a PTH szintek vonatkozásában irodalmi adatot nem találtunk. Összefüggésbe hozták azonban a distalis coloncarcinomával (299), a nem-kissejtes tüdőrákkal (300), és az időskori maculadegenerációval is (301). A referencia populációban egyértelmű kapcsolt öröklődést ($D' > 0,9$, $r^2 > 0,9$) nem tudtunk igazolni, ugyanakkor 8 intronikus és egy exonikus variáns esetében a kapcsoltságot nem lehetett kizárni ($D' > 0,9$, $r^2 < 0,8$). Az alacsony r^2 okai között felmerül az eltérő allélgyakoriság. Az esetlegesen kapcsolt allélok közül kiemelhető az exonikus rs6068816. Ez ugyan samesense variáns, de élettani hatását elsősorban a daganatos betegségek kialakulása szempontjából, valamint néhány egyéb kontextusban is több mint 20 publikációban vizsgálták (302-304). In silico analízissel klinikailag szignifikánsnak tűnő eQTL hatást az SNP-vel kapcsolatban nem tudtunk felderíteni.

Vizsgálatunkban az rs2181874 variáns allél (A vs G) hordozása szignifikánsan magasabb PTH szintekkel társult, ez a hatás azonban csak magasabb életkorban érvényesül. A rendelkezésre álló adatok alapján az rs2181874 jelenléte potenciálisan emelkedett szöveti CYP24A1 aktivitással, és a kalcitriol parakrin hatásainak csökkenésével jár. Az rs11023374-el kapcsolatban utaltam a D-vitamin mellékpajzsmirigy-funkcióra gyakorolt esetleges parakrin hatásaira. Az rs2181874 PTH szintekre gyakorolt, általunk igazolt hatása létrejöhet ehhez hasonló módon, a D-vitamin parakrin hatásainak csökkentésén keresztül. Valószínűtlen, de nem kizárható, hogy a polimorfizmus a renális CYP24A1 aktivitás fokozásán keresztül közvetlenül hat a szisztémás kalcitriol és a kalciumszintekre, és ezek csökkentésén keresztül okoz fokozott PTH elválasztást.

Az a megfigyelésünk, hogy az SNP hatása csak idősebb életkorban érvényesül, felveti, hogy hatását fiatalabb életkorban egyéb mechanizmusok, például az 1α -hidroxiláció fokozódása, kompenzálhatja. Ezzel összhangban állnak annak az új vizsgálatnak az eredményei, melyek a mellékpajzsmirigyben az életkor előrehaladtával csökkenő VDR, CYP27B1, és CYP24A1 aktivitást, ezzel párhuzamosan pedig emelkedő PTH elválasztást igazoltak (305).

Az rs2853564 intronikus variáns a VDR génben. A foszfátszintekre illetve a BMI-re gyakorolt hatásáról irodalmi adat eddig nem állt rendelkezésre. Szerepét azonban felvetették az örökletes asthma (306), a veserák (307), és a colorectalis carcinoma (308) vonatkozásában, valamint a pancreasrák túlélésében (309). Az utóbbi vizsgálatban az SNP-nek a VDR szöveti expressziójára gyakorolt hatását direkt módon in vitro is igazolták.

A CEU minta populációban az rs2853564 öt egyéb intronikus variánssal mutatott szignifikáns kapcsoltságot, ezek azonban az általunk igazolt, vagy korábban dokumentált hatásokat nem magyarázták. Az eQTL analízis során néhány, de korántsem az összes szövetben szignifikáns negatív expressziós hatás volt igazolható. Előbbiek közül kiemelhető a pajzsmirigy ($p < 0,001$, $m = 0,994$), a hypophysis ($p < 0,001$, $m = 0,960$), a pancreas ($p = 0,003$, $m = 0,955$), és az érfal ($p = 0,001$, $m = 0,990$). A legtöbb egyéb szövetben a hatás minimális és/vagy kétséges volt. A bélfalban ($p = 0,2$, $m = 0,582$), és a vesében ($p = 0,08$, $m = 0,690$) a polimorfizmusnak nem volt kimutatható hatása, a csontszövetre gyakorolt eQTL hatásról pedig nem találtunk adatot.

A rendelkezésre álló eredmények arra engednek következtetni, hogy az rs2853564 hordozása több szövetben befolyásolja a VDR expressziót és ezen keresztül a kalcitriol parakrin hatásait. Az SNP általunk kimutatott, foszfátszintekre gyakorolt hatásának legnyilvánvalóbb eredete a bélnyálkahártya, vagy a veseparenchyma lenne, azonban az eQTL elemzés ezekben a szövetekben nem igazolt szignifikáns hatást. Felmerül, hogy a variáns a csont foszfátforgalmán keresztül befolyásolja a szérum foszfátszinteket, de ezt alátámasztó irodalmi adattal nem rendelkezünk. Természetesen teoretikusan a kalcitriol még számos egyéb szövet foszfátanyagcseréjét is befolyásolhatja.

Elemzésünkben az rs2853564 a BMI-vel is szignifikáns összefüggést mutatott, mely a statisztikai elemzésben részben átfedett a foszfátszintekre gyakorolt hatásával. Ez

alapján felmerül, hogy a variáns allél a szérum foszfátra a testsúly befolyásolásán keresztül hat, ugyanakkor a fordított irányú kapcsolat, vagy egy esetleges egyéb köztes mediátor jelenléte is elképzelhető. A kérdéssel részletesen az V.4. fejezet foglalkozik.

V.3.2. Klinikai implikációk

Az irodalomban a D-vitamin-anyagcsere genetikai polimorfizmusainak és a kalcium homeosztázis markereinek kapcsolatát elsősorban patológias állapotok kapcsán vizsgálták. A VDR több polimorfizmusáról igazolódott például, hogy befolyásolják a PTH szinteket primer (161), illetve szekunder (310) hyperparathyreosisban. Nem találtunk azonban adatot a D-vitamin-anyagcsere génjeinek kalcifediol szintektől független hatásáról a kalcium, foszfát és PTH szintekre élettani körülmények között (259). A kérdés feltehetően kevésbé vizsgált, mivel a D-vitamin közvetlen hatásai jól ismertek, és messze markánsabbak.

Vizsgálatunkban két polimorfizmusról igazolódott, hogy a D-vitamin-szintektől független hatást gyakorolnak a PHT-ra, egy SNP jelenléte pedig a foszfátszintekkel függött össze. A hatás nagyság mindhárom esetben messze volt attól, hogy kóros fenotípust eredményezzen. Ezzel együtt a hasonló polimorfizmusoknak mind tudományos szempontból, mind pedig a klinikumban jelentőségük lehet.

Az általunk azonosított SNP-k kalcium-anyagcserére gyakorolt hatása - a D-vitamin legtöbb extraszkeletális hatásához hasonlóan -, feltehetően autokrin/parakrin úton jön létre. Az ilyen és ezekhez hasonló polimorfizmusok azonosítása, különböző hatásaik megismerése közelebb vihet a D-vitamin extraszkeletális hatásai mögött álló mechanizmusok megismeréséhez. Jól példázza ezt, hogy az általunk azonosított polimorfizmusok közül kettőnek egyéb biológiai hatását is azonosítottuk, illetve az, hogy korábbi vizsgálatokban mindhárom SNP extraszkeletális hatásait számos kontextusban kimutatták már.

V.3.3. További lehetséges kutatási irányok

A korábbi irodalmi adatok tükrében felmerül, hogy a három általunk azonosított SNP kalciumanyagcsere-paraméterekre gyakorolt hatása a D-vitamin ellátottság függvénye. Érdeemes lenne a vizsgálati eredmények reprodukálhatóságát megfelelő D-vitamin ellátottságú mintán is vizsgálni.

Kutatásaink során a szérum kalcitriol szinteket a rövid felezési idő és instabilitás okozta mintatárolási és szállítási nehézségek miatt nem mértük. Az általunk azonosított polimorfizmusok, különösen az rs2181874 esetében azonban felmerül, hogy a hatások a szérum kalcitriol mediálja. Talán érdemes ezt a hipotézist célzottan is vizsgálni, és az SNP jelenlétét a kalcitriolszintekkel összevetni. Egy esetleges negatív eredmény is jelentős lehet. Amennyiben a polimorfizmusok hatása a PTH, illetve az ionszintekre a kalcitrioltól teljesen függetlennek bizonyul, az további érveként szolgálhat az alternatív hipotézis, a mellékpajzsmirigyben létrejövő parakrin hatásmechanizmus mellett.

Az rs11023374 és az rs2181874 szignifikáns hatást gyakoroltak a vizsgálatunkban részt vevő személyek PTH szintjére, a PTH értékek túlnyomó többsége azonban a normál tartományon belül volt. A fiziológias tartományon belüli magasabb parathormon hosszú távú klinikai jelentősége kérdéses. Az rs11023374 variáns allél hordozása vizsgálataink szerint csökkenti a PTH szintet, korábbi publikációk szerint pedig magasabb BMD értékekkel társul. A két hatás között felmerül az ok-okozati összefüggés.

A D-vitamin genetika illetve a csontmennyiség és csontminőség összefüggéseit számos kutatás igazolja, ezek a vizsgálatok azonban elsősorban a VDR gén polimorfizmusaira fókuszáltak. (311-313). A fentiek alapján talán érdemes az általunk igazolt polimorfizmusok hatását a BMD, illetve esetlegesen a törésrizikó vonatkozásában is vizsgálni.

V.4. A D-vitamin genetika és a BMI összefüggései

A genetikai elemzésben két polimorfizmus a nemmel, az életkorral és a D-vitamin-szintekkel korrigálva is szignifikáns összefüggést mutatott a BMI-vel (258). A statisztikai elemzés során magasabb rendű interakciót nem tudtunk igazolni. Az rs11023374 (CYP2R1) variáns allél (C vs T) hordozása szignifikánsan csökkentette a BMI-t és a túlsúly rizikóját is. A rs2853564 (VDR) variáns allél (A vs. G) szignifikánsan növelte a BMI-t, valamint a túlsúly és az elhízás kockázatát. A lineáris modellben a genetikai hatás kb. 2%-nak adódott, ami összemérhető az egyéb vizsgálatokban az obezitással összefüggésbe hozott genetikai locusok hatásával.

Mindkét allélnak további szignifikáns hatása volt a kalcium-anyagcsere egyes markereire (ld. V.3. fejezet)

V.4.1. Patofiziológiai magyarázat

Az rs11023374 potenciális hatásmechanizmusát az V.3.1. fejezetben ismertettem. Az ott leírtakat összefoglalva valószínűnek tűnik, hogy a polimorfizmusnak több szövetben is jelentős befolyással bír a 25-hidroxiláz expresszióra, ezen keresztül pedig a D-vitamin autokrin és parakrin hatásaira.

Vizsgálati mintákon a variáns allél hordozása alacsonyabb PTH és egyúttal alacsonyabb BMI értékekkel is járt. Statisztikai elemzésünkben a két hatás nem volt egymástól független.

A PTH és a BMI kapcsolatát több közlemény tárgyalja (268, 298, 314). Ezekben a vizsgálatokban a magasabb PTH értékek a D-vitamin-szintekkel korrigálva is magasabb BMI-vel társultak, mely összhangban van a mi eredményeinkkel. Bár az összefüggés iránya bizonytalan, a fenti eredményekre alapozva valószínűnek tűnik a PTH és a BMI közti oksági kapcsolat. Alternatívaként lehetséges egy egyéb köztes mediátor léte, mely egyszerre hat mindkét változóra. Az okság irányát vizsgáló elemzéseket az irodalomban nem találtunk, az elmúlt évtizedek kutatásai alapján azonban egyre jobban megismerjük mind a zsír-, mind pedig a csontszövet endokrin funkcióit, illetve ezek egymásra gyakorolt hatásait. Jó példa erre a zsírszövetben termelődő leptin csontanyagcserében betöltött szerepe (315), vagy a csont által termelt osteocalcin anyagcserére gyakorolt hatása (316). Mindezek alapján a zsír- és a csontanyagcsere között egy bonyolult hormonális kapcsolati hálózat bontakozik ki, melynek egyik eleme lehet a parathormon szintek és az elhízás közti összefüggés. Az rs11023374 hatásával kapcsolatos eredményeink genetikai szinten alátámasztják ezt a kapcsolatot, illetve a D-vitamin szerepét ezekben a folyamatokban.

Az rs2853564 lehetséges hatásmechanizmusainak részleteit szintén az V.3.1. fejezet tárgyalja. Az irodalmi adatok és az in silico elemzés alapján valószínűnek tűnik, hogy a az rs2853564, vagy valamely kapcsolt SNP több szövetben is hatással van a VDR expresszióra.

In silico elemzésünkben a variáns allél elsősorban negatív fehérjeexpressziós hatást mutatott, mely a kérdéses szövetekben a D-vitamin autokrin-parakrin hatásainak

csökkenését okozhatja. Egybevágóan ezzel vizsgálati eredményeink, melyek azt mutatják, hogy a variáns allél szignifikánsan alacsonyabb foszfátszinttel, egyúttal magasabb BMI-vel társul, mely változások egyöntetűen alacsonyabb D-vitamin hatást sugallnak. Mediációs modellben a két hatás részben összefüggést mutatott egymással, azaz elképzelhető, hogy a BMI növekedést az alacsonyabb foszfátszint okozza, illetve lehetséges az is, hogy az alacsonyabb foszfátszint a magasabb BMI következménye. Alátámasztják ezt az elképzelést azok az V.1. fejezetben hivatkozott eredmények, melyek a csökkent foszfátszint és a BMI kapcsolatát taglalják (273-276). A foszfátpótlással kapcsolatos néhány sikeres intervenció pedig arra utal, hogy az oksági sorban talán a foszfátszint változása az elsődleges. Az rs2853564 hatásait igazoló eredményeink pedig amellet, hogy alátámasztják a foszfát és BMI közötti kapcsolatot, felvetik a D-vitamin-anyagcsere szerepét is.

V.4.2. Klinikai implikációk

Az elmúlt évtizedek kutatásai több mint száz obezitásra hajlamosító genetikai polimorfizmust tártak fel (231). Tekintve, hogy a D-vitamin-anyagcsere és a túlsúly kapcsolatát jó néhány obszervációs és intervenció eredmény igazolja (ld. I.9. fejezet), a D-vitamin genetika és az obezitás összefüggéseit is számos alkalommal vizsgálták. Akárcsak a csontritkulás esetében, az elhízás kapcsán is a VDR polimorfizmusai a legintenzívebben kutattak (239, 317-323). Az egyes tanulmányok jelentősen különböznek a vizsgált minta méretében, összetételében, a tanulmányozott SNP-k számában, és az obezitás mérésére használt módszerekben is. Ennek megfelelően az eredmények között meglehetősen sok az ellentmondás. Egyes esetekben a túlsúly szignifikáns összefüggést mutatott számos VDR polimorfizmussal, más vizsgálatokban pedig egyik SNP hordozása kapcsán sem találtak hatást.

A D-vitamin anyagcserében részt vevő egyéb gének testsúlyra gyakorolt hatásával jóval kevesebb tanulmány foglalkozott. A DBP polimorfizmusai közül egynek mutatták ki a testzsír százalékra gyakorolt hatását (324). Két nagy vizsgálatban egyidejűleg tanulmányozták a D-vitamin-anyagcsere valamennyi releváns génjének számos polimorfizmusát. Vimalaswaran és mtsai. a DHCR7, CYP2R1, GC, CYP27B1, CYP27A1, CYP24A1, VDR and RXRG gének 100 SNP-jének hatását vizsgálták két nagy cohortban (1958 British birth cohort: 5224 fő, GIANT consortium: 123865 fő) (325). A CYP24A1 egyik variánsa, az rs2296239 szignifikáns összefüggést mutatott a

derék/csípő aránnyal, de csak az egyik cohortban. Egyéb hatást a szerzők nem tudtak igazolni. Az eredmények alapján a cikkben azt a következtetést vonták le, hogy a D-vitamin-anyagcsere polimorfizmusainak feltehetően nincs hatásuk az elhízásra. Dorjgochoo és mtsai. a CYP27A1, CYP27B1, CYP24A1, CYP2R1, GC és VDR gének 198 SNP-jének BMI-re gyakorolt hatását vizsgálták közel 7000 kínai nőn (326). Két SNP az rs2248359 (CYP24A1) és rs10832313 (CYP2R1) esetében merült fel összefüggés, de ez a többszörös hipotézisvizsgálathoz szükséges korrekciót követően egyik esetben sem maradt statisztikailag szignifikáns. A szerzők ezért valószínűtlennek tartják, hogy a D-vitamin genetika érdemi hatást gyakorolna a BMI-re.

A fent hivatkozott vizsgálatokban a szerzők a környezeti tényezők zavaró hatásainak kiküszöbölésére jellemzően nem tettek kísérletet. Véleményünk szerint ez nagymértékben hozzájárulhat az eredmények heterogenitásához. A D-vitamin-anyagcsere polimorfizmusainak bármely hatása vélhetőleg a kalcitriol szisztémás vagy lokális koncentrációjának, illetve receptorális kötődésének megváltoztatásán keresztül jön létre. A kalcitriol elérhetőségét ugyanakkor a környezeti tényezők, a napsugárzás és a D-vitamin-szupplementáció, a genetikai hatásoknál lényegesen erősebben befolyásolják. Ennek megfelelően a környezeti tényezők variációjának a genetikai hatásokat könnyen elfedheti. A jelen kutatásban azonosított polimorfizmusok úgy mutattak szignifikáns hatást a BMI-re, hogy a kísérleti alanyoknál a befolyásoló környezeti hatásokat kizártuk. Az ezekhez hasonló polimorfizmusok azonosítása betekintést nyújthat az obezitás patofiziológiájába, illetve rávilágíthat a D-vitamin és az intermedier anyagcsere összefüggéseire.

V.4.3. További lehetséges kutatási irányok

Vizsgálatunkban az obezitás megítéléséhez az egyik legelfogadottabb mérőszámot, a BMI-t használtuk. Ezzel együtt eredményeink alapján nem kizárható, hogy az azonosított SNP-k a zsírszövet helyett/mellett a zsírintes testtömeget is befolyásolják. Ennek megfelelően a jövőben érdemes lenne vizsgálni az általunk azonosított polimorfizmusok kapcsolatát a testösszetétel és elhízás egyéb mérőszámaival is.

A többi genetikai elemzésünkhöz hasonlóan a BMI-vel összefüggő SNP-k hatását illetően is felmerül a szezonális kérdés. Értékesnek tűnik eredményeink

reprodukálhatóságát ellenőrizni egy megfelelő D-vitamin ellátottságú vizsgálati mintán is. Amennyiben az általunk kimutatott variánsok hatása magasabb nyári D-vitamin ellátottság mellett kevésbé érvényesül, az igazolja, hogy a D-vitamin genetikával kapcsolatos vizsgálatok tervezésében a környezeti tényezőkre kiemelt figyelmet kell fordítani. Másrészt egy ilyen eredmény azt is jelentené, hogy az általunk leírt két SNP elsősorban a testsúly évszakos ingadozására hat.

V.5. A vizsgálat erősségei és korlátai

Vizsgálatunk legnagyobb érdeme a viszonylag nagyméretű randomizált, reprezentatív populációs minta. Fontos emellett kiemelni, hogy a genetikai elemzésben a legtöbb D-vitamin-anyagcserében részt vevő gén szerepelt és az analizált SNP-k nagyobbik részét preconcepciók nélkül, statisztikai alapon, a MAF és a kapcsoltság figyelembevételével válogattuk. Kiemelhető a vizsgált végpontok sokfélesége, melynek köszönhetően két olyan SNP-t is azonosítottunk, melyek hordozása mind a testösszetételre, mind pedig a kalciumanyagcsere-paramétereire hatással volt, miközben a D-vitamin-szinteket nem befolyásolta. Az eredmények ehhez hasonló konvergenciája lehetővé teszi az egyes variánsok hatásmechanizmusával kapcsolatos részletesebb hipotézisek felállítását. Szembeállítható ez az SNP-k különböző végpontokra gyakorolt hatásaival kapcsolatos irodalmi eredmények utólagos elemzésével, ami sok esetben nehézségekbe ütközik az eltérő vizsgálati felépítés és vizsgálati minta miatt. A kutatásunk negyedik nagy erőssége a D-vitamin-szintekre ható, a genetikai hatást potenciálisan elfedő környezeti tényezők sikeres minimalizálása, mely így a genetikai hatás maximális értékelhetősége révén jelentősen növelte vizsgálatunk érzékenységét.

A fenti előnyök mellett kutatásunknak több gyengesége is van. Az első, hogy a statisztikai erő növelése érdekében a genetikai elemzésbe csak viszonylag magas MAF értékű SNP-eket válogattunk. Erre azért volt szükség, mert a résztvevők száma miatt a ritkább allélok hatásának kimutatására csak korlátozottan lett volna lehetőség. A vizsgált gének teljes genetikai varianciáját nyilvánvalóan nem sikerült lefedni. Könnyen lehet tehát, hogy jelentős genetikai hatással bíró locusok maradtak azonosítatlanul. A környezeti tényezők minimalizálásának árnyoldala az, hogy bár a vizsgálat érzékenységét potenciálisan javítja, az eredmények általánosíthatóságát rontja. Ahogy a

diskusszióban több helyen is kiemeltem, ahhoz, hogy az általunk azonosított polimorfizmusok klinikai jelentőségéről teljes képet kapjunk szükség lenne arra, hogy eredményeinket megfelelő D-vitamin ellátottságú populációs mintán is reprodukáljuk.

VI. Következtetések

1. Eredményeink alapján súlyos D-vitamin-hiányban a megfelelő magnéziumellátottságnak kiemelkedő szerepe lehet a hypocalcaemia kivédésében.
2. Az elsők között vizsgáltuk a D-vitamin-anyagszere génjeinek hatásait a D-vitamin-szintekre ható környezeti tényezők minimalizálása mellett.
3. Első alkalommal igazoltuk az rs7935125 (DHCR7/NADSYN1), az rs2762941 (CYP24A1), és az rs222054 (GC) polimorfizmusokról, hogy hatással vannak a t-25(OH)-D szintekre.
4. Az rs7935125, és az rs222054 variánsokról kimutattuk, hogy szignifikánsan befolyásolják a tél végi D-vitamin-hiány kockázatát.
5. Megerősítettük az rs7041 (GC) korábban leírt hatását a t-25(OH)-D szintekre.
6. Az rs11023374 (CYP2R1), és az rs2181874 (CYP24A1) polimorfizmusokról igazoltuk, hogy a D-vitamin-szinteken túl is szignifikáns hatást gyakorolnak a PTH szintekre. A két SNP a variancia 6,8%-át magyarázta, ami összemérhető a D-vitamin-szint hatásával. Ez az eredmény megerősíti a D-vitamin parakrin hatását a PTH szekréció szabályozásában.
7. Az rs2853564 (VDR) polimorfizmusról igazoltuk, hogy a Ca, a GFR, a BMI, az életkor és a D-vitamin értékétől függetlenül befolyásolja a szérum foszfát szinteket. Az SNP hatása a variancia kb. 1%-át magyarázta.
8. Az rs11023374 (CYP2R1) és az rs2853564 (VDR) polimorfizmusokról kimutattuk, hogy a nemtől, az életkortól és a t-25(OH)-D szintektől független hatást gyakorolnak a BMI-re. Az SNP-k hatása a PTH illetve foszfátszintekre gyakorolt hatásukkal együtt alakult. Az összefüggés iránya megfelelt az irodalomban a BMI és a PTH illetve a BMI és a foszfátszintek közt korábban leírt kapcsolatnak. Bár az oksági sor nem egyértelmű, eredményeink megerősítik, hogy a D-vitamin részt vesz a testsúly szabályozásában.

VII. Összefoglalás

Az elmúlt évtizedben a D-vitaminnal kapcsolatos tudományos érdeklődés előterébe a hormon extraszkeletális hatásai kerültek. A D-vitamint illetve hiányát szinte valamennyi szerv élettani és kóros működésével összefüggésbe hozták. A D-vitamin-anyagcsere polimorfizmusainak vizsgálata lehetőséget ad a szkeletális és extraszkeletális hatások genetikai szintű igazolására és értelmezésére.

Kutatásunkban egy felnőtt magyar lakosságra reprezentatív mintán (n=470) vizsgáltuk a D-vitamin-anyagcsere gének összesen 29 polimorfizmusának a kalcifediol szintekre, a kalcium anyagcsere laboratóriumi markereire, illetve a BMI-re gyakorolt hatását. A genetikai hatás kimutatásának maximalizálásához törekedtünk a D-vitamin-szintre ható környezeti tényezők minimalizálására. A vizsgálat tél legvégére történő időzítése szavatolta a minimális UV-B hatást. Kizártuk emellett azokat a résztvevőket, akiknél a D-vitamin-szintekre ható életmódbeli tényező volt explorálható. Ide tartozott a gyógyszeres pótlás, a szoláriumhasználat és a külföldi utazás.

Négy SNP mutatott szignifikáns összefüggést a kalcifediol szintekkel. Ezek közül egynek (rs7041 (GC)) a hatása az irodalomban már ismert volt, a maradék három polimorfizmus (rs7935125 (DHCR7/NADSYN1), rs2762941 (CYP24A1), rs222054 (GC)) esetében először mutattunk ki ilyen irányú összefüggést. Két SNP, az rs11023374 (CYP2R1), és az rs2181874 (CYP24A1) a D-vitamin-szintektől független hatást gyakorolt a PTH szintekre. Egy polimorfizmus, az rs2853564 (VDR) pedig a többi mért kalciumanyagcsere-paraméteren túl is befolyásolta a foszfátszinteket. Az rs11023374 és az rs2853564 a BMI-re is szignifikáns hatást gyakorolt, mely statisztikailag összefüggést mutatott a PTH illetve a P szintekre gyakorolt hatásukkal.

Eredményeink új adatokat szolgáltatnak a kalcitriol autokrin/parakrin hatásait illetően, és megerősítik a D-vitamin testsúlyszabályozásban betöltött szerepét. Az általunk azonosított kalcifediol szintekre ható három új SNP a későbbiekben felhasználható lehet mendeli randomizációs vizsgálatokban.

VIII. Summary

In the past decade the extraskeletal effects of vitamin D have become the forefront of scientific inquiry related to the hormone. The actions and deficit of vitamin D have been linked to the physiologic and pathologic states of almost every organ. Studying polymorphisms of vitamin D metabolism is a unique way to gain genetic-level insights into its skeletal and extraskeletal actions.

In the present study we have examined the effect of 29 polymorphisms of the major genes of vitamin D metabolism on serum calcifediol levels, the laboratory markers of calcium metabolism and the BMI. Our study sample of 470 individuals was representative of the adult Hungarian population. In order to maximize genetic effects we aimed to minimize environmental confounders affecting vitamin D levels. This was achieved by conducting all study related procedures at the end of winter thus minimizing UV-B radiation. Furthermore subjects with a recent history of vitamin D supplementation, tanning bed use, or international travel were excluded from the study.

Four of the twenty-nine SNPs have shown a significant correlation with calcifediol levels. The effect of one of these (rs7041 (GC)) is already well established in the literature, while the remaining three (rs7935125 (DHCR7/NADSYN1), rs2762941 (CYP24A1), rs222054 (GC)) have not previously been associated with vitamin D levels. Two SNPs, rs11023374 (CYP2R1) and rs2181874 (CYP24A1) had an association with serum PTH that was independent of vitamin D levels. One variant, rs2853564 (VDR) had an effect on phosphate levels independently of all other parameters of calcium homeostasis. rs11023374 and rs2853564 have also shown a significant effect on the BMI which was partially related to their association with PTH and P levels respectively.

Our results provide new insights into the autocrine/paracrine effects of calcitriol. They also accentuate the role of vitamin D in body weight regulation. The three new SNPs associated with calcifediol levels could potentially prove useful in subsequent Mendelian randomization studies.

IX. Irodalomjegyzék

1. Holick MF. (2003) Vitamin D: A millenium perspective. *J Cell Biochem*, 88: 296-307.
2. Holick MF. (1994) McCollum Award Lecture, 1994 - Vitamin-D - New Horizons for the 21st-Century. *American Journal of Clinical Nutrition*, 60: 619-630.
3. MozoÅowski W. (1939) Jäccaron;drzej Sniadecki (1768–1838) on the Cure of Rickets. *Nature*, 143: 121-121.
4. Palm TA. (1890) The geographical distribution and aetiology of rickets. *Practitioner*, 45: 270-342.
5. Mayer J. (1957) Armand Trousseau and the arrow of time. *Nutrition reviews*, 15: 321-323.
6. Mellanby SE. (1918) The part played by an accessory factor in the production of experimental rickets. *J Physiol*, 52: 1-4.
7. Huldshinsky K. (1919) Heilung von Rachitis durch künstliche Höhensonne. *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 45: 712-713.
8. Steenbock H. (1924) The induction of growth promoting and calcifying properties in a ration by exposure to light. *Science*, 60: 224-225.
9. Hess AF, Weinstock M. (1924) Antirachitic properties imparted to inert fluids and to green vegetables by ultra-violet irradiation. *Journal of Biological Chemistry*, 62: 301-313.
10. Hess AF, Weinstock M, Helman FD. (1925) The antirachitic value of irradiated phytosterol and cholesterol. I. *Journal of Biological Chemistry*, 63: 305-308.
11. Windaus A, Bock F. (1936) Über das Provitamin aus dem Sterin der Schweineschwarte. *Z Physiol Chem*, 245: 168–170.
12. Deluca HF. (1979) Vitamin-D System in the Regulation of Calcium and Phosphorus-Metabolism. *Nutrition Reviews*, 37: 161-193.
13. Holick M, Schnoes H, DeLuca H. (1971) Identification of 1, 25-dihydroxycholecalciferol, a form of vitamin D3 metabolically active in the intestine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68: 803-804.
14. Wang TJ, Zhang F, Richards JB, Kestenbaum B, van Meurs JB, Berry D, Kiel DP, Streeten EA, Ohlsson C, Koller DL, Peltonen L, Cooper JD, O'Reilly PF,

- Houston DK, Glazer NL, Vandenput L, Peacock M, Shi J, Rivadeneira F, McCarthy MI, Anneli P, de Boer IH, Mangino M, Kato B, Smyth DJ, Booth SL, Jacques PF, Burke GL, Goodarzi M, Cheung CL, Wolf M, Rice K, Goltzman D, Hidiroglou N, Ladouceur M, Wareham NJ, Hocking LJ, Hart D, Arden NK, Cooper C, Malik S, Fraser WD, Hartikainen AL, Zhai GJ, Macdonald HM, Forouhi NG, Loos RJF, Reid DM, Hakim A, Dennison E, Liu YM, Power C, Stevens HE, Jaana L, Vasani RS, Soranzo N, Bojunga J, Psaty BM, Lorentzon M, Foroud T, Harris TB, Hofman A, Jonsson JO, Cauley JA, Uitterlinden AG, Gibson Q, Jarvelin MR, Karasik D, Siscovick DS, Econs MJ, Kritchevsky SB, Florez JC, Todd JA, Dupuis J, Hyppönen E, Spector TD. (2010) Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet*, 376: 180-188.
15. Holick MF, Maclaughlin JA, Clark MB, Holick SA, Potts JT, Anderson RR, Blank IH, Parrish JA. (1980) Photosynthesis of Previtamin-D₃ in Human-Skin and the Physiologic Consequences. *Science*, 210: 203-205.
 16. Tripkovic L, Lambert H, Hart K, Smith CP, Bucca G, Penson S, Chope G, Hyppönen E, Berry J, Vieth R. (2012) Comparison of vitamin D₂ and vitamin D₃ supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *The American journal of clinical nutrition*, 95: 1357-1364.
 17. Zhu JG, Ochalek JT, Kaufmann M, Jones G, DeLuca HF. (2013) CYP2R1 is a major, but not exclusive, contributor to 25-hydroxyvitamin D production in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110: 15650-15655.
 18. Thacher TD, Fischer PR, Singh RJ, Roizen J, Levine MA. (2015) CYP2R1 mutations impair generation of 25-hydroxyvitamin D and cause an atypical form of vitamin D deficiency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100: E1005-E1013.
 19. Fraser D, Kooh SW, Kind HP, Holick MF, Tanaka Y, DeLuca HF. (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. *New England Journal of Medicine*, 289: 817-822.

20. Jones G, Kottler ML, Schlingmann KP. (2017) Genetic diseases of vitamin D metabolizing enzymes. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 46: 1095-1117.
21. Roizen JD, Li D, O'Lear L, Javaid MK, Shaw NJ, Ebeling PR, Nguyen HH, Rodda CP, Thummel KE, Thacher TD. (2018) CYP3A4 mutation causes vitamin D–dependent rickets type 3. *The Journal of clinical investigation*, 128: 1913-1918.
22. Daiger SP, Schanfield MS, Cavalli-Sforza L. (1975) Group-specific component (Gc) proteins bind vitamin D and 25-hydroxyvitamin D. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72: 2076-2080.
23. Chun RF. (2012) New perspectives on the vitamin D binding protein. *Cell biochemistry and function*, 30: 445-456.
24. Uto Y, Yamamoto S, Mukai H, Ishiyama N, Takeuchi R, Nakagawa Y, Hirota K, Terada H, Onizuka S, Hori H. (2012) β -Galactosidase treatment is a common first-stage modification of the three major subtypes of Gc protein to GcMAF. *Anticancer research*, 32: 2359-2364.
25. Arnaud J, Constans J. (1993) Affinity differences for vitamin D metabolites associated with the genetic isoforms of the human serum carrier protein (DBP). *Human genetics*, 92: 183-188.
26. Jones K, Assar S, Harnpanich D, Bouillon R, Lambrechts D, Prentice A, Schoenmakers I. (2014) 25 (OH) D₂ half-life is shorter than 25 (OH) D₃ half-life and is influenced by DBP concentration and genotype. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99: 3373-3381.
27. Safadi FF, Thornton P, Magiera H, Hollis BW, Gentile M, Haddad JG, Liebhaber SA, Cooke NE. (1999) Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *The Journal of clinical investigation*, 103: 239-251.
28. Henderson CM, Fink SL, Bassyouni H, Argiropoulos B, Brown L, Laha TJ, Jackson KJ, Lewkonja R, Ferreira P, Hoofnagle AN. (2019) Vitamin D–Binding Protein Deficiency and Homozygous Deletion of the GC Gene. *New England Journal of Medicine*, 380: 1150-1157.

29. Wu S, Ren S, Chen H, Chun RF, Gacad MA, Adams JS. (2000) Intracellular vitamin D binding proteins: novel facilitators of vitamin D-directed transactivation. *Molecular Endocrinology*, 14: 1387-1397.
30. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. (2016) Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiological reviews*, 96: 365-408.
31. Wang Y, Zhu J, DeLuca HF. (2012) Where is the vitamin D receptor? *Archives of biochemistry and biophysics*, 523: 123-133.
32. Li YC, Pirro AE, Amling M, Delling G, Baron R, Bronson R, Demay MB. (1997) Targeted ablation of the vitamin D receptor: an animal model of vitamin D-dependent rickets type II with alopecia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94: 9831-9835.
33. Khanal R, Nemere I. (2007) Membrane receptors for vitamin D metabolites. *Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression*, 17.
34. Haussler MR, Jurutka PW, Mizwicki M, Norman AW. (2011) Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1 α , 25 (OH) 2vitamin D3: genomic and non-genomic mechanisms. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*, 25: 543-559.
35. Malloy PJ, Tasic V, Taha D, Tütüncüler F, Ying GS, Yin LK, Wang J, Feldman D. (2014) Vitamin D receptor mutations in patients with hereditary 1, 25-dihydroxyvitamin D-resistant rickets. *Molecular genetics and metabolism*, 111: 33-40.
36. Xue Y, Fleet JC. (2009) Intestinal vitamin D receptor is required for normal calcium and bone metabolism in mice. *Gastroenterology*, 136: 1317-1327. e1312.
37. Favus MJ, Langman CB. (1984) Effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 on colonic calcium transport in vitamin D-deficient and normal rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 246: G268-G273.
38. Christakos S, Veldurthy V, Patel N, Wei R. (2017) Intestinal regulation of calcium: vitamin D and bone physiology. *Understanding the gut-bone signaling axis*: 3-12.

39. Amling M, Priemel M, Holzmann T, Chapin K, Rueger JM, Baron R, Demay MB. (1999) Rescue of the skeletal phenotype of vitamin D receptor-ablated mice in the setting of normal mineral ion homeostasis: formal histomorphometric and biomechanical analyses. *Endocrinology*, 140: 4982-4987.
40. Al-Aqeel A, Ozand P, Sobki S, Sewairi W, Marx S. (1993) The combined use of intravenous and oral calcium for the treatment of vitamin D dependent rickets type II (VDDRII). *Clinical endocrinology*, 39: 229-237.
41. Lieben L, Masuyama R, Torrekens S, Van Looveren R, Schrooten J, Baatsen P, Lafage-Proust M-H, Dresselaers T, Feng JQ, Bonewald LF. (2012) Normocalcemia is maintained in mice under conditions of calcium malabsorption by vitamin D-induced inhibition of bone mineralization. *The Journal of clinical investigation*, 122: 1803-1815.
42. Nakamichi Y, Udagawa N, Horibe K, Mizoguchi T, Yamamoto Y, Nakamura T, Hosoya A, Kato S, Suda T, Takahashi N. (2017) VDR in Osteoblast-Lineage Cells Primarily Mediates Vitamin D Treatment-Induced Increase in Bone Mass by Suppressing Bone Resorption. *Journal of Bone and Mineral Research*, 32: 1297-1308.
43. Munns CF, Shaw N, Kiely M, Specker BL, Thacher TD, Ozono K, Michigami T, Tiosano D, Mughal MZ, Mäkitie O. (2016) Global consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets. *Hormone research in paediatrics*, 85: 83-106.
44. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. (2006) Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *The American journal of clinical nutrition*, 84: 18-28.
45. Kuchuk NO, Pluijm SM, van Schoor NM, Looman CW, Smit JH, Lips P. (2009) Relationships of serum 25-hydroxyvitamin D to bone mineral density and serum parathyroid hormone and markers of bone turnover in older persons. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94: 1244-1250.
46. Priemel M, von Domarus C, Klatter TO, Kessler S, Schlie J, Meier S, Proksch N, Pastor F, Netter C, Streichert T. (2010) Bone mineralization defects and vitamin

- D deficiency: histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-hydroxyvitamin D in 675 patients. *Journal of Bone and Mineral Research*, 25: 305-312.
47. Reid IR, Bolland MJ, Grey A. (2014) Effects of vitamin D supplements on bone mineral density: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 383: 146-155.
 48. Chapuy MC, Arlot ME, Duboeuf F, Brun J, Crouzet B, Arnaud S, Delmas PD, Meunier PJ. (1992) Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in elderly women. *New England journal of medicine*, 327: 1637-1642.
 49. Larsen ER, Mosekilde L, Foldspang A. (2004) Vitamin D and calcium supplementation prevents osteoporotic fractures in elderly community dwelling residents: a pragmatic population-based 3-year intervention study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 19: 370-378.
 50. Chapuy M, Pamphile R, Paris E, Kempf C, Schlichting M, Arnaud S, Garnero P, Meunier P. (2002) Combined calcium and vitamin D3 supplementation in elderly women: confirmation of reversal of secondary hyperparathyroidism and hip fracture risk: the Decalyos II study. *Osteoporosis International*, 13: 257-264.
 51. Heikinheimo RJ, Inkovaara JA, Harju EJ, Haavisto MV, Kaarela RH, Kataja JM, Kokko AM-L, Kolho LA, Rajala SA. (1992) Annual injection of vitamin D and fractures of aged bones. *Calcified tissue international*, 51: 105-110.
 52. Bikle D, Oda Y, Xie Z. (2004) Calcium and 1, 25 (OH) 2D: interacting drivers of epidermal differentiation. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 89: 355-360.
 53. Teichert AE, Elalieh H, Elias PM, Welsh J, Bikle DD. (2011) Overexpression of Hedgehog Signaling Is Associated with Epidermal Tumor Formation in Vitamin D Receptor–Null Mice. *Journal of investigative dermatology*, 131: 2289-2297.
 54. Jiang YJ, Bikle DD. (2014) LncRNA profiling reveals new mechanism for VDR protection against skin cancer formation. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 144: 87-90.
 55. Bikle DD, Jiang Y, Nguyen T, Oda Y, Tu C-l. (2016) Disruption of vitamin D and calcium signaling in keratinocytes predisposes to skin cancer. *Frontiers in physiology*, 7: 296.

56. Luderer HF, Nazarian RM, Zhu ED, Demay MB. (2013) Ligand-dependent actions of the vitamin D receptor are required for activation of TGF- β signaling during the inflammatory response to cutaneous injury. *Endocrinology*, 154: 16-24.
57. Oda Y, Hu L, Nguyen T, Fong C, Tu C-l, Bikle DD. (2017) Combined deletion of the vitamin D receptor and calcium-sensing receptor delays wound re-epithelialization. *Endocrinology*, 158: 1929-1938.
58. Demay MB. (2012) The hair cycle and Vitamin D receptor. *Archives of biochemistry and biophysics*, 523: 19-21.
59. Perez A, Raab R, Chen T, Turner A, Hollick M. (1996) Safety and efficacy of oral calcitriol (1, 25-dihydroxyvitamin D₃) for the treatment of psoriasis. *British Journal of Dermatology*, 134: 1070-1078.
60. Fu LW, Vender R. (2011) Systemic role for vitamin D in the treatment of psoriasis and metabolic syndrome. *Dermatology research and practice*, 2011.
61. Ahn CS, Awadalla F, Huang KE, Yentzer B, Dabade TS, Feldman SR. (2013) Patterns of vitamin D analog use for the treatment of psoriasis. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 12: 906-910.
62. Abramovits W. (2009) Calcitriol 3 microg/g ointment: an effective and safe addition to the armamentarium in topical psoriasis therapy. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 8: s17-22.
63. De Haes P, Garmyn M, Verstuyf A, De Clercq P, Vandewalle M, Degreef H, Vantieghem K, Bouillon R, Segaert S. (2005) 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ and analogues protect primary human keratinocytes against UVB-induced DNA damage. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 78: 141-148.
64. Tang JY, Parimi N, Wu A, Boscardin WJ, Shikany JM, Chren M-M, Cummings SR, Epstein EH, Bauer DC. (2010) Inverse association between serum 25 (OH) vitamin D levels and non-melanoma skin cancer in elderly men. *Cancer Causes & Control*, 21: 387-391.
65. Asgari MM, Tang J, Warton ME, Chren M-M, Quesenberry Jr CP, Bikle D, Horst RL, Orentreich N, Vogelmann JH, Friedman GD. (2010) Association of prediagnostic serum vitamin D levels with the development of basal cell carcinoma. *Journal of investigative dermatology*, 130: 1438-1443.

66. Tang JY, Fu T, LeBlanc E, Manson JE, Feldman D, Linos E, Vitolins MZ, Zeitouni NC, Larson J, Stefanick ML. (2011) Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of nonmelanoma and melanoma skin cancer: post hoc analyses of the women's health initiative randomized controlled trial. *Journal of clinical oncology*, 29: 3078.
67. Wang Y, DeLuca HF. (2011) Is the vitamin D receptor found in muscle? *Endocrinology*, 152: 354-363.
68. Girgis CM, Clifton-Bligh RJ, Hamrick MW, Holick MF, Gunton JE. (2013) The roles of vitamin D in skeletal muscle: form, function, and metabolism. *Endocrine reviews*, 34: 33-83.
69. Cangussu LM, Nahas-Neto J, Orsatti CL, Poloni PF, Schmitt EB, Almeida-Filho B, Nahas EAP. (2016) Effect of isolated vitamin D supplementation on the rate of falls and postural balance in postmenopausal women fallers: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Menopause*, 23: 267-274.
70. Lips P, Binkley N, Pfeifer M, Recker R, Samanta S, Cohn DA, Chandler J, Rosenberg E, Papanicolaou DA. (2010) Once-weekly dose of 8400 IU vitamin D3 compared with placebo: effects on neuromuscular function and tolerability in older adults with vitamin D insufficiency. *The American journal of clinical nutrition*, 91: 985-991.
71. Beaudart C, Buckinx F, Rabenda V, Gillain S, Cavalier E, Slomian J, Petermans J, Reginster J-Y, Bruyère O. (2014) The effects of vitamin D on skeletal muscle strength, muscle mass, and muscle power: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99: 4336-4345.
72. LeBlanc ES, Chou R. (2015) Vitamin d and falls—fitting new data with current guidelines. *JAMA internal medicine*, 175: 712-713.
73. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Orav EJ, Staehelin HB, Meyer OW, Theiler R, Dick W, Willett WC, Egli A. (2016) Monthly high-dose vitamin D treatment for the prevention of functional decline: a randomized clinical trial. *JAMA internal medicine*, 176: 175-183.
74. Ginde AA, Blatchford P, Breese K, Zarrabi L, Linnebur SA, Wallace JI, Schwartz RS. (2017) High-dose monthly vitamin D for prevention of acute

- respiratory infection in older long-term care residents: a randomized clinical trial. *Journal of the American Geriatrics Society*, 65: 496-503.
75. Sanders KM, Stuart AL, Williamson EJ, Simpson JA, Kotowicz MA, Young D, Nicholson GC. (2010) Annual high-dose oral vitamin D and falls and fractures in older women: a randomized controlled trial. *Jama*, 303: 1815-1822.
 76. Smith LM, Gallagher JC, Suiter C. (2017) Medium doses of daily vitamin D decrease falls and higher doses of daily vitamin D3 increase falls: a randomized clinical trial. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 173: 317-322.
 77. Bikle DD, Patzek S, Wang Y. (2018) Physiologic and pathophysiologic roles of extra renal CYP27b1: Case report and review. *Bone reports*, 8: 255-267.
 78. Wei R, Christakos S. (2015) Mechanisms underlying the regulation of innate and adaptive immunity by vitamin D. *Nutrients*, 7: 8251-8260.
 79. Giulietti A, Gysemans C, Stoffels K, van Etten E, Decallonne B, Overbergh L, Bouillon R, Mathieu C. (2004) Vitamin D deficiency in early life accelerates Type 1 diabetes in non-obese diabetic mice. *Diabetologia*, 47: 451-462.
 80. Cantorna MT. (2006) Vitamin D and its role in immunology: multiple sclerosis, and inflammatory bowel disease. *Progress in biophysics and molecular biology*, 92: 60-64.
 81. Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF. (1998) 1, 25-Dihydroxycholecalciferol inhibits the progression of arthritis in murine models of human arthritis. *The Journal of nutrition*, 128: 68-72.
 82. Martineau AR, Jolliffe DA, Hooper RL, Greenberg L, Aloia JF, Bergman P, Dubnov-Raz G, Esposito S, Ganmaa D, Ginde AA. (2017) Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data. *bmj*, 356.
 83. Martineau AR, Timms PM, Bothamley GH, Hanifa Y, Islam K, Claxton AP, Packe GE, Moore-Gillon JC, Darmalingam M, Davidson RN. (2011) High-dose vitamin D3 during intensive-phase antimicrobial treatment of pulmonary tuberculosis: a double-blind randomised controlled trial. *The Lancet*, 377: 242-250.

84. Urashima M, Segawa T, Okazaki M, Kurihara M, Wada Y, Ida H. (2010) Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren. *The American journal of clinical nutrition*, 91: 1255-1260.
85. Bergman P, Norlin A-C, Hansen S, Rekha RS, Agerberth B, Björkhem-Bergman L, Ekström L, Lindh JD, Andersson J. (2012) Vitamin D3 supplementation in patients with frequent respiratory tract infections: a randomised and double-blind intervention study. *BMJ open*, 2: e001663.
86. Murdoch DR, Slow S, Chambers ST, Jennings LC, Stewart AW, Priest PC, Florkowski CM, Livesey JH, Camargo CA, Scragg R. (2012) Effect of vitamin D3 supplementation on upper respiratory tract infections in healthy adults: the VIDARIS randomized controlled trial. *Jama*, 308: 1333-1339.
87. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. (2006) Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *Jama*, 296: 2832-2838.
88. Gianfrancesco MA, Stridh P, Rhead B, Shao X, Xu E, Graves JS, Chitnis T, Waldman A, Lotze T, Schreiner T. (2017) Evidence for a causal relationship between low vitamin D, high BMI, and pediatric-onset MS. *Neurology*, 88: 1623-1629.
89. Mokry LE, Ross S, Ahmad OS, Forgetta V, Smith GD, Leong A, Greenwood CM, Thanassoulis G, Richards JB. (2015) Vitamin D and risk of multiple sclerosis: a Mendelian randomization study. *PLoS medicine*, 12: e1001866.
90. Rhead B, Bäärnhielm M, Gianfrancesco M, Mok A, Shao X, Quach H, Shen L, Schaefer C, Link J, Gyllenberg A. (2016) Mendelian randomization shows a causal effect of low vitamin D on multiple sclerosis risk. *Neurology Genetics*, 2.
91. Dankers W, Colin EM, van Hamburg JP, Lubberts E. (2017) Vitamin D in autoimmunity: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Frontiers in immunology*, 7: 697.
92. Munger KL, Levin LI, Massa J, Horst R, Orban T, Ascherio A. (2013) Preclinical serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of type 1 diabetes in a cohort of US military personnel. *American journal of epidemiology*, 177: 411-419.
93. Mathieu C, Gysemans C, Giulietti A, Bouillon R. (2005) Vitamin D and diabetes. *Diabetologia*, 48: 1247-1257.

94. Cooper JD, Smyth DJ, Walker NM, Stevens H, Burren OS, Wallace C, Greissl C, Ramos-Lopez E, Hyppönen E, Dunger DB. (2011) Inherited variation in vitamin D genes is associated with predisposition to autoimmune disease type 1 diabetes. *Diabetes*, 60: 1624-1631.
95. Wei Z, Yoshihara E, He N, Hah N, Fan W, Pinto AF, Huddy T, Wang Y, Ross B, Estepa G. (2018) Vitamin D switches BAF complexes to protect β cells. *Cell*, 173: 1135-1149. e1115.
96. Li X, Liao L, Yan X, Huang G, Lin J, Lei M, Wang X, Zhou Z. (2009) Protective effects of 1- α -hydroxyvitamin D₃ on residual β -cell function in patients with adult-onset latent autoimmune diabetes (LADA). *Diabetes/metabolism research and reviews*, 25: 411-416.
97. Zipitis CS, Akobeng AK. (2008) Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Archives of disease in childhood*, 93: 512-517.
98. White JH. (2018) Vitamin D deficiency and the pathogenesis of Crohn's disease. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 175: 23-28.
99. Wang T-T, Dabbas B, Laperriere D, Bitton AJ, Soualhine H, Tavera-Mendoza LE, Dionne S, Servant MJ, Bitton A, Seidman EG. (2010) Direct and indirect induction by 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ of the NOD2/CARD15-defensin β 2 innate immune pathway defective in Crohn disease. *Journal of Biological Chemistry*, 285: 2227-2231.
100. Scanduzzi L, Ghosh K, Hofmeyer KA, Abadi YM, Lázár-Molnár E, Lin EY, Liu Q, Jeon H, Almo SC, Chen L. (2014) Tissue-expressed B7-H1 critically controls intestinal inflammation. *Cell reports*, 6: 625-632.
101. Levin AD, Wadhera V, Leach ST, Woodhead HJ, Lemberg DA, Mendoza-Cruz AC, Day AS. (2011) Vitamin D deficiency in children with inflammatory bowel disease. *Digestive diseases and sciences*, 56: 830-836.
102. Raftery T, Merrick M, Healy M, Mahmud N, O'Morain C, Smith S, McNamara D, O'Sullivan M. (2015) Vitamin D status is associated with intestinal inflammation as measured by fecal calprotectin in Crohn's disease in clinical remission. *Digestive diseases and sciences*, 60: 2427-2435.

103. Ananthakrishnan AN, Cagan A, Gainer VS, Cai T, Cheng S-C, Savova G, Chen P, Szolovits P, Xia Z, De Jager PL. (2013) Normalization of plasma 25-hydroxy vitamin D is associated with reduced risk of surgery in Crohn's disease. *Inflammatory bowel diseases*, 19: 1921-1927.
104. Jørgensen SP, Agnholt J, Glerup H, Lyhne S, Villadsen G, Hvas CL, Bartels LE, Kelsen J, Christensen LA, Dahlerup JF. (2010) Clinical trial: vitamin D3 treatment in Crohn's disease—a randomized double-blind placebo-controlled study. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 32: 377-383.
105. Raftery T, Martineau AR, Greiller CL, Ghosh S, McNamara D, Bennett K, Meddings J, O'Sullivan M. (2015) Effects of vitamin D supplementation on intestinal permeability, cathelicidin and disease markers in Crohn's disease: results from a randomised double-blind placebo-controlled study. *United European gastroenterology journal*, 3: 294-302.
106. Albertson DG, Ylstra B, Segraves R, Collins C, Dairkee SH, Kowbel D, Kuo W-L, Gray JW, Pinkel D. (2000) Quantitative mapping of amplicon structure by array CGH identifies CYP24 as a candidate oncogene. *Nature genetics*, 25: 144-146.
107. Merchan BB, Morcillo S, Martin-Nunez G, Tinahones FJ, Macias-Gonzalez M. (2017) The role of vitamin D and VDR in carcinogenesis: through epidemiology and basic sciences. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 167: 203-218.
108. Welsh J. (2017) Function of the vitamin D endocrine system in mammary gland and breast cancer. *Molecular and cellular endocrinology*, 453: 88-95.
109. Tong W-M, Kallay E, Hofer H, Hulla W, Manhardt T, Peterlik M, Cross H. (1998) Growth regulation of human colon cancer cells by epidermal growth factor and 1, 25-dihydroxyvitamin D3 is mediated by mutual modulation of receptor expression. *European journal of cancer*, 34: 2119-2125.
110. Jiang YJ, Teichert AE, Fong F, Oda Y, Bikle DD. (2013) 1 α , 25 (OH) 2-dihydroxyvitamin D3/VDR protects the skin from UVB-induced tumor formation by interacting with the β -catenin pathway. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 136: 229-232.

111. Chen L, Yang R, Qiao W, Yuan X, Wang S, Goltzman D, Miao D. (2018) 1, 25-Dihydroxy vitamin D prevents tumorigenesis by inhibiting oxidative stress and inducing tumor cellular senescence in mice. *International journal of cancer*, 143: 368-382.
112. Duffy MJ, Murray A, Synnott NC, O'Donovan N, Crown J. (2017) Vitamin D analogues: Potential use in cancer treatment. *Critical reviews in oncology/hematology*, 112: 190-197.
113. Apperly FL. (1941) The relation of solar radiation to cancer mortality in North America. *Cancer Research*, 1: 191-195.
114. Dou R, Ng K, Giovannucci EL, Manson JE, Qian ZR, Ogino S. (2016) Vitamin D and colorectal cancer: molecular, epidemiological and clinical evidence. *British Journal of Nutrition*, 115: 1643-1660.
115. Jacobs ET, Kohler LN, Kunihiro AG, Jurutka PW. (2016) Vitamin D and colorectal, breast, and prostate cancers: a review of the epidemiological evidence. *Journal of Cancer*, 7: 232.
116. Mondul AM, Weinstein SJ, Layne TM, Albanes D. (2017) Vitamin D and cancer risk and mortality: state of the science, gaps, and challenges. *Epidemiologic reviews*, 39: 28-48.
117. Keum N, Giovannucci E. (2014) Vitamin D supplements and cancer incidence and mortality: a meta-analysis. *British journal of cancer*, 111: 976-980.
118. Hatse S, Lambrechts D, Verstuyl A, Smeets A, Brouwers B, Vandorpe T, Brouckaert O, Peuteman G, Laenen A, Verlinden L. (2012) Vitamin D status at breast cancer diagnosis: correlation with tumor characteristics, disease outcome, and genetic determinants of vitamin D insufficiency. *Carcinogenesis*, 33: 1319-1326.
119. Schenk JM, Till CA, Tangen CM, Goodman PJ, Song X, Torkko KC, Kristal AR, Peters U, Neuhauser ML. (2014) Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and risk of prostate cancer: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 23: 1484-1493.
120. Gandini S, Boniol M, Haukka J, Byrnes G, Cox B, Sneyd MJ, Mullie P, Autier P. (2011) Meta-analysis of observational studies of serum 25-hydroxyvitamin D

- levels and colorectal, breast and prostate cancer and colorectal adenoma. *International journal of cancer*, 128: 1414-1424.
121. Ong J-S, Cuellar-Partida G, Lu Y, Study AOC, Fasching PA, Hein A, Burghaus S, Beckmann MW, Lambrechts D, Van Nieuwenhuysen E. (2016) Association of vitamin D levels and risk of ovarian cancer: a Mendelian randomization study. *International journal of epidemiology*, 45: 1619-1630.
 122. Ding EL, Mehta S, Fawzi WW, Giovannucci EL. (2008) Interaction of estrogen therapy with calcium and vitamin D supplementation on colorectal cancer risk: reanalysis of Women's Health Initiative randomized trial. *International journal of cancer*, 122: 1690-1694.
 123. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP. (2007) Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *The American journal of clinical nutrition*, 85: 1586-1591.
 124. Baron JA, Barry EL, Mott LA, Rees JR, Sandler RS, Snover DC, Bostick RM, Ivanova A, Cole BF, Ahnen DJ. (2015) A trial of calcium and vitamin D for the prevention of colorectal adenomas. *New England Journal of Medicine*, 373: 1519-1530.
 125. Lappe J, Watson P, Travers-Gustafson D, Recker R, Garland C, Gorham E, Baggerly K, McDonnell SL. (2017) Effect of vitamin D and calcium supplementation on cancer incidence in older women: a randomized clinical trial. *Jama*, 317: 1234-1243.
 126. Wactawski-Wende J, Kotchen JM, Anderson GL, Assaf AR, Brunner RL, O'sullivan MJ, Margolis KL, Ockene JK, Phillips L, Pottern L. (2006) Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of colorectal cancer. *New England Journal of Medicine*, 354: 684-696.
 127. Avenell A, MacLennan GS, Jenkinson DJ, McPherson GC, McDonald AM, Pant PR, Grant AM, Campbell MK, Anderson FH, Cooper C. (2012) Long-term follow-up for mortality and cancer in a randomized placebo-controlled trial of vitamin D3 and/or calcium (RECORD trial). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97: 614-622.

128. Wu-Wong JR, Nakane M, Ma J, Ruan X, Kroeger PE. (2006) Effects of Vitamin D analogs on gene expression profiling in human coronary artery smooth muscle cells. *Atherosclerosis*, 186: 20-28.
129. Li YC, Kong J, Wei M, Chen Z-F, Liu SQ, Cao L-P. (2002) 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *The Journal of clinical investigation*, 110: 229-238.
130. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, Lieben L, Mathieu C, Demay M. (2008) Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocrine reviews*, 29: 726-776.
131. Wang L, Song Y, Manson JE, Pilz S, März W, Michaëlsson K, Lundqvist A, Jassal SK, Barrett-Connor E, Zhang C. (2012) Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*, 5: 819-829.
132. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, Benjamin EJ, D'Agostino RB, Wolf M, Vasan RS. (2008) Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*, 117: 503-511.
133. Kendrick J, Targher G, Smits G, Chonchol M. (2009) 25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis*, 205: 255-260.
134. Vimalaswaran KS, Cavadino A, Berry DJ, Jorde R, Dieffenbach AK, Lu C, Alves AC, Heerspink HJL, Tikkanen E, Eriksson J. (2014) Association of vitamin D status with arterial blood pressure and hypertension risk: a mendelian randomisation study. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 2: 719-729.
135. Manousaki D, Mokry LE, Ross S, Goltzman D, Richards JB. (2016) Mendelian randomization studies do not support a role for vitamin D in coronary artery disease. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 9: 349-356.
136. Brøndum-Jacobsen P, Benn M, Afzal S, Nordestgaard BG. (2015) No evidence that genetically reduced 25-hydroxyvitamin D is associated with increased risk of ischaemic heart disease or myocardial infarction: a Mendelian randomization study. *International journal of epidemiology*, 44: 651-661.

137. Ooi EM, Afzal S, Nordestgaard BG. (2014) Elevated remnant cholesterol in 25-hydroxyvitamin D deficiency in the general population: Mendelian randomization study. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 7: 650-658.
138. Pittas AG, Chung M, Trikalinos T, Mitri J, Brendel M, Patel K, Lichtenstein AH, Lau J, Balk EM. (2010) Systematic review: vitamin D and cardiometabolic outcomes. *Annals of internal medicine*, 152: 307-314.
139. Ford JA, MacLennan GS, Avenell A, Bolland M, Grey A, Witham M, Group RT. (2014) Cardiovascular disease and vitamin D supplementation: trial analysis, systematic review, and meta-analysis. *The American journal of clinical nutrition*, 100: 746-755.
140. Landel V, Annweiler C, Millet P, Morello M, Féron F. (2016) Vitamin D, cognition and Alzheimer's disease: the therapeutic benefit is in the D-tails. *Journal of Alzheimer's Disease*, 53: 419-444.
141. Mokry LE, Ross S, Morris JA, Manousaki D, Forgetta V, Richards JB. (2016) Genetically decreased vitamin D and risk of Alzheimer disease. *Neurology*, 87: 2567-2574.
142. Roth DE, Leung M, Mesfin E, Qamar H, Watterworth J, Papp E. (2017) Vitamin D supplementation during pregnancy: state of the evidence from a systematic review of randomised trials. *Bmj*, 359.
143. Bikle DD. (2016) Extraskelatal actions of vitamin D. *Annals of the New York academy of sciences*, 1376: 29.
144. Mathysen C, Gayan-Ramirez G, Bouillon R, Janssens W. (2017) Vitamin D supplementation in respiratory diseases: evidence from randomized controlled trials. *Polish archives of internal medicine*, 127: 775-784.
145. Durup D, Jørgensen HL, Christensen J, Schwarz P, Heegaard A-M, Lind B. (2012) A reverse J-shaped association of all-cause mortality with serum 25-hydroxyvitamin D in general practice: the CopD study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97: 2644-2652.
146. Sempos CT, Durazo-Arvizu RA, Dawson-Hughes B, Yetley EA, Looker AC, Schleicher RL, Cao G, Burt V, Kramer H, Bailey RL. (2013) Is there a reverse J-shaped association between 25-hydroxyvitamin D and all-cause mortality?

- Results from the US nationally representative NHANES. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98: 3001-3009.
147. Schöttker B, Jorde R, Peasey A, Thorand B, Jansen E, Groot L, Streppel M, Gardiner J, Ordóñez-Mena J, Perna L. (2014) Consortium on Health and Ageing: Network of Cohorts in Europe and the United States. Vitamin D and mortality: meta-analysis of individual participant data from a large consortium of cohort studies from Europe and the United States. *Bmj*, 348: g3656.
 148. Scragg R, Sowers M, Bell C. (2007) Serum 25-hydroxyvitamin D, ethnicity, and blood pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *American journal of hypertension*, 20: 713-719.
 149. Trummer O, Pilz S, Hoffmann MM, Winkelmann BR, Boehm BO, März W, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B, Renner W. (2013) Vitamin D and mortality: a Mendelian randomization study. *Clinical chemistry*, 59: 793-797.
 150. Afzal S, Brøndum-Jacobsen P, Bojesen SE, Nordestgaard BG. (2014) Genetically low vitamin D concentrations and increased mortality: Mendelian randomisation analysis in three large cohorts. *Bmj*, 349.
 151. Autier P, Boniol M, Pizot C, Mullie P. (2014) Vitamin D status and ill health: a systematic review. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 2: 76-89.
 152. Bjelakovic G, Gluud LL, Nikolova D, Whitfield K, Wetterslev J, Simonetti RG, Bjelakovic M, Gluud C. (2014) Vitamin D supplementation for prevention of mortality in adults. *Cochrane database of systematic reviews*.
 153. Chowdhury R, Kunutsor S, Vitezova A, Oliver-Williams C, Chowdhury S, Kiefte-de-Jong JC, Khan H, Baena CP, Prabhakaran D, Hoshen MB. (2014) Vitamin D and risk of cause specific death: systematic review and meta-analysis of observational cohort and randomised intervention studies. *Bmj*, 348.
 154. Hunter D, De Lange M, Snieder H, MacGregor AJ, Swaminathan R, Thakker RV, Spector TD. (2001) Genetic contribution to bone metabolism, calcium excretion, and vitamin D and parathyroid hormone regulation. *J Bone Miner Res*, 16: 371-378.
 155. Manousaki D, Mitchell R, Dudding T, Haworth S, Harroud A, Forgetta V, Shah RL, Luan Ja, Langenberg C, Timpson NJ, Richards JB. (2020) Genome-wide

- Association Study for Vitamin D Levels Reveals 69 Independent Loci. *American journal of human genetics*, 106: 327-337.
156. Revez JA, Lin T, Qiao Z, Xue A, Holtz Y, Zhu Z, Zeng J, Wang H, Sidorenko J, Kemper KE, Vinkhuyzen AAE, Frater J, Eyles D, Burne THJ, Mitchell B, Martin NG, Zhu G, Visscher PM, Yang J, Wray NR, McGrath JJ. Genome-wide association study identifies 143 loci associated with 25 hydroxyvitamin D concentration. In: *Nature communications* Vol. 11, 2020: 1647.
 157. Kämpe A, Enlund-Cerullo M, Valkama S, Holmlund-Suila E, Rosendahl J, Hauta-Alus H, Pekkinen M, Andersson S, Mäkitie O. Genetic variation in GC and CYP2R1 affects 25-hydroxyvitamin D concentration and skeletal parameters: A genome-wide association study in 24-month-old Finnish children. In: *PLoS genetics* Vol. 15, 2019: e1008530.
 158. Sapkota BR, Hopkins R, Bjornes A, Ralhan S, Wander GS, Mehra NK, Singh JR, Blackett PR, Saxena R, Sanghera DK. (2016) Genome-wide association study of 25(OH) Vitamin D concentrations in Punjabi Sikhs: Results of the Asian Indian diabetic heart study. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 158: 149-156.
 159. Tomei S, Singh P, Mathew R, Mattei V, Garand M, Alwakeel M, Sharif E, Al Khodor S. (2020) The role of polymorphisms in vitamin D-related genes in response to vitamin D supplementation. *Nutrients*, 12: 2608.
 160. Melhus H, Kindmark A, Amér S, Wilén B, Lindh E, Ljunghall S. (1994) Vitamin D receptor genotypes in osteoporosis. *The Lancet*, 344: 949-950.
 161. Carling T, Kindmark A, Hellman P, Lundgren E, Ljunghall S, Rastad J, Akerström G, Melhus H. (1995) Vitamin D receptor genotypes in primary hyperparathyroidism. *Nat Med*, 1: 1309-1311.
 162. Bikle D, Bouillon R, Thadhani R, Schoenmakers I. (2017) Vitamin D metabolites in captivity? Should we measure free or total 25 (OH) D to assess vitamin D status? *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 173: 105-116.
 163. Bikle DD, Gee E, Halloran B, Kowalski MA, Ryzen E, Haddad JG. (1986) Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin D in serum and its

- regulation by albumin and the vitamin D-binding protein. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 63: 954-959.
164. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. (2011) Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology & metabolism*, 96: 1911-1930.
165. American Geriatrics Society Workgroup on Vitamin D Supplementation for Older Adults. (2014) Recommendations abstracted from the American Geriatrics Society consensus statement on vitamin D for prevention of falls and their consequences. *Journal of the American Geriatrics Society*, 62: 147-152.
166. Cosman F, de Beur SJ, LeBoff M, Lewiecki E, Tanner B, Randall S, Lindsay R. (2014) Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporosis international*, 25: 2359-2381.
167. Takács I, Benkő I, Toldy E, Wikonkál N, Szekeres L, Bodolay E, Kiss E, Jambrik Z, Szabó B, Merkely B. (2012) Hazai konszenzus a D-vitamin szerepéről a betegségek megelőzésében és kezelésében. *Orvosi Hetilap*, 153: 5-26.
168. Stolzenberg-Solomon RZ, Jacobs EJ, Arslan AA, Qi D, Patel AV, Helzlsouer KJ, Weinstein SJ, McCullough ML, Purdue MP, Shu X-O. (2010) Circulating 25-hydroxyvitamin D and risk of pancreatic cancer: cohort consortium vitamin D pooling project of rarer cancers. *American journal of epidemiology*, 172: 81-93.
169. Tuohimaa P, Tenkanen L, Ahonen M, Lumme S, Jellum E, Hallmans G, Stattin P, Harvei S, Hakulinen T, Luostarinen T. (2004) Both high and low levels of blood vitamin D are associated with a higher prostate cancer risk: a longitudinal, nested case-control study in the Nordic countries. *International journal of cancer*, 108: 104-108.
170. Grant WB, Karras SN, Bischoff-Ferrari HA, Annweiler C, Boucher BJ, Juzeniene A, Garland CF, Holick MF. (2016) Do studies reporting 'U'-shaped serum 25-hydroxyvitamin D-health outcome relationships reflect adverse effects? *Dermatoendocrinol*, 8: e1187349.

171. Kassowitz M. (1897) Tetanie and autointoxication in kindersalter. Wien Med Presse, 38: 139-141.
172. MacLaughlin J, Holick MF. (1985) Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D₃. The Journal of clinical investigation, 76: 1536-1538.
173. Holick M, Matsuoka L, Wortsman J. (1989) Age, vitamin D, and solar ultraviolet. Lancet (British edition), 2: 1104-1105.
174. Matsuoka LY, Ide L, Wortsman J, Maclaughlin JA, Holick MF. (1987) Sunscreens suppress cutaneous vitamin D₃ synthesis. The journal of clinical endocrinology & metabolism, 64: 1165-1168.
175. Thieden E, Jørgensen HL, Jørgensen NR, Philipsen PA, Wulf HC. (2008) Sunbed radiation provokes cutaneous vitamin D synthesis in humans—a randomized controlled trial. Photochemistry and photobiology, 84: 1487-1492.
176. Moan J, Lagunova Z, Cicarma E, Aksnes L, Dahlback A, Grant WB, Porojnicu AC. (2009) Sunbeds as vitamin D sources. Photochemistry and Photobiology, 85: 1474-1479.
177. Colantonio S, Bracken MB, Beecker J. (2014) The association of indoor tanning and melanoma in adults: systematic review and meta-analysis. Journal of the American academy of dermatology, 70: 847-857. e818.
178. Zajkás G, Bíró L, Greiner E, Szórád I, Ágoston H, Balázs A, Vitrai J, Hermann D, Boros J, Németh R. (2007) Dietary survey in Hungary, 2003–2004. Micronutrients: vitamins. Orvosi hetilap, 148: 1593-1600.
179. Takács I, Tóth BE, Szekeres L, Szabó B, Bakos B, Lakatos P. (2017) Randomized clinical trial to comparing efficacy of daily, weekly and monthly administration of vitamin D₃. Endocrine, 55: 60-65.
180. Sakalli H, Arslan D, Yucel AE. (2012) The effect of oral and parenteral vitamin D supplementation in the elderly: a prospective, double-blinded, randomized, placebo-controlled study. Rheumatology international, 32: 2279-2283.
181. Malham M, Jørgensen SP, Lauridsen AL, Ott P, Glerup H, Dahlerup JF. (2012) The effect of a single oral megadose of vitamin D provided as either ergocalciferol (D₂) or cholecalciferol (D₃) in alcoholic liver cirrhosis. European journal of gastroenterology & hepatology, 24: 172-178.

182. Leventis P, Kiely P. (2009) The tolerability and biochemical effects of high-dose bolus vitamin D2 and D3 supplementation in patients with vitamin D insufficiency. *Scandinavian journal of rheumatology*, 38: 149-153.
183. Tellioglu A, Basaran S, Guzel R, Seydaoglu G. (2012) Efficacy and safety of high dose intramuscular or oral cholecalciferol in vitamin D deficient/insufficient elderly. *Maturitas*, 72: 332-338.
184. Gallagher JC, Smith LM, Yalamanchili V. (2014) Incidence of hypercalciuria and hypercalcemia during vitamin D and calcium supplementation in older women. *Menopause (New York, NY)*, 21: 1173.
185. Malihi Z, Lawes CM, Wu Z, Huang Y, Waayer D, Toop L, Khaw K-T, Camargo Jr CA, Scragg R. (2019) Monthly high-dose vitamin D supplementation does not increase kidney stone risk or serum calcium: results from a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*, 109: 1578-1587.
186. Malihi Z, Wu Z, Stewart AW, Lawes CM, Scragg R. (2016) Hypercalcemia, hypercalciuria, and kidney stones in long-term studies of vitamin D supplementation: a systematic review and meta-analysis. *The American journal of clinical nutrition*, 104: 1039-1051.
187. Malihi Z, Wu Z, Lawes CM, Scragg R. (2019) Adverse events from large dose vitamin D supplementation taken for one year or longer. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 188: 29-37.
188. Vieth R. (1999) Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am J Clin Nutr*, 69: 842-856.
189. Amir E, Simmons CE, Freedman OC, Dranitsaris G, Cole DE, Vieth R, Ooi WS, Clemons M. (2010) A phase 2 trial exploring the effects of high-dose (10,000 IU/day) vitamin D(3) in breast cancer patients with bone metastases. *Cancer*, 116: 284-291.
190. Vieth R. (2007) Vitamin D toxicity, policy, and science. *Journal of Bone and Mineral Research*, 22: V64-V68.
191. van den Ouweland J, Fleuren H, Drabbe M, Vollaard H. (2014) Pharmacokinetics and safety issues of an accidental overdose of 2,000,000 IU of vitamin D 3 in two nursing home patients: A case report. *BMC pharmacology and toxicology*, 15: 1-5.

192. Völgyi E, Tylavsky FA, Lyytikäinen A, Suominen H, Alén M, Cheng S. (2008) Assessing body composition with DXA and bioimpedance: effects of obesity, physical activity, and age. *Obesity*, 16: 700-705.
193. Gallagher D, Visser M, Sepulveda D, Pierson RN, Harris T, Heymsfield SB. (1996) How useful is body mass index for comparison of body fatness across age, sex, and ethnic groups? *American journal of epidemiology*, 143: 228-239.
194. (1998) Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obes Res*, 6 Suppl 2: 51s-209s.
195. Simpson JA, MacInnis RJ, Peeters A, Hopper JL, Giles GG, English DR. (2007) A comparison of adiposity measures as predictors of all-cause mortality: the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Obesity*, 15: 994-1003.
196. Haslam DW, James WP. (2005) Obesity. *Lancet*, 366: 1197-1209.
197. Wang YC, McPherson K, Marsh T, Gortmaker SL, Brown M. (2011) Health and economic burden of the projected obesity trends in the USA and the UK. *The Lancet*, 378: 815-825.
198. Olshansky SJ, Passaro DJ, Hershow RC, Layden J, Carnes BA, Brody J, Hayflick L, Butler RN, Allison DB, Ludwig DS. (2005) A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *New England Journal of Medicine*, 352: 1138-1145.
199. Rueda-Clausen CF, Ogunleye AA, Sharma AM. (2015) Health benefits of long-term weight-loss maintenance. *Annual review of nutrition*, 35: 475-516.
200. Bray G, Kim K, Wilding J, Federation WO. (2017) Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obesity reviews*, 18: 715-723.
201. NCD Risk Factor Collaboration. (2016) Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19· 2 million participants. *The lancet*, 387: 1377-1396.
202. GBD Obesity Collaborators. (2017) Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *New England Journal of Medicine*, 377: 13-27.

203. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, Mullany EC, Biryukov S, Abbafati C, Abera SF. (2014) Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The lancet*, 384: 766-781.
204. Erdei G, Kovács VA, Bakacs M, Martos É. (2017) Országos Táplálkozás és Tápláltsági Állapot Vizsgálat 2014. I. A magyar felnőtt lakosság tápláltsági állapota. *Orvosi Hetilap*, 158: 533-540.
205. Sharma AM, Padwal R. (2010) Obesity is a sign - over-eating is a symptom: an aetiological framework for the assessment and management of obesity. *Obes Rev*, 11: 362-370.
206. Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, McPherson K, Finegood DT, Moodie ML, Gortmaker SL. (2011) The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet*, 378: 804-814.
207. Vecchié A, Dallegri F, Carbone F, Bonaventura A, Liberale L, Portincasa P, Frühbeck G, Montecucco F. (2018) Obesity phenotypes and their paradoxical association with cardiovascular diseases. *Eur J Intern Med*, 48: 6-17.
208. Sumithran P, Prendergast LA, Delbridge E, Purcell K, Shulkes A, Kriketos A, Proietto J. (2011) Long-term persistence of hormonal adaptations to weight loss. *N Engl J Med*, 365: 1597-1604.
209. Rosenbaum M, Hirsch J, Gallagher DA, Leibel RL. (2008) Long-term persistence of adaptive thermogenesis in subjects who have maintained a reduced body weight. *Am J Clin Nutr*, 88: 906-912.
210. Wing RR, Phelan S. (2005) Long-term weight loss maintenance. *Am J Clin Nutr*, 82: 222s-225s.
211. Neel JV. (1999) The “thrifty genotype” in 1998 1.
212. Stöger R. (2008) The thrifty epigenotype: an acquired and heritable predisposition for obesity and diabetes? *Bioessays*, 30: 156-166.
213. Plachta-Danielzik S, Landsberg B, Johannsen M, Lange D, Müller MJ. (2010) Determinants of the prevalence and incidence of overweight in children and adolescents. *Public Health Nutr*, 13: 1870-1881.

214. Beyerlein A, Kusian D, Ziegler AG, Schaffrath-Rosario A, von Kries R. (2014) Classification tree analyses reveal limited potential for early targeted prevention against childhood overweight. *Obesity (Silver Spring)*, 22: 512-517.
215. Schulz LO, Bennett PH, Ravussin E, Kidd JR, Kidd KK, Esparza J, Valencia ME. (2006) Effects of traditional and western environments on prevalence of type 2 diabetes in Pima Indians in Mexico and the U.S. *Diabetes Care*, 29: 1866-1871.
216. Goel MS, McCarthy EP, Phillips RS, Wee CC. (2004) Obesity among US immigrant subgroups by duration of residence. *Jama*, 292: 2860-2867.
217. Ludwig J, Sanbonmatsu L, Gennetian L, Adam E, Duncan GJ, Katz LF, Kessler RC, Kling JR, Lindau ST, Whitaker RC. (2011) Neighborhoods, obesity, and diabetes—a randomized social experiment. *New England journal of medicine*, 365: 1509-1519.
218. Bonaglia MC, Ciccone R, Gimelli G, Gimelli S, Marelli S, Verheij J, Giorda R, Grasso R, Borgatti R, Pagone F, Rodriguez L, Martinez-Frias ML, van Ravenswaaij C, Zuffardi O. (2008) Detailed phenotype-genotype study in five patients with chromosome 6q16 deletion: narrowing the critical region for Prader-Willi-like phenotype. *Eur J Hum Genet*, 16: 1443-1449.
219. Janssen S, Ramaswami G, Davis EE, Hurd T, Airik R, Kasanuki JM, Van Der Kraak L, Allen SJ, Beales PL, Katsanis N, Otto EA, Hildebrandt F. (2011) Mutation analysis in Bardet-Biedl syndrome by DNA pooling and massively parallel resequencing in 105 individuals. *Hum Genet*, 129: 79-90.
220. Licinio J, Caglayan S, Ozata M, Yildiz BO, de Miranda PB, O'Kirwan F, Whitby R, Liang L, Cohen P, Bhasin S, Krauss RM, Veldhuis JD, Wagner AJ, DePaoli AM, McCann SM, Wong ML. (2004) Phenotypic effects of leptin replacement on morbid obesity, diabetes mellitus, hypogonadism, and behavior in leptin-deficient adults. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101: 4531-4536.
221. Farooqi IS, Wangensteen T, Collins S, Kimber W, Matarese G, Keogh JM, Lank E, Bottomley B, Lopez-Fernandez J, Ferraz-Amaro I, Dattani MT, Ercan O, Myhre AG, Retterstol L, Stanhope R, Edge JA, McKenzie S, Lessan N, Ghodsi M, De Rosa V, Perna F, Fontana S, Barroso I, Undlien DE, O'Rahilly S. (2007)

- Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor. *N Engl J Med*, 356: 237-247.
222. Stijnen P, Tuand K, Varga TV, Franks PW, Aertgeerts B, Creemers JW. (2014) The association of common variants in PCSK1 with obesity: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol*, 180: 1051-1065.
223. Lubrano-Berthelier C, Le Stunff C, Bougnères P, Vaisse C. (2004) A homozygous null mutation delineates the role of the melanocortin-4 receptor in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 89: 2028-2032.
224. Krude H, Biebermann H, Schnabel D, Tansek MZ, Theunissen P, Mullis PE, Grüters A. (2003) Obesity due to proopiomelanocortin deficiency: three new cases and treatment trials with thyroid hormone and ACTH4-10. *J Clin Endocrinol Metab*, 88: 4633-4640.
225. Gray J, Yeo GS, Cox JJ, Morton J, Adlam AL, Keogh JM, Yanovski JA, El Gharbawy A, Han JC, Tung YC, Hodges JR, Raymond FL, O'Rahilly S, Farooqi IS. (2006) Hyperphagia, severe obesity, impaired cognitive function, and hyperactivity associated with functional loss of one copy of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene. *Diabetes*, 55: 3366-3371.
226. Bonnefond A, Raimondo A, Stutzmann F, Ghossaini M, Ramachandrapa S, Bersten DC, Durand E, Vatin V, Balkau B, Lantieri O, Raverdy V, Pattou F, Van Hul W, Van Gaal L, Peet DJ, Weill J, Miller JL, Horber F, Goldstone AP, Driscoll DJ, Bruning JB, Meyre D, Whitelaw ML, Froguel P. (2013) Loss-of-function mutations in SIM1 contribute to obesity and Prader-Willi-like features. *J Clin Invest*, 123: 3037-3041.
227. Markham A. (2021) Setmelanotide: First Approval. *Drugs*, 81: 397-403.
228. Hebebrand J, Volckmar AL, Knoll N, Hinney A. (2010) Chipping away the 'missing heritability': GIANT steps forward in the molecular elucidation of obesity - but still lots to go. *Obes Facts*, 3: 294-303.
229. Panzeri I, Pospisilik JA. (2018) Epigenetic control of variation and stochasticity in metabolic disease. *Mol Metab*, 14: 26-38.
230. Börjeson M. (1976) The aetiology of obesity in children A Study of 101 Twin Pairs. *Acta Paediatrica*, 65: 279-287.

231. Pigeyre M, Yazdi FT, Kaur Y, Meyre D. (2016) Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clin Sci (Lond)*, 130: 943-986.
232. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC, Ellard S, Groves CJ, Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L, Loos RJ, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F, Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CN, Doney AS, Morris AD, Smith GD, Hattersley AT, McCarthy MI. (2007) A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*, 316: 889-894.
233. Tanofsky-Kraff M, Han JC, Anandalingam K, Shomaker LB, Columbo KM, Wolkoff LE, Kozlosky M, Elliott C, Ranzenhofer LM, Roza CA, Yanovski SZ, Yanovski JA. (2009) The FTO gene rs9939609 obesity-risk allele and loss of control over eating. *Am J Clin Nutr*, 90: 1483-1488.
234. Vranić L, Mikolašević I, Milić S. (2019) Vitamin D Deficiency: Consequence or Cause of Obesity? *Medicina (Kaunas)*, 55.
235. Vanlint S. (2013) Vitamin D and obesity. *Nutrients*, 5: 949-956.
236. Ding C, Gao D, Wilding J, Trayhurn P, Bing C. (2012) Vitamin D signalling in adipose tissue. *Br J Nutr*, 108: 1915-1923.
237. Wood RJ. (2008) Vitamin D and adipogenesis: new molecular insights. *Nutr Rev*, 66: 40-46.
238. Pesarini JR, Oliveira EJT, Pessatto LR, Rabacow APM, Camassola M, Dos Santos BP, de Barros ME, Cantero WB, Antonioli-Silva A, Oliveira RJ. (2018) Calcitriol combined with calcium chloride causes apoptosis in undifferentiated adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells, but this effect decreases during adipogenic differentiation. *Biomed Pharmacother*, 108: 914-924.
239. Khan RJ, Riestra P, Gebreab SY, Wilson JG, Gaye A, Xu R, Davis SK. (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.
240. Tsuji K, Maeda T, Kawane T, Matsunuma A, Horiuchi N. (2010) Leptin stimulates fibroblast growth factor 23 expression in bone and suppresses renal 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 synthesis in leptin-deficient mice. *J Bone Miner Res*, 25: 1711-1723.
241. Narvaez CJ, Matthews D, Broun E, Chan M, Welsh J. (2009) Lean phenotype and resistance to diet-induced obesity in vitamin D receptor knockout mice correlates with induction of uncoupling protein-1 in white adipose tissue. *Endocrinology*, 150: 651-661.
242. Bouillon R, Carmeliet G, Lieben L, Watanabe M, Perino A, Auwerx J, Schoonjans K, Verstuyf A. (2014) Vitamin D and energy homeostasis: of mice and men. *Nat Rev Endocrinol*, 10: 79-87.
243. Liu E, Meigs JB, Pittas AG, Economos CD, McKeown NM, Booth SL, Jacques PF. (2010) Predicted 25-hydroxyvitamin D score and incident type 2 diabetes in the Framingham Offspring Study. *Am J Clin Nutr*, 91: 1627-1633.
244. Cheng S, Massaro JM, Fox CS, Larson MG, Keyes MJ, McCabe EL, Robins SJ, O'Donnell CJ, Hoffmann U, Jacques PF, Booth SL, Vasan RS, Wolf M, Wang TJ. (2010) Adiposity, cardiometabolic risk, and vitamin D status: the Framingham Heart Study. *Diabetes*, 59: 242-248.
245. Martins D, Wolf M, Pan D, Zadshir A, Tareen N, Thadhani R, Felsenfeld A, Levine B, Mehrotra R, Norris K. (2007) Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med*, 167: 1159-1165.
246. Afzal S, Brøndum-Jacobsen P, Bojesen SE, Nordestgaard BG. (2014) Vitamin D concentration, obesity, and risk of diabetes: a mendelian randomisation study. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2: 298-306.
247. Vimalaswaran KS, Berry DJ, Lu C, Tikkanen E, Pilz S, Hiraki LT, Cooper JD, Dastani Z, Li R, Houston DK, Wood AR, Michaëlsson K, Vandenput L, Zgaga L, Yerges-Armstrong LM, McCarthy MI, Dupuis J, Kaakinen M, Kleber ME, Jameson K, Arden N, Raitakari O, Viikari J, Lohman KK, Ferrucci L, Melhus

- H, Ingelsson E, Byberg L, Lind L, Lorentzon M, Salomaa V, Campbell H, Dunlop M, Mitchell BD, Herzig KH, Pouta A, Hartikainen AL, Streeten EA, Theodoratou E, Jula A, Wareham NJ, Ohlsson C, Frayling TM, Kritchevsky SB, Spector TD, Richards JB, Lehtimäki T, Ouweland WH, Kraft P, Cooper C, März W, Power C, Loos RJ, Wang TJ, Järvelin MR, Whittaker JC, Hingorani AD, Hyppönen E. (2013) Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. *PLoS Med*, 10: e1001383.
248. Roosta S, Kharadmand M, Teymoori F, Birjandi M, Adine A, Falahi E. (2018) Effect of vitamin D supplementation on anthropometric indices among overweight and obese women: A double blind randomized controlled clinical trial. *Diabetes Metab Syndr*, 12: 537-541.
249. Ortega RM, Aparicio A, Rodríguez-Rodríguez E, Bermejo LM, Perea JM, López-Sobaler AM, Ruiz-Roso B, Andrés P. (2008) Preliminary data about the influence of vitamin D status on the loss of body fat in young overweight/obese women following two types of hypocaloric diet. *Br J Nutr*, 100: 269-272.
250. Jorde R, Sollid ST, Svartberg J, Schirmer H, Joakimsen RM, Njølstad I, Fuskevåg OM, Figenschau Y, Hutchinson MY. (2016) Vitamin D 20,000 IU per Week for Five Years Does Not Prevent Progression From Prediabetes to Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 101: 1647-1655.
251. Mirhosseini N, Vatanparast H, Mazidi M, Kimball SM. (2017) The Effect of Improved Serum 25-Hydroxyvitamin D Status on Glycemic Control in Diabetic Patients: A Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 102: 3097-3110.
252. Krul-Poel YH, Ter Wee MM, Lips P, Simsek S. (2017) MANAGEMENT OF ENDOCRINE DISEASE: The effect of vitamin D supplementation on glycaemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Endocrinol*, 176: R1-r14.
253. Szabó B, Tabák Á G, Toldy E, Szekeres L, Szili B, Bakos B, Balla B, Kósa JP, Lakatos P, Takács I. (2017) 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*, 35: 83-90.

254. Cockcroft DW, Gault MH. (1976) Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*, 16: 31-41.
255. Powe CE, Ricciardi C, Berg AH, Erdenesanaa D, Collerone G, Ankers E, Wenger J, Karumanchi SA, Thadhani R, Bhan I. (2011) Vitamin D-binding protein modifies the vitamin D-bone mineral density relationship. *Journal of Bone and Mineral Research*, 26: 1609-1616.
256. Foucan L, Vélayoudom-Céphise FL, Larifla L, Armand C, Deloumeaux J, Fagour C, Plumasseau J, Portlis ML, Liu L, Bonnet F, Ducros J. (2013) Polymorphisms in GC and NADSYN1 Genes are associated with vitamin D status and metabolic profile in Non-diabetic adults. *BMC Endocr Disord*, 13: 36.
257. Szili B, Szabó B, Horváth P, Bakos B, Kirschner G, Kósa JP, Toldy E, Putz Z, Lakatos P, Tabák Á, Takács I. (2018) Impact of genetic influence on serum total- and free 25-hydroxyvitamin-D in humans. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 183: 62-67.
258. Bakos B, Szili B, Szabó B, Horváth P, Kirschner G, Kósa JP, Toldy E, Lakatos P, Tabák Á G, Takács I. (2020) Genetic variants of VDR and CYP2R1 affect BMI independently of serum vitamin D concentrations. *BMC Med Genet*, 21: 129.
259. Szili B, Bakos B, Szabó B, Horváth P, Tabák Á, Toldy E, Lakatos P, Takács I. (2016) A D-vitamin-anyagcserében szerepet játszó gének polimorfizmusai befolyásolják a szérumparathormon-szintet. *Magyar Belorvosi Archivum*, 69: 151.
260. Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, Marchini JL, McCarthy S, McVean GA, Abecasis GR. (2015) A global reference for human genetic variation. *Nature*, 526: 68-74.
261. Howe KL, Achuthan P, Allen J, Allen J, Alvarez-Jarreta J, Amode MR, Armean IM, Azov AG, Bennett R, Bhai J, Billis K, Boddu S, Charkhchi M, Cummins C, Da Rin Fioretto L, Davidson C, Dodiya K, El Houdaigui B, Fatima R, Gall A, Garcia Giron C, Grego T, Gujjarro-Clarke C, Haggerty L, Hemrom A, Hourlier T, Izuogu OG, Juettemann T, Kaikala V, Kay M, Lavidas I, Le T, Lemos D, Gonzalez Martinez J, Marugán JC, Maurel T, McMahon AC, Mohanan S, Moore B, Muffato M, Oheh DN, Paraschas D, Parker A, Parton A,

- Prosovetskaia I, Sakthivel MP, Salam AIA, Schmitt BM, Schuilenburg H, Sheppard D, Steed E, Szpak M, Szuba M, Taylor K, Thormann A, Threadgold G, Walts B, Winterbottom A, Chakiachvili M, Chaubal A, De Silva N, Flint B, Frankish A, Hunt SE, GR II, Langridge N, Loveland JE, Martin FJ, Mudge JM, Morales J, Perry E, Ruffier M, Tate J, Thybert D, Trevanion SJ, Cunningham F, Yates AD, Zerbino DR, Flicek P. (2021) Ensembl 2021. *Nucleic Acids Res*, 49: D884-d891.
262. Verdoia M, Schaffer A, Barbieri L, Di Giovine G, Marino P, Suryapranata H, De Luca G. (2015) Impact of gender difference on vitamin D status and its relationship with the extent of coronary artery disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 25: 464-470.
263. Muscogiuri G, Barrea L, Somma CD, Laudisio D, Salzano C, Pugliese G, De Alteriis G, Colao A, Savastano S. (2019) Sex differences of vitamin D status across BMI classes: An observational prospective cohort study. *Nutrients*, 11: 3034.
264. Sanghera DK, Sapkota BR, Aston CE, Blackett PR. (2017) Vitamin D Status, Gender Differences, and Cardiometabolic Health Disparities. *Ann Nutr Metab*, 70: 79-87.
265. Szabo B, Szili B, Bakos B, Takacs I. (2018) A kalciumhiány jelentősége Magyarországon. *Orvostovábbképző Szemle*, 25: 49-52.
266. Szili B, Bakos B, Horváth P, Szabó B, Lakatos P, Takács I. (2014) A kalcium-anyagcsere paramétereinek prediktív értéke súlyos D-vitamin-hiányban. *Magyar Belorvosi Archivum*, 67: 63-64.
267. Need AG, O'Loughlin PD, Morris HA, Horowitz M, Nordin BE. (2004) The effects of age and other variables on serum parathyroid hormone in postmenopausal women attending an osteoporosis center. *J Clin Endocrinol Metab*, 89: 1646-1649.
268. Shapses SA, Lee EJ, Sukumar D, Durazo-Arvizu R, Schneider SH. (2013) The effect of obesity on the relationship between serum parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D in women. *J Clin Endocrinol Metab*, 98: E886-890.
269. Elin RJ. (1988) Magnesium metabolism in health and disease. *Dis Mon*, 34: 161-218.

270. Paunier L. (1992) Effect of magnesium on phosphorus and calcium metabolism. *Monatsschr Kinderheilkd*, 140: S17-20.
271. Miller PD, Krebs RA, Neal BJ, McIntyre DO. (1979) Hypomagnesemia. Suppression of secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure. *Jama*, 241: 722-723.
272. Hori M, Yasuda K, Takahashi H, Yamazaki C, Morozumi K, Maruyama S. (2021) Impact of serum magnesium and bone mineral density on systemic fractures in chronic hemodialysis patients. *PloS one*, 16: e0251912.
273. Obeid OA. (2013) Low phosphorus status might contribute to the onset of obesity. *Obes Rev*, 14: 659-664.
274. Obeid OA, Dimachkie S, Hlais S. (2010) Increased phosphorus content of preload suppresses ad libitum energy intake at subsequent meal. *Int J Obes (Lond)*, 34: 1446-1448.
275. Ayoub JJ, Samra MJ, Hlais SA, Bassil MS, Obeid OA. (2015) Effect of phosphorus supplementation on weight gain and waist circumference of overweight/obese adults: a randomized clinical trial. *Nutr Diabetes*, 5: e189.
276. Brener A, Lebenthal Y, Cleper R, Kapusta L, Zeitlin L. (2021) Body composition and cardiometabolic health of pediatric patients with X-linked hypophosphatemia (XLH) under burosumab therapy. *Ther Adv Endocrinol Metab*, 12: 20420188211001150.
277. Nair S, V PC, Arnold C, Diehl AM. (2003) Hepatic ATP reserve and efficiency of replenishing: comparison between obese and nonobese normal individuals. *Am J Gastroenterol*, 98: 466-470.
278. Szili B, Bakos B, Szabó B, Horváth P, Tabák Á, Toldy E, Lakatos P, Takács I. (2016) Két eddig nem vizsgált SNP felelős a szérumban 25OHD-vitamin genetikai variabilitásának feléért egy, a környezeti hatásoktól függetlenített populációban. *Magyar Belorvosi Archivum*, 69: 171.
279. Wang TJ, Zhang F, Richards JB, Kestenbaum B, van Meurs JB, Berry D, Kiel DP, Streeten EA, Ohlsson C, Koller DL, Peltonen L, Cooper JD, O'Reilly PF, Houston DK, Glazer NL, Vandenput L, Peacock M, Shi J, Rivadeneira F, McCarthy MI, Anneli P, de Boer IH, Mangino M, Kato B, Smyth DJ, Booth SL, Jacques PF, Burke GL, Goodarzi M, Cheung CL, Wolf M, Rice K, Goltzman D,

- Hidiroglou N, Ladouceur M, Wareham NJ, Hocking LJ, Hart D, Arden NK, Cooper C, Malik S, Fraser WD, Hartikainen AL, Zhai G, Macdonald HM, Forouhi NG, Loos RJ, Reid DM, Hakim A, Dennison E, Liu Y, Power C, Stevens HE, Jaana L, Vasani RS, Soranzo N, Bojunga J, Psaty BM, Lorentzon M, Foroud T, Harris TB, Hofman A, Jansson JO, Cauley JA, Uitterlinden AG, Gibson Q, Järvelin MR, Karasik D, Siscovick DS, Econs MJ, Kritchevsky SB, Florez JC, Todd JA, Dupuis J, Hyppönen E, Spector TD. (2010) Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet*, 376: 180-188.
280. Yao S, Zirpoli G, Bovbjerg DH, Jandorf L, Hong CC, Zhao H, Sucheston LE, Tang L, Roberts M, Ciupak G, Davis W, Hwang H, Johnson CS, Trump DL, McCann SE, Ademuyiwa F, Pawlish KS, Bandera EV, Ambrosone CB. (2012) Variants in the vitamin D pathway, serum levels of vitamin D, and estrogen receptor negative breast cancer among African-American women: a case-control study. *Breast Cancer Res*, 14: R58.
281. Kao DP, Stevens LM, Hinterberg MA, Görg C. (2017) Phenotype-Specific Association of Single-Nucleotide Polymorphisms with Heart Failure and Preserved Ejection Fraction: a Genome-Wide Association Analysis of the Cardiovascular Health Study. *J Cardiovasc Transl Res*, 10: 285-294.
282. Boyle AP, Hong EL, Hariharan M, Cheng Y, Schaub MA, Kasowski M, Karczewski KJ, Park J, Hitz BC, Weng S, Cherry JM, Snyder M. (2012) Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *Genome Res*, 22: 1790-1797.
283. Adams LA, White SW, Marsh JA, Lye SJ, Connor KL, Maganga R, Ayonrinde OT, Olynyk JK, Mori TA, Beilin LJ, Palmer LJ, Hamdorf JM, Pennell CE. (2013) Association between liver-specific gene polymorphisms and their expression levels with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 57: 590-600.
284. Anderson D, Holt BJ, Pennell CE, Holt PG, Hart PH, Blackwell JM. (2014) Genome-wide association study of vitamin D levels in children: replication in the Western Australian Pregnancy Cohort (Raine) study. *Genes Immun*, 15: 578-583.

285. Ahn J, Yu K, Stolzenberg-Solomon R, Simon KC, McCullough ML, Gallicchio L, Jacobs EJ, Ascherio A, Helzlsouer K, Jacobs KB, Li Q, Weinstein SJ, Purdue M, Virtamo J, Horst R, Wheeler W, Chanock S, Hunter DJ, Hayes RB, Kraft P, Albanes D. (2010) Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet*, 19: 2739-2745.
286. Jiang X, O'Reilly PF, Aschard H, Hsu Y-H, Richards JB, Dupuis J, Ingelsson E, Karasik D, Pilz S, Berry D. (2018) Genome-wide association study in 79,366 European-ancestry individuals informs the genetic architecture of 25-hydroxyvitamin D levels. *Nature communications*, 9: 1-12.
287. Moy KA, Mondul AM, Zhang H, Weinstein SJ, Wheeler W, Chung CC, Männistö S, Yu K, Chanock SJ, Albanes D. (2014) Genome-wide association study of circulating vitamin D-binding protein. *Am J Clin Nutr*, 99: 1424-1431.
288. Hong J, Hatchell KE, Bradfield JP, Bjornes A, Chesi A, Lai CQ, Langefeld CD, Lu L, Lu Y, Lutsey PL, Musani SK, Nalls MA, Robinson-Cohen C, Roizen JD, Saxena R, Tucker KL, Ziegler JT, Arking DE, Bis JC, Boerwinkle E, Bottinger EP, Bowden DW, Gilsanz V, Houston DK, Kalkwarf HJ, Kelly A, Lappe JM, Liu Y, Michos ED, Oberfield SE, Palmer ND, Rotter JI, Sapkota B, Shepherd JA, Wilson JG, Basu S, de Boer IH, Divers J, Freedman BI, Grant SFA, Hakanarson H, Harris TB, Kestenbaum BR, Kritchevsky SB, Loos RJF, Norris JM, Norwood AF, Ordovas JM, Pankow JS, Psaty BM, Sanghera DK, Wagenknecht LE, Zemel BS, Meigs J, Dupuis J, Florez JC, Wang T, Liu CT, Engelman CD, Billings LK. (2018) Transethnic Evaluation Identifies Low-Frequency Loci Associated With 25-Hydroxyvitamin D Concentrations. *J Clin Endocrinol Metab*, 103: 1380-1392.
289. Orton SM, Morris AP, Herrera BM, Ramagopalan SV, Lincoln MR, Chao MJ, Vieth R, Sadovnick AD, Ebers GC. (2008) Evidence for genetic regulation of vitamin D status in twins with multiple sclerosis. *Am J Clin Nutr*, 88: 441-447.
290. Shea MK, Benjamin EJ, Dupuis J, Massaro JM, Jacques PF, D'Agostino RB, Sr., Ordovas JM, O'Donnell CJ, Dawson-Hughes B, Vasan RS, Booth SL. (2009) Genetic and non-genetic correlates of vitamins K and D. *Eur J Clin Nutr*, 63: 458-464.

291. Wjst M, Altmüller J, Braig C, Bahnweg M, André E. (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.
292. Fohner AE, Wang Z, Yracheta J, O'Brien DM, Hopkins SE, Black J, Philip J, Wiener HW, Tiwari HK, Stapleton PL, Tsai JM, Thornton TA, Boyer BB, Thummel KE. (2016) Genetics, Diet, and Season Are Associated with Serum 25-Hydroxycholecalciferol Concentration in a Yup'ik Study Population from Southwestern Alaska. *J Nutr*, 146: 318-325.
293. Engelman CD, Meyers KJ, Iyengar SK, Liu Z, Karki CK, Igo RP, Jr., Truitt B, Robinson J, Sarto GE, Wallace R, Blodi BA, Klein ML, Tinker L, LeBlanc ES, Jackson RD, Song Y, Manson JE, Mares JA, Millen AE. (2013) Vitamin D intake and season modify the effects of the GC and CYP2R1 genes on 25-hydroxyvitamin D concentrations. *J Nutr*, 143: 17-26.
294. Björk A, Mellström D, Ohlsson C, Karlsson M, Mallmin H, Johansson G, Ljunggren Ö, Kindmark A. (2018) Haplotypes in the CYP2R1 gene are associated with levels of 25 (OH) D and bone mineral density, but not with other markers of bone metabolism (MrOS Sweden). *PloS one*, 13: e0209268.
295. Bossé Y, Lemire M, Poon AH, Daley D, He J-Q, Sandford A, White JH, James AL, Musk WA, Palmer LJ. (2009) Asthma and genes encoding components of the vitamin D pathway. *Respiratory research*, 10: 1-21.
296. Shui IM, Mondul AM, Lindström S, Tsilidis KK, Travis RC, Gerke T, Albanes D, Mucci LA, Giovannucci E, Kraft P. (2015) Circulating vitamin D, vitamin D-related genetic variation, and risk of fatal prostate cancer in the National Cancer Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. *Cancer*, 121: 1949-1956.
297. Morris HA, Anderson PH. (2010) Autocrine and paracrine actions of vitamin d. *Clin Biochem Rev*, 31: 129-138.
298. Kamycheva E, Sundsfjord J, Jorde R. (2004) Serum parathyroid hormone level is associated with body mass index. The 5th Tromsø study. *Eur J Endocrinol*, 151: 167-172.
299. Dong LM, Ulrich CM, Hsu L, Duggan DJ, Benitez DS, White E, Slattery ML, Farin FM, Makar KW, Carlson CS, Caan BJ, Potter JD, Peters U. (2009)

- Vitamin D related genes, CYP24A1 and CYP27B1, and colon cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 18: 2540-2548.
300. Wu X, Cheng J, Yang K. (2016) Vitamin D-Related Gene Polymorphisms, Plasma 25-Hydroxy-Vitamin D, Cigarette Smoke and Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Risk. *Int J Mol Sci*, 17.
 301. Morrison MA, Silveira AC, Huynh N, Jun G, Smith SE, Zacharaki F, Sato H, Loomis S, Andreoli MT, Adams SM, Radeke MJ, Jelcick AS, Yuan Y, Tsiloulis AN, Chatzoulis DZ, Silvestri G, Kotoula MG, Tsironi EE, Hollis BW, Chen R, Haider NB, Miller JW, Farrer LA, Hageman GS, Kim IK, Schaumberg DA, DeAngelis MM. (2011) Systems biology-based analysis implicates a novel role for vitamin D metabolism in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Hum Genomics*, 5: 538-568.
 302. Li M, Li A, He R, Dang W, Liu X, Yang T, Shi P, Bu X, Gao D, Zhang N, Du S, Jin T, Chen M. (2019) Gene polymorphism of cytochrome P450 significantly affects lung cancer susceptibility. *Cancer medicine*, 8: 4892-4905.
 303. Reimers LL, Crew KD, Bradshaw PT, Santella RM, Steck SE, Sirosh I, Terry MB, Hershman DL, Shane E, Cremers S, Dworakowski E, Teitelbaum SL, Neugut AI, Gammon MD. (2015) Vitamin D-related gene polymorphisms, plasma 25-hydroxyvitamin D, and breast cancer risk. *Cancer Causes Control*, 26: 187-203.
 304. Chen X-Q, Mao J-Y, Li W-B, Li J, Yang H, Qian J-M, Li J-N. (2017) Association between CYP24A1 polymorphisms and the risk of colonic polyps and colon cancer in a Chinese population. *World journal of gastroenterology*, 23: 5179-5186.
 305. Jiang Y, Liao L, Li J, Wang L, Xie Z. (2020) Older Age Is Associated with Decreased Levels of VDR, CYP27B1, and CYP24A1 and Increased Levels of PTH in Human Parathyroid Glands. *International Journal of Endocrinology*, 2020: 7257913.
 306. Wjst M. (2005) Variants in the vitamin D receptor gene and asthma. *BMC Genetics*, 6: 2.
 307. Karami S, Brennan P, Navratilova M, Mates D, Zaridze D, Janout V, Kollarova H, Bencko V, Matveev V, Szesznia-Dabrowska N, Holcatova I, Yeager M,

- Chanock S, Rothman N, Boffetta P, Chow WH, Moore LE. (2010) Vitamin D Pathway Genes, Diet, and Risk of Renal Cell Carcinoma. *International Journal of Endocrinology*, 2010: 879362.
308. Kupfer SS, Anderson JR, Ludvik AE, Hooker S, Skol A, Kittles RA, Keku TO, Sandler RS, Ruiz-Ponte C, Castellvi-Bel S, Castells A, Carracedo A, Ellis NA. (2011) Genetic associations in the vitamin D receptor and colorectal cancer in African Americans and Caucasians. *PLoS One*, 6: e26123.
309. Innocenti F, Owzar K, Jiang C, Etheridge AS, Gordân R, Sibley AB, Mulkey F, Niedzwiecki D, Glubb D, Neel N, Talamonti MS, Bentrem DJ, Seiser E, Yeh JJ, Van Loon K, McLeod H, Ratain MJ, Kindler HL, Venook AP, Nakamura Y, Kubo M, Petersen GM, Bamlet WR, McWilliams RR. (2018) The vitamin D receptor gene as a determinant of survival in pancreatic cancer patients: Genomic analysis and experimental validation. *PLoS One*, 13: e0202272.
310. Yokoyama K, Shigematsu T, Tsukada T, Ogura Y, Takemoto F, Hara S, Yamada A, Kawaguchi Y, Hosoya T. (1998) Apa I polymorphism in the vitamin D receptor gene may affect the parathyroid response in Japanese with end-stage renal disease. *Kidney Int*, 53: 454-458.
311. Horst-Sikorska W, Dytfeld J, Wawrzyniak A, Marcinkowska M, Michalak M, Franek E, Napiórkowska L, Drwęska N, Słomski R. (2013) Vitamin D receptor gene polymorphisms, bone mineral density and fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *Mol Biol Rep*, 40: 383-390.
312. Moran JM, Rodriguez-Velasco FJ, Roncero-Martin R, Rey-Sanchez P, Martinez M, Pedrera-Zamorano JD. (2014) The Relationship between Polymorphisms in the Vitamin D Receptor Gene and Bone Mineral Density in Postmenopausal Women. *ISRN Genetics*, 2014: 549457.
313. Marozik P, Rudenka A, Kobets K, Rudenka E. (2021) Vitamin D Status, Bone Mineral Density, and VDR Gene Polymorphism in a Cohort of Belarusian Postmenopausal Women. *Nutrients*, 13: 837.
314. Marwaha RK, Garg MK, Mahalle N, Bhadra K, Tandon N. (2017) Role of Parathyroid Hormone in Determination of Fat Mass in Patients with Vitamin D Deficiency. *Indian J Endocrinol Metab*, 21: 848-853.

315. Upadhyay J, Farr OM, Mantzoros CS. (2015) The role of leptin in regulating bone metabolism. *Metabolism*, 64: 105-113.
316. Polgreen LE, Jacobs DR, Jr., Nathan BM, Steinberger J, Moran A, Sinaiko AR. (2012) Association of osteocalcin with obesity, insulin resistance, and cardiovascular risk factors in young adults. *Obesity (Silver Spring)*, 20: 2194-2201.
317. Ochs-Balcom HM, Chennamaneni R, Millen AE, Shields PG, Marian C, Trevisan M, Freudenheim JL. (2011) Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with adiposity phenotypes. *Am J Clin Nutr*, 93: 5-10.
318. Khan SM, Chehadeh SEH, Abdulrahman M, Osman W, Al Safar H. (2018) Establishing a genetic link between FTO and VDR gene polymorphisms and obesity in the Emirati population. *BMC medical genetics*, 19: 1-9.
319. Bienertová-Vašků J, Zlámal F, Pohořalá A, Mikeš O, Goldbergová-Pávková M, Novák J, Šplíchal Z, Pikhart H. (2017) Allelic variants in vitamin D receptor gene are associated with adiposity measures in the central-European population. *BMC medical genetics*, 18: 1-9.
320. Correa-Rodríguez M, Carrillo-Ávila JA, Schmidt-RioValle J, Gonzalez-Jimenez E, Vargas S, Martin J, Rueda-Medina B. (2018) Genetic association analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms and obesity-related phenotypes. *Gene*, 640: 51-56.
321. Ye W-Z, Reis AF, Dubois-Laforgue D, Bellanne-Chantelot C, Timsit J, Velho G. (2001) Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity in type 2 diabetic subjects with early age of onset. *European journal of endocrinology*, 145: 181-186.
322. Filus A, Trzmiel A, Kuliczowska-Płaksej J, Tworowska U, Jedrzejuk D, Milewicz A, Medraś M. (2008) Relationship between vitamin D receptor BsmI and FokI polymorphisms and anthropometric and biochemical parameters describing metabolic syndrome. *Aging Male*, 11: 134-139.
323. Grundberg E, Brändström H, Ribom EL, Ljunggren O, Mallmin H, Kindmark A. (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.

324. Jiang H, Xiong DH, Guo YF, Shen H, Xiao P, Yang F, Chen Y, Zhang F, Recker RR, Deng HW. (2007) Association analysis of vitamin D-binding protein gene polymorphisms with variations of obesity-related traits in Caucasian nuclear families. *Int J Obes (Lond)*, 31: 1319-1324.
325. Vimalaswaran KS, Cavadino A, Berry DJ, Whittaker JC, Power C, Järvelin MR, Hyppönen E. (2013) Genetic association analysis of vitamin D pathway with obesity traits. *Int J Obes (Lond)*, 37: 1399-1406.
326. Dorjgochoo T, Shi J, Gao YT, Long J, Delahanty R, Xiang YB, Cai Q, Shu XO. (2012) Genetic variants in vitamin D metabolism-related genes and body mass index: analysis of genome-wide scan data of approximately 7000 Chinese women. *Int J Obes (Lond)*, 36: 1252-1255.

X. Saját publikációk jegyzéke

A PhD értekezés alapját képező publikációk (IF: 11,539):

Bakos B, Szili B, Szabo B, Horvath P, Kirschner Gy, Kosa JP, Toldy E, Lakatos P, Tabak AG, Takacs I. (2020) Genetic variants of VDR and CYP2R1 affect BMI independently of serum vitamin D concentrations. BMC Med Genet, 21(1):129. **IF:2,103**

Szili B, Szabo B, Horvath P, **Bakos B**, Kirschner G, Kosa JP, Toldy E, Putz Z, Lakatos P, Tabak A, Takacs I. (2018) Impact of genetic influence on serum total- and free 25-hydroxyvitamin-D in humans. J Steroid Biochem Mol Biol, 183: 62-67. **IF:3,785**

Szabó B, Tabák ÁG, Toldy E, Szekeres L, Szili B, **Bakos B**, Balla B, Kósa JP, Lakatos P, Takács I. (2017) 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, 35(1):83-90. **IF:2,472**

Takács I, Tóth BE, Szekeres L, Szabo B, **Bakos B**, Lakatos P. (2017) Randomized clinical trial to comparing efficacy of daily, weekly and monthly administration of vitamin D3 Endocrine, 55(1):60-65. **IF:3,179**

Szabo B, Szili B, **Bakos B**, Takacs I. (2018) A kalciumhiány jelentősége Magyarországon. Orvostovábbképző Szemle, 25:49-52.

Szili B, **Bakos B**, Szabó B, Horváth P, Tabák Á, Toldy E, Lakatos P, Takács I. (2016) A D-vitamin anyagcserében szerepet játszó gének polimorfizmusai befolyásolják a szérumparathormon szintet Magyar Belorvosi Archivum 69(2-3):151-151.

Szili B, **Bakos B**, Szabó B, Horváth P, Tabák Á, Toldy E, Lakatos P, Takács I. (2016) Két eddig nem vizsgált SNP felelős a szérum 25OHD-vitamin genetikai variabilitásának

feléért egy, a környezeti hatásoktól függetlenített populációban. Magyar Belorvosi Archivum 69(2-3):171-171.

Szili B, **Bakos B**, Horváth P, Szabó B, Lakatos P, Takács I. (2014) A kalcium-anyagcsere paramétereinek prediktív értéke súlyos D-vitamin-hiányban Magyar Belorvosi Archivum 67(5): 63-64.

Egyéb publikációk (IF: 10,359):

Bakos B, Kiss A, Árvai K, Szili B, Deák-Kocsis 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. (2021) BMC Cancer, 15;21(1):706. **IF:4,430**

Bakos B, Takacs I, Stern PH, Lakatos P. Skeletal Effects of Thyroid Hormones. (2018) Clinic Rev Bone Miner Metab, 16:57–66.

Bakos B, Lukáts Á, Lakatos P, Gyóri G, Tremmel A, Takács I. Report on a case of fibrogenesis imperfecta ossium and a possible new treatment option. (2014) Osteoporos Int, 25(5):1643-6. **IF:4,169**

Bakos B, Takács I, Nagy Z, Kósa JP, Balla B, Tóbiás B, Halászlaki C, Szili B, Lakatos P. Long term efficacy of radioiodine treatment in hyperthyroidism. (2013) Exp Clin Endocrinol Diabetes, 121(8):494-7. **IF:1,760**

XI. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Takács István professzor úrnak a tudományos kutatásban és a publikációk megírásában nyújtott kitartó iránymutatásáért és segítségért.

Köszönöm a Belgyógyászati és Onkológiai Klinika Lakatos Péter professzor úr által vezetett endokrin munkacsoportjának, hogy lehetőséget és támogató szakmai közeget biztosítottak a vizsgálatok elvégzéséhez. Külön köszönet illeti Dr. Szili Balázs és Dr. Horváth Péter kollégáimat akikkel munkámat együtt végeztem valamint Dr. Tabák Ádámot, aki felkeltette bennem a statisztikai módszerek iránti érdeklődést.

Nagyon köszönöm Toldy Erzsébet professzor asszonynak a laboratóriumi mérésekben nyújtott segítségét. Köszönet illeti továbbá a kutatásban részt vevő valamennyi háziorvost akik a vizsgálatok kivitelezését lehetővé tették.

Legfőképpen pedig hálával tartozom családomnak: Kónya Klárának, Bakos Annának, Gimes Júliának és Bakos Istvánnak türelmükért és odaadó támogatásukért.