



Wpływ niedoboru witaminy D na rozwój nowotworów i chorób autoimmunologicznych

The influence of vitamin D deficiency on cancers and autoimmune diseases development

Alina Kuryłowicz, Tomasz Bednarczuk, Janusz Nauman

Zakład Badawczo-Leczniczy Endokrynologii Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego, Polska Akademia Nauk, Warszawa

Streszczenie

Postęp nauki spowodował, że zwiększyła się liczba chorób, których rozwój i przebieg może być uwarunkowany niedostatecznym podawaniem witaminy D. Chociaż najlepiej dotychczas udokumentowano związek niedoboru witaminy D z występowaniem chorób tkanki kostnej, to istnieją dane sugerujące, że wpływa on również na rozwój nowotworów i chorób autoimmunologicznych. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że aktywny metabolit witaminy D — 1,25-dihydroksycholekalcyferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) reguluje procesy wzrostu i różnicowania komórek, a także wpływa na funkcję komórek prezentujących antygen i limfocytów T. W badaniach *in vivo* zaobserwowano, że niedobór witaminy D przyspiesza rozwój chorób autoimmunologicznych i nowotworów u zwierząt. Wyniki badań epidemiologicznych sugerują, że niedobór witaminy D wiąże się również z częstszym występowaniem chorób autoimmunologicznych i nowotworów u ludzi. Czynnikiem decydującym o poziomie zaopatrzenia zdrowego człowieka w cholekalcyferol jest skórna synteza witaminy D. Zmiany trybu życia, zanieczyszczenia atmosferyczne, a także stosowanie filtrów słonecznych sprawiły, że współczesny Europejczyk otrzymuje zaledwie drobną część dawki promieniowania UV, którą otrzymywali jego przodkowie. Według najnowszych badań epidemiologicznych stężenia witaminy D w surowicy u osób zamieszkujących tereny położone w szerokościach geograficznych powyżej 34°N/S — w tym również w Polsce — są niższe od optymalnych. W niniejszej pracy dokonano przeglądu badań dotyczących potencjalnej roli witaminy D w rozwoju nowotworów i chorób autoimmunologicznych, a także przedstawiono aktualne wytyczne na temat kryteriów rozpoznawania niedoborów witaminy D i zalecanej suplementacji.

(*Endokrynol Pol* 2007; 58 (2): 140–152)

Słowa kluczowe: witamina D, choroby autoimmunologiczne, nowotwory

Abstract

There is a growing number of diseases which prevalence can be associated with vitamin D deficiency. The link between low cholecalciferol concentration and bone diseases is well established, however there is also data suggesting that it may influence development and progression of different cancers and autoimmune diseases. The *in vitro* studies proved that the active vitamin D metabolite — $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ may arrest the cell cycle progression, induce apoptosis as well as regulate T cells and antigen presenting cells function. Results of the *in vivo* experiments suggest that vitamin D deficiency accelerates development of autoimmune diseases and cancers in animals. Epidemiological studies imply that the vitamin D deficiency is also associated with the increased incidence of autoimmune diseases and cancers in people.

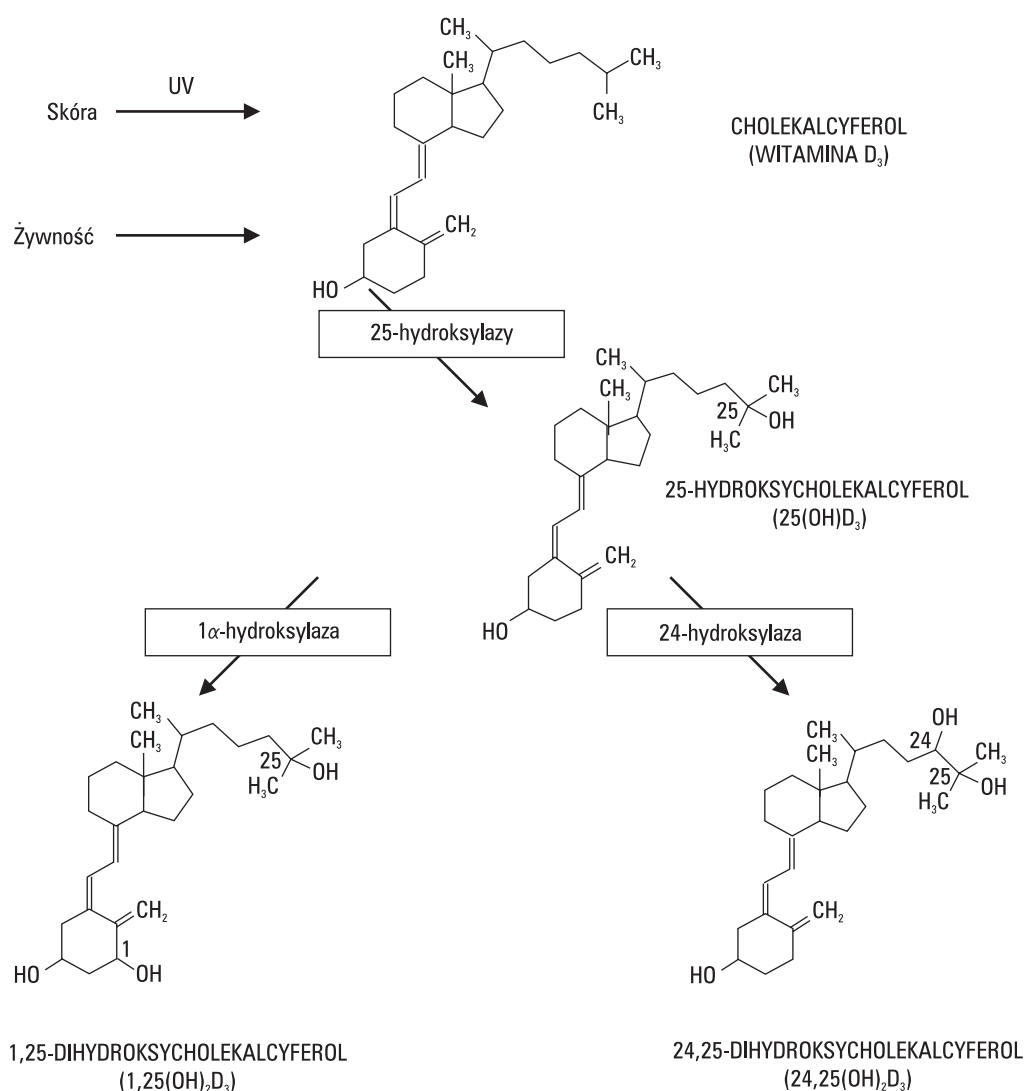
The main determinant of vitamin D serum concentration in a human body is skin synthesis. The changes in the lifestyle, air pollution as well as a common use of sun screens caused that the contemporary European receives little sunlight compared to his ancestors. According to the recent epidemiological studies, the vitamin D concentrations in serum of people who live in high latitudes (above 34°N/S), including Poland, is far from being sufficient. This paper reviews results of the recent studies concerning the potential role of the vitamin D in the development of cancers and autoimmune diseases, as well as provides guidelines for vitamin D supplementation.

(*Pol J Endocrinol* 2007; 58 (2): 140–152)

Key words: vitamin D, autoimmune diseases, cancer



Dr med. Alina Kuryłowicz
Zakład Badawczo-Leczniczy Endokrynologii
Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN
ul. Pawińskiego 5, 02-126 Warszawa
tel.: 022 599 17 52, faks: 022 599 19 75
e-mail: kurylowicz@cmdik.pan.pl



Rycina 1. Uproszczony schemat przemian witaminy D. Cholekalcyferol (powstały pod wpływem promieni UV w skórze lub dostarczony z dietą) podlega hydroksylacji, w pozycji 25 w wątrobie, a następnie w reakcji katalizowanej przez 1 α -hydroksylazę (CYP27B1), powstaje aktywny metabolit — 1,25-dihydroksycholekalcyferol. Alternatywna droga przemian 25-hydroksycholekalcyferolu prowadzi przez hydroksylację w pozycji 24 (reakcję katalizuje 24-hydroksylaza witaminy D — CYP24)

Figure 1. The simplified scheme of the vitamin D synthesis. Cholecalciferol (synthesized in the skin upon the UV radiation or delivered with food) undergoes several hydroxylations, firstly in the position 25 in the liver. The next hydroxylation catalyzed by the 1 α -hydroxylase (CYP27B1) leads to the synthesis of the active metabolite — 1,25-dihydroxycholecalciferol. The alternative metabolic pathway of 25-hydroxycholecalciferol leads via hydroxylation in position 24 (the reaction is catalyzed by the vitamin D 24-hydroxylase — CYP24)

Wstęp

Witaminę D₃ (czyli cholekalcyferol, nazywana tu w skrócie witaminą D) postrzegano przede wszystkim jako czynnik regulujący gospodarkę wapniowo-fosforanową i metabolizm tkanki kostnej. Wyniki badań przeprowadzonych w ciągu ostatnich lat sprawiły, że zmienia się pogląd na rolę pochodnych witaminy D w utrzymaniu homeostazy wielu tkanek. Obecnie wiadomo, że aktywny metabolit witaminy D — 1,25-dihydroksycholekalcyferol (ryc. 1) wpływa, między innymi na procesy wzrostu i różnicowania komórek, sekrecję niektórych hormonów, a także na regulację funkcji reprodukcyj-

nych. Odkrycie jądrowego receptora witaminy D (VDR, *vitamin D receptor*), a następnie stwierdzenie jego obecności w komórkach immunokompetentnych i w komórkach linii nowotworowych, zapoczątkowało badania nad rolą pochodnych witaminy D w rozwoju i przebiegu chorób autoimmunologicznych i nowotworów [1].

Metabolizm i mechanizm działania witaminy D

Metabolizm witaminy D

Cholekalcyferol to związek z grupy sekosteroli, który do organizmu człowieka jest dostarczany wraz z dietą

lub powstaje wskutek bioaktywacji pochodnej cholesterolu (7-dehydrocholekalcyferolu) w skórze, pod wpływem promieniowania słonecznego ($\lambda = 280\text{--}315\text{ nm}$). Następnie witamina D podlega kolejnym reakcjom hydroksylacji, z których pierwsza, w pozycji 25, ma miejsce w wątrobie. Reakcję tę katalizuje prawdopodobnie nie jeden enzym, a zespół 25-hydroksylaz witaminy D, który tworzą białka cytochromowe (CYP, *cytochrome protein*): CYP27A1, CYP3A4 oraz CYP2R1 [2]. W wyniku wątrobowej hydroksylacji powstaje 25-hydroksycholekalcyferol ($25(\text{OH})\text{D}_3$) — główny krążący w organizmie człowieka metabolit witaminy D. Stężenie $25(\text{OH})\text{D}_3$ jest wykorzystywane w przesiewowej ocenie zaopatrzenia organizmu w witaminę D.

Kolejne hydroksylacje witaminy D mają miejsce w pozycjach 1 i/lub 24, w wyniku czego powstają odpowiednio 1,25-dihydroksycholekalcyferol i 24,25-dihydroksycholekalcyferol (ryc. 1). Kluczowym enzymem dla syntezy 1,25-dihydroksycholekalcyferolu ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) — aktywnej biologicznie formy witaminy D jest 1α -hydroksylaza (CYP27B1). Podstawowym miejscem ekspresji CYP27B1 są komórki kanalikula proksymalnego nerki, ale jej obecność stwierdza się również między innymi: w tkance kostnej, płucach, wątrobie, łożysku, skórze oraz w makrofagach. Działanie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w tych tkankach ma przede wszystkim charakter lokalny, auto- i parakryny.

Drugim produktem przemian $25(\text{OH})\text{D}_3$ jest 24,25-dihydroksycholekalcyferol, którego syntezę katalizuje 24-hydroksylaza witaminy D (CYP24) obecna praktycznie we wszystkich komórkach, na które działa witamina D. Funkcja $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nie jest w pełni poznana, ale badania ostatnich lat pozwoliły stwierdzić, że bierze on udział między innymi w regulacji wzrostu chrząstki i przebudowy tkanki kostnej [3]. Substratem dla CYP24 jest również $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, a hydroksylacja w pozycji 24 stanowi pierwszy etap degradacji pochodnych cholekalcyferolu. Regulatorem działania obu hydroksylaz (CYP27B1 i CYP24) jest, na zasadzie sprzężenia zwrotnego, sam $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (hamowanie aktywności CYP27B1, aktywacja CYP24). W procesie tym pośredniczą także jony wapniowe, fosforanowe, parathormon, kalcytonina i inne hormony (w tym glukokortykosteroidy, prolaktyna, somatotropina, trijodotyronina). Skoordynowane działanie CYP27B1 i CYP24 odpowiada za prawidłowe stężenie metabolitów witaminy D.

Zaledwie 0,04% $25(\text{OH})\text{D}_3$ i 0,4% $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ krążących we krwi jest w stanie „wolnym” (niezwiązanym z białkami transportującymi). Około 15% związane jest niespecyficznie przez albuminy, natomiast większość — około 85% — przez specyficzny nośnik globulinowy — białko wiążące witaminę D (DBP, *vitamin D-binding protein*), co zapewnia ich stabilność i dostępność komórkową [4].

Mechanizm działania witaminy D

Działanie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na komórki docelowe odbywa się zarówno w mechanizmie pozagenomowym, jak i poprzez wpływ na genom. Pozagenomowe działanie witaminy D wiąże się z aktywacją kinaz tyrozynowych z rodziny Src (których geny wykazują homologię do genu *v-src* wirusa mięsaka Rous [*Rous sarcoma virus*]), a następnie uruchomieniem kaskady kinazy białkowej C lub kinazy białkowej aktywowanej mitogenem (MAP, *mitogen activated protein kinase*). Mechanizmy aktywacji kinazy Src przez witaminę D nie są w pełni poznane i są obecnie przedmiotem badań [5].

Oddziaływanie genomowe odbywa się za pośrednictwem wspomnianego już wcześniej receptora jądrowego witaminy D (VDR, *vitamin D receptor*) i w ten sposób pochodne cholekalcyferolu wpływają zarówno na homeostazę wapniową, jak i na ogólnoustrojowe procesy wzrostu, dojrzewania i różnicowania komórek.

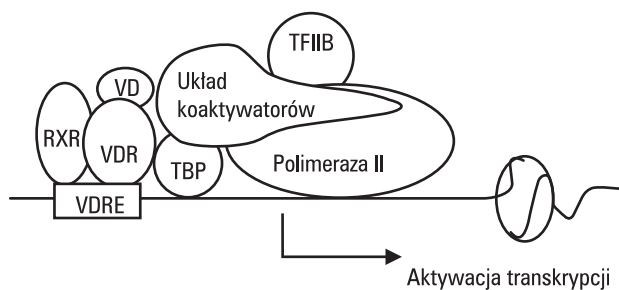
Receptor jądrowy witaminy D, podobnie jak receptor dla trijodotyroniny, czy receptor kwasu retinowego, należy do II klasy receptorów jądrowych. Działa jako zależny od liganda czynnik transkrypcyjny, który po związaniu odpowiednich sekwencji (VDRE, *vitamin D responsive elements*) w promotorach genów docelowych, reguluje ich ekspresję.

Po połączeniu receptora z pochodnymi cholekalcyferolu (ryc. 2) dochodzi do heterodimeryzacji z receptorem dla retinoidu X (RXR, *retinoid X receptor*), związania z VDRE, przyłączenia innych białek koaktywujących i korepresorowych, a wreszcie utworzenia preinicjacyjnego kompleksu transkrypcyjnego [6].

Obecność VDR stwierdzono w jelicie, nerce, kościach i przytarczycach, czyli tkankach związanych z gospodarką mineralną, jak i w wielu innych tkankach, w tym między innymi w skórze, jelicie grubym, prostatce, sutku, mięśniach szkieletowych, mózgu, co dało początek badaniom dotyczącym tak zwanych „nieklasycznych” lub „niekalcemicznych” działań witaminy D.

Witamina D a nowotwory

Jednym z pierwszych doniesień dotyczących niekalcemicznych mechanizmów działania pochodnych cholekalcyferolu było stwierdzenie, że $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hamuje proliferację i stymuluje różnicowanie w komórkach linii białaczkowych M1 i HL-60 [7]. Podobne obserwacje dotyczyły linii komórkowych pochodzących z nowotworów prostaty, jelita grubego, sutka, płuc i czerniaka, w których stwierdzono ekspresję genu VDR [8–10]. Odkrycia te zapoczątkowały badania nad mechanizmem antynowotworowego działania witaminy D i pozwalają sądzić, że możliwe będzie wykorzystanie cholekalcyferolu i jego analogów w terapii nowotworów.



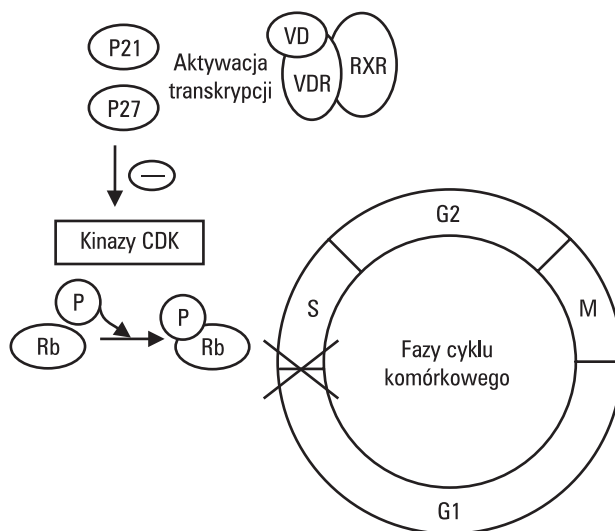
Rycina 2. Schemat aktywacji transkrypcji genu docelowego przez receptor witaminy D. Receptor witaminy D (VDR, vitamin D receptor), związany z witaminą D (VD, vitamin D) przyłącza się w postaci heterodimera z receptorem dla retinoidu X (RXR, retinoid X receptor) do odpowiednich sekwencji w promotorze genu docelowego (VDRE, vitamin D responsive element). Za pośrednictwem białka wiążącego sekwencję TATA (TBP, TATA binding protein) i czynnika transkrypcyjnego IIB (TFIIIB, transcription factor II B), VDR kontaktuje się z kompleksem preinicjacyjnym, w skład którego wchodzi polimeraza II RNA i pozostałe podstawowe czynniki transkrypcyjne (dla uproszczenia nie przedstawione na tym schemacie). Poziom transkrypcji regulowany jest przez kompleks koaktywatorowy, który przyłącza się do VDR

Figure 2. Activation of the target gene by the vitamin D receptor. The vitamin D receptor (VDR) with vitamin D (VD) binds as a heterodimer with the retinoid X receptor (RXR) specific sequence in the promoter region of the target gene — the vitamin D responsive element (VDRE). Via TATA binding protein (TBP) transcription factor II B (TFIIIB), VDR gets in touch with the RNA II polymerase and other transcription factors (not present on these scheme). The transcription level is regulated by the complex of co-activators which bind VDR

Mechanizmy antynowotworowego działania witaminy D

Hamowanie proliferacji

Mechanizm hamowania proliferacji przez pochodne cholekalcyferolu może być różny w zależności od rodzaju komórek i tkanek. Jednym z procesów warunkujących przechodzenie komórek z fazy G1 do S cyklu komórkowego jest fosforylacja białka retinoblastoma (Rb), co powoduje uwolnienie czynników transkrypcyjnych z rodziny E2F aktywujących transkrypcję wielu genów związanych z postępowaniem cyklu komórkowego, w tym cyklin E i A. Fosforylacja Rb jest katalizowana przez cykliny G1 i zależne od nich kinazy (CDK, cyklin dependent kinase), których aktywność jest z kolei hamowana przez białko p21. W badaniach prowadzonych na komórkach linii *lymph node, carcinoma, prostate* (LNCaP) [11] oraz na linii komórek białaczkowych U937 [12] zaobserwowano, że $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ połączony z VDR, wiąże się z miejscem regulatorowym w promotorze genu *p21*, zwiększając jego ekspresję, co prowadzi do hamowania kinaz CDK, braku fosforylacji Rb i zahamowania cyklu komórkowego w fazie G1 (ryc. 3). Do



Rycina 3. Hamowanie proliferacji komórek przez witaminę D. Jednym z procesów warunkujących przechodzenie komórek z fazy G1 do S cyklu komórkowego jest fosforylacja białka retinoblastoma (Rb), co powoduje uwolnienie czynników transkrypcyjnych aktywujących szereg genów związanych z postępowaniem cyklu komórkowego. Fosforylacja Rb katalizowana jest przez cykliny G1 i zależne od nich kinazy (CDK, cyklin dependent kinase), których aktywność jest z kolei hamowana przez białka p21 i p27. Witamina D (VD) połączona ze swoim receptorem (VDR), wiąże się z miejscami regulatorowymi w promotorach genów *p21* i *p27*, zwiększając ich ekspresję, co prowadzi do hamowania kinaz CDK, braku fosforylacji Rb i zahamowania cyklu komórkowego w fazie G1

Figure 3. Inhibition of cell proliferation by vitamin D. One of the factors determining the switch between G1 and S phases of the cell cycle is retinoblastoma (Rb) protein phosphorylation that leads to the release of several transcription factors activating genes involved in the cell cycle progression. Rb phosphorylation is catalyzed by the G1 cyclins and cyclin dependent kinases — CDKs. The CDKs activity can be inhibited by the p21 and p27 proteins. Vitamin D with the vitamin D receptor (VDR) binds to the regulatory sequences in the promoters of *p21* and *p27* genes activating their transcription that leads to the inhibition of the CDKs, lack of Rb phosphorylation and inhibition of the cell cycle progression

innych inhibitorów CDK, których ekspresja jest regulowana przez $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ należy białko p27. W badaniach prowadzonych na mysich embrjonalnych fibroblastach (MEFs, *mouse embryonic fibroblasts*), w których dokonano knockoutu genu *p27* stwierdzono, że antyproliferacyjne działanie cholekalcyferolu jest upośledzone [13].

Knockout genu *Rb*, nie powoduje jednak całkowitego zahamowania proliferacji pod wpływem $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, tak więc brak fosforylacji Rb nie jest prawdopodobnie jedynym mechanizmem antyproliferacyjnego działania witaminy D. Natomiast w komórkach pozbawionych dodatkowo genów kodujących dwa inne białka z rodziny retinoblastoma: *p107* i *p130*, stwierdzono całkowity brak wrażliwości na antyproliferacyjne działanie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, co sugeruje, że pochodne cholekalcyferolu

oddziaływują prawdopodobnie na całą grupę tych białek [14].

Do innych opisywanych mechanizmów regulacji cyklu komórkowego przez $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ należy hamowanie sygnałów mitogennych przekazywanych przez czynniki wzrostu, w tym między innymi receptor dla nabłonkowego czynnika wzrostu (EGF, *epithelial growth factor*) [15], oraz pobudzanie szlaków transformującego czynnika wzrostu β (TGF- β , *transforming growth factor* β) i białek wiążących insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-BP, *insulin-like growth factor binding protein*), na przykład IGF-BP3 [16]. Wykazano również, że $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ może hamować aktywność prostaglandyn, które działają jako stymulatory wzrostu komórkowego. W badaniach prowadzonych na linii komórek raka prostaty LNCaP stwierdzono, że $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ może zarówno ograniczać syntezę PGE_2 (poprzez hamowanie cyklooksygenazy 2), jak i zwiększać jej inaktywację (przez stymulację aktywności dehydrogenazy prostaglandynowej 15-PGDH, przekształcającej prostaglandyny do pochodnych ketonowych) [17].

Choć opisano wiele mechanizmów, na drodze których $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mógłby potencjalnie hamować cykl komórkowy, dotychczas nie przeprowadzono przekonujących badań wyjaśniających, który z wymienionych tu szlaków odgrywa zasadniczą rolę w regulacji podziałów komórkowych. Możliwe jest, że w różnych typach komórek działają różne mechanizmy.

Aktywacja apoptozy

Zdolność $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ do pobudzania apoptozy wykazano w różnych komórkach nowotworowych, między innymi w raku sutka, jelita grubego, prostaty, jednak dokładny mechanizm tego działania nie został jeszcze poznany [18]. Jednym ze szlaków aktywacji apoptozy pobudzanych przez pochodne witaminy D jest hamowanie ekspresji protoonkogenu *bcl-2*, co stwierdzono w komórkach raka sutka i liniach przewlekłej białaczki limfatycznej [19, 20]. W komórkach inwazyjnego raka sutka (SUM-159PT), poddanych działaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, zaobserwowano również zwiększenie ekspresji proapoptycznego białka Bax [21]. Ponadto, w komórkach linii LNCaP (z raka prostaty) oraz MCF-7 (z raka sutka) stwierdzono, że pochodne witaminy D mogą powodować uwalnianie cytochromu c z mitochondriów w mechanizmie niezależnym od kaspaz [18].

Inne proponowane mechanizmy antynowotworowego działania witaminy D

W badaniach *in vitro* przeprowadzonych na liniach komórkowych pochodzących z raka sutka i płuc, jak i w badaniach *in vivo* na zwierzęcych modelach nowotworów prostaty i pęcherza stwierdzono, że $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zmniejsza inwazyjność nowotworów [22–24]. Wśród

proponowanych mechanizmów „antyinwazyjnego” działania witaminy D wymienia się: hamowanie aktywności metaloproteaz i proteaz serynowych, wzrost ekspresji kadheryny E i spadek ekspresji integryn $\alpha 6$ i $\beta 4$.

Innym opisywanym mechanizmem antynowotworowego działania $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ jest hamowanie angiogenezy, obserwowane między innymi w raku prostaty [25]. Jednym z czynników pobudzających angiogenezę jest interleukina 8 (IL-8, *interleukin-8*). W komórkach raka prostaty stwierdzono, że $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ prawdopodobnie poprzez interakcję z podjednostką p65 czynnika jądrowego κB (NF- κB , *nuclear factor* κB), hamuje aktywność transkrypcji genu *IL-8*.

Warunkiem skutecznego działania witaminy D jest obecność w tkance jej aktywnego, niezmutowanego receptora. Obecność VDR stwierdzono w wielu komórkach nowotworowych. W niektórych guzach, w tym w raku podstawnokomórkowym skóry i raku szyjki macicy, stwierdzono wzrost ekspresji VDR w porównaniu z tkankami zdrowymi (prawidłowymi keratynocytami i komórkami nabłonka szyjki macicy) [26, 27]. Zaobserwowano także różnice w ekspresji VDR w zależności od stopnia zróżnicowania guza, na przykład w raku sutka ekspresja genu *VDR* była znacząco niższa w komórkach słabiej zróżnicowanych [28], czego nie potwierdziły jednak badania dotyczące innych nowotworów [29]. Ponadto w *locus VDR*, stwierdzono obecność ponad 200 polimorfizmów (czyli mutacji, których częstość jest większa niż 1%), co świadczy, że jest to gen „dynamiczny” i „młody” ewolucyjnie [30]. W badaniach funkcjonalnych stwierdzono, że poszczególne polimorfizmy mogą wpływać na aktywność transkrypcyjną genu *VDR*, stabilność transkrypty (mRNA), zdolność wiązania ligandów przez receptor, a także na odpowiedź na leczenie pochodnymi cholekalcyferolu, preparatami wapnia i bifosfonianami [31–34]. Opisano również związek poszczególnych polimorfizmów genu *VDR* z rozwojem nowotworów u człowieka, w tym między innymi raka prostaty i sutka [35, 36].

W wielu typach nowotworów zaobserwowano mechanizmy, które mają ograniczyć antyproliferacyjne i proapoptotyczne działanie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Wśród opisywanych mechanizmów można wymienić:

- zmniejszenie wewnątrzkomórkowego stężenia $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ przez wzmożoną transkrypcję genu *CYP24*, do którego amplifikacji dochodzi między innymi w raku sutka [37];
- fosforylację seryny w pozycji 260 RXR, co blokuje interakcję i heterodimeryzację z VDR w keratynocytach [38];
- wzrost ekspresji korepresorów, na przykład mediatora receptora kwasu retinowego i receptora trijodotyroniny (SMRT, *silencing mediator of retinoid and thyroid receptors*) w raku prostaty [39].

Niedobór witaminy D a występowanie nowotworów

Wyniki badań epidemiologicznych przeprowadzonych w ciągu ostatnich 20 lat sugerują, że zapadalność na wiele nowotworów, w tym między innymi na raka jelita grubego, jajnika, sutka i prostaty, jest odwrotnie proporcjonalna do szerokości geograficznej i stężenia witaminy D w surowicy. Już w 1941 roku Apperly zaobserwował, że w populacji osób białych zwiększona ekspozycja na światło słoneczne koreluje ze zmniejszoną śmiertelnością z powodu wyżej wymienionych nowotworów, co potwierdzono w badaniach współczesnych [40]. Stwierdzono również, że u osób ze stężeniem $25(\text{OH})\text{D}_3$ wyższym niż 50 nmol/l (20 ng/ml), ryzyko rozwoju nowotworów prostaty i jelita grubego jest mniejsze o 30–50% [41, 42].

Hipotezę o związku niedoboru witaminy D z rozwojem nowotworów potwierdzają wyniki doświadczeń na modelach zwierzęcych. W badaniach przeprowadzonych na myszach Balb/c, którym wszczepiono komórki linii raka jelita grubego (MC-26), u zwierząt, u których wywołano niedobór witaminy D (stężenie $25(\text{OH})\text{D}_3$ niższe niż 5 ng/ml) stwierdzono szybszy rozwój guzów (średnio o 80%) w stosunku do zwierząt z prawidłowymi stężeniami $25(\text{OH})\text{D}_3$ [43]. Z kolei wyniki badań na myszach z knockoutem genu *VDR* sugerują, że niedobór witaminy D nie wywołuje rozwoju nowotworów *per se*, a raczej stanowi czynnik promujący nowotworzenie — u zwierząt tych nie stwierdzono spontanicznego rozwoju nowotworów, natomiast obserwowano zwiększoną podatność na rozwój między innymi raka sutka, skóry i białaczek pod wpływem znanych kancerogenów i onkogenów [44].

W badaniach epidemiologicznych przeprowadzonych w populacji Stanów Zjednoczonych, w których dodatkowo uwzględniono wpływ innych czynników ryzyka rozwoju nowotworów, takich jak między innymi: spożycie alkoholu, palenie tytoniu, status ekonomiczny i zanieczyszczenie środowiska [45] stwierdzono, że niezależnie od działania innych potencjalnych kancerogenów, zapadalność na raka jelita grubego, żołądka, płuc i sutka była odwrotnie proporcjonalna do ekspozycji na promieniowanie UVB [40]. Podobnych wyników dostarczyły badania przeprowadzone w latach 1989–1991 w Europie [46].

Prowadzi się również badania epidemiologiczne dotyczące związku niedoborów witaminy D z przeżywalnością w przebiegu chorób nowotworowych. Istnieją pojedyncze doniesienia sugerujące, że wśród osób zapadających na choroby nowotworowe w sezonie letnio-jesiennym, kiedy jest większa ekspozycja na światło słoneczne i tym samym aktywniejsza synteza witaminy D w skórze, stwierdza się dłuższą przeżywalność

w przebiegu nowotworów sutka, jelita grubego i prostaty, w stosunku do osób zdiagnozowanych w okresie zimowo-wiosennym [47]. Wśród chorych operowanych z powodu nowotworów płuc, zaobserwowano wyższy odsetek przeżyć 5-letnich u osób z prawidłową zawartością witaminy D w diecie (72%), w stosunku do osób z niedoborami (29%) [48]. Obecnie zarówno w Stanach Zjednoczonych, jak i w Europie prowadzi się badania epidemiologiczne mające na celu zbadanie związku między ekspozycją na promieniowanie UVB a przeżywalnością w przebiegu nowotworów (EUROCARE, SEER).

Zastosowanie witaminy D w terapii nowotworów

Wyniki badań potwierdzających antyproliferacyjne i proapoptotyczne właściwości cholekalcyferolu dają nadzieję na możliwość wykorzystania tych związków w terapii nowotworów. Poważnym ograniczeniem stosowania pochodnych witaminy D w monoterapii chorób nowotworowych jest ich działanie kalcemiczne, dlatego w większości przypadków znajdują one zastosowanie w terapii łączonej, co pozwala na użycie mniejszych dawek. W warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* opisano bowiem wiele potencjalnych interakcji z lekami stosowanymi w leczeniu chorób rozrostowych, w wyniku których dochodzi do potencjalizacji działania pochodnych witaminy D, między innymi z deksametazonem, taksanami, docetaksem i paclitaksem, pochodnymi platyny, tamoksyfenem i retinoidami [9]. Stwierdzono również, że analogi witaminy D, na drodze różnych mechanizmów (np. poprzez indukcję ekspresji p21), mogą zwiększać radioczułość, na przykład komórek raka prostaty (LNCaP) i sutka (MCF-7) [49, 50].

W pilotażowych badaniach klinicznych przeprowadzonych na 7 chorych z rakiem prostaty, u których zastosowano $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w dawce 0,5–2,5 $\mu\text{g}/\text{d}$ przez okres 6–15 miesięcy, u wszystkich stwierdzono obniżenie stężenia swoistego antygenu sterczowego (PSA, *prostate specific antigen*), przy czym u 6 pacjentów był on znamienny statystycznie [51]. W innym badaniu, 37 chorym z niewrażliwym na androgeny rakiem prostaty, podawano w 1. dobie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w dawce 0,5 μg , w 2. dobie — docetaksel (36 mg/m²) i leczenie to powtarzano przez kolejnych 6 tygodni. Podczas badania chorzy pozostawali na diecie zawierającej 400–500 mg wapnia/d. Po 8 tygodniach od wdrożenia leczenia u 30 (81%) chorych uzyskano znamienne statystycznie obniżenia stężenia PSA i jest to odsetek wyższy niż w grupie chorych otrzymujących wyłącznie docetaksel [52]. Te obiecujące wyniki wstępnych obserwacji klinicznych były podstawą do zaplanowania wielośrodkowych badań przeprowadzonych metodą podwójnie ślepej próby nad zastosowaniem pochodnych cholekalcyferolu

w terapii łączonej z docetaksem w raku sutka i trzustki (OHSU *Cancer Institute*). Trwają również badania nad zastosowaniem $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ z deksametazonem, paclitaksem i karboplatiną [53].

W związku z ograniczeniem w stosowaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ jakie stanowi hiperkalcemia, trwają intensywne prace nad syntezą analogów witaminy D, równie skutecznych w swoim działaniu antynowotworowym, a o zmniejszonym potencjale kalcemicznym. Dotychczas poznano kilkadziesiąt pochodnych cholekalcyferolu, z których część jest już w fazie badań klinicznych, na przykład kalcipotriol, który podawany miejscowo znajduje zastosowanie w leczeniu skórnych przerzutów raka sutka [54].

Witamina D a choroby autoimmunologiczne

Wpływ witaminy D na układ immunologiczny

Badania nad wpływem $1,25$ -dihydroksycholekalcyferolu na układ immunologiczny dotyczą głównie komórek prezentujących antygen oraz limfocytów T.

Badania nad wpływem $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na komórki prezentujące antygen

W badaniach dotyczących działania pochodnych witaminy D na komórki prezentujące antygen oceniano wpływ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na różnicowanie, dojrzewanie i funkcję komórek dendrytycznych.

W warunkach *in vitro* ludzkie monocyty krwi obwodowej różnicują się do niedojrzałych komórek dendrytycznych pod wpływem interleukiny 4 (IL-4, *interleukin-4*) oraz czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF, *granulocyte-macrophages colony stimulating factor*) [55], czemu towarzyszy wzrost ekspresji cząsteczki kostymulującej 1a (CD1a, *cluster of differentiation*). Badając metodą cytometrii przepływową hodowlę monocytów poddane działaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, nie obserwowano wzrostu ekspresji CD1a pod wpływem IL-4 i GM-CSF [56]. Dojrzeniu komórek dendrytycznych towarzyszy natomiast zmniejszenie ekspresji cząsteczki CD1a, a wzrost ekspresji innych cząsteczek kostymulujących, między innymi CD40, CD83, CD86. W warunkach doświadczalnych podobne zmiany stwierdza się, poddając niedojrzałe komórki dendrytyczne na przykład działaniu liposacharydu (LPS, *liposaccharid*) [57]. W hodowli niedojrzałych komórek dendrytycznych z LPS, po dodaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, obserwowano około 50-procentowe zmniejszenie ekspresji cząsteczek CD40, CD83, CD86 w porównaniu z komórkami kontrolnymi, co świadczy o zahamowaniu ich dojrzewania [56].

W badaniach przeprowadzonych na hodowlach dojrzałych komórek dendrytycznych aktywowanych ligandem CD40 stwierdzono wzrost stężenia cytokin,

w tym interleukiny 10 (IL-10, *interleukine-10*) oraz interleukiny 12 (IL-12, *interleukine-12*) [58]. Z kolei po dodaniu do hodowli $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zaobserwowano obniżenie stężenia IL-12 (cytokiny stymulującej między innymi powstawanie limfocytów T pomocniczych 1 [Th_1 , *T helper 1*]) oraz 7-krotny wzrost syntezy IL-10 (która m.in. bierze udział w hamowaniu wytwarzania cytokin prozapalnych, w tym interferonu γ [IFN- γ , *interferon γ*] oraz IL-2) [56].

Niedawno poznano niektóre z molekularnych mechanizmów w jakich witamina D może wpływać na działanie komórek prezentujących antygen. W badaniach nad regulacją promotora genu GM-CSF, na podstawie testów opóźnienia migracji w żelu, stwierdzono, że sekwencja wiążąca VDR nakłada się częściowo na sekwencję wiążącą czynnik jądrowy AT (NF-AT, *nuclear factor of activated T-cells*). W testach koimmunoprecypitacji DNA zaobserwowano, że w obecności $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ monomer VDR może blokować miejsce wiązania NF-AT [59]. Natomiast w badaniach nad regulacją promotora genu *IL-12* stwierdzono, że w obecności $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ heterodimer VDR/RXR może blokować miejsce wiązania czynnika jądrowego κB (NF- κB) [60].

W badaniach *in vivo* zaobserwowano, że po podaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ u 50% badanych myszy wydłuża się czas utrzymania przeszczepów wysp trzustkowych. Na powierzchni komórek dendrytycznych pochodzących od zwierząt po przeszczepie poddanych działaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ stwierdzono niski poziom ekspresji cząsteczek kostymulujących (CD40, CD80, CD86), w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi [61].

Badania nad wpływem $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na limfocyty T

W testach proliferacji jednojądrzastych komórek krwi obwodowej stwierdzono, że pod wpływem $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dochodzi do hamowania indukowanej antygenem (KLH, *keyhole limpet hemocyanin*) proliferacji limfocytów T, czego nie obserwowano w hodowlach limfocytów stymulowanych mitogenami (konkawaliną A i fitohemaglutyniną) [62].

Badając ekspresję genów cytokin w hodowlach limfocytów T krwi obwodowej stymulowanych fitohemaglutyniną, a następnie poddanych działaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, zaobserwowano, zarówno na poziomie mRNA, jak i białka, zmniejszenie ekspresji genów *IL-2* i *IFN- γ* [63, 64]. Natomiast wyniki badań oceniających wpływ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na syntezę IL-4 (cytokiny wydzielanej głównie przez limfocyty Th_2) są niejednoznaczne. W badaniu przeprowadzonym na hodowlach limfocytów T CD4^+ stymulowanych syntetycznym peptydem OVA (fragmentem owalbuminy) i poddanych działaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ odnotowywano wzrost stężenia IL-4 [65]. Natomiast w badaniu oceniającym profil cytokin wydzielanych przez hodowlę limfocytów T CD4^+ poddanych stymulacji

za pomocą przeciwciał anti-CD3 i anti-CD28, po dodaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ obserwowano obniżenie stężenia IL-4 [66]. Z kolei w hodowli limfocytów T krwi obwodowej stymulowanych fitohemaglutyniną, a następnie IL-2 (pobudzającą różnicowanie limfocytów T w kierunku limfocytów cytotoksycznych), po dodaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nie stwierdzono wzrostu syntezy IL-4, w porównaniu z hodowlą kontrolną, stymulowaną samym mitogenem [67].

Częściowo poznano już molekularny mechanizm, w jakim $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ może regulować ekspresję genów cytokin wydzielanych przez limfocyty T. W badaniach nad regulacją promotora genu *IL-2*, w testach koimmunoprecypitacji DNA zaobserwowano, że w obecności $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ heterodimer VDR/RXR może blokować miejsce wiązania czynnika transkrypcyjnego NF-AT, a także czynnika AP-1 (*activating protein*) [68]. Natomiast w promotorze genu *IFN- γ* stwierdzono obecność negatywnego VDRE (nVDRE), który po związaniu kompleksu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR/RXR hamuje transkrypcję genu [69].

Niedobór witaminy D a występowanie chorób autoimmunologicznych

Pod wpływem różnorodnych czynników środowiskowych, u osób z odpowiednią predyspozycją genetyczną może dojść do przełamania tolerancji względem własnych antygenów i rozwoju procesów autoimmunologicznych [70].

Niedobór witaminy D, poprzez zachwianie równowagi immunologicznej, może stanowić czynnik środowiskowy sprzyjający rozwojowi zjawisk autoimmunologicznych. Potwierdzają to badania przeprowadzone na zwierzęcych modelach chorób autoimmunologicznych, na przykład: zaobserwowano, że niedobór cholekalcyferolu w diecie przyspiesza u myszy zimmunizowanych antygenami mieliny (np.: MOG35-55) wystąpienie objawów doświadczalnego alergicznego zapalenia mózgu i rdzenia (EAE, *experimental allergic encephalomyelitis*), które stanowi model stwardnienia rozsianego [71].

Zaobserwowano również, że podawanie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (i jego analogów) może wpływać na przebieg chorób autoimmunologicznych, a nawet zapobiegać ich wystąpieniu. Podanie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ myszom w ciągu 14 dni od immunizacji kolagenem typu II, całkowicie zapobiega rozwojowi zapalenia stawów (CIA, *collagen induced arthritis* — model reumatoidalnego zapalenia stawów) [72]. Natomiast suplementacja $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w diecie u myszy z CIA zapobiega rozwojowi ciężkich objawów zapalenia. Podobnie u myszy NOD (*nonobese diabetic* — myszy, u których, wskutek autoimmunologicznego zapalenia wysp trzustkowych, dochodzi do rozwoju cukrzycy insulinozależnej) zaobserwowano, że podanie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ przed ukończeniem 3. tygodnia życia zapobiega wystąpieniu choroby [73]. Natomiast w ba-

daniu immunohistochemicznym wysp trzustkowych pochodzących od dorosłych zwierząt chorych na cukrzycę, które otrzymywały analog $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Ro 26-2198) opisywano ograniczenie (o ok. 50%) nacieku zapalnego w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi otrzymującymi placebo [74]. Z kolei w badaniu histologicznym wycinków rdzenia kręgowego zwierząt z EAE, którym podawano analog witaminy D (Ro 63-2023), obserwowano ograniczenie nacieku limfocytarnego i zmniejszenie liczby ognisk demielinizacji [75].

Wyniki badań epidemiologicznych sugerują, że niedobór cholekalcyferolu w diecie wiąże się z częstszym występowaniem chorób autoimmunologicznych u ludzi, a właściwa suplementacja preparatami witaminy D może stanowić czynnik ochronny [76]. Zaobserwowano, że w populacjach rasy kaukaskiej zachorowalność na stwardnienie rozsiane jest wyższa w rejonach o mniejszym nasłonecznieniu, a przebieg choroby odpowiada sezonowym zmianom w stężeniach $25(\text{OH})\text{D}_3$ (zaostżenia w sezonie wiosennym, kiedy stwierdza się najniższe stężenie $25(\text{OH})\text{D}_3$ w surowicy) [77, 78]. Obserwacje te potwierdzono w badaniu prospektywnym, w którym wykazano, że codzienne spożycie witaminy D w dawce większej niż 400 j.m./dobę zmniejsza ryzyko zachorowania na stwardnienie rozsiane (ryzyko względne [RR, *relative risk*] — 0,59) [79]. Podobne wyniki uzyskano, badając związek pomiędzy zawartością witaminy D w diecie a częstością występowania reumatoidalnego zapalenia stawów (RR = 0,67) [80]. Wykazano również, że niedobór witaminy D w ciągu pierwszych 12 miesięcy życia stanowi czynnik ryzyka zachorowania na cukrzycę typu 1 (RR = 3,0) [81].

Należy jednak nadmienić, że podobnie jak w przypadku nowotworów, u zwierząt doświadczalnych, u których dokonano delecji/knockoutu genu *vdr* (co teoretycznie powoduje wyłączenie działania $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) nie stwierdza się tendencji do spontanicznego rozwoju chorób autoimmunologicznych. Wyłączenie genu *vdr* może jednak wpłynąć na przebieg tych chorób, o czym świadczą wyniki badań przeprowadzonych między innymi na myszach z knockoutem genu *IL-10*, u których dochodzi do spontanicznego rozwoju nieswoistych zapalnych chorób jelit. U zwierząt tych dokonano dodatkowo delecji genu *vdr*, zaostża objawy choroby i 100% zwierząt umiera przed ukończeniem 8. tygodnia życia [82]. Prawdopodobnie więc niedobór witaminy D nie jest kluczowym, a jednym z wielu czynników sprzyjających powstawaniu zjawisk autoimmunologicznych. Związek z podatnością do rozwoju chorób autoimmunologicznych mogą mieć również polimorfizmy genu *VDR*, o czym świadczą wyniki badań asocjacyjnych przeprowadzonych w różnych populacjach, między innymi stwardnieniem rozsianym, reumatoidalnym zapaleniem stawów, cukrzycą typu 1,

a w populacji polskiej również z rozwojem choroby Gravesa-Basedowa [83–86].

Zastosowanie witaminy D w terapii chorób o podłożu immunologicznym

Obecnie, pochodne witaminy D znajdują zastosowanie w leczeniu łuszczycy, przewlekłej zapalnej choroby skóry prawdopodobnie o podłożu autoimmunologicznym. Pierwsze doniesienie na ten temat dotyczy chorego, u którego po doustnym podaniu 1α -hydroksycholekalcyferolu ($1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$) w celu leczenia osteoporozy, stwierdzono remisję zmian łuszczycowych [87]. W następnych badaniach klinicznych zaobserwowano, że stosowanie pochodnych witaminy D zarówno zewnętrznie ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, $1,24(\text{OH})_2\text{D}_3$, kalcioptriol), jak i systemowo ($1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) po kilku tygodniach terapii powoduje poprawę kliniczną leczonych zmian u około 70–80% chorych (ocena według skal *Total Severity Score* [TSS], *Psoriasis Area Severity Index* [PASI]) [88]. W badaniach eksperymentalnych na hodowlach keratynocytów zaobserwowano między innymi, że w komórkach poddanych działaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dochodzi do ograniczenia inkorporacji znakowanych prekursorów syntezy DNA — 3H-tymidyny i 5-bromo-2-deoksyurydyny — co świadczy o ograniczeniu proliferacji. Po dodaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ do hodowli keratynocytów obserwowano również wzrost tworzenia tak zwanych zrogowaciałych kopert (*cornified envelopes*), których obecność jest jednym ze wskaźników zróżnicowania [89]. Ponadto opisywano wpływ pochodnych witaminy D na profil wydzielanych w zmianach łuszczycowych cytokin: w biopsjach pobranych ze zmian łuszczycowych od chorych leczonych analogiem witaminy D (kalcioptriem) zaobserwowano wzrost stężenia IL-10 (o 57%), a zmniejszenie stężenia IL-8 (o 70%), w porównaniu z grupą chorych, którym podawano placebo [90].

Stosowanie pochodnych cholekalcyferolu w leczeniu innych chorób o podłożu autoimmunologicznym, jak dotąd ma charakter eksperymentalny. Znane są pojedyncze doniesienia o próbach leczenia osteoporozy w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów za pomocą 1α -hydroksycholekalcyferolu czy też o podawaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chorym z obniżoną gęstością mineralną tkanki kostnej w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa [91].

Niedobory witaminy D — zalecenia i suplementacja

W ostatnich latach, wraz ze wzrostem wiedzy na temat roli pochodnych cholekalcyferolu w utrzymaniu homeostazy organizmów, zmieniono kryteria oceny zaopatrzenia w witaminę D. Według najnowszych zaleceń, wartości stężeń $25(\text{OH})\text{D}_3$ poniżej 25 nmol/l (10 ng/ml) definiowane są jako ciężki niedobór witaminy D (*defi-*

ciency), skutkujący rozwojem krzywicy, osteomalacji, miopatii i nadczynności przytarczyc. Stężenia w granicach 25–50 nmol/l (10–20 ng/ml) określane są jako stan „nieadekwatnego zaopatrzenia organizmu w witaminę D” (*insufficiency*), charakteryzujący się podwyższonymi wartościami PTH i zmniejszonym wchłanianiem wapnia w przewodzie pokarmowym, czasami również obniżoną gęstością mineralną kości. Wartości stężeń $25(\text{OH})\text{D}_3$ w zakresie 50–100 nmol/l (20–40 ng/ml), to według obecnych zaleceń hipowitaminoza, której odpowiada niedobór witaminy D w magazynach. Prawidłowe stężenia $25(\text{OH})\text{D}_3$ (*adequacy*) mieszczą się w zakresie 100–250 nmol/l (40–100 ng/ml), a wyższe wartości oznaczają już zatrucie witaminą D [92].

Opublikowano wiele badań, których wyniki pozwalają przypuszczać, że stężenia witaminy D w surowicy u osób zamieszkujących tereny położone w szerokościach geograficznych powyżej 34°N/S — w tym w Stanach Zjednoczonych, Kanadzie i w wielu krajach europejskich — są niższe od optymalnych [93]. W szerokościach geograficznych odpowiadających warunkom polskim odpowiednie zaopatrzenie w witaminę D można osiągnąć w okresie od marca do września, eksponując na przykład dłoń, ramiona i twarz na czas wynoszący 25% wymaganego do wywołania lekkiego zaróżowienia skóry (1 dawka rumieniowa, różna dla poszczególnych karnacji). W okresie jesienno-zimowym zaleca się doustną suplementację. Tymczasem w badaniu przeprowadzonym w 2002 roku, dotyczącym dziennego spożycia witaminy D w grupie dziewcząt 12-letnich oraz starszych kobiet w wieku 70–75 lat, w 4 państwach europejskich: Danii, Finlandii, Irlandii i Polsce [94] stwierdzono, że niezależnie od badanego kraju, dzienne spożycie witaminy D było niższe od zalecanego, przy czym najniższe wartości stwierdzono w Polsce (3,1 $\mu\text{g/d}$ u dziewcząt i 3,8 $\mu\text{g/d}$ u starszych kobiet) i w Danii (odpowiednio 2,4 $\mu\text{g/d}$ i 3,4 $\mu\text{g/d}$). W Polsce stwierdzono również najniższą częstość stosowania suplementów: 23% wśród starszych kobiet i 11% wśród dziewcząt.

Wśród czynników, które należy uwzględnić przy wyodrębnianiu osób narażonych na niedobory witaminy D, znajdują się zarówno te, które wpływają na jej przyswajanie z przewodu pokarmowego (wiek, dieta), jak i na syntezę skórną. Według profesora Michaela F. Holicka z *Boston University School of Medicine*, czynnikiem decydującym o poziomie zaopatrzenia zdrowego człowieka w cholekalcyferol jest skórna synteza witaminy D. Czynniki wpływające na wydajność skórnej syntezy witaminy D można podzielić na zewnętrzne i wewnętrzne. Do czynników zewnętrznych zalicza się: szerokość geograficzną, porę dnia i roku, zachmurzenie, grubość warstwy ozonowej (która absorbuje UVB) i zanieczyszczenia atmosfery. Do czynników wewnętrznych:

- rodzaj skóry (zawarta w skórze melanina pochłania promieniowanie UV i wydajność syntezy witaminy D jest odwrotnie proporcjonalna do zawartości melaniny);
- wiek (wraz z wiekiem zmniejsza się zawartość 7-dehydrocholekalcyferolu w keratynocytach);
- stosowanie filtrów słonecznych (np. zastosowanie kremu z filtrem nr 15 zmniejsza skórą syntezę witaminy D o 99,9%);
- czynniki behawioralne [9].

U osób zamieszkałych na terenach o wyraźnej sezonowości, a co za tym idzie rocznej zmienności nasłonecznienia, stwierdza się sezonowe fluktuacje w stężeniach $25(\text{OH})\text{D}_3$ w surowicy, przy czym maksymalne stężenia witaminy D obserwuje się około 2 miesiące po okresie największej ekspozycji na promieniowanie słoneczne. Biorąc jednocześnie pod uwagę fakt, że promieniowanie UV jest podstawowym czynnikiem środowiskowym sprzyjającym rozwojowi nowotworów skóry, zaleca się krótkie, regularne ekspozycje na działanie światła słonecznego, które są również najbardziej skuteczne z punktu widzenia wydajności syntezy witaminy D [95].

Dotychczas brakuje badań, które potwierdziłyby możliwość całkowitej kompensacji braku skórnej syntezy witaminy D przez jej odpowiednie dostarczanie w diecie lub przez stosowanie suplementów [96]. Należy tu nadmienić, że powszechnie jako suplement stosuje się witaminę D_2 , której przyswajalność odbiega od przyswajalności cholekalcyferolu [97]. Według najnowszych zaleceń w sezonie zimowym codzienne zalecane spożycie witaminy D, które pozwala na utrzymanie prawidłowego stężenia $25(\text{OH})\text{D}_3$ w surowicy wynosi około $50 \mu\text{g}$, co odpowiada 2000 j.m. (1 j.m. = 0,025 mg witaminy D). Są to wartości wyższe od dotychczas propagowanych przez Instytut Żywności i Żywienia: 400 j.m. — dla dzieci do 12. roku życia, kobiet w ciąży i karmiących, 300 j.m. — dla młodzieży, 200 j.m. — dla dorosłych. Dotychczasowe zalecenia odnośnie codziennego zapotrzebowania na witaminę D dotyczyły dawek, które zapewniłyby homeostazę gospodarki mineralnej i zapobiegały rozwojowi krzywicy i osteomalacji (100 j.m. zapobiega osteomalacji, 200 j.m. wystarcza do podtrzymania stężenia witaminy D na poziomie 25 nmol/l [10 ng/ml]) i powstały przed zmianą kryteriów rozpoznania niedoborów witaminy D [98].

Lista naturalnych produktów żywnościowych stanowiących dobre źródło witaminy D jest stosunkowo uboga, należy tu wymienić przede wszystkim ryby morskie (w tym łosoś, śledź, sardynki, makrela), niewielkie ilości witaminy D można znaleźć w jajach, czerwonym mięsie i tłuszczach zwierzęcych. W Stanach Zjednoczonych produkty, takie jak: mleko, masło i margaryny, soki, płatki śniadaniowe są wzbogacane

w witaminę D. W Europie wzbogacanie żywności w witaminę D było powszechne do końca lat 40. XX wieku. Wówczas to w Wielkiej Brytanii stwierdzono wiele przypadków hiperkalcemii u dzieci, której źródłem było nadmierne spożycie witaminy D ze wzbogaconej żywności. Prawdopodobną przyczyną tego stanu rzeczy była niedoskonałość metod laboratoryjnych stosowanych wówczas do oznaczania stężenia witaminy D w żywności. Przypadki zatrucia witaminą D u dzieci spowodowały wprowadzenie zakazu wzbogacania nią żywności w większości krajów Europy [9]. Obecnie przypadki zatrucia pochodnymi cholekalcyferolu są niezmiernie rzadkie. Amerykański Instytut Medycyny ustalił dopuszczalną bezpieczną dzienną dawkę witaminy D dla dzieci poniżej 1. roku życia na 1000 j.m., a dla dorosłych — na 2000 j.m. Objawy intoksykacji pojawiają się, gdy stężenie $25(\text{OH})\text{D}_3$ w surowicy przekroczy 250 nmol/l. Należy również nadmienić, że wszystkie notowane dotychczas przypadki zatrucia witaminą D dotyczą przewlekłego spożywania jej w dawkach ponadfarmakologicznych. Nadmiar cholekalcyferolu zsintetyzowanego w skórze ulega natomiast rozkładowi pod wpływem promieniowania UV [99].

Wnioski

Wraz z postępem nauki zwiększa się liczba chorób, których rozwój i przebieg może być uwarunkowany niedoborem witaminy D. Choć dotychczas najlepiej udokumentowano związek niedoborów witaminy D z występowaniem chorób tkanki kostnej, to badania epidemiologiczne dostarczają również dowodów na potencjalny wpływ pochodnych cholekalcyferolu na rozwój wielu nowotworów i chorób autoimmunologicznych. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że aktywny metabolit witaminy D — $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ reguluje procesy wzrostu i różnicowania komórek, a także wpływa na funkcję komórek prezentujących antygen i limfocytów T. W badaniach *in vivo* wykazano skuteczność cholekalcyferolu w hamowaniu progresji nowotworów i chorób autoimmunologicznych u zwierząt, a pochodne witaminy D już dziś znajdują zastosowanie w terapii nowotworów prostaty i łuszczyca u ludzi. Coraz więcej jest też badań wskazujących na powszechność występowania niedoborów witaminy D, co wiąże się przede wszystkim z ograniczeniem skórnej syntezy cholekalcyferolu. Zmiany trybu życia, zanieczyszczenia atmosferyczne, a także stosowanie filtrów słonecznych sprawiły, że współczesny Europejczyk otrzymuje zaledwie drobną część dawki promieniowania UV, którą otrzymywali jego przodkowie. Niedobory witaminy D spowodowane ograniczoną skórą syntezą trudno uzupełnić cholekalcyferolem z diety, ponieważ niewiele naturalnych produktów żywnościowych jest

bogaty w tę witaminę. Dlatego mieszkańcom krajów, w których nie prowadzi się powszechnie wzbogacania produktów żywnościowych w cholekalcyferol (w tym Polski), zaleca się obecnie stosowanie doustnej suplementacji witaminy D, nie tylko w ramach profilaktyki krzywicy i osteomalacji, ale również chorób autoimmunologicznych i nowotworów.

Piśmiennictwo

- Walters MR. Newly identified actions of the vitamin D endocrine system. *Endocr Rev* 1992; 13: 719–764.
- Prosser E, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem Sci* 2004; 29: 664–673.
- St-Arnaud R, Glorieux FH. 24,25-Dihydroxyvitamin D-active metabolite or inactive catabolite? *Endocrinology* 1998; 139: 3371–3374.
- White P, Cooke N. The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11: 320–327.
- Gniadecki R. Nongenomic signaling by vitamin D: a new face of Src. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 1273–1277.
- Puzianowska-Kuznicka M, Pietrzak M, Turowska O i wsp. Thyroid hormones and their receptors in the regulation of cell proliferation. *Acta Biochim Pol* 2006; 53: 641–650.
- Tanaka H, Abe E, Miyaura C i wsp. 1 alpha,25-Dihydroxycholecalciferol and a human myeloid leukaemia cell line (HL-60). *Biochem J* 1982; 204: 713–719.
- Colston K, Colston MJ, Feldman D. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and malignant melanoma: the presence of receptors and inhibition of cell growth in culture. *Endocrinology* 1981; 108: 1083–1086.
- Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1678–8168.
- Skowronski RJ, Peehl DM, Feldman D. Vitamin D and prostate cancer: 1,25 dihydroxyvitamin D3 receptors and actions in human prostate cancer cell lines. *Endocrinology* 1993; 132 (5): 1952–1960.
- Zhuang SH, Burnstein KL. Antiproliferative effect of 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 in human prostate cancer cell line LNCaP involves reduction of cyclin-dependent kinase 2 activity and persistent G1 accumulation. *Endocrinology* 1998; 139: 1197–1207.
- Liu M, Lee MH, Cohen M i wsp. Transcriptional activation of the Cdk inhibitor p21 by vitamin D3 leads to the induced differentiation of the myelomonocytic cell line U937. *Genes Dev* 1996; 10: 142–153.
- Wade WN, Willingham MC, Koumenis C i wsp. p27Kip1 is essential for the antiproliferative action of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in primary, but not immortalized, mouse embryonic fibroblasts. *J Biol Chem* 2002; 277: 37 301–37 306.
- Verlinden L, Eelen G, Van Hellefont R i wsp. 1 alpha, 25-Dihydroxyvitamin D(3)-induced down-regulation of the checkpoint proteins, Chk1 and Claspin, is mediated by the pocket proteins p107 and p130. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007 (w druku).
- Desprez PY, Poujol D, Falette N i wsp. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 increases epidermal growth factor receptor gene expression in BT-20 breast carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 176: 1–6.
- Bouillon R, Eelen G, Verlinden L i wsp. Vitamin D and cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006; 102: 156–162.
- Moreno J, Krishnan AV, Peehl DM i wsp. Mechanisms of vitamin D-mediated growth inhibition in prostate cancer cells: inhibition of the prostaglandin pathway. *Anticancer Res* 2006; 26: 2525–2530.
- Beer TM, Myrthue A. Calcitriol in cancer treatment: from the lab to the clinic. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 373–381.
- Elstner E, Linker-Israeli M, Said J i wsp. 20-epi-vitamin D3 analogues: a novel class of potent inhibitors of proliferation and inducers of differentiation of human breast cancer cell lines. *Cancer Res* 1995; 55: 2822–2830.
- Xu HM, Tepper CG, Jones JB i wsp. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 protects HL60 cells against apoptosis but down-regulates the expression of the bcl-2 gene. *Exp Cell Res* 1993; 209: 367–374.
- Flanagan L, Packman K, Juba B i wsp. Efficacy of Vitamin D compounds to modulate estrogen receptor negative breast cancer growth and invasion. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 84: 181–192.
- Hansen CM, Frandsen TL, Brunner N i wsp. 1 alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits the invasive potential of human breast cancer cells in vitro. *Clin Exp Metastasis* 1994; 12: 195–202.
- Konety BR, Lavelle JP, Pirtskalaishvili G i wsp. Effects of vitamin D (calcitriol) on transitional cell carcinoma of the bladder in vitro and in vivo. *J Urol* 2001; 165: 253–258.
- Young MR, Ihm J, Lozano Y i wsp. Treating tumor-bearing mice with vitamin D3 diminishes tumor-induced myelopoiesis and associated immunosuppression, and reduces tumor metastasis and recurrence. *Cancer Immunol Immunother* 1995; 41: 37–45.
- Bao BY, Yao J, Lee YF. 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 suppresses interleukin-8-mediated prostate cancer cell angiogenesis. *Carcinogenesis* 2006; 27: 1883–1893.
- Reichrath J, Kamradt J, Zhu XH i wsp. Analysis of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) receptors (VDR) in basal cell carcinomas. *Am J Pathol* 1999; 155: 583–589.
- Reichrath J, Rafi L, Muller SM i wsp. Immunohistochemical analysis of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in cervical carcinoma. *Histochem J* 1998; 30: 561–567.
- Buras RR, Schumaker LM, Davoodi F i wsp. Vitamin D receptors in breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 1994; 31: 191–202.
- Madej A, Puzianowska-Kuznicka M, Tanski Z i wsp. Vitamin D receptor binding to DNA is altered without the change in its expression in human renal clear cell cancer. *Nephron Exp Nephrol* 2003; 93: 150–157.
- Nejentsev S, Godfrey L, Snook H i wsp. Comparative high-resolution analysis of linkage disequilibrium and tag single nucleotide polymorphisms between populations in the vitamin D receptor gene. *Hum Mol Genet* 2004; 13: 1633–1639.
- Carling T, Rastad J, Akerstrom G i wsp. Vitamin D receptor (VDR) and parathyroid hormone messenger ribonucleic acid levels correspond to polymorphic VDR alleles in human parathyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2255–2259.
- Graafmans WC, Lips P, Ooms ME i wsp. The effect of vitamin D supplementation on the bone mineral density of the femoral neck is associated with vitamin D receptor genotype. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 1241–1245.
- Marc J, Prezelj J, Komel R i wsp. VDR genotype and response to etidronate therapy in late postmenopausal women. *Osteoporos Int* 1999; 10: 303–306.
- Morrison NA, Qi JC, Tokita A i wsp. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994; 367: 284–287.
- Chen WY, Bertone-Johnson ER, Hunter DJ i wsp. Associations between polymorphisms in the vitamin D receptor and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 2335–2339.
- John EM, Schwartz GG, Koo J i wsp. Sun exposure, vitamin D receptor gene polymorphisms, and risk of advanced prostate cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 5470–5479.
- Albertson DG, Ylstra B, Segraves R i wsp. Quantitative mapping of amplicon structure by array CGH identifies CYP24 as a candidate oncogene. *Nat Genet* 2000; 25: 144–146.
- Solomon C, Kremer R, White JH i wsp. Vitamin D resistance in RAS-transformed keratinocytes: mechanism and reversal strategies. *Radiat Res* 2001; 155: 156–162.

39. Khanim FL, Gommersall LM, Wood VH. Altered SMRT levels disrupt vitamin D3 receptor signalling in prostate cancer cells. *Oncogene* 2004; 23: 6712–6725.
40. Grant WB, Garland CF. The association of solar ultraviolet B (UVB) with reducing risk of cancer: multifactorial ecologic analysis of geographic variation in age-adjusted cancer mortality rates. *Anticancer Res* 2006; 26: 2687–2699.
41. Ahonen MH, Tenkanen L, Teppo L i wsp. Prostate cancer risk and prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D levels (Finland). *Cancer Causes Control* 2000; 11: 847–852.
42. Garland CF, Comstock GW, Garland FC i wsp. Serum 25-hydroxyvitamin D and colon cancer: eight-year prospective study. *Lancet* 1989; 2: 1176–1178.
43. Tangpricha V, Spina C, Yao M i wsp. Vitamin D deficiency enhances the growth of MC-26 colon cancer xenografts in Balb/c mice. *J Nutr* 2005; 135: 2350–2354.
44. Welsh J. Vitamin D and breast cancer: insights from animal models. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1721–1724.
45. Grant WB, Garland CF, Holick MF. Comparisons of estimated economic burdens due to insufficient solar ultraviolet irradiance and vitamin D and excess solar UV irradiance for the United States. *Photochem Photobiol* 2005; 81: 1276–1286.
46. Grant WB. Ecologic studies of solar UV-B radiation and cancer mortality rates. *Recent Results Cancer Res* 2003; 164: 371–377.
47. Robsahm TE, Tretli S, Dahlback A i wsp. Vitamin D3 from sunlight may improve the prognosis of breast-, colon- and prostate cancer (Norway). *Cancer Causes Control* 2004; 15: 149–158.
48. Zhou W, Suk R, Liu G i wsp. Vitamin D is associated with improved survival in early-stage non-small cell lung cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 2303–2309.
49. Dunlap N, Schwartz GG, Eads D i wsp. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) (calcitriol) and its analogue, 19-nor-1alpha, 25(OH)(2)D(2), potentiate the effects of ionising radiation on human prostate cancer cells. *Br J Cancer* 2003; 89: 746–753.
50. Polar MK, Gennings C, Park M i wsp. Effect of the vitamin D3 analog ILX 23–7553 on apoptosis and sensitivity to fractionated radiation in breast tumor cells and normal human fibroblasts. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003; 51: 415–421.
51. Gross C, Stamey T, Hancock S i wsp. Treatment of early recurrent prostate cancer with 1,25-dihydroxyvitamin D3 (calcitriol) *J Urol* 1998; 159: 2035–2039.
52. Beer TM, Eilers KM, Garzotto M i wsp. Weekly high-dose calcitriol and docetaxel in metastatic androgen-independent prostate cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 123–128.
53. Johnson CS, Hershberger PA, Bernardi RJ i wsp. Vitamin D receptor: a potential target for intervention. *Urology* 2002; 60: 123–130.
54. Bower M, Colston KW, Stein RC i wsp. Topical calcipotriol treatment in advanced breast cancer. *Lancet* 1991; 337: 701–702.
55. Sallusto F, Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med* 1994; 179: 1109–1118.
56. Penna G, Adorini L. 1 Alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *J Immunol* 2000; 164: 2405–2411.
57. Cella M, Engering A, Pinet V i wsp. Inflammatory stimuli induce accumulation of MHC class II complexes on dendritic cells. *Nature* 1997; 388: 782–787.
58. Caux C, Massacrier C, Vanbervliet B i wsp. Activation of human dendritic cells through CD40 cross-linking. *J Exp Med* 1994; 180: 1263–1272.
59. Towers TL, Staeva TP, Freedman LP. A two-hit mechanism for vitamin D3-mediated transcriptional repression of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene: vitamin D receptor competes for DNA binding with NFAT1 and stabilizes c-Jun. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 4191–4199.
60. D'Ambrosio D, Cippitelli M, Cocciolo i wsp. Inhibition of IL-12 production by 1,25-dihydroxyvitamin D3. Involvement of NF-kappaB downregulation in transcriptional repression of the p40 gene. *J Clin Invest* 1998; 101: 252–262.
61. Gregori S, Casorati M, Amuchastegui S i wsp. Regulatory T cells induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and mycophenolate mofetil treatment mediate transplantation tolerance. *J Immunol* 2001; 167: 1945–1953.
62. Bhalla AK, Amento EP, Serog B i wsp. H.1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits antigen-induced T cell activation. *J Immunol* 1984; 133: 1748–1754.
63. Reichel H, Koeffler HP, Tobler A i wsp. 1 alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits gamma-interferon synthesis by normal human peripheral blood lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 3385–3389.
64. Rigby WF, Denome S, Fanger MW. Regulation of lymphokine production and human T lymphocyte activation by 1,25-dihydroxyvitamin D3. Specific inhibition at the level of messenger RNA. *J Clin Invest* 1987; 79: 1659–1664.
65. Boonstra A, Barrat FJ, Crain C i wsp. 1alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol* 2001; 167: 4974–4980.
66. Staeva-Vieira TP, Freedman LP. 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits IFN-gamma and IL-4 levels during in vitro polarization of primary murine CD4+ T cells. *J Immunol* 2002; 168: 1181–1189.
67. Willheim M, Thien R, Schratlbauer i wsp. Regulatory effects of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 on the cytokine production of human peripheral blood lymphocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3739–3744.
68. Alroy I, Towers TL, Freedman LP. Transcriptional repression of the interleukin-2 gene by vitamin D3: direct inhibition of NFATp/AP-1 complex formation by a nuclear hormone receptor. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 5789–5799.
69. Cippitelli M, Santoni A. Vitamin D3: a transcriptional modulator of the interferon-gamma gene. *Eur J Immunol* 1998; 28: 3017–3030.
70. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med* 2001; 345: 340–350.
71. Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 7861–7864.
72. Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxycholecalciferol inhibits the progression of arthritis in murine models of human arthritis. *J Nutr* 1998; 128: 68–72.
73. Mathieu C, Waer M, Laureys J i wsp. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D3. *Diabetologia* 1994; 37: 552–558.
74. Gregori S, Giarratana N, Smirolto S i wsp. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) analog enhances regulatory T-cells and arrests autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes* 2002; 51: 1367–1374.
75. Mattner F, Smirolto S, Galbiati F i wsp. Inhibition of Th1 development and treatment of chronic-relapsing experimental allergic encephalomyelitis by a non-hypercalcemic analogue of 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Eur J Immunol* 2000; 30: 498–508.
76. Cantorna MT, Mahon BD. Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. *Exp Biol Med (Maywood)* 2004; 229: 1136–1142.
77. Auer DP, Schumann EM, Kumpfel T i wsp. Seasonal fluctuations of gadolinium-enhancing magnetic resonance imaging lesions in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2000; 47: 276–277.
78. Wuthrich R, Rieder HP. The seasonal incidence of multiple sclerosis in Switzerland. *Eur Neurol* 1970; 3: 257–264.
79. Munger KL, Zhang SM, O'Reilly E i wsp. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 62: 60–65.
80. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR i wsp. Iowa Women's Health Study. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 72–77.

81. Hypponen E, Laara E, Reunanen A i wsp. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001; 358: 1500–1503.
82. Froicu M, Weaver V, Wynn T i wsp. A crucial role for the vitamin D receptor in experimental inflammatory bowel diseases. *Mol Endocrinol* 2003; 17: 2386–2392.
83. Fukazawa T, Yabe I, Kikuchi S i wsp. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with multiple sclerosis in Japanese. *J Neurol Sci* 1999; 166: 47–52.
84. Gough A, Sambrook P, Devlin J i wsp. Effect of vitamin D receptor gene alleles on bone loss in early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1998; 25: 864–868.
85. Guja C, Marshall S, Welsh K i wsp. The study of CTLA-4 and vitamin D receptor polymorphisms in the Romanian type 1 diabetes population. *J Cell Mol Med* 2002; 6: 75–81.
86. Ramos-Lopez E, Kuryłowicz A, Bednarczuk T i wsp. Vitamin D Receptor Polymorphisms are Associated with Graves' Disease in German and Polish But not in Serbian Patients. *Thyroid* 2005; 15: 1125–1130.
87. Morimoto S, Kumahara Y. A patient with psoriasis cured by 1 α -hydroxyvitamin D₃. *Med J Osaka Univ* 1985; 35: 51–54.
88. Ashcroft DM, Po AL, Williams HC i wsp. Systematic review of comparative efficacy and tolerability of calcipotriol in treating chronic plaque psoriasis. *BMJ* 2000; 320: 963–967.
89. Takahashi H, Ibe M, Kinouchi M i wsp. Similarly potent action of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its analogues, tacalcitol, calcipotriol, and maxacalcitol on normal human keratinocyte proliferation and differentiation. *J Dermatol Sci* 2003; 31: 21–28.
90. Kang S, Yi S, Griffiths CE i wsp. Calcipotriene-induced improvement in psoriasis is associated with reduced interleukin-8 and increased interleukin-10 levels within lesions. *Br J Dermatol* 1998; 138: 77–83.
91. Kelman A, Lane NE. The management of secondary osteoporosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005; 19: 1021–1037.
92. Zittermann A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 39–48.
93. Ovesen L, Andersen R, Jakobsen J. Geographical differences in vitamin D status, with particular reference to European countries. *Proc Nutr Soc* 2003; 62: 813–821.
94. Andersen R, Molgaard C, Skovgaard LT i wsp. Teenage girls and elderly women living in northern Europe have low winter vitamin D status. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59: 533–541.
95. Webb AR. Who, what, where and when influences on cutaneous vitamin D synthesis. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 17–25.
96. Lamberg-Allardt C. Vitamin D in foods and as supplements. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 33–38.
97. Trang HM, Cole DE, Rubin LA i wsp. Evidence that vitamin D₃ increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D₂. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 854–858.
98. Vieth R, Kimball S, Hu A i wsp. Randomized comparison of the effects of the vitamin D₃ adequate intake versus 100 mcg (4000 IU) per day on biochemical responses and the wellbeing of patients. *Nutr J* 2004; 3: 8.
99. Holick MF. Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 2002; 9: 87–98.