

Witamina D – co poza działaniem na szkielet?

Vitamin D – beyond skeletal activities

Joanna Dytfeld, Wanda Horst-Sikorska

Katedra i Zakład Medycyny Rodzinnej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu,
p.o. kierownika: dr n. med. Anna Wawrzyniak

Przeгляд Menopauzalny 2013; 17 (5): 409-417

Streszczenie

Witamina D jest znanym od lat czynnikiem niezbędnym dla kości oraz prawidłowego funkcjonowania gospodarki mineralnej. Udział jej niedoborów w patogenezie schorzeń z pogranicza endokrynologii, ginekologii i reumatologii, tj. krzywicy, osteomalacji oraz osteoporozy, jest dobrze udokumentowany. Głównym źródłem witaminy D u ludzi jest synteza skórna. Pomimo braku wspólnie przyjętej definicji optymalnego stężenia witaminy D w surowicy liczne opublikowane prace donoszą o rozpowszechnieniu hipowitaminozy D na całym świecie. Polscy eksperci zalecają wdrożenie populacyjnej strategii uzupełniania cholekalcyferolu u osób dorosłych. Szczególnie ważna w tym zakresie jest grupa kobiet w wieku okołomenopauzalnym – udowodniono dla niej skuteczność suplementacji witaminą D w profilaktyce złamań osteoporotycznych zarówno kręgowych, jak i pozakręgowych. Pośrednio prawidłowe zaopatrzenie w witaminę D wpływa na ryzyko upadków, które także stanowią czynnik złamania osteoporotycznego. Coraz więcej jest doniesień mówiących o licznych, pozaustrojowych działaniach tej rozpuszczalnej w tłuszczach witaminy, m.in.: w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej, hamowaniu nowotworzenia, wpływie na wysokość ciśnienia tętniczego i gospodarkę węglowodanową. Hipowitaminozę D łączy się także ze zwiększonym ryzykiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych oraz śmiertelności z tych przyczyn. Molekularne podłoże tych zależności jest ciągle dyskutowane. Brakuje jednoznacznych dowodów co do wpływu suplementacji cholekalcyferolu na rozwój omawianych procesów, jednak dane z badań przekrojowych i obserwacyjnych wskazują na związek hipowitaminozy D z różnymi patologiami.

Słowa kluczowe: witamina D, cholekalcyferol, osteoporoza, nadciśnienie tętnicze, choroby autoimmunologiczne, choroby sercowo-naczyniowe, cukrzyca.

Summary

Vitamin D is a well-known factor necessary for the proper functioning of the mineral and bone metabolism. Its deficiency plays a well documented role in the pathogenesis of diseases common for endocrinology, gynecology and rheumatology, such as rickets, osteomalacia and osteoporosis. The main source of vitamin D in humans is cutaneous synthesis. Despite the lack of commonly accepted definition of an "optimal" levels of serum vitamin D, many published papers have reported high prevalence of hypovitaminosis D all over the world. Polish experts recommend implementing the populational strategy of vitamin D supplementation in adults. Postmenopausal women constitute the particularly important group in this context – in this cohort supplementation with vitamin D was beneficial in vertebral and non-vertebral risk reduction. Indirectly, proper vitamin D supply reduces the risk of falling, which is also risk factors for osteoporotic fracture. There is also increasing data on the numerous extraskeletal actions of this fat-soluble vitamin i.a. in modulating the immune response, inhibiting neoplastic growth, influence on blood pressure and blood glucose level. Hypovitaminosis D has been also linked with increased cardiovascular risk and mortality. Molecular background of these associations remains under dispute. Despite the lack of conclusive data on the effects of cholecalciferol supplementation on the development of these processes, data from observational and cross-sectional studies linking hypovitaminosis D with several pathologies are quite convincing.

Key words: vitamin D, cholecalciferol, osteoporosis, arterial hypertension, autoimmune diseases, cardiovascular diseases, diabetes.

Adres do korespondencji:

Joanna Dytfeld, Katedra i Zakład Medycyny Rodzinnej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

Witamina D jest niezbędna do utrzymania prawidłowej gospodarki wapniowo-fosforanowej w organizmie jako czynnik regulacji prawidłowego przebiegu mineralizacji kości (tzw. działanie klasyczne). Ostatnio nasza wiedza poszerzyła się o dowody mówiące o udziale witaminy D w prawidłowej czynności komórek, tkanek i narządów niezwiązanych z gospodarką mineralną (tzw. działanie nieklasyczne). Pośrednich dowodów dla tej tezy dostarcza fakt rozległej ekspresji receptorów dla witaminy D (*vitamin D receptor* – VDR) właściwie we wszystkich tkankach organizmu [1].

Głównym (90%) źródłem witaminy D jest synteza skórna. Pod wpływem promieniowania ultrafioletowego typu B (UVB) dochodzi do konwersji 7-dehydrocholesterolu do cholekalcyferolu (witaminy D₃). Podlega ona hydroksylacji w wątrobie do 25-hydroksycholekalcyferolu (25(OH)D), a następnie w nerkach do aktywnego metabolitu – 1,25-dihydroksycholekalcyferolu (1,25(OH)₂D). Kalcytriol jest hormonem steroidowym regulującym transkrypcję ponad 200 genów, a 1 α -hydroksylacja jest zarazem etapem limitującym w syntezie aktywnej witaminy D. Poza nerkami ekspresję mRNA dla genu 1 α -hydroksylazy (*CYP27B1*) wykazano w skórze, makrofagach i kościach. Powstawanie aktywnej postaci witaminy D jest hamowane zwrotnie przez: 1,25(OH)₂D, niedobór parathormonu (PTH) i peptyd PTH-podobny (*parathyroid hormone-related protein* – PTHrP), hiperkalcemię, hiperfosfatemię, kalcytoninę oraz kwasicę metaboliczną [2]. Etapem końcowym przemian witaminy D jest poddanie aktywnej formy działaniu 24-hydroksylazy (*CYP24A1*), szeroko rozpowszechnionej w organizmie, która ogranicza ilość 1,25(OH)₂D, przekształcając go w nieaktywne metabolity (np. 1,24,25(OH)₃D) oraz w 24,25(OH)₂D.

Klasyczne efekty działania 1,25(OH)₂D zachodzą po połączeniu się z VDR. Ten należący do rodziny jądrowych steroidowych receptor został odkryty w 1974 r. przez Brumbaugh'a i Hausslera [3]. Połączenie 1,25(OH)₂D z VDR działa jako czynnik transkrypcyjny – prowadzi do zmian konformacyjnych oraz do interakcji z receptorem retinoidowym (*retinoid X receptor* – RXR). Powstaje heterodimer – kompleks 1,25D-VDR-RXR, który łączy się z elementem odpowiedzi (*vitamin D response element* – VDRE) w obrębie DNA. Rezultatem jest regulacja licznych funkcji komórkowych, m.in.: procesów metabolicznych zaangażowanych np. we wchłanianie wapnia w obrębie przewodu pokarmowego i kanalików nerkowych, naprawę DNA, różnicowanie i apoptozę komórek, stres oksydacyjny.

Działanie klasyczne

Klasycznymi jednostkami chorobowymi kojarzonymi z niedoborem witaminy D są krzywica i osteomalacja. Wiadomo jednak, że nawet mniej nasilone zaburzenia metabolizmu 1,25(OH)₂D mają istotny wpływ na gę-

stość mineralną kości oraz docelowo na jej jakość, co jest szczególnie widoczne u osób starszych. W tej grupie bowiem najczęściej dochodzi do złamań osteoporotycznych obarczonych licznymi powikłaniami, w tym zwiększoną śmiertelnością. Wraz z rosnącą istotną śmiertelnością oraz z ogromnymi nakładami finansowymi na leczenie. Wraz z rosnącą długością życia częstość występowania złamań rośnie, np. w Stanach Zjednoczonych rocznie przekracza liczbę zawałów serca, udarów mózgu i zachorowań na raka piersi [4]. Zapobieganie złamaniom u osób starszych stało się jednym z wiodących celów programów profilaktycznych na całym świecie.

Niedostateczne stężenie witaminy D w surowicy zwiększa ryzyko złamania osteoporotycznego z dwóch powodów – po pierwsze hipokalcemia oraz następcza wtórna nadczynność przytarczyc determinują upośledzenie mineralizacji, po drugie wraz z wiekiem u ludzi zmniejsza się masa i siła mięśni poprzecznie prążkowanych na korzyść ogólnej zawartości tkanki tłuszczowej. Sarkopenia negatywnie wpływa na globalną sprawność układu ruchu, skutkując zwiększeniem ryzyka upadków – od 30% rocznie wśród osób 65-letnich do 50% u osiemdziesięciolatków i starszych [5]. Uznawane są one za najważniejszą przyczynę urazów u osób starszych. Komórki mięśniowe mają na swojej powierzchni receptory dla witaminy D, których liczba – wraz z postępującą sarkopenią oraz wiekiem – także spada. Tłumaczy to związek niedoboru witaminy D z bólami, osłabieniem i zanikiem mięśni (miopatia). Wraz z wiekiem ekspresja tych receptorów istotnie maleje [6]. Ze względu na polietiologiczny charakter upadków, ich poważne konsekwencje medyczne, ekonomiczne i społeczne zaliczane są one do wielkich problemów geriatrycznych (*geriatric giants*). Są jedną z głównych przyczyn hospitalizacji w tej grupie wiekowej oraz stanowią ważny, niezależny czynnik utraty samodzielności funkcjonalnej. Liczne prace wykazały korzyści z suplementacji witaminą D w redukcji liczby upadków wśród starszych pacjentów z jej udowodnionym niedoborem. Metaanaliza obejmująca 5 badań z randomizacją i 1237 chorych pokazała spadek częstości upadków o 22% przy suplementacji 800 IU cholekalcyferolu w porównaniu z grupą kontrolną [7].

Przeprowadzone dotychczas badania do niedawna nie dawały jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, czy suplementacja witaminą D wpływa na zmniejszenie ryzyka złamania osteoporotycznego. Z uwagi na różną charakterystykę badanych grup chorych, różne dawki witaminy D oraz zróżnicowaną długość obserwacji wyniki były sprzeczne. Przykładowo badanie WHI (*Women Health Initiative*) prowadzone w grupie kobiet po menopauzie w obserwacji 7-letniej nie wykazało skuteczności takiej suplementacji w profilaktyce złamańiskoenergetycznych. Po uwzględnieniu jedynie osób, które pobierały witaminę D i wapń przez > 80% czasu (dobra tzw. *adherence*), wykazano jednak istotną statystycznie redukcję ryzyka złamania szyjki kości udowej – 29% [8]. Podob-

nie w badaniu Decalys I udowodniono redukcję występowania złamań pozakręgowych (o 32%) i kręgowych (o 43%), a trend ten widoczny był także w dalszej obserwacji po 36 miesiącach [9]. Podkreślić trzeba, że w grupie leczonej tylko preparatami wapnia oraz grupie placebo obserwowano wzrost częstości złamań. Wnioski powyższe kontestowali badacze brytyjscy, którzy w dwóch opublikowanych w 2004 i 2005 r. badaniach nie stwierdzili korzyści z analogicznej suplementacji (1000 mg wapnia i 800 IU witaminy D) w stosunku do częstości złamań osteoporotycznych (brak różnic vs placebo) [10, 11].

Sytuację zmieniła niedawno opublikowana metaanaliza Bischoff-Ferrari, która objęła ponad 31 tys. osób podzielonych w zależności od rzeczywistej przyjmowanej dawki witaminy D [12]. Potwierdziła ona mniejsze ryzyko złamania bliższego odcinka kości udowej (RRR 30%; NNT 88) i złamania pozakręgowego (RRR 14%; NNT 57) w grupie osób przyjmujących witaminę D w dawce 792–2000 IU/dobę. Redukcja ryzyka złamania miała związek ze stężeniem witaminy D w surowicy. Wnioski z cytowanego badania są o tyle istotne, że praca pozbawiona jest mankamentów metodologicznych zawartych w innych publikacjach.

Trudno nie doceniać roli witaminy D w profilaktyce i leczeniu osteoporozy, nie zmienia to jednak faktu, że pacjenci z rozpoznaną chorobą mogą osiągnąć dalsze korzyści z dodatkowego leku przeciwresorpcyjnego lub anabolicznego.

W regulacji przemian kostnych oprócz witaminy D rolę odgrywa wiele związków: PTH, hormony płciowe, kortyzol, insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (*insulin-like growth factor 1* – IGF1), prostaglandyny. Znaczący wpływ mają cytokiny i czynniki wzrostowe działające lokalnie na komórki kostne. Remodeling kostny jest dynamicznym, nieustannie zachodzącym procesem stałej wymiany, która umożliwia spełnianie funkcji motorycznej i metabolicznej kości, a także naprawę powstałych mikrouszkodzeń oraz gojenie po złamaniu. W sytuacji pomenopauzalnego deficytu estrogenów, stosowania glukokortykosteroidów lub przewlekłych stanów zapalnych następuje patologiczna przewaga osteoklastogenezy i wzrost resorpcji kostnej. Mechanizm ten uważa się za odpowiedzialny za osteoporozę pomenopauzalną i większość osteoporoz wtórnych. Kluczowy mechanizm regulacyjny opisanych procesów dotyczy aktywacji szlaku metabolicznego RANK/RANKL/OPG, który odpowiada za szeroko rozumianą funkcję osteoklastów. Ligand aktywatora receptora jądrowego czynnika κ B (*receptor activator of NF- κ B ligand* – RANKL) należy do nadrodziny czynnika martwicy nowotworów (*tumor necrosis factor* – TNF). Łącząc się z receptorem NF- κ B na powierzchni osteoklastów lub ich prekursorów, powoduje różnicowanie osteoklastów, zwiększa ich aktywność i hamuje apoptozę. Czynniki RANKL sprzyja resorpcji kości [jego inne spotykane w piśmiennictwie nazwy to czynnik różnicujący osteoklasty (*osteoclast differentiation fac-*

tor – ODF) lub TRANCE (*TNF-related activation-induced cytokine*)]. O interakcję z tym samym receptorem jądrowym współzawodniczy osteoprotegeryna (OPG), będąca rozpuszczalnym białkowym „receptorem – pułapką”. Po połączeniu RANK z OPG dochodzi do blokady konkurencyjnego połączenia RANK-RANKL, zahamowania osteoklastogenezy i przewagi kościotworzenia [13]. Względne stężenia RANKL i OPG w kości decydują o kierunku remodelingu, strukturze i wytrzymałości kości.

Dzięki rozwojowi biologii molekularnej możliwa stała się synteza innowacyjnych leków, które umożliwiają celowaną terapię. Przykładem jest monoklonalne przeciwciało anti-RANKL – denosumab, mające praktyczne zastosowanie w leczeniu osteoporozy i hamowaniu powstawania przerzutów nowotworowych do kości w przebiegu raka, np. prostaty [14].

Zjawiskiem, którego rangę ostatnio istotnie się podnosi, jest niegenomowy wpływ witaminy D na przezbłonowy transport wapnia. W badaniach eksperymentalnych wykazano, że rola enzymów hydroksylujących jest różna w zależności od dostępności wapnia. Przy jego dużym stężeniu w osoczu aktywność 1 α -hydroksylazy (CYP27B1) w nerce spada, natomiast w kości – wzrasta, zwiększając w niej wbudowywanie wapnia. Wykazano, że istnieje odwrotna korelacja między stężeniem witaminy D a ekspresją mRNA CYP27B1 w kości, natomiast dodatnia – w nerce. Wydaje się zatem, że mechanizmy kontrolujące działanie hormonalne witaminy D mogą być inaczej regulowane niż te, które uczestniczą w jej aktywności auto- i parakrynej [15].

Działania nieklasyczne

Modulowanie odpowiedzi immunologicznej

Od około 30 lat dysponujemy dowodami przemawiającymi za udziałem witaminy D w regulacji szeroko pojętej odpowiedzi immunologicznej, co jest jednym z najlepiej udokumentowanych nieklasycznych działań witaminy D. Wiele komórek – limfocyty B, T, monocyty, makrofagi, komórki prezentujące antygen, komórki dendrytyczne – posiada zarówno aktywność hydroksylacji 25(OH)D do jej aktywnej postaci, jak i VDR [16]. Witamina D ulegająca lokalnej ekspresji podlega regulacji odmiennej niż klasyczna. Jej ekspresję może stymulować TNF- α , interferon γ oraz niektóre interleukiny [16].

W kontekście tzw. odporności wrodzonej przez wiele lat wiązano witaminę D z jej zdolnością do stymulacji różnicowania prekursorowych monocytów do dojrzałych postaci – makrofagów, co może warunkować działanie antibakteryjne witaminy D. Obecnie wiadomo, że 1,25(OH)₂D pozytywnie reguluje ekspresję genów określonych peptydów przeciwbakteryjnych, np. katelicyny (*cathelicidin antimicrobial peptide*), wykazującej działanie przeciwbakteryjne wobec prątków gruźlicy oraz B2-defensyny [17].

W zakresie odporności typu humoralnego (adaptacyjnej) rola witaminy D jest bardziej złożona. Zarówno pobudzone limfocyty B, jak i T wykazują ekspresję dla VDR. Kalcetriol wpływa na fenotyp limfocytów T poprzez blokadę aktywności Th1 na rzecz limfocytów Th2 [18]. Ponadto hamuje produkcję przeciwciał przez limfocyty B [19]. W próbach wyjaśnienia tła autoagresji wielu chorób i roli, jaką odgrywa w nich witamina D, wiele miejsca poświęca się limfocytom T regulującym, tzw. Treg (fenotyp CD4/CD25) wydzielającym interleukinę 10 (IL-10), których aktywność istotnie stymuluje kalcetriol [20]. Limfocyty Treg są odpowiedzialne za hamowanie nadmiernej reakcji przeciwzapalnej, m.in. dlatego witaminie D przypisuje się działanie immunomodulujące. Zarówno w badaniach eksperymentalnych, jak i klinicznych wykazano, że niedobór witaminy D sprzyja rozwojowi chorób autoimmunologicznych – m.in. stwardnienia rozsianego (*sclerosis multiplex* – SM) [21] oraz cukrzycy typu 1 [22]. W przypadku cukrzycy, poza badaniami obserwacyjnymi istnieje szereg danych z badań interwencyjnych, wskazujących na korzystną rolę suplementacji witaminą D w regresji procesu autoimmunizacji trzustki i poprawie sekrecji insuliny. Pierwotnie, w badaniach eksperymentalnych na myszach NOD pokazano, że terapia witaminą D zapobiegała rozwojowi *insulitis* oraz cukrzycy [23]. Co więcej, w dużych, wieloosrodkowych badaniach przekrojowych suplementacja witaminą D zmniejszała zachorowalność na cukrzycę typu 1 [24]. Pokazała to także Hypponen w 30-letniej obserwacji dzieci w Finlandii – przyjmowanie 2000 j. witaminy D dziennie przez pierwszy rok życia skutkowało zmniejszonym ryzykiem względnym rozwoju cukrzycy typu 1 [RR = 0,22, (95% CI: 0,05–0,98)] w porównaniu z osobami, które przyjmowały mniejszą dawkę [25]. U dzieci matek przyjmujących witaminę D w czasie ciąży suplementacja korelowała ujemnie z mianem przeciwciał przeciwwyspowych [26]. Powyższe obserwacje nie zostały jednak potwierdzone przez innych autorów [27].

Wiele dowodów łączy stężenie witaminy D z ryzykiem rozwoju oraz przebiegiem SM. Opisano zależność od szerokości geograficznej i stopnia nasłonecznienia zróżnicowanie zachorowalności na SM [28]. Wśród dzieci, które eksponowane były na słońce, ryzyko rozwoju SM w późniejszym życiu było mniejsze [29]. Brak jednak kontrolowanych placebo badań z randomizacją, które dowodziłyby z odpowiednią mocą statystyczną skuteczności suplementacji witaminą D w łagodzeniu przebiegu SM, ale wyniki mniejszych, niekontrolowanych badań są zachęcające.

Wpływ na rozwój cukrzycy typu 2

Dowody z prac eksperymentalnych wskazują na wyraźną rolę witaminy D w metabolizmie glukozy i insuliny. Związki łączące witaminę D i metabolizm węglowodanów obejmują m.in.: obecność VDR, ekspresję

1 α -hydroksylazy w komórkach β trzustki oraz obecność VDRE w regionie promotora ludzkiego genu insuliny [30]. Udowodniono pozytywny wpływ 1,25-dihydroksywitaminy D na transkrypcję genu insuliny oraz ekspresję receptora insuliny u człowieka [31].

Wykazano, że niedobór witaminy D *in vitro* hamuje indukowaną arginina sekrecję insuliny w szczurzej trzustce [32], po jej suplementacji następuje poprawa [33]. U myszy pozbawionych funkcjonalnego VDR obserwowano gorszą tolerancję glukozy i słabsze wydzielanie insuliny w porównaniu ze zwierzętami posiadającymi receptor o prawidłowej strukturze [34]. Niedobór witaminy D ma wpływ na gospodarkę węglowodanową najprawdopodobniej także przez wpływ na wewnątrzkomórkowe stężenie wapnia [35]. Zwiększenie jego stężenia, spowodowane np. nadprodukcją PTH, hamuje postreceptorowe działanie insuliny przez wpływ na przezbłonowy receptor dla glukozy GLUT-4. Sugeruje się, że zwiększone w sposób ciągły stężenie wapnia może być zbyt słabym stymulatorem komórek docelowych dla insuliny oraz wydzielania samej insuliny przez komórki β trzustki [36]. Inna hipoteza dotyczy działania na substrat receptora dla insuliny (*insulin receptor substrate* – IRS-1). Zwiększone stężenia wewnątrzkomórkowego wapnia mogą powodować nadmierne łączenie się kalmoduliny z IRS-1, co interferując z fosforylacją tyrozyny i aktywacją kinazy 3-fosforanowej, blokuje przekazywanie sygnału insulinowego do komórek docelowych [37].

Witamina D ma wpływ na ekspresję cytokin prozapalnych. Istnieją umiarkowane silnie dowody na odwrotną korelację między stężeniem witaminy D a stężeniem niektórych z nich (białka C-reaktywnego, tkankowego inhibitora metaloproteinazy 1, i in.) [38]. Dowiedziono, że u osób z prawidłowym stężeniem witaminy D produkcja przeciwzapalnej IL-10 jest wyższa [39]. Witamina D może także bezpośrednio poprawiać wrażliwość na insulinę poprzez oddziaływanie na receptor PPAR δ , czyli czynnik transkrypcyjny regulujący metabolizm wolnych kwasów tłuszczowych w mięśniach oraz tkance tłuszczowej [40].

W świetle hipotezy, że witamina D reguluje wydzielanie insuliny przeprowadzono badanie wpływu wariantów ludzkiego genu VDR na rozwój cukrzycy typu 2. Szczegółowo opisano cztery częste warianty alleliczne genu VDR: *FokI*, *BsmI*, *Apal*, *TaqI*. U homozygot aa *Apal* VDR wykazano związek hipowitaminozy D z niską sekrecją insuliny [41, 42]. Wśród młodych mężczyzn z niską aktywnością fizyczną, nosicieli allelu BB *BsmI* VDR wykazano istotnie wyższą glikemię na czczo w porównaniu z heterozygotami [43], natomiast u homozygot FF *FokI* VDR – lepszą wrażliwość na insulinę (model HOMA) [44]. Popierając powyższe dowody obserwacją o wyższym stężeniu witaminy D u osób z prawidłową insulinowrażliwością, autorzy sugerowali, że polimorfizm *FokI* może być niezależną determinantą wrażliwości na insulinę u człowieka.

Metaanaliza Pittasa i wsp. wykazała związek między małym stężeniem witaminy D a rozpowszechnieniem cukrzycy typu 2 (OR = 0,36; 95% CI: 0,6–0,8) oraz zespołu metabolicznego (OR = 0,71; 95% CI: 0,57–0,8) [45]. Dużych danych przekrojowych dostarczyła analiza NHANES III, która ujawniła, że wraz ze zwiększeniem stężenia 25(OH) witaminy D u osób rasy kaukaskiej spada ryzyko zachorowania na cukrzycę typu 2 i wzrasta stopień insulinowrażliwości [46]. Potwierdzono tę obserwację u kobiet ciężarnych oraz dzieci [47, 48]. Analiza NHANES III nie wykazała jednak związku między czynnością komórek β trzustki a stężeniem witaminy D [46]. To ostatnie spostrzeżenie jest zgodne z wynikami analizy LIPGENE obejmującej 446 chorych z rozpoznanyim zespołem metabolicznym [49]. Po wykonaniu dożylnego testu obciążenia glukozą (*intravenous glucose tolerance test* – IVGTT) i obliczeniu pośrednich wykładników insulinowrażliwości nie stwierdzono związku między sekrecją insuliny a stężeniem 25(OH)D. Częściowo odwrotne spostrzeżenie przedstawili Chiu i wsp., którzy badali insulinowrażliwość u zdrowych osób rasy białej za pomocą złotego standardu – kłamry euglikemicznej [50]. Wykazali, że stężenia witaminy D dodatnio korelowały ze stopniem insulinowrażliwości, natomiast ujemnie z wydzielaniem insuliny w pierwszej i drugiej fazie.

W opublikowanych do tej pory 7 badaniach z randomizacją kontrolowanych placebo dotyczących wpływu suplementacji witaminy D na rozwój cukrzycy wyniki były zbliżone [45]. Dawki witaminy wahały się od 400 IU dziennie do 100 000 IU jednorazowo. W większości z nich przy podawaniu witaminy D (bez wapnia) nie udowodniono wpływu na poziomy glikemii. Jedyнным doniesieniem przemawiającym na korzyść suplementacji witaminą D w dawce 700 IU łącznie z 500 mg węglanu wapnia były wyniki pracy dotyczącej zasadniczo efektów kosztnych takiej terapii [51]. W analizie *post-hoc* chorzy z rozpoznaną upośledzoną glikemią na czczo (*impaired fasting glucose* – IFG) po 3 latach terapii wykazywali niższe poziomy glikemii na czczo oraz niższy stopień insulinoporności w porównaniu z grupą otrzymującą placebo. Wydaje się zatem, że kwestia rzeczywistego wpływu małych stężeń witaminy D oraz konieczność jej suplementacji mająca zapobiec rozwojowi cukrzycy typu 2 pozostają otwarte. Nadal nie wiadomo, jaki poziom witaminy D należałoby uznać za docelowy oraz jaka długość terapii – jeśli w ogóle – byłaby najwłaściwsza. Konieczne są badania z randomizacją zaprojektowane w tym konkretnym celu, podobnie jak duże prospektywne badania obserwacyjne oceniające wyjściowo wpływ stężenia witaminy D na rozwój zaburzeń metabolicznych.

Choroby sercowo-naczyniowe

Witamina D może wywierać korzystny wpływ na ciśnienie tętnicze poprzez układ renina–angiotensyna–aldosteron, poprzez supresję produkcji reniny [52]. Re-

ceptor dla witaminy D jest obecny w komórkach śródbłonna, który może być potencjalnym miejscem docelowym działania tego hormonu [53].

Badania eksperymentalne wykazały, że myszy pozbawione VDR mają podwyższone ciśnienie tętnicze oraz wysoką aktywność reninową osocza [54]. Podobnie w badaniach u ludzi udowodniono, że stężenia witaminy D odwrotnie korelują z wartościami ciśnienia u osób zdrowych oraz u hipertoniców [55]. Analizy z poprzednich lat jako zastępczego wyznacznika stężenia witaminy D używały stopnia napromieniowania promieniami UVB. Badanie Intersalt u ponad 10 tys. chorych pokazało, że wartości ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego były istotnie dodatnio skorelowane z odległością od równika [56]. Podobne spostrzeżenia dotyczyły mieszkańców północnej vs południowej Afryki [57], jak również wyższych wartości ciśnienia tętniczego u osób zamieszkujących Europę i Kanadę w miesiącach zimowych w stosunku do letnich wartości ciśnienia [58].

Jedno z nielicznych badań prospektywnych – *Nurses Health Study* – ujawniło, że małe stężenia witaminy D wiązały się z podwyższonym ryzykiem rozwoju nadciśnienia tętniczego u zdrowych nieotyłych kobiet [59]. Metaanaliza Witham i wsp. ujawniła niewielki, ale istotny statystycznie spadek ciśnienia tętniczego rozkurczowego u chorych z wyjściowo podwyższonym ciśnieniem otrzymujących suplementację witaminą D, bez wpływu na wartość ciśnienia u osób normotensyjnych [60]. Z kolei w badaniu WHI wśród 36 282 osób nie wykazano wpływu podawania 400 IU witaminy D i 1000 mg wapnia na wartości ciśnienia. Cel ten jednak nie był pierwotnie zaprojektowany, a chore objęte badaniem miały wyjściowo prawidłowe wartości ciśnienia tętniczego [61].

Istnieją liczne przesłanki co do kardioprotekcyjnego działania witaminy D [62]. Możliwe drogi tego działania to:

- korzystny wpływ na insulinowrażliwość, co przekłada się na stan śródbłonna naczyniowego,
- hamowanie ekspresji molekuł adhezyjnych w śródbłonku,
- hamowanie peroksydacji lipidów i proliferacji mięśni gładkich ściany naczyniowej w ścianie naczyniowej,
- hamowanie kalcyfikacji ściany naczyniowej przez wpływ na białka morfogenetyczne kości (dane niejednoznaczne) oraz przez profilaktykę nadczynności przytarczyc (hipowitaminoza D, indukując hipokalcemię, wtórnie prowadzi do hipersekrecji PTH, co niekorzystnie wpływa na naczynia) [63].

Z badań obserwacyjnych wiadomo o zwiększonym ryzyku sercowo-naczyniowym – aż do zgonu włącznie – wśród osób z hipowitaminozą D [64–66]. W *Intermountain Heart Collaborative Study* obejmującym ponad 40 tys. pacjentów z populacji ogólnej udowodniono, że niedobór witaminy D (< 30 ng/ml) wiązał się z zwiększonym prawdopodobieństwem rozwoju: cukrzycy, nadciśnienia, dysli-

pidemii, miażdżycy naczyń obwodowych, niewydolności serca i udaru mózgu, także u osób bez współistniejących czynników ryzyka [67]. W badaniu *Health Professionals Follow-up Study* w ciągu 10 lat obserwacji wykazano zwiększony odsetek zawałów serca u osób uprzednio zdrowych, jeśli ich wyjściowe stężenia witaminy D nie przekraczały 15 nmol/ml [68]. Parker i wsp. wykazali, że u osób z relatywnie najwyższymi stężeniami 25(OH)D wystąpiła istotna redukcja chorób kardiometabolicznych (cukrzyca typu 2, zespołu metabolicznego, chorób sercowo-naczyniowych) (OR = 0,57; 95% CI: 0,48–0,68) [69].

W kontekście chorób o podłożu miażdżycowym ważną rolę przypisuje się wspomnianej wcześniej osteoprotegerynie, kluczowemu regulatorowi metabolizmu kostnego. Chociaż większość badań eksperymentalnych wykazuje jej działanie przeciwdziałające kalcyfikacji naczyniowej, badania obserwacyjne u ludzi paradoksalnie pokazały duże stężenia OPG w surowicy u chorych z klinicznie jawną miażdżycą naczyń [70]. Nie wiadomo, czy ten wzrost stężeń jest mechanizmem obronnym czy może odwrotnie – markerem rozwoju zmian miażdżycowych w naczyniach. Zależności te wśród kobiet po menopauzie badał także nasz zespół [71].

Nowotworzenie

Wiele danych epidemiologicznych dostarcza dowodów, że zarówno częstość, jak i stopień zaawansowania różnych nowotworów koreluje ujemnie ze stężeniem witaminy D w surowicy i stopniem nasłonecznienia promieniami UVB [72, 73]. Taką asocjację wykazano wobec kilkunastu typów nowotworów (m.in.: pęcherza moczowego, piersi, jelita grubego, przełyku). Mechanizmy antynowotworowego wpływu witaminy D są znane. Badania molekularne pokazały, że 1,25(OH)2D działa niczym czynnik transkrypcyjny, który może regulować wszystkie etapy nowotworzenia: wzrost, różnicowanie komórek oraz apoptozę [74]. Receptor VDR ulega także ekspresji w komórkach nowotworowych. Mechanizm działania kalcytriolu jest zarówno genomowy, jak i pozagenomowy – poprzez interakcje z błoną komórkową. Zidentyfikowano tam nowy receptor dla witaminy D – MARRS (*membrane associated, rapid-response steroid-binding*), poprzez interakcje z którym witamina D uruchamia w komórce system drugiego przekaźnika, np. fosfolipazy C, białkowej kinazy C i innych, oraz doprowadza do otwarcia sterowanych napięciem kanałów wapniowych lub chlorkowych (65S) [75]. Docelowo może to zmienić ekspresję konkretnego genu.

Wobec doniesień o związku niskich stężeń 25(OH)D z większą częstością występowania nowotworów należy ocenić krytycznie przynajmniej niektóre z nich, ponieważ analizowały one stężenia witaminy D w surowicy retrospektywnie, po rozpoznaniu nowotworu, a nawet po jego leczeniu, co mogło wpływać na otrzymane rezultaty. Badania, które prospektywnie oceniały rozwój

raka piersi w zależności od wyjściowego poziomu witaminy D, nie dostarczyły tak jednoznacznych wyników.

Niewiele opublikowano badań klinicznych z randomizacją, w których wpływ suplementacji witaminy D na częstość zachorowań na raka lub śmiertelność z ich powodu byłby pierwszorzędowym punktem końcowym. Trivedi i wsp. wśród pacjentów praktyki lekarza rodzinnego, które przyjmowały 100 tys. IU cholekalcyferolu co 4 miesiące lub placebo, nie wykazali związku między taką suplementacją a zachorowalnością oraz śmiertelnością z powodu nowotworu po 5 latach [76]. Podobnie we wspomnianym badaniu WHI podawanie 400 IU witaminy D oraz 1 g wapnia nie wpłynęło na częstość nowych przypadków nowotworu jelita grubego [77]. Najszerzej komentowana była publikacja Lappe i wsp., którzy oceniali wpływ suplementacji 1100 j. witaminy D i/lub 1400 mg wapnia elementarnego u 1100 zdrowych kobiet po menopauzie [78]. Suplementacja ta wykazała 60-procentową redukcję ryzyka zachorowania na nowotwór, m.in. jelita grubego. Wyniki badania jednak podważano ze względu na małą grupę badaną i związane z tym błędy w interpretacji danych.

Opublikowane w 2011 r. amerykańskie zalecenia *Institute of Medicine* zalecają suplementację witaminą D w odniesieniu wyłącznie do efektów kostnych terapii. Nie rekomendują jej natomiast w celu zmniejszenia ryzyka nowotworzenia z powodu niejednoznacznych i niewystarczających danych w tym zakresie [79]. Ciągłe spotyka się to z oporem wybitnych badaczy amerykańskich zajmujących się witaminą D, którzy uważają, że dane służące formułowaniu takich wytycznych są niepełne lub niewłaściwe. Wydaje się, że pogląd w tym zakresie będzie ewoluował.

Deficyt, niedobór i hipowitaminoza D

Oceny stężenia witaminy D w surowicy dokonuje się za pomocą prohormonu 25(OH)D, ponieważ jego stężenie jest ok. 1000 razy większe niż kalcytriolu, ma on także istotnie dłuższy czas półtrwania (2–3 tygodnie vs 4–6 godzin) [80]. Za optymalne stężenie witaminy D uważa się 75–200 nmol/l, czyli 30–80 ng/ml [81].

Przyczyny niedoboru [stężenie 25(OH)D poniżej 20 ng/ml] oraz hipowitaminozy D (20–30 ng/ml) mogą wynikać z różnych przyczyn. Najczęściej jest to obniżona synteza skórna oraz niedostateczna podaż w diecie. Rozwojowi tych zjawisk sprzyja otyłość, choroby wątroby i nerek, a także choroby genetyczne, przewlekłe choroby jelit oraz stosowanie niektórych leków, np. przeciwdrgawkowych.

Zarówno niedobór witaminy D, jak i hipowitaminoza D są niestety bardzo powszechne i występują u kilkudziesięciu procent zdrowych ludzi w wielu regionach świata, niezależnie od rasy, płci i wieku. W przypadkach deficytu [stężenie 25(OH)D poniżej 10 ng/ml] aktywnej witaminy D – na przykład w sytuacjach braku syntezy

1,25(OH)₂D₃ w nerkach – choroby, takie jak krzywica lub osteomalacja, ujawniają się szybko, co daje szansę na szybkie włączenie właściwego leczenia. W sytuacjach najczęściej spotykanych przewlekłych niedoborów stężeń witaminy D wystąpienie patologii może być opóźnione w czasie (długi okres latencji) i prawidłowa terapia rozpoczyna się późno. Tak może się zdarzyć w przypadkach: osteoporozy, chorób serca i naczyń, otyłości lub zespołach zaburzeń odporności.

Warto zwrócić uwagę na fakt, że bez odpowiedniej suplementacji farmakologicznej witaminą D w większości przypadków uzyskanie jej właściwego stężenia w surowicy nie jest możliwe. Dodatkowo, powszechnie zwyczajowo stosowane dawki witaminy D w wysokości 200–400 IU dziennie są w świetle obecnych badań niewystarczające. Co więcej, należy odróżnić podawanie witaminy D jako element wczesnej profilaktyki w populacji zdrowej od leczenia już występujących jej niedoborów z indywidualnych wskazań u wybranych pacjentów. Rekomendowana w polskich wytycznych wysokość podawanej profilaktycznie doustnej dawki witaminy D (cholekalcyferolu) mieści się w przedziale 800–2000 IU dla zapewnienia stężenia 25(OH)D w surowicy > 30 ng/ml [81]. Należy zalecać ekspozycję na słońce 20 minut dziennie bez stosowania filtrów ochronnych – wystarczająca jest ekspozycja twarzy, rąk i przedramion. Stymulację syntezy skórnej można także uzyskać, wykorzystując sztuczne źródła promieniowania UVB z monitorowaniem poziomu 25(OH)D co 3 miesiące. Dawka lecznicza witaminy D to co najmniej 5000 ÷ 10 000 IU/d (ok. 50 000 IU/tydzień) przez 1–3 miesiące (w zależności od stopnia niedoboru). Po osiągnięciu optymalnego stężenia 25(OH)D należy przejść na dawkę podtrzymującą (1000–2000 IU/dobę) [84]. W niektórych przypadkach zaleca się stosowanie większych dawek suplementacyjnych witaminy D – taka potrzeba często występuje u ludzi starszych, zamieszkujących północne regiony świata, w okresie jesienno-zimowym, u osób o ciemnym zabarwieniu skóry oraz używających kremów ochronnych przed promieniami UVB, a także z rozpoznanymi schorzeniami (nerek, wątroby) zaburzającymi metabolizm witaminy D. Dla tej ostatniej grupy rezerwuje się także podawanie kalcytriolu [1,25(OH)₂D] i α-kalcydolu [1α(OH)D] – aktywnych metabolitów witaminy D. W trakcie leczenia konieczne jest monitorowanie stężenia 25(OH)D w surowicy. Przy ciężkich niedoborach pomocne jest monitorowanie stężenia wapnia, aktywności fosfatazy alkalicznej oraz kalciurii.

Wiele działań witaminy D pozostaje zapewne nieodkrytych, a i te zidentyfikowane wymagają głębszego poznania. Być może wnioski płynące z badań z randomizacją dotyczących witaminy D rozszerzą wskazania do jej stosowania w celu zapobiegania ważnym, pozaszkieletowym patologiom ustrojowym.

Piśmiennictwo

- Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 491S-99S.
- Hausler MR, Jurutka PW, Mizwicki M, Norman AW. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1α,25(OH)₂vitamin D₃: genomic and nongenomic mechanisms. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011; 25: 543-59.
- Brumbaugh PF, Hausler DH, Bressler R, Hausler MR. Radioreceptor assay for 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃. *Science* 1974; 183: 1089-91.
- Cheng SY, Levy AR, Lefaire KA, et al. Geographic trends in incidence of hip fractures: a comprehensive literature review. *Osteoporos Int* 2011; 22: 2575-86.
- Gillespie LD, Robertson MC, Gillespie WJ, et al. Interventions for preventing falls in older people living in the community. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 9: CD007146.
- Bischoff-Ferrari HA, Borchers M, Gudat F, et al. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 265-9.
- Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Willett WC, et al. Effect of vitamin D on falls: a meta-analysis. *JAMA* 2004; 291: 1999-2006.
- Jackson RD, LaCroix AZ, Gass M, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures. *N Engl J Med* 2006; 354: 669-83.
- Lilliu H, Pamphile R, Chapuy MC, et al. Calcium-vitamin D₃ supplementation is cost-effective in hip fractures prevention. *Maturitas* 2003; 44: 299-305.
- Prothouse I, Cockayne S, King C, et al. Randomised controlled trial of calcium and supplementation with cholecalciferol (vitamin D₃) for prevention of fractures in primary care. *BMJ* 2005; 330: 1003-8.
- Grant AM, Avenell A, Campbell MK, et al. RECORD Trial Group: Oral vitamin D₃ and calcium for secondary prevention of low-trauma fractures in elderly people. Randomised Evaluation of Calcium or Vitamin D (RECORD); a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2005; 365: 1621-8.
- Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Orav EJ, et al. A pooled analysis of vitamin D dose requirements for fracture prevention. *N Engl J Med* 2012; 367: 40-9.
- Dempster DW, Laming CL, Kostenuik PJ, Grauer A. Role of RANK ligand and denosumab, a targeted RANK ligand inhibitor, in bone health and osteoporosis: a review of preclinical and clinical data. *Clin Ther* 2012; 34: 521-36.
- Sutton EE, Riche DM. Denosumab, a RANK ligand inhibitor, for postmenopausal women with osteoporosis. *Ann Pharmacother* 2012; 46: 1000-9.
- Messa P, Alfieri C, Rastaldi MP. Recent insights into vitamin D and its receptor. *J Nephrol* 2011; 24 Suppl 18: S30-7.
- Hewison M. An update on vitamin D and human immunity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012; 76: 315-325.
- Chocano-Bedoya P, Ronnenberg AG. Vitamin D and tuberculosis. *Nutr Rev* 2009; 67: 289-3.
- Lemire JM, Archer DC, Beck L, et al. Immunosuppressive actions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃: preferential inhibition of Th1 functions. *J Nutr* 1995; 125: 1704S-8S.
- Provedini DM, Tsoukas CD, Deftos LJ, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors in human leukocytes. *Science* 1983; 221: 1181-3.
- Lagishetty V, Liu NQ, Hewison M. Vitamin D metabolism and innate immunity. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 347: 97-105.
- Holmøy T, Kampman MT, Smolders J. Vitamin D in multiple sclerosis: implications for assessment and treatment. *Expert Rev Neurother* 2012; 12: 1101-12.
- Mathieu C, Badenhop K. Vitamin D and type 1 diabetes mellitus: state of the art. *Trends Endocrinol Metab* 2005; 16: 261-6.
- Mathieu C, Waer M, Laureys J, et al. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D₃. *Diabetologia* 1994; 37: 552-8.
- Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetologia* 1999; 42: 51-4.
- Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, et al. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001; 358: 1500-3.
- Fronczak CM, Baron AE, Chase HP, et al. In utero dietary exposures and risk of islet autoimmunity in children. *Diabetes Care* 2003; 26: 3237-42.

27. Simpson M, Brady H, Yin X, et al. No association of vitamin D intake or 25-hydroxyvitamin D levels in childhood with risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Diabetologia* 2011; 54: 2779-88.
28. Freedman DM, Dosemeci M, Alavanja MC. Mortality from multiple sclerosis and exposure to residential and occupational solar radiation: a case-control study based on death certificates. *Occup Environ Med* 2000; 57: 418-21.
29. van der Mei IA, Ponsonby AL, Blizzard L, Dwyer T. Regional variation in multiple sclerosis prevalence in Australia and its association with ambient ultraviolet radiation. *Neuroepidemiology* 2001; 20: 168-74.
30. Maestro B, Dávila N, Carranza MC, Calle C. Identification of a Vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 84: 223-30.
31. Maestro B, Molero S, Bajo S, et al. Transcriptional activation of the human insulin receptor gene by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Cell Biochem Funct* 2002; 20: 227-32.
32. Kadowaki S, Norman AW. Dietary vitamin D is essential for normal insulin secretion from the perfused rat pancreas. *J Clin Invest* 1984; 73: 759-66.
33. Cade C, Norman AW. Vitamin D₃ improves impaired glucose tolerance and insulin secretion in the vitamin D deficient rat in vivo. *Endocrinology* 1986; 119: 84-90.
34. Zeitz U, Weber K, Soegiarto DW, et al. Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor. *FASEB J* 2003; 17: 509-11.
35. Clark SA, Stumpf WE, Sar M. Effect of 1,25 dihydroxyvitamin D₃ on insulin secretion. *Diabetes* 1981; 30: 382-6.
36. Wollheim CB, Sharp GW. Regulation of insulin release by calcium. *Physiol Rev* 1981; 61: 914-73.
37. Faure-Dussert AG, Delbancut AP, Billaud BJ. Low extracellular calcium enhances beta cell sensitivity to the stimulatory influence of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on insulin release by islets from vitamin D₃-deficient rats. *Steroids* 1997; 62: 554-62.
38. Toubi E, Shoenfeld Y. The role of vitamin D in regulating immune responses. *Isr Med Assoc J* 2010; 12: 174-5.
39. Heine G, Niesner U, Chang HD, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ promotes IL-10 production in human B cells. *Eur J Immunol* 2008; 38: 2210-8.
40. Dunlop TW, Väisänen S, Frank C, Molnár F, Sinkkonen L, Carlberg C. The human peroxisome proliferator-activated receptor delta gene is a primary target of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ and its nuclear receptor. *J Mol Biol* 2005; 349: 248-60.
41. Hitman GA, Mannan N, McDermott MF, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms influence insulin secretion in Bangladeshi Asians. *Diabetes* 1998; 47: 688-90.
42. Oh JY, Barrett-Connor E. Association between vitamin D receptor polymorphism and type 2 diabetes or metabolic syndrome in community-dwelling older adults: the Rancho Bernardo Study. *Metabolism* 2002; 51: 356-9.
43. Ortlepp JR, Metrikat J, Albrecht M, et al. The vitamin D receptor gene variant and physical activity predicts fasting glucose levels in healthy young men. *Diabet Med* 2003; 20: 451-4.
44. Chiu KC, Chuang LM, Yoon C. The vitamin D receptor polymorphism in the translation initiation codon is a risk factor for insulin resistance in glucose tolerant Caucasians. *BMC Med Genet* 2001; 2: 2.
45. Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 2017-29.
46. Scragg R, Sowers M, Bell C. Third National Health and Nutrition Examination Survey. Serum 25-hydroxyvitamin D, diabetes, and ethnicity in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care* 2004; 27: 2813-8.
47. Clifton-Bligh RJ, McElduff P, McElduff A. Maternal vitamin D deficiency, ethnicity and gestational diabetes. *Diabet Med* 2008; 25: 678-84.
48. Alemzadeh R, Kichler J, Babar G, Calhoun M. Hypovitaminosis D in obese children and adolescents: relationship with adiposity, insulin sensitivity, ethnicity, and season. *Metabolism* 2008; 57: 183-91.
49. Tierney AC, McMonagle J, Shaw DI, et al. Effects of dietary fat modification on insulin sensitivity and on other risk factors of the metabolic syndrome-LIPGENE: a European randomized dietary intervention study. *Br J Nutr* 2010; 104: 1357-62.
50. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 820-5.
51. de Boer H, Tinker LF, Connelly S, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of incident diabetes in the Women's Health Initiative. *Diabetes Care* 2008; 31: 701-7.
52. Yuan W, Pan W, Kong J, et al. 25-dihydroxyvitamin D₃ suppresses renin gene transcription by blocking the activity of the cyclic AMP response element in the renin gene promoter. *J Biol Chem* 2007; 282: 29821-30.
53. Sugden JA, Davies JI, Witham MD, et al. Vitamin D improves endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels. *Diabet Med* 2008; 25: 320-5.
54. Li YC, Kong J, Wei M, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest* 2002; 110: 229-38.
55. Scragg R, Sowers M, Bell C. Serum 25-hydroxyvitamin D, ethnicity, and blood pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Hypertens* 2007; 20: 713-9.
56. Rostand SG. Ultraviolet light may contribute to geographic and racial blood pressure differences. *Hypertension* 1997; 30: 150-6.
57. Rostand SG. Vitamin D, blood pressure, and African Americans: toward a unifying hypothesis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 1697-703.
58. Giovannucci E. Vitamin D and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 2009; 11: 456-61.
59. Forman JP, Curhan GC, Taylor EN. Plasma 25-hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension among young women. *Hypertension* 2008; 52: 828-32.
60. Witham MD, Nadir MA, Struthers AD. Effect of vitamin D on blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *J Hypertens* 2009; 27: 1948-54.
61. Margolis KL, Ray RM, Van Horn L, et al.; Women's Health Initiative Investigators. Effect of calcium and vitamin D supplementation on blood pressure: the Women's Health Initiative Randomized Trial. *Hypertension* 2008; 52: 847-55.
62. Pilz S, Kienreich K, Tomaschitz A, et al. Vitamin D and cardiovascular disease: update and outlook. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2012; 243: 83-91.
63. Heine GH, Nangaku M, Fliser D. Calcium and phosphate impact cardiovascular risk. *Eur Heart J* 2013; 34: 1112-21.
64. Melamed ML, Michos ED, Post W, Astor B. 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med* 2008; 168: 1629-37.
65. Ginde AA, Scragg R, Schwartz RS, Camargo Jr CA. Prospective study of serum 25-hydroxyvitamin D level, cardiovascular disease mortality, and all-cause mortality in older U.S. adults. *J Am Geriatr Soc* 2009; 57: 1595-603.
66. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, et al. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med* 2008; 168: 1340-9.
67. Anderson JL, May HT, Horne BD, et al. Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population. *Am J Cardiol* 2010; 106: 963-8.
68. Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, Rimm EB. 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. *Arch Intern Med* 2008; 168: 1174-80.
69. Parker J, Hashmi O, Dutton D, et al. Levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. *Maturitas* 2010; 65: 225-36.
70. Shargorodsky M, Boaz M, Luckish A, et al. Osteoprotegerin as an independent marker of subclinical atherosclerosis in osteoporotic postmenopausal women. *Atherosclerosis* 2009; 204: 608-11.
71. Celczyńska Bajew L, Horst Sikorska W, Bychowicz B, et al. The effects of osteoprotegerin (OPG) gene polymorphism in patients with ischaemic heart disease on the morphology of coronary arteries and bone mineral density. *Kardiol Pol* 2011; 69: 573-8.
72. Grant WB. An estimate of premature cancer mortality in the U.S. due to inadequate doses of solar ultraviolet-B radiation. *Cancer* 2002; 94: 1867-75.
73. Grant WB. UVB Ecological studies of the UVB-vitamin D-cancer hypothesis. *Anticancer Res* 2012; 32: 223-36.
74. Fleet JC, De Smet M, Johnson R, Li Y. Vitamin D and cancer: a review of molecular mechanisms. *Biochem J* 2012; 441: 61-76.
75. Richard CL, Farach-Carson MC, Rohe B, et al. Involvement of 1,25D₃-MARRS (membrane associated, rapid response steroid-binding), a novel vitamin D receptor, in growth inhibition of breast cancer cells. *Exp Cell Res* 2010; 316: 695.

76. Trivedi DP, Doll R, Khaw KT. Effect of four monthly oral vitamin D3 (cholecalciferol) supplementation on fractures and mortality in men and women living in the community: randomised double blind controlled trial. *BMJ* 2003; 326: 469-75.
77. Wactawski-Wende J. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2006; 354: 684-96.
78. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, et al. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 1586-91.
79. Ross CA, Manson JE, Abrams SA, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 53-8.
80. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007, 357: 266-81.
81. Płudowski P, Karczmarewicz E, Bayer M, et al. Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe — recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynol Pol* 2013; 64: 319-27..