

UNIVERZITET U BEOGRADU

Medicinski fakultet

Sreten J. Kavarić

**Značaj određivanja vitamina D u pacijenata sa
dijabetes melitusom tipa 2**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018g.

UNIVERZITET U BEOGRADU

Medicinski fakultet

Sreten J. Kavarić

**Značaj određivanja vitamina D u pacijenata sa
dijabetes melitusom tipa 2**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018g.

UNIVERSITY OF BELGRADE

Faculty of Medicine

Sreten J. Kavarić

**The importance of vitamin D level assessment
in patients with diabetes mellitus type 2**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

Mentor:

prof dr Vera Popović Brkić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu u penziji

Članovi komisije:

Akademik prof dr Nebojša Lalić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prof dr Sandra Pekić Đurđević, vanredni profesor profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prof dr Milica Medić Stojanoska, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu

Datum odbrane:

Posveta i izrazi zahvalnosti

Moja životna inspiracija su supruga Maja i naša djeca, Đorđe, Anđela, Marija i Nikola.

Nadam se da sam ovim činom vratio dio pažnje i ljubavi mojim roditeljima, Desanki i Jovanu.

Mojem mlađem, najboljem Bratu na svijetu, Nebojši, koji je oduvijek vjerovao u mene.

Sestri Marjani, za koju sam odavno „profesor“!

Dobri ljudi su od početka naučnog rada bili uz mene: Dragica Božović, Milica Vuksanović, Zoran Radojčić, Sandra Pekić, Darija Kisić, Filip Ognjanović, Siniša Glavaški, **Marko Jovanović**, **Veljko Jeremić**, Gorani Seki Šaranović, Biljana Žižić, Velinka Kovačević, Zorica Kovačević.

Zahvalnost dugujem Akademiku prof dr Draganu Miciću što je bio dovoljno uporan da do kraja dovedem davno započeto istraživanje.

Veliko ljudsko hvala jednom od mojih uzora, mom mentoru Prof dr Veri Popović, što me usmjerila u svijet endokrinologije.

Značaj određivanja vitamina D u pacijenata sa dijabetes melitusom tipa 2

Rezime

Uvod: Nedostatak vitamina D je dobro poznat faktor rizika za oboljenja kostiju, ali je sve više podataka da izmjenjena homeostaza vitamin D ima ulogu u razvoju šećerne bolesti tipa 2 (T2DM), dislipidemije, hipertenzije i drugih kardiovaskularnih oboljenja (KVO).

Cilj: Utvrditi učestalost nedostatka vitamina D kod pacijenata sa šećernom bolešću tipa 2, bez i sa KVO, korelirati nivo vitamina D sa antropometrijskim i metaboličkim parametrima i odrediti prediktore nedostatka vitamina D.

Pacijenti i metodologija: U studiju je bilo uključeno 88 pacijenata sa T2DM (49 muškaraca/39 žena, uzrasta 61.0 ± 0.9 godina, indeksa tjelesne mase (ITM) 29.9 ± 0.4 kg/m²) i 67 pacijenata (44 muškaraca/23 žena, uzrasta 63.6 ± 1.0 godina, ITM 29.2 ± 0.5 kg/m²) sa T2DM i KVO (infarkt miokarda kod 57 pacijenata i angina pektoris kod 10 pacijenata). Ovi pacijenti su upoređeni sa 87 zdravih ispitanika (35 muškaraca/52 žena, uzrasta 52.8 ± 1.4 godina, ITM 27.2 ± 0.5 kg/m²). Kod svih ispitanika mjereni su: tjelesna težina, tjelesna visina, obim struka i računat je ITM, mjereno je arterijski pritisak i bilježena je primjena antihipertenzivnih lekova. Takođe, mjereno je nivo ukupnog holesterola, triglicerida, hemoglobina A1c (HbA1c) i 25-hidroksi-vitamina D [25(OH)D] u serumu. Prema koncentraciji 25(OH)D u serumu, svi ispitanici su podjeljeni u tri grupe: težak nedostatak vitamina D (≤ 15 ng/mL), nedovoljnost vitamina D (15-20 ng/mL) i dovoljan nivo vitamina D (> 20 ng/mL). Korelirali smo nivo vitamina D sa antropometrijskim podacima i metaboličkim parametrima i odredili smo prediktore nedostatka vitamina D.

Rezultati: Težak nedostatak vitamina D nađen je kod 16.1% zdravih ispitanika, kod 21.6% pacijenata sa T2DM i kod 26.9% pacijenata sa T2DM i KVO. Pacijenti sa T2DM koji su imali nedostatak vitamina D imali su i povećanu tjelesnu težinu, obim struka, koncentraciju holesterola i triglicerida, u poređenju sa pacijentima sa T2DM koji su imali normalan nivo vitamina D. Koncentracija 25(OH)D u serumu korelirala je sa ITM i obimom struka kod svih ispitanika, ali nije korelirala sa metaboličkim parametrima (lipidi, HbA1c). Takođe, pacijenti sa T2DM i KVO koji su imali i arterijsku hipertenziju, imali su niže koncentracije vitamina D u poređenju sa zdravim ispitanicima. Nije bilo značajne razlike u koncentraciji vitamina D

između normotenzivnih i hipertenzivnih pacijenata sa T2DM. Najbolji prediktori koncentracije vitamina D kod svih ispitanika bili su tjelesna težina, obim struka i ITM.

Zaključak: Kod pacijenata sa T2DM, a posebno kod onih sa udruženim i KVO postoji velika učestalost nedostatka vitamina D. Nadoknada vitamina D mogla bi da ima pozitivne efekte, ali još uvijek nema dovoljno dokaza da se preporuči rutinska primjena vitamina D.

Ključne riječi: Vitamin D, dijabetes melitus tip 2, arterijska hipertenzija, kardiovaskularno oboljenje.

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Interna medicina - endokrinologija

The importance of vitamin D level assessment in patients with diabetes mellitus type 2

1 ABSTRACT

Objective: Vitamin D deficiency is a well-established risk factor for bone disease, but emerging data suggest that altered vitamin D homeostasis may play a role in the development of type 2 diabetes mellitus (T2DM), dyslipidemia, hypertension, and other cardiovascular diseases (CVD). The aim of this study was to investigate the prevalence of vitamin D deficiency in patients with T2DM with/without CVD, to correlate it with anthropometric and metabolic parameters and to determine the predictors of vitamin D deficiency.

Patients and methods: A total of 88 patients with T2DM (49 male/39 female, aged 61.0 ± 0.9 yrs, body mass index (BMI) 29.9 ± 0.4 kg/m²) and 67 patients (44 male/23 female, aged 63.6 ± 1.0 yrs, BMI 29.2 ± 0.5 kg/m²) with T2DM and CVD (myocardial infarction in 57 patients and angina pectoris in 10 patients) were included in this study. These patients were compared with 87 healthy subjects (35 male/52 female, aged 52.8 ± 1.4 yrs, BMI 27.2 ± 0.5 kg/m²). Weight, height, waist circumference, BMI, blood pressure and history of antihypertensive drugs were recorded in all patients. Also, total cholesterol, triglycerides, hemoglobin A1c (HbA1c) and 25-hydroxy-vitamin D [25(OH)D] levels were measured in all. According to 25(OH)D level, all subjects were divided into three categories: severe vitamin D deficiency (≤ 15 ng/mL), vitamin D insufficiency (15-20 ng/mL) and vitamin D sufficiency (> 20 ng/mL). We correlated vitamin D levels with anthropometric and metabolic status and determined the predictors of vitamin D deficiency.

Results: Severe vitamin D deficiency was registered in 16.1% healthy subjects, in 21.6% patients with T2DM and in 26.9% patients with T2DM and CVD. Patients with T2DM who were vitamin D deficient had increased weight, waist circumference, cholesterol and triglyceride levels when compared with patients with T2DM who had sufficient vitamin D level. 25(OH)D levels correlated with BMI and waist circumference in all subjects, but did not correlate with metabolic parameters (lipids, HbA1c). Hypertensive patients with T2DM with CVD were vitamin D insufficient in comparison with healthy subjects. This cross-sectional study showed that there were no differences in vitamin D levels between

normotensive and hypertensive patients with T2DM. The best predictors of vitamin D level in all subjects were weight, waist circumference and BMI.

Conclusion: The high prevalence of vitamin D deficiency in patients with T2DM and particularly in patients with T2DM and CVD suggests that supplementation with vitamin D may be beneficial although there is still not sufficient evidence for recommending prescribing vitamin D.

Key words: Vitamin D, diabetes mellitus type 2, arterial hypertension, cardiovascular disease.

Scientific area: Medicine

Scientific sub-area: Internal medicine - Endocrinology

SADRŽAJ

1	ABSTRACT	8
2	UVOD	11
2.1	Istorijat vitamina D	13
2.2	Izvori, metabolizam i biološke funkcije vitamina D.....	14
2.3	Definicija i prevalenca nedovoljnosti vitamina D	19
2.4	Uloga vitamina D u patogenezi dijabetes melitusa tip 2 (T2DM).....	21
2.4.1	Vitamin D i funkcija β ćelija	22
2.4.2	Insulinska rezistencija i vitamin D	26
2.4.3	Inflamatorni procesi u gojaznih i T2DM.....	27
2.4.4	Povezanost vitamina D i prevalence T2DM ili metaboličkog sindroma.....	30
2.5	T2DM i vitamin D zavisni genetski faktori	32
2.5.1	Vitamin D receptorski polimorfizam.....	32
2.5.2	Vitamin D vezujući protein i T2DM	36
2.5.3	Ostali polimorfizmi udruženi sa T2DM	37
2.6	Vitamin D, gojaznost i kardiometabolički rizik.....	39
3	CILJEVI RADA	47
4	PACIJENTI I METODE	48
4.1	Pacijenti	48
4.2	Metode	48
4.3	Statistička analiza	48
5	REZULTATI	49
5.1	Demografske karakteristike ispitanika.....	49
5.2	Nivo vitamina D u pacijenata i zdravih ispitanika.....	62
5.3	Grupa ispitanika sa T2DM.....	65
5.4	Pacijenti sa T2DM plus kardiovaskularna bolest (KVB)	67
5.5	Prediktori nivoa vitamina D.....	69
6	DISKUSIJA	70
7	ZAKLJUČCI	83
8	LITERATURA	84
9	BIOGRAFIJA dr SRETENA KAVARIĆA	99
10	SKRAĆENICE:	100
11	IZJAVA O AUTORSTVU, IZJAVA O ISTOVJETNOSTI ŠTAMPANE I ELEKTRONSKE VERZIJE DOKTORSKOG RADA	101

2 UVOD

Vitamin D krucijalan je ne samo za održavanje čvrstine kosti, već istraživači takođe sugerišu njegovu ulogu u funkcionisanju imunog sistema, prevenciji malignih bolesti, metabolizmu glukoze, lipida i u kardiovaskularnom zdravlju (1). Brojni radovi su pokazali inverznu povezanost nivoa vitamina D i tjelesne mase, hipertenzije, glukozne homeostaze i dijabetes melitusa tipa 2 (T2DM) (2). Ove činjenice objašnjavaju interesovanje za vitamin D kao jedan od mogućih modifikujućih faktora za prevenciju T2DM. Nedavno je radna grupa Evropskog endokrinološkog udruženja (Endocrine Society) objavila vodiče za kliničare koji se odnose na procjenu, tretman i prevenciju nedostatka (deficiency) i nedovoljnosti (insufficiency) vitamina D sa naglašenom brigom o pacijentima koji su u riziku za nedostatak i nedovoljnost vitamina D (3). Uočeno je da su nedostatak i nedovoljnost vitamina D značajno učestali u svim dobnim grupama i da nekoliko vrsta hrane sadrži vitamin D. Radna grupa Evropskog endokrinološkog udruženja preporučuje dodavanje vitamina D zavisno od životne dobi i kliničke procjene.

Vitamin D se uglavnom stvara u koži procesom fotolize od steroidnih prekursora pod dejstvom ultravioletnog B zračenja, a takođe se nalazi u ribi, jajima, obogaćenom mlijeku, jetri i suplementima. Vitamin D se vezuje za vitamin D vezujući protein (DBP) i prenosi u jetru gde se hidrosiluje u 25-hidroksivitamin D (25(OH) D). 25(OH)D se dalje hidrosiluje u bubrezima u 1,25-dihidroksivitamin D (1,25(OH)₂ D), najaktivniji metabolit vitamina D (4,5). U ovom trenutku se smatra da je koncentracija 25(OH)D u serumu najbolji indikator statusa vitamina D kod osobe bez oboljenja bubrega, jer se radi o supstratu za renalnu i ekstrarenalnu sintezu 1,25(OH)₂ D, ima duže vrijeme poluživota od 1,25(OH)₂ D i cirkuliše u mnogo višoj koncentraciji u krvi. Koncentracija 25(OH)D u serumu odražava ukupnu produkciju vitamina D i iz endogenih i iz egzogenih izvora, uključujući izlaganje ultravioletnom B zračenju i unošenje različitih dijetetskih preparata. Osobe koji su u najvećem riziku za nedostatak vitamina D su starije osobe, osobe tamne puti, gojazne osobe, osobe koje se ne izlažu suncu uopšte ili koriste kreme sa visokim zaštitnim faktorom, zatim pacijenti sa malapsorpcionim sindromom ili inflamatornom bolesti crijeva (6-11).

U ovom trenutku nema konsenzusa o optimalnom nivou vitamina D. Sugerise se da je nivo 25(OH)D u serumu iznad than 25 ng/ml (preporuke Evropskog endokrinološkog

udruženja 30 ng/ml) potreban za optimalno zdravlje i da je nivo ispod 15 ng/ml (preporuke Endokrinološkog udruženja 20 ng/ml) povezan sa smanjenjem mineralne gustine kosti i drugim negativnim posledicama nedostatka vitamina D (3,12).

Mnoge studije su pokazale inverznu povezanost između nivoa 25(OH)D u serumu i rizika za pojavu različitih oboljenja, kao što su dijabetes melitus (DM), kardiovaskularna oboljenja, karcinomi, autoimuna oboljenja, infekcije, ili kognitivni ispadi (13,14). Takođe, pokazano je da je vitamin D povezan sa homeostazom glukoze i insulina. Opservacione studije su pokazale relativno konzistentnu povezanost niskog nivoa vitamina D i dijabetes melitusa oba tipa (T1DM i T2DM), kao i metaboličkog sindroma (15-17). (Figura 1)

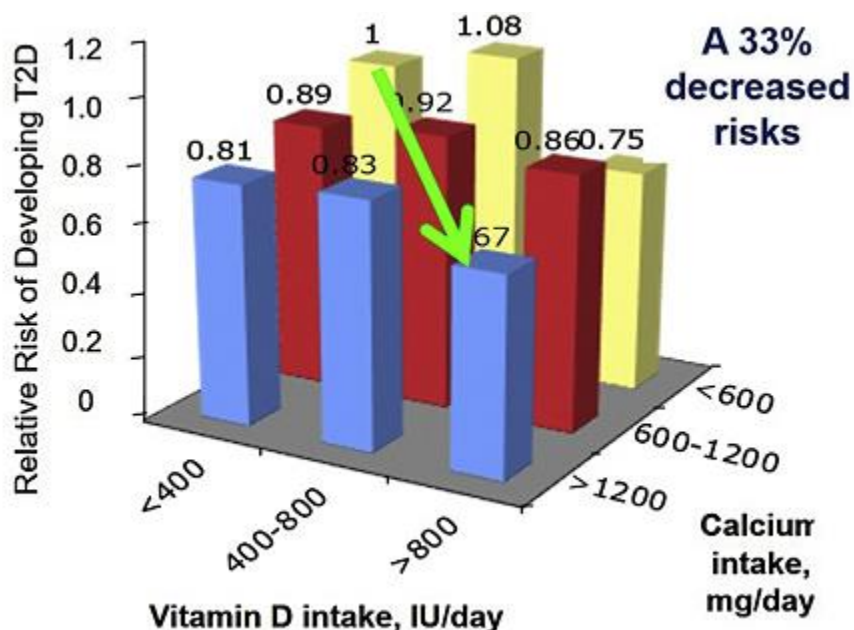


Figura 1: Kalcijum i vitamin D adekvatnost, smanjuju rizik od dijabetesa

Relativni rizik za T2DM baziran je na osnovu ukupnog unosa vitamina D i kalcijuma u Nurses' Health Studiji. Žene sa unosom vitamina D od 400 IU/dani totalni

kalcijumski unos 600 mg/dan predstavljene su kao referentna grupa. Smanjenje incidence dijabetesa

od 33% uočen je u onih koje su konzumirale vitamin D zajedno sa totalnim kalcijumskim unosom od 1.2 g/dnevno. Iz: Pittas et al. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women.

Diabetes Care 2006; 29: 650-656. (15).

Poznato je da je kod djece koja žive u krajevima svijeta sa malo sunčanih perioda tokom dana (kao u Finskoj) veća učestalost dijabetes melitusa tipa 1 (T1DM) nego u drugim djelovima svijeta. Ova djeca imaju i do 400 puta veći rizik da razviju DM u odnosu na djecu iz Venecuele (18). Neki istraživači smatraju da djeca kojoj se daju suplementi vitamina D imaju manju šansu da razviju T1DM. Mnoge studije su pokazale da nadoknada vitamina D i kalcijuma usporava progresiju T2DM (15). Nedostatak vitamina D se često nalazi kod pacijenata sa lošom glikoregulacijom. Kako se pogoršava nedostatak/nedovoljnost vitamina D, tako se pogoršava i kontrola dijabetesa. Mali broj dijabetičara koristi suplemente vitamina D. Još nisu u potpunosti razjašnjeni molekularni mehanizmi povezanosti nedostatka vitamina D i dijabetesa, hipertenzije, gojaznosti i kardiovaskularnih oboljenja.

Kako je pokazano da je nizak nivo vitamina D jedan od faktora rizika za T2DM i za kardiovaskularna oboljenja, cilj ovog istraživanja je bio da se ustanovi nivo vitamina D kod bolesnika sa T2DM i kod bolesnika sa T2DM i kardiovaskularnim oboljenjem, kao i da se korelira nivo vitamina D sa njihovim antropometrijskim i metaboličkim statusom.

2.1 Istorijat vitamina D

Prvi naučni opis deficita vitamina D, nazvanog rahitis, potiče iz XVII vijeka od strane Dr Daniel Whistler-a (1645) i profesora Francis Glisson-a (1650)(19).

Vodeći period u razumijevanju uzročnih faktora za nastanak rahitisa je 1910-1930. Danas znamo da je biološki aktivna forma vitamina D steroidni hormon.

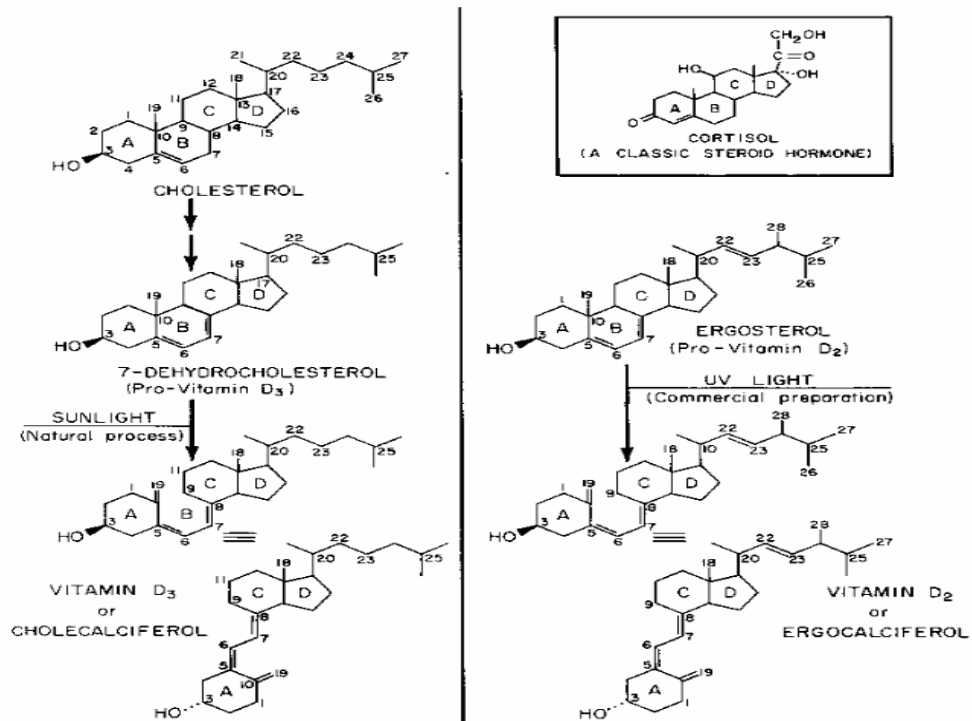
Sir Edward Mellanby eksperimentisao je na psima 1919/1920, u uslovima totalnog odsustva svjetlosti i posebne ishrane za pse. Ustanovio je da je bolest kostiju posljedica nedostatka nekog elementa u ishrani, koji je najvjerovatnije vitamin, rastvorljiv u mastima. Pokazao je da je jetra bakalara odličan lijek protiv rahitisa (19).

Goldblatt i Soames identifikuju da se prekursor vitamina D nalazi u koži (7-dehydrocholesterol) i da se pod uticajem sunčeve ili ultravioletne svjetlosti pretvara u materiju ekvivalentnu vitaminu rastvorljivom u mastima (19).

Profesor A. Windaus, Univerzitet Gottingen u Njemačkoj, determiniše hemijsku strukturu vitamina D, 1930 godine (19). Struktura vitamin D2 opisana je 1932 god.

Hemijska struktura vitamina D3 opisana je 1936, kao rezultat ultravioletnog izlaganja 7-dihidroholesterola.

Šema građe vitamina D:



2.2 Izvori, metabolizam i biološke funkcije vitamina D

U tijelu čovjeka vitamin D nastaje uglavnom u koži fotolizom steroidnih prekursora, putem ultravioletne B radijacije (UVB) (izlaganje ljetnjem suncu) i nalazi se u hrani (riba, jaja, obogaćeno mlijeko, ulje od bakalarove jetre) i u dodacima.(1,2,4,6) (tabela1).

Tabela 1. Hrana, dodaci i farmakološki izvori vitamina D (D2 i D3)	
Izvori	Sadržaj vitamina D
Prirodni izvori	
Salmonide (vrsta riba)	
Svježa, ulovljena (3.5 oz)	Oko 600-1000 IU vitamina D3
Svježa, uzgajana (3.5 oz)	Oko 100-250 IU vitamina D3 ili D2
Konzervirana (3.5 oz)	Oko 300-600 IU vitamina D3
Sardine, konzervirane (3.5 oz)	Oko 300 IU vitamina D3
Skuša, konzervirana (3.5 oz)	Oko 250 IU vitamina D3
Tuna, konzervirana (3.5 oz)	Oko 230 IU vitamina D
Ulje od bakalara (1 kaf. kašika)	Oko 400-1000 IU vitamina D3
Gljive	
Svježe (3.5 oz)	Oko 100 IU vitamina D2
Sušene na suncu (3.5 oz)	Oko 1600 IU vitamina D2
Žumance jajeta	Oko 20 IU vitamina D3 ili D2
Sunčanje, ultravioletno B zračenje (0.5 minimalna eritemska doza) †	Oko 3000 IU vitamina D3
Obogaćena hrana	
Obogaćeno mlijeko	Oko 100 IU/8 oz, obično vitamin D3
Obogaćen sok od pomorandže	Oko 100 IU/8 oz vitamina D3
Formule za odojčad	Oko 100 IU/8 oz, obično vitamin D3
Obogaćeni jogurt	Oko 100 IU/8 oz, obično vitamin D3
Obogaćeni puter	Oko 50 IU/3.5 oz, obično vitamin D3
Obogaćeni margarin	Oko 430 IU/3.5 oz, obično vitamin D3
Obogaćeni sirevi	Oko 100 IU/3 oz, obično vitamin D3
Obogaćene cerealijske	Oko 100 IU/ obrok, obično vitamin D3
Dodaci	
Propisivani	
Vitamin D (ergokalciferol)	50 000 IU/kapsule
Drizdol (vitamin D2) tečni dodaci	8000 IU/ml
Koji se kupuju	
Multivitamin	400 IU vitamin D, D2 ili D3‡
Vitamin D3	400, 800, 1000 i 2000 IU
<p>IU znači internacionalne jedinice, koje odgovaraju 25ng. Konverzija vrijednosti iz unci (oz) u grame, neophodno je pomnožiti sa 28.3. Konverzija vrijednosti iz unci u mililitre, neophodno je pomnožiti sa 29.6.</p> <p>† Oko 0.5 minimalne eritemske doze ultravioletnog zračenja moglo bi da se apsorbira nakon prosječno 5-10 minuta izlaganja (zavisi od doba dan, godišnjeg doba i osjetljivosti kože) ekstremiteta direktno sunčevom svjetlu</p> <p>‡ Kada je korišten termin za proizvode vitamina D ili kalciferola, onda takvi proizvodi sadrže vitamin D2; holkalciferol ili vitamin D3, sa oznakom da ti proizvodi sadrže vitamin D3.</p>	

Tabela 1: Hrana, dodaci i farmakološki izvori vitamina D (D2 i D3)

Iz: Michael F. Holick Vitamin D Deficiency, *N Engl J Med* 2007; 357:266-281

Konзумiranje hrane bogate ribljim uljem, jaja i meso, prevenira nedostatak vitamina D (4,5). Sunčevo ultravioletno B zračenje (UVB, talasne dužine 290 do 315nm) prodire kroz kožu i konvertuje 7-dehidroholesterol u previtamin D3, koji se vrlo brzo konvertuje u vitamin D3, kroz toplotno zavisni proces (4,5,6). (Figura 2)

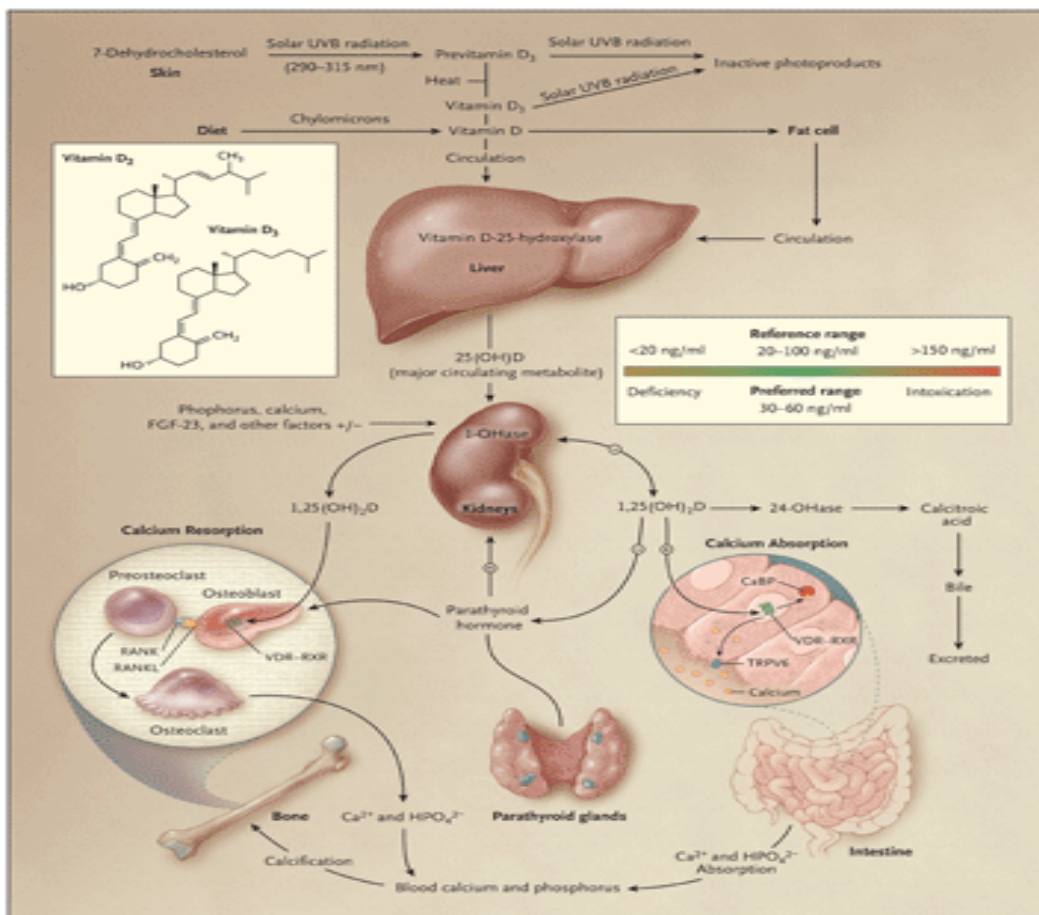


Figura 2: Metabolizam vitamina D. Iz: Michael F. Holick *Vitamin D Deficiency, N Engl J Med* 2007; 357:266-281

Kako se višak previtamina D3 ili vitamina D3 uništava sunčanjem (nastaju inaktivni fotoproducti), prekomjerno sunčanje ne uzrokuje intoksikaciju vitaminom D3 (5,6).

Nivo vitamina D obično je najniži u zimu i najvišoji u ljeto, kao posljedica razlika u trajanju dnevnog svjetla i izloženosti suncu (5,9). Nivo je niži u starijih, zbog manjeg izlaganja suncu i smanjene produkcije vitamina D u koži (6). Takođe, postoje regionalne razlike u nivoima vitamina D, a varijacije nastaju u zavisnosti od sunčanja, geografske širine, izloženosti ultravioletnoj radijaciji, pigmentaciji kože i unosu vitamina D hranom (6, 9).(Figura 3)

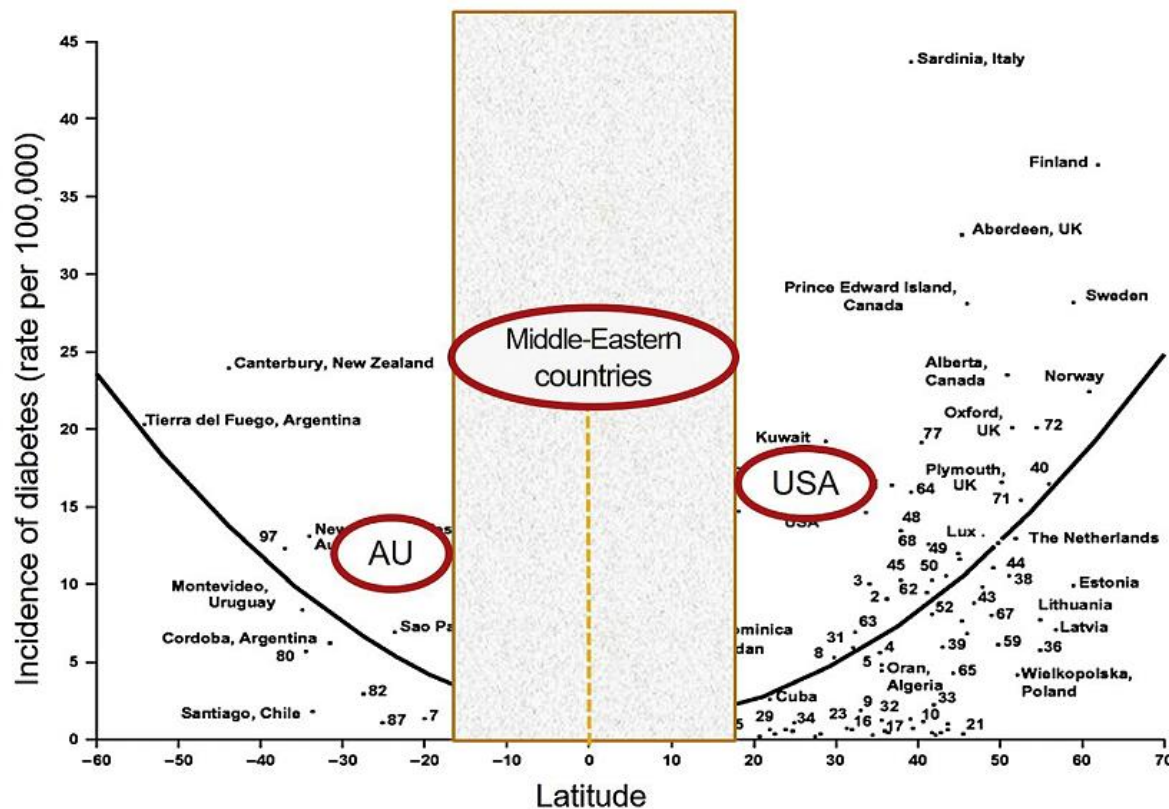


Figura 3: Incidenca i prevalenca dijabetesa raste u ljudi koji žive dalje od ekvatora.

Odnos učestalosti između incidence T1DM i geografske širine raznih zemalja. Incidenca se povećava kako za T1DM, T2D i gojaznost, što je udaljenost od ekvatora veća. Iz Mohr et al. The association between ultraviolet B irradiance, vitamin D status and incidence rates of type 1 diabetes in 51 regions worldwide, Diabetologia 51 (8) (2008) 1391–1398(9)

Unos vitamina D hranom je oko 30%, zbog činjenice da samo nekoliko vrsta hrane predstavljaju prirodni izvor ovog vitamina-hormona (11). Ostatak potreba za vitaminom D organizam dobija putem kože i izlaganjem suncu indukuje se fotohemijska konverzija 7-dehidroholesterolola (11,12).

Industrijalizacija predstavlja vodeći razlog smanjenog izlaganja suncu, zbog čega se povećava naša zavisnost od unošenja vitamina D hranom. Vitamin D₂ i vitamin D₃, prijevremeno iz hrane, nalaze se u hilomikronima i transportuju se limfnim sistemom u vensku cirkulaciju. Vitamin D (reprezentuju ga vitamin D₂ ili D₃) nastao u koži ili unesen hranom može biti odložen u masne ćelije ili može biti oslobođen iz istih ćelija. Vitamin D u cirkulaciji vezan je za vitamin D-vezujući protein (DBP), koji omogućava transport u jetru (12,13).

Novonastali vitamin D vezan za DBP transportuje se u jetru gdje hidroksilacijom prelazi u 25-hidroksivitamin D (25(OH) D). Od 25(OH)D nakon naredne hidroksilacije u bubregu nastaje 1,25-dihidroksivitamin D (1,25(OH)₂ D), koji je najaktivniji metabolit metabolit vitamina D (13). (Figura 4)

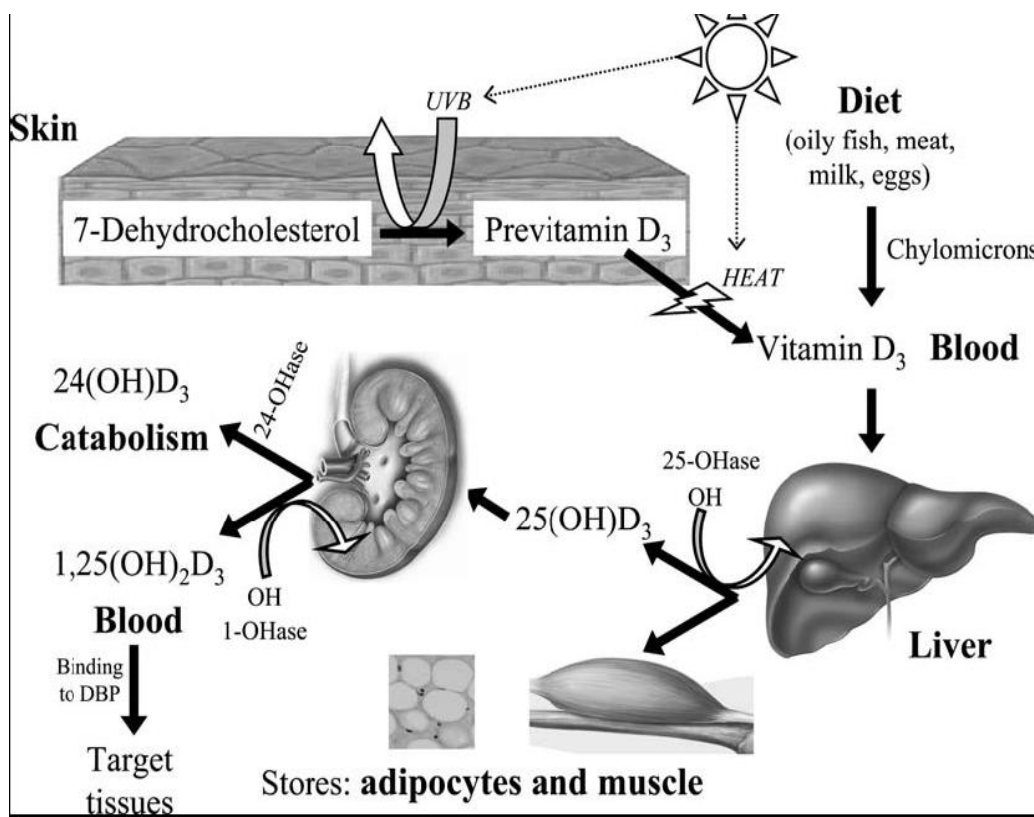


Figura 4: Izvori vitamina D i metabolizam vitamina D.

Iz: X. Palomer et al. Role of vitamin D in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10, 2008, 185–197.

Ipak, serumski 25(OH)D smatra se kao najbolji indikator statusa vitamina D status u osoba bez oboljenja bubrega, zbog toga što je to substrat za bubrežnu i ne bubrežnu produkciju 1,25(OH)₂ D, koji ima duži biološki poluživot od 1,25(OH)₂ D i koji cirkuliše u mnogo višoj koncentraciji. (Figura 5)

Serum 25(OH)D reflektuje ukupnu produkciju vitamina D iz oba izvora, endogenog i egzogenog, uključujući izlaganje ultravioletnoj-B radijaciji i unos različitih vrsta hrane.

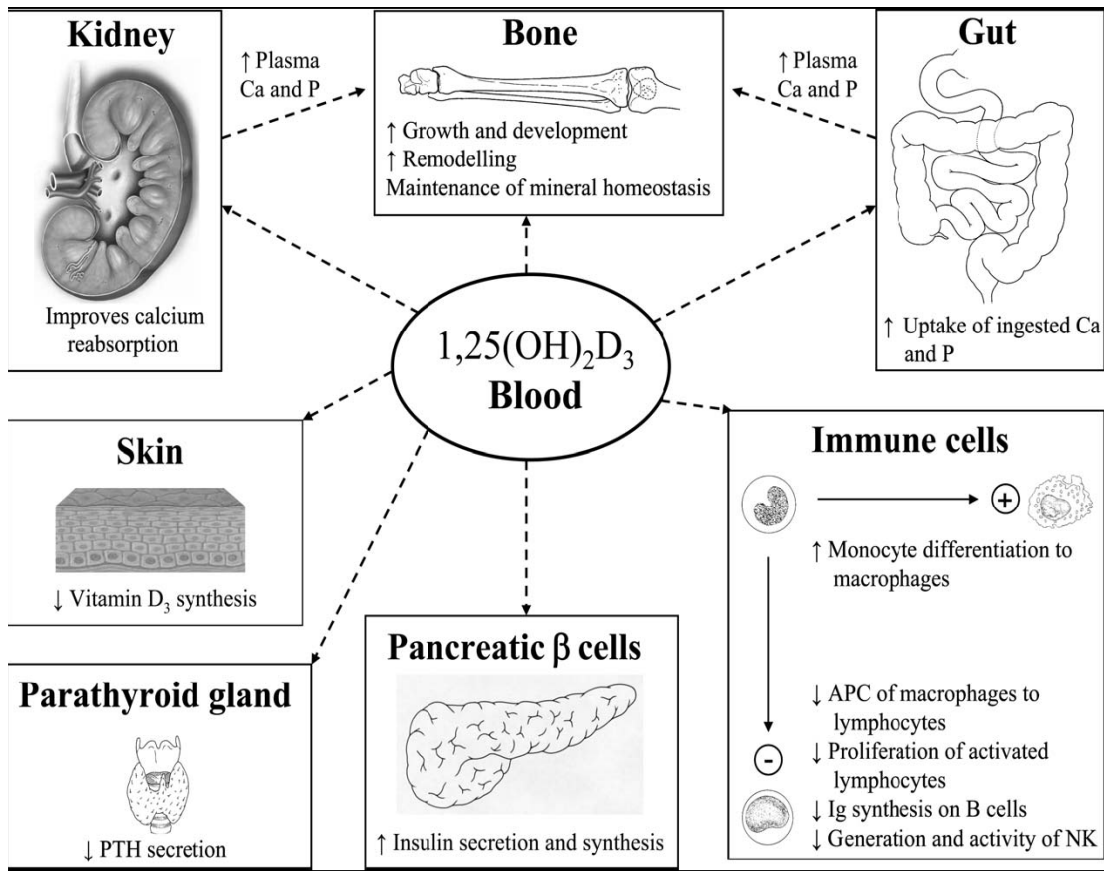


Figura 5: Aktivna forma vitamina D.

Iz: X. Palomer et al Role of vitamin D in type 2 diabetes mellitus, *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10, 2008, 185-197.).

2.3 Definicija i prevalenca nedovoljnosti vitamina D

Ne postoji konsenzus za optimalni nivo vitamina D; ipak, sugerisano je da je serumski nivo 25(OH)D veći od 25 ng/ml (Endocrine Society Guidelines 30 ng/ml) neophodan za optimalno zdravlje i da vrijednosti niže od 15 ng/ml (Endocrine Society Guidelines 20 ng/ml) mogu biti povezane sa smanjenjem kostne gustine i drugim negativnim efektima nedostatka/nedovoljnosti vitamina D (2,3,8).(Tabela 2).

Nivo vitamina D u obrnutoj je razmjeri povezan sa PTH (paratireoidnim hormonom) tako sto sa nižim vrijednostima vitamina D raste nivo PTH (11,17).

	Opseg vrijednosti Vitamina D	
	nmol/L	ng/ml
Nivo		
Nedostatak	<25	<15
Nedovoljnost	25-74	15-25
Dovoljno	75-250	25-100
Potencijalna intoksikacija	>250	>100

Tabela 2: Opseg vrijednosti vitamina D

Više od 50% žena, koje koriste lijekove za osteoporozu, imale su nedovoljan nivo vitamina D, ispod 30ng/ml (75nmol/l) (20).

Djeca i mlađe odrasle osobe su takođe u potencijalnom riziku od nedostatka vitamina D. Studija urađena u Bostonu pokazala je da je kod 52% ispitanih, porijeklom iz Južne Amerike i tamne boje kože, postojao nedovoljni nivo vitamina D (21). Studija urađena u Majn-u, na preadolescentnim djevojkama, svijetle boje kože, pokazala je da postoji nedovoljnost vitamina D kod 48% (22). U obje studije nivo vitamina D bio je ispod 20ng/ml.

U studijama, koje su urađene na kraju zimskog perioda, kod 42% ispitanika (tamne boje kože), između 15-49 godina, ustanovljen je nedostatak/nedovoljnostvitamina D (23).

U Evropi, gdje se samo nekoliko vrsta hrane obogaćuje vitaminom D, djeca i odrasli su u visokom riziku za nedostatak/nedovoljnost vitamina D (24).

Stanovništvo koje živi blizu ekvatora, koje je izloženo sunčevom svjetlu, bez zaštite od sunca, ima stabilan nivo vitamina D, iznad 30ng/ml (15,26,27). Ipak, čak i u najsunčanijim predjelima, kada je najveći dio kože zaštićen od uticaja sunca, vrlo je česta nedovoljnost vitamina D. Studije urađene u Saudijskoj Arabiji, Ujedinjenim Arapskim Emiratima, Australiji, Turskoj, Indiji i Libanu, pokazuju da je između 30-50% djece i odraslih imalo nivo vitamina D ispod 20ng/ml (15,26-29). (Figura 3)

Studije urađene na trudnicama i dojiljama, za koje se vjerovalo se da su zaštićene od nedovoljno vitamina D, od kada je preporučeno da prenatalno koriste multivitamine koji

sadrže 400IU vitamina D (70% prenatalno je koristilo tablete, 90% ribu, 93% 2 do 3 čaše mlijeka na dan), pokazuju da su 73% žena i 80% njihove djece, imali nedostatak/nedovoljnost vitamina D u vrijeme porođaja. (29,30).

Nedostatak/nedovoljnost vitamina D visoko prevalira u čitavom svijetu i u suštini svi smo u riziku (4). Niski nivoi 25(OH)D prisutni su u približno od trećine do polovine inače zdravih osoba srednje i starije životne dobi (1,20,31,32).

Druge studije pokazuju da promjene u nivoima 25(OH)D u odnosu na dob, pol ili masno tkivo nijesu posljedica genetske varijabilnosti vitamin D vezujućeg proteina (DBP)(31).

2.4 Uloga vitamina D u patogenezi dijabetes melitusa tip 2 (T2DM)

Poznata je povezanost nedostatka/nedovoljnosti vitamina D i nastanka T1DM (8). Dodatak (tretman) vitamina D prevenira i dovodi do poboljšanja T1DM i u humanoj populaciji i kod životinja (33-35). Ovi efekti se najvećim dijelom pripisuju imunomodulatornim uticajima vitamina D (35,36).

Iako su najbolje opisane posljedice nedostatka/nedovoljnosti vitamina D vezane za muskuloskeletni sistem, u porastu je broj referenci koje pokazuju da niski nivoi vitamina D mogu negativno uticati na glukoznu i insulinsku homeostazu, kardiovaskularni sistem, što dovodi do hiperglikemija, insulinske rezistencije, hipertenzije, srčanog oboljenja i pada kognitivnih funkcija u starijoj populaciji (37,38). Observacione studije pokazuju asocijaciju između nivoa nedostatka/nedovoljnosti vitamina D i poremećene glukozne tolerancije ili tipa 2 dijabetes melitusa (15,16,39-41).

Glikemijska kontrola u tipu 2 dijabetes melitusa zavisi od godišnjeg doba, sa najnižim vrijednostima HbA_{1c} u vrijeme ljeta (5,9,42). Zabilježeno je da je glikoregulacija kod pacijenata oboljelih od T2DM lošija zimi, što se može dovesti u vezu sa hipovitaminozom D zimi (6,8,42). Faktori spoljne sredine, poput navedenih, mogu imati pogoršavajuću ili pomažuću ulogu u glikoregulaciji kod pacijenata sa T2DM (13).

Pankreasne β -ćelije imaju receptore za vitamin D (VDR) (43). Određene alelske varijacije vitamin D receptora (VDR) i vitamin D-vezujućeg proteina (DBP) mogu uticati na glukoznu toleranciju i insulinsku sekreciju (44,45), čime se objašnjava osnova genetskog rizika za T2DM (46).

Kako vitamin D modulira gensku ekspresiju insulinskih receptora i produkciju insulina, predstavlja interesantan faktor iz spoljne sredine u patogenezi i razvoju T2DM. (47,48).

Nedostatak/nedovoljnost vitamina D inhibira (smanjuje) insulinsku sekreciju i modulira lipolizu (44,45). Vitamin D suplement poboljšava sekreciju insulina, insulinsku senzitivnost i glukoznu toleranciju u životinja i u osoba sa nedovoljno vitamina D (45,49, 50). Nadoknada vitamina D₃ u pacijenata sa tipom 2 dijabetes melitusa povećava nivo 25(OH)D u plazmi i poboljšava prvu fazu insulinske sekrecije procjenom u toku intravenskog testa glukozne tolerancije (50).

Prospektivna studija u Finskoj pokazala je obrnutu povezanost između nivoa serumskog vitamina D i rizika od T2DM (51). Studija na velikom broju ispitanika, urađena u Japanu, pokazala je da unos kalcijuma i vitamina D nije bio povezan sa značajnim sniženjem rizika od T2DM (52). Ipak, i u muškaraca i u žena jasno je pokazan trend sniženja rizika za T2DM sa porastom dnevnog unosa kalcijuma, u osoba koje su konzumirale više vitamina D (52).

Navedena saznanja sugerišu protektivnu ulogu vitamina D i moguće mehanizme kojima se ona ostvaruje.

2.4.1 Vitamin D i funkcija β ćelija

U literaturi postoji veliki broj dokaza da vitamin D utiče na insulinsku sekreciju zahvaljući postojanju VDR (vitamin D receptor) na β ćelijama i vitamin D zavisne kalcijum-vezujuće bjelančevine (DBP) u pankreasnom tkivu (46,47).

Pokazano je *in vivo* i *in vitro* da je vitamin D esencijalan za fiziološku produkciju insulina u odgovoru na glukozu kao i za održavanje glukozne tolerancije (44-48,53-55). Što više, nedostatak/nedovoljnost vitamina D rezultira sniženjem pankreasne sekrecije insulina, dok je sekrecija glukagona neizmjenjena (56).

Nekoliko je mehanizama kojima se objašnjava uticaj vitamina D na funkcije β-ćelija (**tabela 3**).

Mehanizmi	Dokazi
<p>Poboljšanje u funkciji pankreasne β-ćelije</p> <p>Direktni efekat vitamina D na insulinsku sekreciju</p>	<p>Postojanje specifičnih vitamin D receptora u pankreatičnim β-ćelijama.</p> <p>Ekspresija 1α-hidroksilaza enzima u pankreatičnim β-ćelijama.</p> <p>Oštećen insulinski sekretorni odgovor u miševa, kojima nedostaju funkcionalni vitamin D receptori.</p> <p>Prisustvo vitamin D odgovornog elementa u humanom insulinskom genskom promoteru.</p> <p>Transkripciona aktivacija humanog insulinskog gena od 1,25-OHD.</p> <p>Vitamin D nedovoljnost oštećuje glukoza-zavisnu insulinsku sekreciju iz pankreatičnih β-ćelija pacova <i>in vitro</i> i <i>in vivo</i>.</p> <p>Dodatak vitamina D obnavlja insulinsku sekreciju u životinja.</p>
<p>Indirektni efekat vitamina D na insulinsku sekreciju</p>	<p>Vitamin D učestvuje u normalizaciji ekstracelularnog kalcijuma, povećavajući normalan kalcijumski prolaz kroz ćelijske membrane i održavanje adekvatnog $[Ca^{2+}]_i$ pool-a.</p> <p>Regulacija kalcijumskog prolaza i $[Ca^{2+}]_i$ u pankreatičnoj β-ćeliji putem regulacije calbindin-a, citosolng kalcijum-vezujuće bjelančevine.</p>
<p>Kalcijumski efekat na insulinsku sekreciju</p>	<p>Promjene u kalcijumskom prolazu mogu imati štetne efekte na insulinsku sekreciju, kroz kalcijum-zavisni proces.</p> <p>Kalcijumska nadoknada normalizuje glukoznu toleranciju i insulinsku sekretiju u pacova sa nedovoljno vitamina D.</p> <p>U osoba bez dijabetesa, hipokalcijemija je povezana sa poremećajem insulinskog oslobađanja.</p> <p>U dijabetičara, dodatak kalcijuma oralnim putem utiče na povećanje glukozom-indukovanu insulinsku sekreciju.</p> <p>Pacijenti sa rezistencijom na 1,25-OHD imali su neadekvatnu insulinsku sekreticju samo ako su bili u hipokalcijemiji.</p>
<p>Poboljšanje insulinske aktivnosti</p> <p>Direktan efekat vitamina D na insulinsku aktivnost</p>	<p>Inverzna povezanost nivoa 25-OHD i sarkopenije.</p> <p>Postojanje vitamin D receptora u skeletnim mišićima.</p>

	<p>Vitamin D stimuliše ekspresiju insulinskog receptora i povećava insulinski odgovor u glukoznom transportu <i>in vitro</i>.</p> <p>Vitamin D direktno aktivira peroksidom proliferator aktivator receptor - δ, a transkripcijom faktora uključenog i u regulaciju metabolizma masnih kiselina u skeletnom mišiću i masnom tkivu.</p>
Indirektni efekat vitamina D na insulinsku aktivnost	Vitamin D učestvuje u normalizaciji ekstracelularnog kalcijuma, osiguravanormalan kalcijumskog prolaz kroz ćelijske membrane i adekvatan $[Ca^{2+}]_i$ pool.
Kalcijumski efekat na insulinsku aktivnost	<p>Kalcijum je esencijalan za insulin-zavisne intracelularne procese u insulin-zavisnim tkivima kao što su skeletni mišići i masno tkivo, sa vrlo uskim opsegom nivoa $[Ca^{2+}]_i$ neophodnog za optimalne insulin-zavisne funkcije.</p> <p>Promjene u nivou $[Ca^{2+}]_i$ u primarnim insulinskim target tkivima učestvuju u promjenama insulinske aktivnosti</p> <p>Oštećenje insulinske receptorske fosforilacije, kalcijum-zavisnog procesa dovodi do poremećaja insulinske signalne transdukcije i smanjenja aktivnosti glukoznog transportera-4.</p> <p>Promjene u $[Ca^{2+}]_i$ moduliraju metabolizam adipocita, koji mogu povećati akumulaciju triglicerida putem povećanja <i>de novo</i> lipogeneze i nemogućnosti suprimiranja insulin-zavisne lipolize, dovode do akumulacije masti .</p> <p>Kod pacijenata sa DM tip 2 dokazana je poremećena celularna kalcijumska homeostaza, uključujući defekte u skeletnim mišićima, adipocitima i jetri.</p>
Poboljšanje u sistemske inflamaciji Uticaj vitamina D na citokine	<p>Vitamin D stupa u interakciju sa vitamin D zavisnim elementima u promotornoj regiji citokinskih gena kroz interferenciju sa nuklearnim transkripcionim faktorima uključenim u citokinsku produkciju i aktivnost</p> <p>Vitamin D može smanjiti aktivnost nuklearnog factor- κB, koji je važan regulator genskog kodiranja proinflamatornih citokina uključenih u insulinsku rezistenciju</p> <p>Vitamin D interferira sa citokinskom produkcijom putem regulacije ekspresije calbindin-a, citosolnom kalcijum-nosećom bjelančevinom, koja postoji u mnogim tkivima uključujući i pankreatične β-ćelije</p> <p>Calbindin štiti od citokin-zavisne apoptoze koja može nastati nakon porasta citosolnog slobodnog kalcijuma $[Ca^{2+}]_i$</p>
Uticaj kalcijuma na citokine	Promjene u $[Ca^{2+}]_i$ mogu dovesti do citokin-indukovane apoptoze

Tabela 3: Mehanizmi uticaja vitamina D na funkcije β -ćelija

Iz: Pittas et al, Vitamin D, Calcium, and Type 2 Diabetes, J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(6): 2017-2029.

Podaci iz literature pokazuju da nadoknada vitamina D u ranim stadijumima eksperimenata, u kojima je korišćena hrana siromašna vitaminom D (57,58) ili nadoknada vitamina D u osoba sa nedostatkom/nedovoljno vitamina D, dovodi do djelimičnog poboljšanja glukozne tolerancije i korekcije insulinske sekrecije u odgovoru na glukozu (59,60).

U humanojoj populaciji, dodatak vitamina D poboljšava stimulaciju insulinske sekrecije u odgovoru na oralni unos glukozu u pacijenata oboljelih od blage forme T2DM (uredna glikemija natašte), u zdravih osoba (bez T2DM) ali ne i u oboljelih od T2DM (55,61). Ova dešavanja prate signifikantan porast serumskog kalcijuma i redukcija slobodnih masnih kiselina (55).

Vitamin D utiče na β -ćelijsku insulinsku sekreciju povećanjem intraćelijske koncentracije kalcijuma, kroz neselektivne kalcijumske kanale (62).

Kao posljedica navedenih dešavanja, smatra se da je vodeći mehanizam kojim se objašnjava uticaj vitamina D na insulinsku sekreciju i sintezu, aktiviranje β -ćelijske endopeptidaze, koja omogućava konverziju proinsulina u insulin (59,60). Takođe, kalcijum nije neophodan samo za insulinsku egzocitozu već je neophodan i za β -ćelijsku glikolizu, koja predstavlja osnov signalnog sistema cirkulišuće glukozne koncentracije (59).

Vitamin D utiče na insulinsku sekreciju i putem stimulacije sinteze bjelančevina u pankreasnim ostrvcima (63). Nekoliko drugih faktora, poput serumskog fosfora ili direktni uticaj vitamina D na β -ćelije pankreasa, predstavljaju načine stimulacije insulinske sekrecije u tretmanu vitaminom D (61). Danas znamo da se nivo serumskog fosfora ne mijenja dodatkom vitamina D (61). Od kada se zna da se serumski fosfor nije mijenjao nakon nadoknade vitaminom D, vitamin D može biti odgovoran na povećanje insulinske sekrecije kroz druge mehanizme djelovanja, kao što je direktna modulacija β -ćelijskog rasta (64,65).

Molekularni mehanizmi povezanosti nedostatka/nedovoljnosti vitamina D sa dijabetesom, hipertenzijom, gojaznosti i kardiovaskularnom bolesti ostaju nedovoljno razjašnjeni.

2.4.2 Insulinska rezistencija i vitamin D

Klinički, pokazano je da vitamin D može biti povezan sa metabolizmom glukoze i insulinskom homeostazom.

T2DM karakterišu insulinska rezistencija i/ili nedovoljna insulinska sekrecija, precizna etiopatogeneza nije poznata. Faktori spoljne sredini važni su u ovim procesima, i pored uloge okidača, takođe mogu imati ubrzavajuće ili protektivne efekte.

Vitamin D ima povoljan uticaj na insulinsko djelovanje, direktno stimulišući ekspresiju insulinskih receptora i na taj način povećava insulinski odgovor za transport glukoze (13,66). Indirektni put djelovanja vitamina D na insulinsko djelovanje jeste putem regulacije ekstracelularnog kalcijuma i povećanjem normalnog kalcijumskog ulaska kroz ćelijsku membranu, što omogućava održavanje adekvatnog intraćelijskog citosolnog kalcijumskog $[Ca^{2++}]$ pula (67) (Tabela 2).

Kalcijum je esencijalan za insulin zavisne intracelularne procese u insulin zavisnim tkivima, kao što su skeletni mišići i masno tkivo (68,69).

Nivo kalcijuma (Ca^{2++}), potreban za optimalno insulinsko djelovanje, kreće se u vrlo uskom opsegu (70). Promjene u nivou jonskog kalcijuma (Ca^{++}), u primarno insulinski ciljnim tkivima mogu doprinijeti perifernoj insulinskoj rezistenciji (71), putem oštećene insulinske signalne transdukcije, koja dovodi do sniženja aktivnosti glukoznog transportera 4 (GLUT4) (72-75). Deficit kalcijuma vodi u povećanu sekreciju paratireoidnog hormona (PTH) i porast kalcijumskog ulaska iz spoljne ćelijske tečnosti u unutar ćelijske prostore, rezultirajući unutar ćelijskim kalcijumskim preopterećenjem i oštećenjem insulinske sekrecije (72,76). Vitamin D ubrzava crijevnu apsorpciju kalcijuma (77). Mliječne bjelančevine indukuju oslobađanje insulinogenih amino kiselina i inkretina (peptidni hormon), koje povećavaju insulinsku sekreciju (78).

Povezanost niskog nivoa vitamina D i smanjene insulinske senzitivnosti objavljen je u cross-sectional studijama (50,78-80).

Rezultati randomizovanih studija pokazuju da efekat nadoknade vitamina D i/ili kalcijuma na insulinsku rezistenciju može izostati (41,61,81) ili da nadoknada vitamina D može dovesti do poboljšanja insulinskog djelovanja (82,83).

2.4.3 Inflamatorni procesi u gojaznih i T2DM

Svi vodeći faktori rizika za T2DM (preobilna ishrana, nizak unos celuloznih vlakana, sjedeći način života, poremećaji spavanja i depresija) uzrokuju lokalnu ili sistemsku inflamaciju niskog stepena (low grade), koja je najčešće prolazna ili umjerena u osoba koje nijesu u riziku za T2DM 2 (84) (Tabela 4). Nasuprot ovome, inflamatorni odgovori na navedene životne faktore naglašeniji su i dužeg trajanja u osoba koje su u riziku od T2DM 2 i jasno se dešavaju u pankreasnim ostrvcima. Hronična inflamacija niskog stepena će eventualno dovesti do manifestne šećerne bolesti ako su kontrolno-regulatorni mehanizmi za inflamaciju i metabolički stres promjenjeni, zato što postoji genetska i/ili epigenetska predispozicija (84).

Gojaznost dovodi do inflamacije masnog tkiva i stresa beta ćelija:
1. putem proinflamatornih signala iz hipertrofičnih/hipoksičnih adipocita, koji privlače i aktiviraju makrofage i T ćelije i ometaju insulinski signalni put
2. putem povećanja sekretorne aktivnosti, što slabi odbranu beta ćelije od toksičnih imunih medijatora (pored efekta hiperglikemije i masnih kiselina)
Nastupa oštećenje beta ćelije u borbi sa metaboličkim i inflamatornim stresom, ukoliko postoji genetski i epigenetski determinisana predispozicija za to

Tabela 4: Inflamatorni procesi u gojaznih i T2DM.

Iz: H. Kolb, T. Mandrup-Poulsen, The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation, Diabetologia(2010) 53:10-20.

Nekoliko epidemioloških studija podržavaju potencijalne korisne efekte dodatka vitamina D u ranom djetinjstvu na pojavu T1DM, kasnije u životu. Vjeruje se da vitamin D ima važnu regulatornu ulogu u moduliranju imunog odgovora, povećanjem broja i funkcije regulatornih T ćelija (Tregs) (85). Tregs su neophodne za održavanje imunološke hemostaze i smanjenje

neželjenih imunih odgovora na auto antigene. Vitamin D može potencijalno prevenirati autoimunu destrukciju insulin produkujućih β ćelija u pankreasu (85,86). U studiji Prietl-a i autora nadoknada vitamina D značajno povećava broj Tregs u perifernoj krvi u prethodno zdravih osoba u kraćem vremenskom periodu (85).

Inflamatorni faktori često su bili udruženi sa insulinskom rezistencijom i oštećenjima β -ćelija, oba poremećaja predstavljaju ključna dešavanja u T2DM. Porast akutnih faznih proteina, citokina i medijatora udruženih sa endotelnom funkcijom viđaju se u T2DM (13,88). Abnormalnosti u mnogim sistemskim inflamatornim markerima karakterišu patogenezu T2DM: tumor nekrotizujući faktor (TNF)- α , TNF- β , interleukin-6 (IL-6) i pripadajući receptor, C-reaktivni protein (CRP) i plazminogen aktivator inhibitor-1 (13,88). Neki od ovih imunih medijatora, poput TNF- α i IL-6, mogu direktno interferirati sa insulinskim signalima, uzrokujući insulinsku rezistenciju kroz nekoliko mehanizama (86).

Stepen apsorpcije ugljenih hidrata nakon obroka, označen je kao glikemijski indeks, ima značajane efekte na post prandijalne hormone i metaboličke odgovore. Visok glikemijski indeks obroka uzrokuje inicijalni period visokog nivoa šećera u krvi i nivoa insulina, potom slijedi u mnogih osobareaktivna hipoglikemija, sekrecija kontraregulatornih hormona i porast koncentracije serumskih slobodnih masnih kiselina.(87) Ove događaje može promovisati prevelik unos hrane, nastaje β -ćelijska disfunkcija, dislipidemija i endotelijalna disfunkcija. Dakle, navika u konzumiranju hrane sa visokim glikemijskim indeksom može povećati rizik za gojaznost, T2DM, srčano oboljenje.(87) (Figura 6) Ova hipoteza podržana je od laboratorijskih studija, kliničkih studija i epidemioloških analiza.

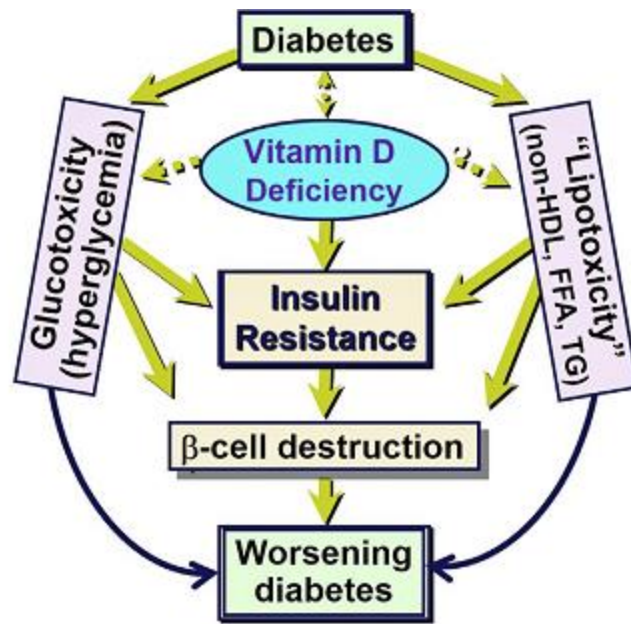


Figura 6: Vitamin D nedostatak (deficiency) povećava rizik od razvoja dijabetesa.

Uloga vitamina D u razvoju insulinske rezistencije i posredno preko glukotoksičnosti i lipotoksičnosti. Vitamin D nedostatak dovodi do negativnog začaranog kruga pogoršanja insulinske rezistencije, β -ćelijskog ometanja i razvoja dijabetesa. (FFA=freefatty acids; TG = triglycerides) Modifikovano iz: D.S. Ludwig, The glyceimic index: physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease, JAMA 287 (18) (2002) 2414–2423(87).

Postojanje VDR u aktiviranim T limfocitima, makrofagima i tkivu timusa predstavlja osnov da vitamin D može djelovati (i na nivou navedenih tkiva) kao imuni modulator (80,87,88).Poznato je da vitamin D ima širok raspon imunoloških uticaja: promovise diferencijaciju monocita u makrofage, povećava njihovu citotoksičnu aktivnost, redukuje antigen prezentujuću aktivnost makrofaga prema limfocitima, prevenira maturaciju dendritičnih ćelija, inhibira T limfocit zavisnu sintezu imunoglobulina u B ćelijama i inhibira odloženi tip reakcije hipersenzitivnosti (36,87-91). Nasuprot navedenom, vitamin D pokazuje antiproliferativni efekat na aktivirane limfocite suprimiranjem stvaranja i aktivnosti novih prirodnih NK (natural killer) ćelija-ubica (88,92).

Iako vitamin D ima uticaja na kardiovaskularnu zaštitu, samo nekoliko studija se bavilo ulogom vitamin D receptora (VDR) u aterosklerozi. Ova studija se bavila uticajem

VDR na stvaranje funkcionalin T i B limfocita, što ukazuje na kritičnu ulogu makrofagne VDR signalizacije u supresiji ateroskleroze. Studija pruža i dokaz da makrofagna VDR signalizacija, putem generacije T i B limfocita i dijelom supresijom lokalnog renin angiotenzin sistema (RAS), inhibira aterosklerozu u miševa. (93)

Neke od imunih, neklasičnih aktivnosti vitamina D, mogu se koristiti u objašnjenju patogeneze T2DM, kao snižavanje produkcije citokina: IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, interferona- γ , TNF- α i TNF- β (88,93).

Ostaje otvoreno pitanje, na koji način inflamacija niskog stepena, kakva se viđa u T2DM, može biti posljedica imunih svojstava vitamina D?

Vitamin D može poboljšati insulinsku senzitivnost i promovirati β -ćelijsko preživljavanje putem direktnog moduliranja produkcije i djelovanja citokina.

2.4.4 Povezanost vitamina D i prevalencije T2DM ili metaboličkog sindroma

Epidemiološki podaci studije urađene u Londonu, populacija osoba čije je porijeklo iz Bangladeša, pokazuju da redukcija koncentracije vitamina D povećava rizik od nastanka T2DM u odnosu na osobe koje nijesu u riziku (94). Kod ovih pacijenata postoji veća prevalenca T2DM u odnosu na stanovništvo čije je porijeklo Britansko, što se objašnjava razlikom u statusu vitamina D (94). I studija urađena na Novom Zelandu kod pacijenata sa T2DM ili sa oštećenom glukoznom tolerancijom postoji niži nivo vitamina D u odnosu na ispitivanu kontrolnu grupu (39). Njemačka studija je urađena u populaciji starijih Njemaca, pokazala je da postoji inverzna povezanost između vitamina D, glukozne tolerancije i insulinske sekrecije (95).

Podaci iz velike cross-sectional studije National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) pokazuju da serumska koncentracija vitamina D (nakon multivarijantnog podešavanja) ima obrnutu povezanost sa prevalencom dijabetesa u ne Hispanic bijelaca i Meksiko-Amerikanaca (39,96). U istoj studiji koncentracija vitamina D bila je u korelaciji sa dokazanom insulinskom rezistencijom [određivana prema homeostatskom modelu procjene (HOMA-R), baziranom na glikemiji natašte i insulinskim nivoima] ali nije nađena korelacija sa funkcijom β -ćelija (procjena prema HOMA- β). Nema

korelacije ni između vitamina D i prevalencije T2DM ili izmjerene insulinske rezistencije ili β -ćelijske funkcije u ne-Hispanik crnaca (41,96). Izostanak povezanosti može se objasniti činjenicom da stanovništvo druge boje kože ima drugačiju homeostazu vitamina D, kalcijuma i PTH u odnosu na bijelu rasu (97).

Studija urađena u Indiji pokušala je da utvrdi vitamin D deficit/nedovoljnost u osoba sa predijabetesom i da se evaluiira odnos između vitamin D statusa i insulinske rezistencije (98). Osobe sa najnižim vitamin D nivoima (<10 ng/ml) imale su najveću insulinsku rezistenciju (HOMA2-IR: 2.04 ± 0.67). Vitamin D deficit/nedovoljnost može određenu ulogu u razvoju/pogoršanju insulinske rezistencije u osoba sa predijabetesom u Indiji, koji su u visokom kardiovaskularnom riziku (98).

U najvećoj studiji, u kojoj su korišćeni podaci iz NHANES, korelacija vitamina D (nakon multivarijantnog određivanja, isključen unos kalcijuma) pokazala je inverznu povezanost sa postojanjem metaboličkog sindroma, između oba pola i u sve tri velike rasne ili etničke grupe (96,99,100).

Komponentne metaboličkog sindroma, koje su bile nezavisno povezane sa niskim vitaminom D su abdominalna gojaznost i hiperglikemija. Takođe, rezultati ove studije mogu se jednostavno reflektovati kroz inverznu povezanost između serumskog 25-OHD i tjelesne mase ili procenta masti u organizmu (87,101,102).

Poznato je da je hiperinsulinemija povezana sa porastom mineralne gustine kosti u pacijenata sa T2DM i bez T2DM (103).

Women's Health Study (cross sectional analiza), velika randomizovana studija dizajnirana da ispita efekte male doze aspirina i vitamina E u kardiovaskularnim oboljenjima, pokazala je obrnutu povezanost između unosa vitamina D i prevalencije metaboličkog sindroma, i koja je izostala nakon dodatka kalcijuma u ishrani (104).

Studija Strawbridge i kolega je pokazala da genetska varijanta u DHCR7 (7-dehidroholesterol reduktaza) lokusu ubrzava progresiju subkliničke ateroskleroze u oboljelih od T2DM nezavisno od drugih poznatih kardiovaskularnih faktora rizika. Mehanizam kojim se objašnjava može biti modulacija ekspresije DHCR7 mRNA u arterijskom zidu. Pokazano se da serumska koncentracija 25(OH) vitamina D zavisi i od enzima koji su uključeni u proces sinteze i metabolizma vitamina D, kao što je enzim DHCR7 (105). Ovaj enzim reguliše konverziju 7-dehidroholesterolu u holesterol. U velikom multicentričnoj studiji sa preko

3000 ispitanika (od kojih je preko 900 imalo T2DM) pokazano je da genetske varijante lokusa ovog enzima utiču na nivo 25(OH)D u cirkulaciji, kao i da ubrzavaju proces ateroskleroze kod pacijenata sa T2DM, nezavisno od drugih poznatih kardiovaskularnih faktora rizika (105).

Uloga vitamina D u insulinskoj sekreciji ostvaruje se preko VDR na β ćelijama i preko DBP (vitamin D kalcijum vezujućeg proteina u tkivu pankreasa (106). Poznato je da je vitamin D ubikvitaran, što znači da se nalazi u skoro svim ćelijama koja učestvuju u metabolizmu glukoze, kao što su već pomenute β ćelije i mišići (107).

2.5 T2DM i vitamin D zavisni genetski faktori

2.5.1 Vitamin D receptorski polimorfizam

Konfliktni rezultati o povoljnim efektima suplementacije vitamina D na T2DM može biti i posljedica genetskih varijanti u vitamin D receptoru (VDR). Proučavani su metabolički efekti 12-to mjesečne nadoknade vitamina D u osoba sa T2DM u odnosu na genetske polimorfizme VDR (108). Ukupan broj od 204 ispitanika dobijao je u dnevnoj dozi vitamina D3 od 2000IU. Određivan je nivo 25(OH)D i metabolički profil bazalno i nakon 12 mjeseci. VDR polimorfizmi (*Taq-I*, *Bsm-I*, *Apa-I* and *Fok-I*) identifikovani su korišćenjem TaqMan genotipskih testova. Dodatak vitamina D značajno je povećao HOMA β -ćelijsku funkciju ($p=0.003$), takođe je značajno snizio trigliceride, totalni i LDL holesterol ($p<0.001$). Poboljšanje u metaboličkom profilu nakon dodatka vitamina D je uticalo na genetske polimorfizme, posebno na nosioce *Taq-I* GG i *Bsm-I* TT genotipove (108).

Vitamin D djeluje na ciljna tkiva putem vezivanja za citosolne/nuklearne VDR, koji su dio steroid-tiroidne hormonske receptorske porodice, kroz funkciju transkripcionog aktivatora mnogih gena. VDR geni koji su locirani na hromozomu 12q13.1, sadrže 14 eksona i imaju opsežne promotor regione sposobne za oslobađanje multiplih tkivno-specifičnih kopija (91,109) (**figura 7**).

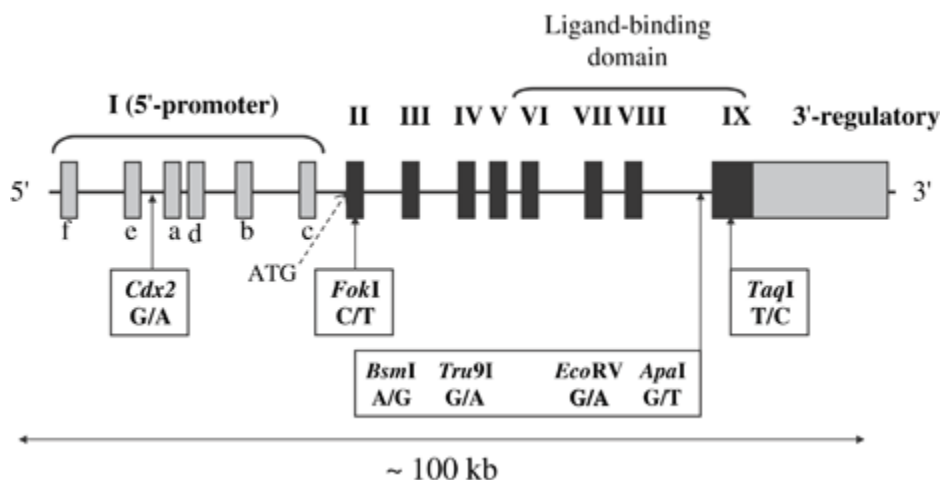


Figura 7: Struktura vitamin D receptorskih (VDR) gena na lokusu 12q.13.1 i pozicija nekih polimorfizama. Boksovi I do IX reprezentuju VDR eksone: sivi boksovi odgovaraju 5' i 3' neprotumačenim regionima i crni boksovi reprezentuju kodirane regione. Samo su dva polimorfizma locirana unutar kodiranih regiona: *FokI* and *TaqI* (mirni- silent). Iz: X. Palomer et al *Role of vitamin D in type 2 diabetes mellitus, Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10, 2008, 185-197.

Ekspresija VDR viđa se u brojnim tkivima, uključujući i ona koja su uključena u regulaciju metabolizma glukoze, kao što su mišićne i pankreasne β -ćelije (110-112). Nekoliko jednostavnih nukleotidnih polimorfizama (SNPs) bili su identifikovani u VDR geni uključujući *Taq-I*, *Bsm-I* i *Apa-I* polimorfizme, koji su locirani na 3' netranslariranom regionu (3' UTR) gena, gdje postoji sumnja na izmjenjenu ekspresiju VDR, koju je moguće mijenjati adekvatnim dozama analoga vitamina D (111). U vrijeme vezivanja vitamina D i posljedične specifične fosforilacije putema kinazne kaskade, VDR prolazi kroz završnu fazu koja ubrzava njegovo vezivanje za retinoidni X receptor (113). Rezultat heterodimerne reakcije sa vitamin D-odgovarajućim elementima u promotornoj regiji ciljnih gena, možda modifikuju njihovu ekspresiju (92,114). Postojanje putativnih membranskih VDR (mVDR) predstavlja novost (115). Slično drugim steroidnim receptorima, vitamin D posjeduje veliki opseg uticaja, koji ne podrazumijevaju uključenje genske ekspresije, kao što su porast intracelularnog kalcijuma (i cGMP) i aktivacija protein kinaze (61). Smatra se da mVDR mogu biti odgovorni za navedene efekte

vitamina D (113,115). Neobično, pankreatične β -ćelije ispoljavaju obje vrste receptora: citosolni/nuklearni VDR i putativni mVDR (49). Zbog nedovoljno definisanih svojstava mVDR, ipak će se termin VDR ekskluzivno koristiti za citosolni/nuklearni VDR u narednom tekstu.

Određene mutacije u VDR genu uzrokuju rijetku monogenetsku bolest poznatu kao vitamin D-rezistentni rahitis (91). Poznato je da ova ekstremno rijetka bolest nije bila opisivana i povezivana sa šećernom bolešću ili sa bilo kojom formom insulinske rezistencije.

Sa druge strane, više suptilnih sekvencionih varijacija, nazvanih polimorfizami, mnogo su češći u opštoj populaciji. VDR polimorfizmi su generalno anonimni (tj. locirani su u intronskim regijama ili rezultiraju nijemim promjenama kodona) i imaju nepoznat funkcionalni efekat, objavljeno je u mnogim studijama povezanim sa VDR. Danas se zna da 25 različitih polimorfizama mogu postojati u VDR lokusu (116).

Alelska diferencijacija u VDR genu može biti sadržana u genetskoj predispoziji određene bolesti (13). Kao što vitamin D modulira insulinsku sekreciju, tako je moguće da su genetske varijacije u VDR genu u osnovi nastanka T2DM (117). Od kada je poznato da pacijenti sa T2DM pokazuju suptilne promjene u metabolizmu glukoze dug vremenski period prije nastanka bolesti, genetski faktori uključeni u patogenezu ili nastanak, mogli bi biti rano detektovani u ovoj bolesti (118,119).

Najviše pokušaja u utvrđivanju funkcionalnih polimorfizama u ljudskim VDR genima bilo je u regionu 3'UTR, od kada je poznato da je uključen u gensku ekspresiju regulacije, naročito kroz regulaciju stabilnosti informacione RNK (mRNA) i efikasnost translacije proteina (120).

Četiri uobičajene allelske varijante ili polimorfizmi VDR gena identifikovani su i opisani u detalje: *FokI*, *BsmI*, *Apal* i *TaqI* (111,116) (Figura 5). Tri alelska *BsmI*, *Apal* i *TaqI* polimorfizma su blisko locirana u intronu 8 i eksonu 9, blizu 3' krajnjeg VDR gena i genetski su povezani (91,118). Uloga ovih VDR polimorfizama temeljno je proučavana u pacijenata sa dijabetesom (Tabela 2).

Zna se da je isti VDR B alel, koji predodređuje izmjenjenu apsorpciju kalcijuma, povišen PTH i T2DM, udružen sa povišenom glikemijom natašte u zdravih mladih muškaraca dugo vremena prije početka T2DM (119). Objavljeno je da u osoba sa nedovoljno 25(OH)D₃, *TaqI* polimorfizam određuje insulinsku sekreciju (111, 119). U istoj studiji

pokazano je da *TaqI* genotip predstavlja nezavisnu determinantu za oba VDR mRNA i VDR proteinska nivoa.

Ye i saradnici proučavali su četiri različita polimorfizma na VDR genu (tri u intronu 8, *BsmI*, *Apal* i *Tru9I*, i jedan u eksonu 9, *TaqI*), i zaključili da ovo nije bio glavni predisponirajući gen za DM tip2 u Francuza, uprkos povezanosti sa predispozicijom za gojaznost (Tabela 1) (41). Isti autori ukazuju da ovaj efekat može biti povezan sa direktnim uticajem vitamina D na diferencijaciju i metabolizam adipocita ili kroz indirektnu modulaciju insulinske sekrecije (41).

Poseban slučaj je *FokI* polimorfizam, koji je nasuprot drugim VDR polimorfizmima, lociran unutar kraja 5' gena, blizu promotorne regije. Ova činjenica ukazuje daje *FokI* polimorfizam nezavisna determinanta insulinske senzitivnosti, koja se podudara sa poznatom udruženošću visočijih nivoa vitamina D i porastom insulinske senzitivnosti. *FokI* polimorfizam može se smatrati nezavisnim markerom u VDR genu od kada nije povezan sa disekvilibriranjem na 3' genskom polimorfizmu (111).

Podaci iz navedenih studija ukazuju da je VDR kandidovan kao gen kojim se objašnjava predispozicija za T2DM (120) Kao zaključak, genske promjene ili promjene u VDR mogu biti dio patogeneze T2DM kroz najmanje četiri različita načina: promjene u metabolizmu kalcijuma, modulacija funkcije adipocita, modulacija insulinske sekrecije i promjene eskepresije citokina (121).

Vitamin D inhibira ekspresiju IL-2, koji nastaje aktivacijom T limfocita (120). Kao zaključak, inhibicija vezivanja vitamina D za odgovarajući receptor i aktivaciju određenog signalnog puta mogu izmijeniti citokinski sekretorni profil.

Sam VDR može direktno uticati na insulinsku sekreciju (117,121) i kroz izmijenu transkripcije VDR gena u β -ćelijama pankreasa može mijenjati insulinsku sekreciju (119). Dakle, ova dva dodatna uticaja na adipocite i ćelije pankreasa mogu dovesti do porasta insulinske rezistencije. Ipak, polimorfizmi locirani u 3'UTR izgleda da imaju manju patogenu ulogu i manje utiču na metabolizam glukoze. U nastavku, ovi polimorfizmi ne utiču na stabilnost informacione RNA za VDR (122).

Takođe, moguće je da su poznati VDR polimorfizmi pravi markeri povezani sa disekvilibriranjem u slijedećem genu, koji može biti povezan sa T2DM. Izgleda da je preostalo mnogo polimorfizama koje treba otkriti. Ako su navedeni polimorfizmi bili locirani

u kompleksu 5' promotornog regiona VDR gena, onda bi oni mogli uticati na mRNA ekspresiju kopija i nivoe (123). Ovakva izmjena ekspresije u kombinaciji sa 3'UTR sekvencionom varijacijom, može promijeniti VDR proteinske nivoe i/ili funkciju zavisno od ćelijskog tipa, stadijuma razvoja i stanja aktivnosti (111).

2.5.2 Vitamin D vezujući protein i T2DM

DBP (Vitamin D Binding Protein ili kalbindin-D28k), koji je kodiran od Gc (grupno specifična komponenta) gena, funkcionira kao specifični transporter cirkulišućih metabolita vitamina D i esencijalan je za endocitozu i metabolizam vitamina D (124,125). Takođe, ostali efekti uključuju vezivanje globularnog aktina, masnih kiselina i imunomodulaciju (124). DBP je visoko polimerni jednonančani serumski glikoprotein sintetizovan i sekretovan u jetri (46). DBP formira kompleks sa vitaminom D, koji cirkulacijom dolazi do ciljnih tkiva gdje se odvaja vitamin D (46). Promjene u serumskoj koncentraciji DBP paralelno rezultiraju promjenama u ukupnoj koncentraciji vitamina D (124,125) (Tabela 2).

Regija koja odgovara DBP-u je na hromozomu 4q11-13, drugačija je od regije za VDR, 12q13.1, za koju je utvrđeno da je povezana sa nivoom insulina natašte u genomu ispitivanom u Pima Indijanaca sa T2DM (126) (Tabela 2). Kasnije su otkrivena četiri genetska markera za koja je utvrđeno da su povezana sa insulinskom koncentracijom natašte i dva koja su povezana sa koncentracijom glikemije natašte oko ovog hromozomskog regiona (125,126) (Tabela 2).

Genetske varijante DBP-a povezane su ne samo sa dijabetesom takođe su povezane i sa predijabetičnim stanjem i značajne su u nekoliko populacija (Tabela 2). Sekvencionom analizom Gc eksona identifikovana su dva genetska polimorfizma u kodonima 416 i 420, koji produkuju tri elektroforetske varijante DBP: Gc1 brza (Gc1f), Gc1 spora (Gc1s) i Gc2 (24,126,127). Ove DBP varijante utiču na raspoloživost aktivnih formi vitamina D u β ćelijama i shodno tome utiču na insulinsku sekreciju (128).

Prethodne studije u nedijabetičnih Pima Indijanaca pokazale su genetsku povezanost između markera u blizini Gc lokusa i oralne glukozne tolerancije, ali ne sa insulinskim odgovorom na oralnu glukozu (126,129). Ipak, nema povezanosti između DBP varijanti i

prevalence T2DM u istoj etničkoj grupi (127,129). Ipak, ostale studije urađene na Američkim bjelcima (130), Francuskim bjelcima (131) i u Poljskoj (130) pokazale su da nema povezanosti između polimorfizama u DBP genu i T2DM.

Ovi diskordantni nalazi mogu biti zavisni od različitih genetskih osnova proučavanih populacija. Različite etničke grupe mogu imati razlike u učestalosti odgovarajućih alela. Objavljene asocijacije između T2DM 2 i DBP polimorfizama uočene su samo u ne bijelim populacijama (126,131,132). Efekat DBP varijanti u nastanku T2DM može biti karakterističan za doseljeničke (ne bijele) populacije (131). T2DM je kompleksne etiologije i smatra se da je nasljeđivanje poligeno. Mnogo je različitih kombinacija alela koje postoje u pacijenata sa dijabetesom. Kao posljedica, poremećaji u insulinskoj sekreciji udruženi sa DBP polimorfizmima mogu imati važnu ulogu samo u određenim uslovima spoljne sredine i određene genetske osnove (133,134). Smatra se da različite DBP varijante nose različite vitamin D metabolite sa varijabilnim afinitetom, i na taj način možda utiču na unutar ćelijsku količinu vitamina D u β ćelijama (135). Alternativno, ako DBP nosi druge ligande poput masnih kiselina, ovakva aktivnost može dovesti do porasta koncentracije masnih kiselina u ostrvcima Langerhans, što konačno može dovesti do β -ćelijskih abnormalnosti (135,136). Takođe, moguće je da postoji povezanost DBP i rezultata glukoze tolerancije, nastalih zbog varijacije u odgovarajućem genu (126,128).

2.5.3 Ostali polimorfizmi udruženi sa T2DM

Enzim vitamin D 1alfa-hidroksilaza (CYP1alpha) utiče na bioraspoloživost aktivne forme vitamina D (133). Nekoliko mutacija u ovom genu uzrokuje vitamin D-zavisni rahitis (133,134).

CYP1alpha je lociran na hromozomu 12q13.1-13.3, postoje podaci o povezanosti sa T2DM (136). Ipak, Malecki i kolege smatraju da *CYP1alpha* nije bio vodeći gen za DM tip 2 u Poljskoj populaciji bjelaca (136) (**Tabela 5**).

Gen	Polimorfizam	Genotip	Uočene asocijacije*	Populacija	Reference	
VDR	ApaI (T/G)	aa	+ (niža insulinska sekrecija)	Bangladeshi Asians populacija u riziku od DM2 koja živi u Londonu	Hitman <i>et al.</i>	
		aa	+ (glukoza u plazmi natašte, glukozna intolerancija)	Stariji Older adults without diabetes (Rancho Bernardo study)	Oh and Barrett- Connor	
		aa	– (DM2), + (obesity)	French Caucasians	Ye <i>et al.</i>	
	BsmI (G/A)	bb	+ (reduced insulin secretory capacity)	Bangladeshi Asian population at risk of DM2 living in London	Ogunkolade <i>et al.</i>	
		bb	– (DM2), + (obesity)	French Caucasians	Ye <i>et al.</i>	
		B–	+ (altered calcium absorption, elevated PTH, DM2 and elevated fasting glucose)	Healthy young subjects	Ortlepp <i>et al.</i>	
		BB	+ (higher levels of postprandial serum C-peptide)	Obese diabetic subjects	Speer <i>et al.</i>	
		FokI (T/C)	FF	+ (increased insulin sensitivity)	Healthy glucose-tolerant Caucasians	Chiu <i>et al.</i>
		TaqI (A/C)	TT	+ (reduced insulin secretory capacity)	Bangladeshi Asian population at risk of DM2 living in London	Ogunkolade <i>et al.</i>
	T–		+ (reduced insulin secretion)	Subjects with 25(OH)D ₃ insufficiency	Ogunkolade <i>et al.</i>	
	TT		– (DM2), + (obesity)	French Caucasians	Ye <i>et al.</i>	
	DBP	Tru9I (A/G)	u–	– (DM2)	French Caucasians	Ye <i>et al.</i>
			Gc–	+ (glucose tolerance), – (DM2 prevalence)	Non-diabetic Pima Indians	Baier <i>et al.</i> , Pratley <i>et al.</i>
			Gc1–	+ (DM2)	Polynesian and Japanese subjects	Kirk <i>et al.</i> , Hirai <i>et al.</i>
Gc1s–			+ (fasting insulin, plasma glucose)	Subarctic Amerindians	Szathmary	
Gc1f-1f			+ (lower levels of fasting insulin)	Non-diabetic Dogrib Indians from Canada	Szathmary	
Gc1f-1f			– (fasting insulin levels)	Hispanic population of San Luis Valley (USA)	Iyengar <i>et al.</i>	
Gc–			– (DM2)	American, French and Polish Caucasians	Klupa <i>et al.</i> , Ye <i>et al.</i> , Malecki <i>et al.</i>	
CYP1alpha		TC	– (DM2)	Polish Caucasians	Malecki <i>et al.</i>	
			+ (DM2)	Obese Polish Caucasians	Malecki <i>et al.</i>	

DBP, vitamin D-binding protein; T2DM; PTH, parathyroid hormone; VDR, vitamin D receptors. *Denotes positive (+) or negative (-) association with the corresponding phenotype reported in brackets.

Tabela 5: Studije u kojima je izvješteno o povezanosti između patogeneze T2DM i VDR, DBP and CYP1alpha gena.

Iz: X. Palomer et al Role of vitamin D in type 2 diabetes mellitus, *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10, 2008, 185-197.

Nema haplotipova od T→C polimorfizam u intronu 6 ili rs184712 (jednostavni nuklearni polimorfizam), koji je lociran oko 14.5kb niže od eksona 1, *CYP1alpha* je povezan sa predispozicijom za T2DM (138). Postoji određena povezanost između heterozigotne haplotipske kombinacije (TC) i u grupi oboljelih sa T2DM, podgrupa gojazni (138). Mehanizam povezanosti je nejasan. Međutim, neke studije *in vitro* pokazuju da postoji direktni efekat ovog gena na uticaj vitamina D u metabolizmu adipocita (139,140), ovim se ne može isključiti da ovi polimorfizmi mogu jednostavno biti u vezi sa disekvilibriranjem sa još uvijek ne otkrivenim genima (141).

Očigledno je da vitamin D ima uticaja na patogenezu u T2DM. Promjene u statusu i/ili uticaju vitamina D mogu uticati na insulinsku senzitivnost, β-ćelijsku funkciju ili na oboje. Nekoliko vitamin D zavisnih gena udruženi su sa različitim patogenim osnovama T2DM.

Vitamin D preko određenih metaboličkih i imunih puteva može biti povezan sa patogenezom T2DM, kao faktor iz spoljne sredine ili na genetskom nivou. Moguća uloga vitamina D u patogenezi T2DM još uvijek je daleko od kompletnog razjašnjenja (13). Potrebna su dalja istraživanja zbog identifikacije novih ciljeva u prevenciji i tretmanu T2DM.

2.6 Vitamin D, gojaznost i kardiometabolički rizik

Nedostatak vitamina D, reflektuje cirkulišući nivo vitamina D manji od 20ng/ml, preovladava u najmanje pola populacije starijih osoba u zemljama u razvoju (141,142). Osobe sa nedostatkom/nedovoljno vitamina D u povećanom su riziku od kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta (104,143-145).

Glavni izvor vitamina D je endogena produkcija u koži kod sunčanja (4,6,15,142). Jedno od kliničkih stanja najčešće povezivano sa nedostatkom/nedovoljno vitamina D jeste gojaznost (143,144). Takođe, pokazano je da je nedostatak/nedovoljnost vitamina D povezana sa insulinskom rezistencijom i metaboličkim sindromom (13,144-146). Takođe, kardiovaskularni sistem je pod uticajem nedostatka vitamina D. Nedostatak/nedovoljnost vitamina D uočena je u pacijenata sa akutnim infarktom miokarda, moždanim udarom, srčanom slabosti i kardiovaskularnim oboljenjem (147-149). Pacijenti sa srčanom slabošću imaju niže nivoe u plazmi 25(OH)D i 1,25(OH)₂D od ispitanika u kontrolnoj grupi (150).

Studija urađena u Brazilu, u post menopauzalnih žena da je nedostatak/nedovoljnost vitamina D udružen sa visočijom prevalencijom metaboličkog sindroma (150). Vit D nedostatak/nedovoljnost bila je povezana sa visočijim rizikom i od metaboličkog sindroma, hipertrigliceridemije i nižim HDL holesterolom nego u žena koje su bile sa optimalnim nivoom vitamina D u serumu (150).

Serumski nivo 25-hydroxyvitamin, ustanovljen je i kao važan faktor kardiovaskularnog rizika za infarkt miokarda prije 60 godine života (151).

Vodič Američke kardiološke asocijacije (AHA) sadrži preporuku u smislu nedjeljne umjerene do jače fizičke aktivnosti od najmanje 150min/nedjeljno u cilju snižavanja krvnog pritiska, holesterola niske gustine (LDL) i redukcije rizika od kardiovaskularnog oboljenja (152). Chin i saradnici su dokazali da je fizička aktivnost linearno povezana sa visočijim nivoima vitamina D u ispitanika bijelaca. Udruženost fizičke aktivnosti i visočijeg nivoa vitamina D ima sinergistički povoljan efekat na smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti (152).

Rezultati kohortne studije urađene u sedam centara (Finska, Švedska, Holandija, Francuska, Italija), u kojoj su ispitivali srednjovječne i starije osobe sa visokim kardiovaskularnim rizikom, u odnosu na ulogu nivoa 25(OH)D u ranoj subkliničkoj aterosklerozi (153). Poznato je da je jedan od surogat markera za aterosklerozu i ultrazvučni pregled (visoka rezolucija) tunike intime medije karotidnih krvnih sudova. U studiji su ispitivani i uticaji nadmorske visine i geografske širine na nivo vitamin D. Iako je poznato da je vodeći izvor endogene produkcije vitamina D izlaganje suncu, uočena je pozitivna relacija između nivoa vitamina D i geografske širine u Nordijskim zemljama, na geografskoj širini od 60°, gdje je ultravioletna sunčana radijacija odsutna od oktobra do marta, dok je

sunčeva ultravioletna radijacija prisutna tokom čitave godine na jugu Evrope (153). U stvari, najvišičiji nivoi 25(OH)D izmjereni su u Finskoj u toku zime. Generalno, niži nivoi 25(OH)D izmjereni su u osoba koji žive u klimatskim uslovima sa više sunca. Studija The Euronut SENECA (Zajednička akcija cijele Evrope) sa učesnicima iz 19 gradova u 12 Evropskih zemalja, najniže prosječne koncentracije 25(OH)D tokom zime su pronađene u južnoj Evropi. Ova studija nije pokazala povezanost uloge vitamina D u prevenciji subkliničke ateroskleroze (153).

Oh i saradnici su pokazali da delecija (knock-out, brisanje) vitamin D receptora (VDR) u makrofagima miševa-KODMAC (Bez vitamin D receptora u makrofagima) je dovoljna da indukuje insulinsku rezistenciju promocijom M2 makrofaga i njihovom akumulacijom u jetri, kao i povećanjem produkcije citokina i hepatičke produkcije glukoze (154). Što više, brisanje VDR povećava aterosklozu, omogućava punjenje lipidima M2 monocita koji čuvaju, migriraju i prenose holesterol u aterosklerotske plakovei putem povećanog makrofagnog preuzimanja holesterola i esterifikacije (154). (Figura 8)

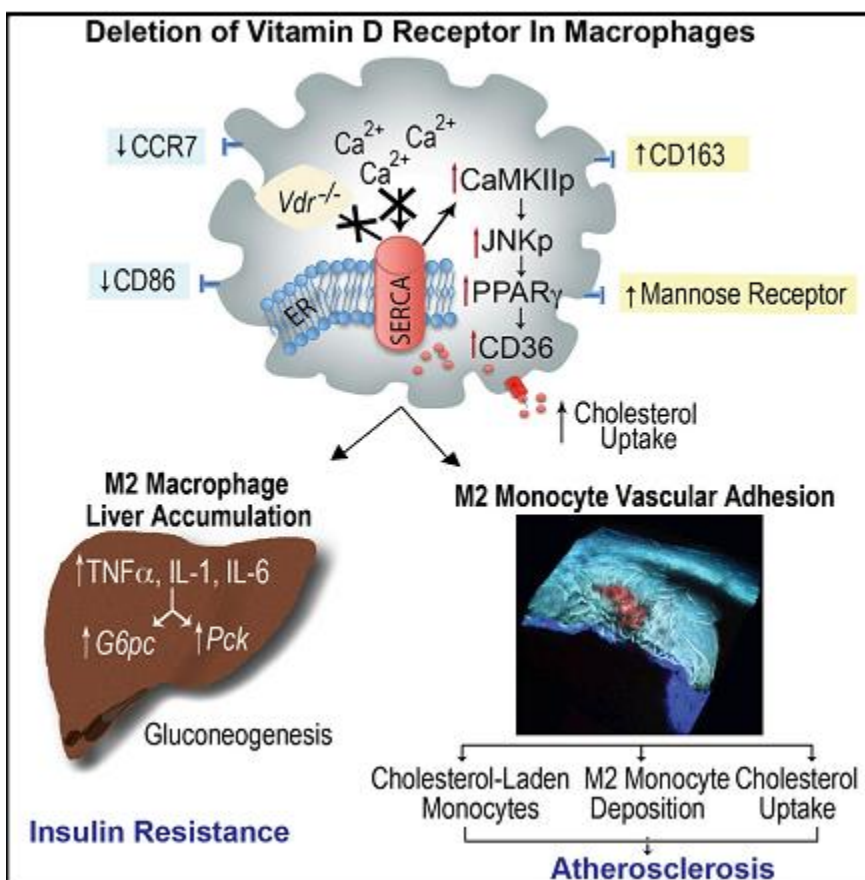


Figura 8: Knock-out (delecija-brisanje) vitamin D receptora u makrofagima

Porast tzv. pjenastih ćelija rezultat je brisanja (nedostatka) VDR-SERCA2b (Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2), interakcija uzrokuje SERCA disfunkciju, aktivaciju ER (endoplasmic reticulum) stresa-CaMKII-JNKp-PPAR γ signalizacije i indukcija receptora CD36 and SR-A1. Transplantacija ćelija kostne srži koje eksprimiraju VDR u KODMAC miševa poboljšava insulinsku senzitivnost, suprimira ateroskleroza i smanjuje formiranje pjenastih ćelija. Imunomodulatorni efekti vitamina D u makrofagima su zbog toga kritični u ishrani koja izaziva insulinsku rezistenciju i ateroskleroza u miševa Iz: Oh et al, Deletion of Macrophage Vitamin D Receptor Promotes Insulin Resistance and Monocyte Cholesterol Transport to Accelerate Atherosclerosis in Mice, 2015, Cell Reports 10, 1872-1886. (154)

Kardiovaskularni sistem je pod uticajem nedovoljnog nivoa vitamina D. Nedostatak/nedovoljnost vitamina D uočena je u pacijenata sa akutnim infarktom miokarda, moždanim udarom, srčanom slabosti i kardiovaskularnim oboljenjem (151,155-159). Podaci iz Framingham Heart Study pokazuju da su pacijenti sa najnižim nivoima vitamina D imali 62% više izgleda da im se desi srčani ili moždani udar od onih sa visočijim nivoima vitamina D (149,150). Velika prospektivna studija Wang-a i kolega, u više od 1700 ispitanika pokazuje da je nedostatak/nedovoljnost vitamina D povezana sa porastom kardiovaskularnog rizika (155).

U UK porast kardiovaskularnog oboljevanja bio je povezan sa niskom koncentracijom plazmatskog 25(OH)D u zimskom periodu. Slično, krvni pritisak bio je visočiji zimi nego ljeti, varirao je u skladu sa pigmentacijom kože i bio je visočiji u osoba sa nedostatkom/nedovoljnošću vitamina D (158).

Vitamin D regulše ekspresiju renina nezavisno od metabolizma kalcijuma i 1,25(OH)₂D značajno suprimira renin transkripcioni faktor VDR-zavisnim mehanizmom u kulturi ćelija (159). Vitamin D je negativni endokrini regulator renin-angiotenzin sistema. Ima važnu ulogu u homeostazi elektrolita, volumena i krvnog pritiska, ovim se sugerše da vitamin D analozi mogu pomoći u prevenciji ili liječenju hipertenzije (159).

In vitro, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ suprimira renin gensku ekspresiju, reguliše rast i proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih ćelija i kardiomiocita (160).

Tjelesna težina i tjelesna mast su u obrnutoj korelaciji sa $25(\text{OH})\text{D}$, posmatrano kroz raspon tjelesne težine od normalno uhranjenih do gojaznih (161). Ova inverzna asocijacija je vjerovatno povezana sa većim volumenom distribucije vitamina D u masnom tkivu (161). Iannuzzo i kolege su uradili meta analizu šesnaest studija koje su se bavile nedostatkom vitamina D i porastom kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta, pokazali su kontrastne asocijacije između periferne arterijske bolesti i statusa vitamina D (162). Pacijenti sa perifernom arterijskom bolesti imali su niže nivoe vitamina D u odnosu na zdrave ispitanike (kontrolna grupa). Oba poremećaja, nedostatak i nedovoljnost vitamina D bili su značajno udruženi sa perifernom arterijskom bolesti. Nizak nivo vitamina D može predstavljati nezavisni faktor rizika za perifernu arterijsku bolest i kardiovaskularne bolesti (162).

Vitamin D endokrini sistem je operativan ne samo u tkivima odgovornim za kalcijumski transport (crijeva, bubrezi, kosti, mliječne žlijezde, placenta), održavanje nivoa kalcijuma (PTH) ili homeostazu kostiju, već i u mnogim ćelijama u tijelu (163). U opštoj humanoju populaciji, podaci iz observacionih studija ukazuju na povezanost između niskog vitamina D i brojnih stanja i bolesti: kancer, mišićne slabosti i padova, infekcija, autoimunih bolesti, hipertenzije, kardiovaskularnog rizika i događaja, gojaznosti, dijabetesa, svih aspekata metaboličkog sindroma i drugih zdravstvenih problema (163). Trenutno se u svijetu radi preko 3000 studija o povezanosti vitamina D i navedenih stanja (Tabela 6).

RCTs and vitamin D	<i>n</i>
Global number	2,725
Completed trials	216
Recruiting trials	715
Children	676
Pregnancy	141
Topic specific	
Bone trials	1,702
Rickets trials	128
Cancer trials	667
Brain and CNS trials	370
MS trials	36
CV trials	370
Diabetes trials	316
Obesity trials	179
Muscle trials	206
IBD trials	44
Infections and immune disease trials	317

Tabela 6: Povezanost vitamina D i navedenih stanja

Iz: Giustina A, Bilezikian JP (eds): Vitamin D in Clinical Medicine.

Front Horm Res. Basel, Karger, 2018, vol 50, pp 72–88.(163)

Studija Deleskog i saradnika pokazala je da visok nivo serumskog 25(OH)D predviđa smanjenje rizika od T2DM u osoba sa predijabetesom ali ne i u osoba sa očuvanom tolarencijom glukoze. (164) Rezultati ove studije pokazuju da bi dodatak vitamina D bio značajan preventabilni faktor u osoba sa predijabetesom u progresiji prema T2DM (164).

Meta analiza Mirhosseini-ja i saradnika, pokazala je da je vitamin D suplementacija, u minimalnoj dozi od 100 mg/d (4000 IU/d), značajno redukovala glikemiju našte (FPG),

glikozilirani hemoglobin A1c (HbA1c) homeostatski (HOMA-IR) indeks (165). Takođe, značajno utiče na poboljšanje kontrole glikemija u dnevnom profilu i poboljšava insulinsku senzitivnost u oboljelih od T2DM (165).

12 velikih randomizovanih projekata o efektima suplementacije vitamina D na kardiovaskularne bolesti, respiratorne infekcije, padove, frakture, kancer, šlog i na mortalitet su trenutno u toku, kao što je studija VITAL (VITamin D and OmegA-3 TriaL), studija TIPS (The International Polycap Study 3), studija FIND (Finnish Vitamin D Trial), i D-Health(166). Rezultati ovih impresivnih studija sa velikim brojem ispitanika, variraju od 5000 do >25 000, se očekuju. Novija saznanja iz studije ViDA, na preko 5000 ispitanika, starosti između 50–84god, nijesu pokazala značajnije efekte vitamina D na akutne kardiovaskularne bolesti ili među osobama sa osnovnim $25(\text{OH})\text{D} < 50\text{nmol/L}$. Ipak, studija je urađena na prethodno zdravim volonterima (166).

Studija Wimalawansa i kolega bavila se korelacijama vitamina D sa dijabetesom, insulinskom rezistencijom, gojaznošću i metaboličkim sindromom (167). Intra celularni vitamin D receptori i $1-\alpha$ hidroksilaza enzimi su raspoređeni svuda (ubikvitarni) u svim tkivima čime se sugerše opseg funkcija vitamina D. Ima važnu direktnu i indirektnu ulogu u metabolizmu ugljenih hidrata i masti što ga povezuje sa T2DM, metaboličkim sindromom, insulinskom sekrecijom, insulinskom rezistencijom, policističnim sindromom jajnika. Iako cross-sectional (studije poprečnog presjeka), observacione i ekološke studije ukazuju na inverznu korelaciju između vitamin D statusa, hipergliemija i glikemijske kontrole u pacijenata sa T2DM, smanjenja konverzija predijabetesa u dijabetes, prevencije gojaznosti, postoje određene nejasnoće (167). (Figura 9)

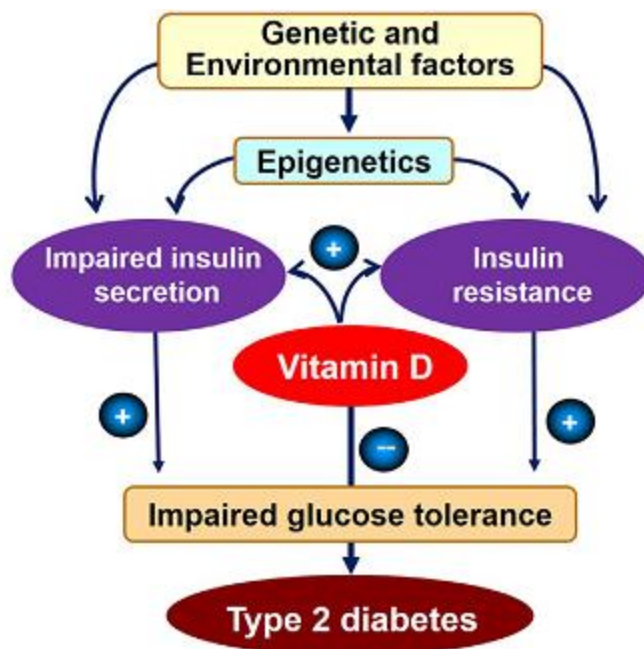


Figura 9: Dijabetes je bolest dualnih efekata; hipovitaminoza D je pogoršava. Integrisanost i uzajamonst odnosa između vitamina D i uobičajenih metaboličkih poremećaja. Hipovitaminoza D utiče na razvoj i pogoršanje dijabetesa; hperglikemiju, hiperlipidemiju, insulinsku rezistenciju, hipertenziju, metabolički sindrom, gojaznost, takođe rahitis, osteomalaciju i osteoporozu. Iz Wimalawansa SJ et al. Associations of vitamin D with insulin resistance, obesity, type 2 diabetes and metabolic syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018 Jan;175:177-189.(167).

3 CILJEVI RADA

1. Utvrditi nivo vitamina D u pacijenata sa T2DM 2 i u pacijenata sa T2DM plus kardiovaskularna bolest (KVB)
2. Ispitati korelaciju nivoa vitamina D sa antropometrijskim parametrima pacijenata (tjelesna težina, indeks tjelesne mase, obim struka)
3. Ispitati korelaciju nivoa vitamina D sa metaboličkim statusom pacijenata (nivo holesterola, triglicerida i HbA_{1c}).
4. Odrediti procentualnu zastupljenost pacijenata sa T2DM koji imaju nedostatak vitamina D, nedovoljnost vitamina D i dovoljni nivo vitamina D
5. Odrediti procentualnu zastupljenost pacijenata sa T2DM plus KVB koji imaju nedostatak vitamina D, nedovoljnost vitamina D i dovoljni nivo vitamina D
6. Odrediti kliničke karakteristike pacijenata sa T2DM podijeljenih u tri kategorije prema nivou vitamina D (nedostatak vitamina D, nedovoljnost vitamina D i normalan nivo vitamina D)
7. Odrediti nivo HbA_{1c}, holesterola i triglicerida kod pacijenata sa T2DM podijeljenih u tri kategorije prema nivou vitamina D (nedostatak vitamina D, nedovoljnost vitamina D i dovoljan nivo vitamina D)
8. Odrediti kliničke karakteristike pacijenata sa T2DM plus KVB podijeljenih u tri kategorije prema nivou vitamina D (nedostatak vitamina D, nedovoljnost vitamina D i normalan nivo vitamina D)
9. Odrediti nivo HbA_{1c}, holesterola i triglicerida kod pacijenata sa T2DM plus KVB podijeljenih u tri kategorije prema nivou vitamina D (nedostatak vitamina D, nedovoljnost vitamina D i dovoljan nivo vitamina D)
10. Odrediti prediktore nivoa 25(OH)D (antropometrijski, metabolički) kod pacijenata sa T2DM i kod pacijenata sa T2DM plus KVB

4 PACIJENTI I METODE

4.1 Pacijenti

Ispitivali smo 88 pacijenata sa T2DM (49 muškaraca i 39 žena, životne dobi 61.0 ± 0.9 god., BMI 29.9 ± 0.4 kg/m²) i 67 pacijenta (44 muškarca i 23 žene, životne dobi od 63.6 ± 1.0 god., BMI 29.2 ± 0.5 kg/m²) sa anamnezom o istovremenom postojanju dva oboljenja T2DM i KVB. Upoređivali smo ove pacijente sa 87 zdravih ispitanika (35 muškaraca i 52 žene, životne dobi od 52.8 ± 1.4 god., BMI 27.2 ± 0.5 kg/m²) koji u anamnezi nijesu bolovali od T2DM ili KVB.

Informisani pristanak za studiju dobijen je od svih pacijenata i od zdravih ispitanika. Protokol saglasnosti odobren je od Etičkog komiteta Kliničkog centra Crne Gore u Podgorici.

4.2 Metode

Ispitivali smo slijedeće parametre kod ispitanika: dob, tjelesnu težinu, visinu, obim struka i izračunavali indeks krte mase (BMI). Uzorci seruma sakupljeni su izjutra, nakon noćnog gladovanja. Iz uzoraka seruma određivani su: ukupni holesterol, trigliceridi, hemoglobin A_{1c}(HbA_{1c}) i nivo 25(OH)D. Uzorkovanje seruma urađeno je u periodu od početka jula do kraja septembra 2010g.

HbA_{1c} određivan je imunoturbimetrijskom analizom (COBAS INTEGRA), holesterol je određivan enzimatskom metodom, dok su trigliceridi određivani putem glicerol fosfat oksidaza metodologijom. HbA_{1c} predstavlja prosječnu vrijednost kontrole šećera u krvi za period od 12 nedjelja. Za oboljele od T2DM, ciljna (optimalna) vrijednost je 7%, za zdrave osobe, normalan raspon vrijednosti je između 4%-6%.

Serumski nivo 25(OH)D određivan je komercijalnim enzimskim imunotestom (EIA, Immunodiagnostic system, UK). Limit za detekciju vitamina 25(OH)D bio je 5 nmol/l.

4.3 Statistička analiza

U statističkoj obradi podataka korišćene su metode deskriptivne i analitičke statistike. Nominalne i ordinalne varijable su opisane raspodelom učestalosti njihovih kategorija, a

mjerne varijable mjerama centralne tendencije i mjerama varijabiliteta. U okviru analitičke statistike su korišćeni parametarski i neparametarski testovi u zavisnosti od distribucije varijabli. Od parametarskih testova razlike su korišćeni T-test i ANOVA test, a od neparametarskih testova Men-Vitnijev U test i χ^2 test. U tom smislu analizirana je značajnost razlike u posmatranim pogrupama pacijenata. Analizirali smo uticaj pola, dobi, težine, obima struka i BMI na nivo vitamina D.

Analiza povezanosti između antropometrijskih i metaboličkih parametara i nivoa vitamina D je procjenjivana u zavisnosti od prirode posmatranih varijabli na osnovu koeficijenta korelacije Pirsonovog ili Spirmanovom testa korelacije ranga. Ispitivanje prediktivnih faktora nivoa vitamina D vršilo se se pomoću multiple regresione analize.

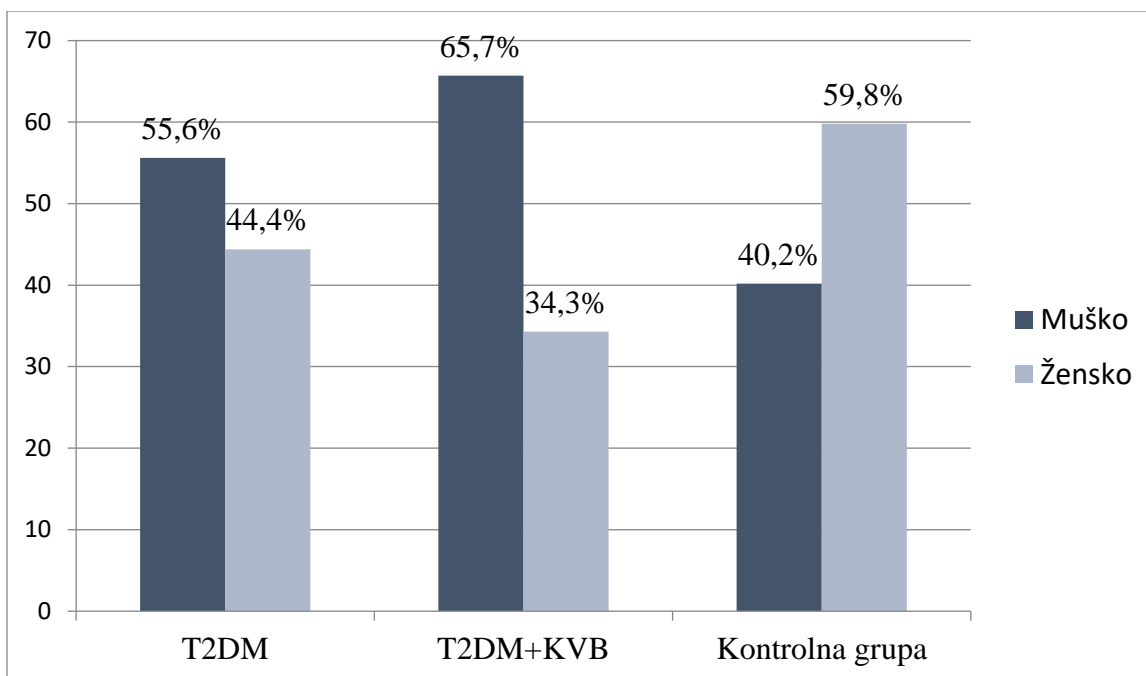
Statistička analiza urađena je u programu SPSS for Windows (version 15.0). P vrijednost manja od 0.05 smatrana je statistički značajnom.

5 REZULTATI

U istraživanje je uključeno 88 pacijenata sa T2DM kod kojih je isključeno prisustvo KVB, 67 pacijenata sa istovremnim prisustvom T2DM i KVB u trenutku ispitivanja, kao i 87 ispitanika kod kojih je isključeno prisustvo ovih oboljenja (zdravi ispitanici koji su činili kontrolnu grupu).

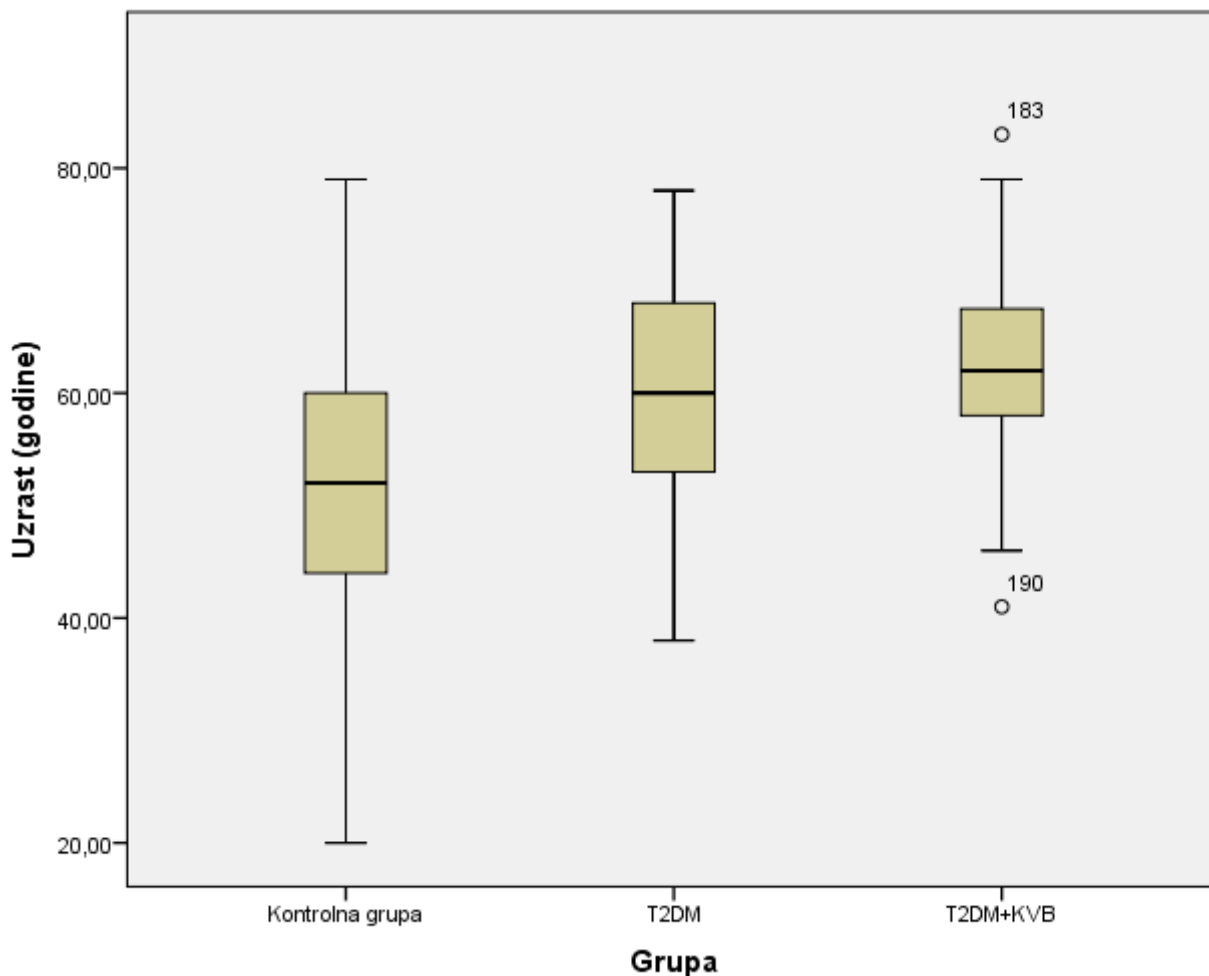
5.1 Demografske karakteristike ispitanika

- (pol i uzrast) su prikazane na **Grafikonima 10 i 11**.



Grafikon 10: Distribucija ispitanika u odnosu na pol u ispitivanim grupama

Na **Grafikonu 10** uočava se postojala razlika u distribuciji ispitanika u odnosu na pol u ispitivanim podgrupama ($p < 0,001$) sa predomonacijom muškog pola u grupama sa izolovanim prisustvom T2DM ili u kombinaciji sa KVB. Sa druge strane ženski pol je bio češće zastupljeni u grupi ispitanika koji su predstavljali kontrolnu grupu.

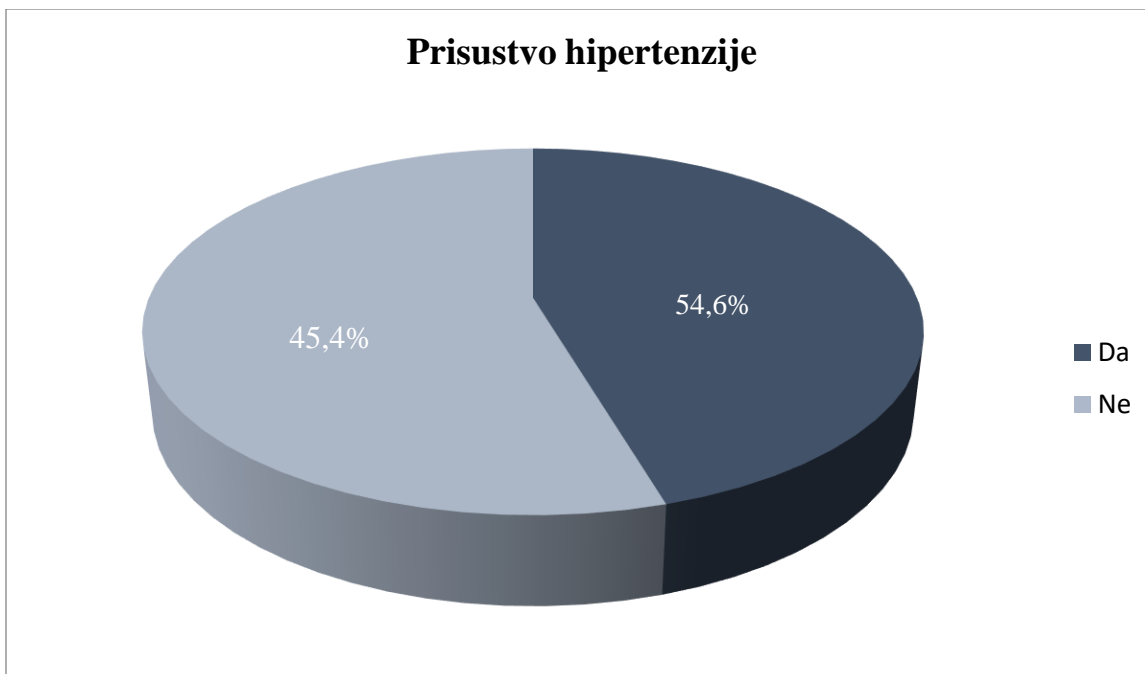


Grafikon 11: Distribucija ispitanika u odnosu na uzrast u ispitivanim grupama

Prosječan uzrast u kontrolnoj grupi bio je $52,8 \pm 1,4$ godina, u grupi sa T2DM $61,0 \pm 0,9$ godina, a u grupi T2DM+KVB $63,6 \pm 1,0$ godina. Ova razlika je bila statistički visoko značajna ($F=17,353$; $p<0,001$). Post-hoc analiza (Bonferonni korekcija) je utvrdila da je razlika bila statistički značajna između slijedećih parova podataka:

- Kontrolna grupa vs. T2DM ($p<0,001$)
- Kontrolna grupa vs. T2DM + KVB ($p<0,001$)

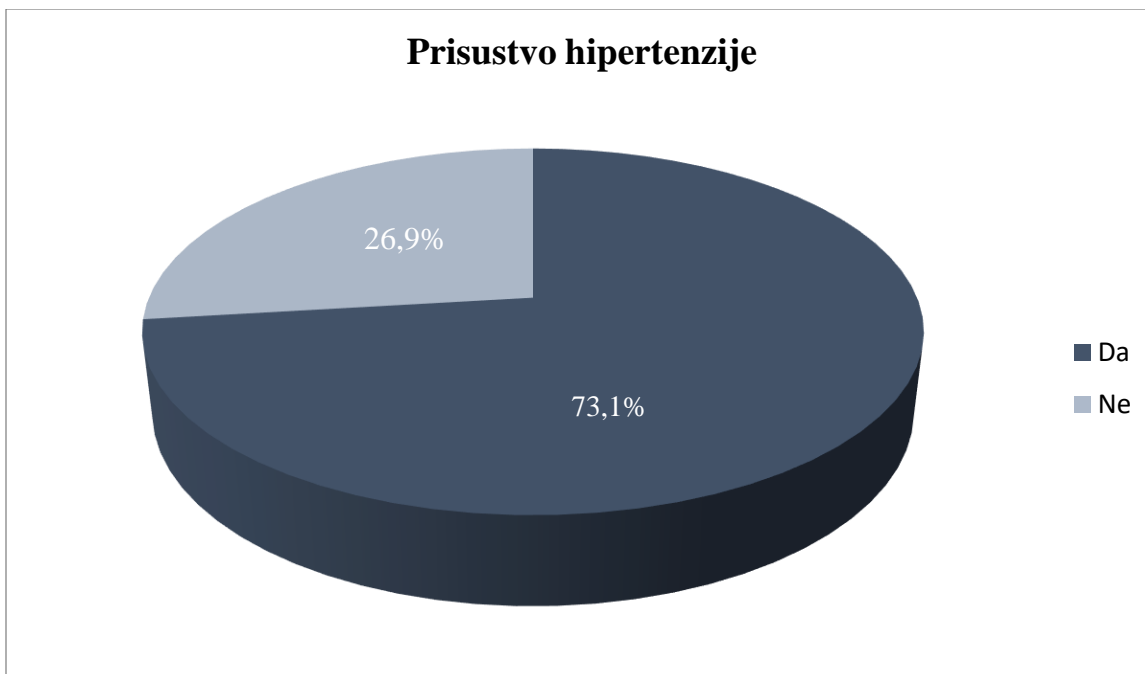
Prosječno trajanje T2DM u grupi sa izolovanim prisustvom ovog oboljenja bilo je $7,6 \pm 0,6$ godina, a u grupi KVB + T2DM $10,2 \pm 0,8$ godina. Ova razlika je bila statistički visoko značajna ($t=8,345$; $p<0,001$).



Grafikon 12: Distribucija ispitanika u odnosu na prisustvo hipertenzije u grupi T2DM

Na **Grafikonu 12** se uočava da je u grupi ispitanika sa T2DM 54,6% ispitanika imalo dijagnozu hipertenzije.

Na **Grafikonu 13** prikazana je distribucija ispitanika u odnosu na prisustvo hipertenzije u grupi T2DM+KVB

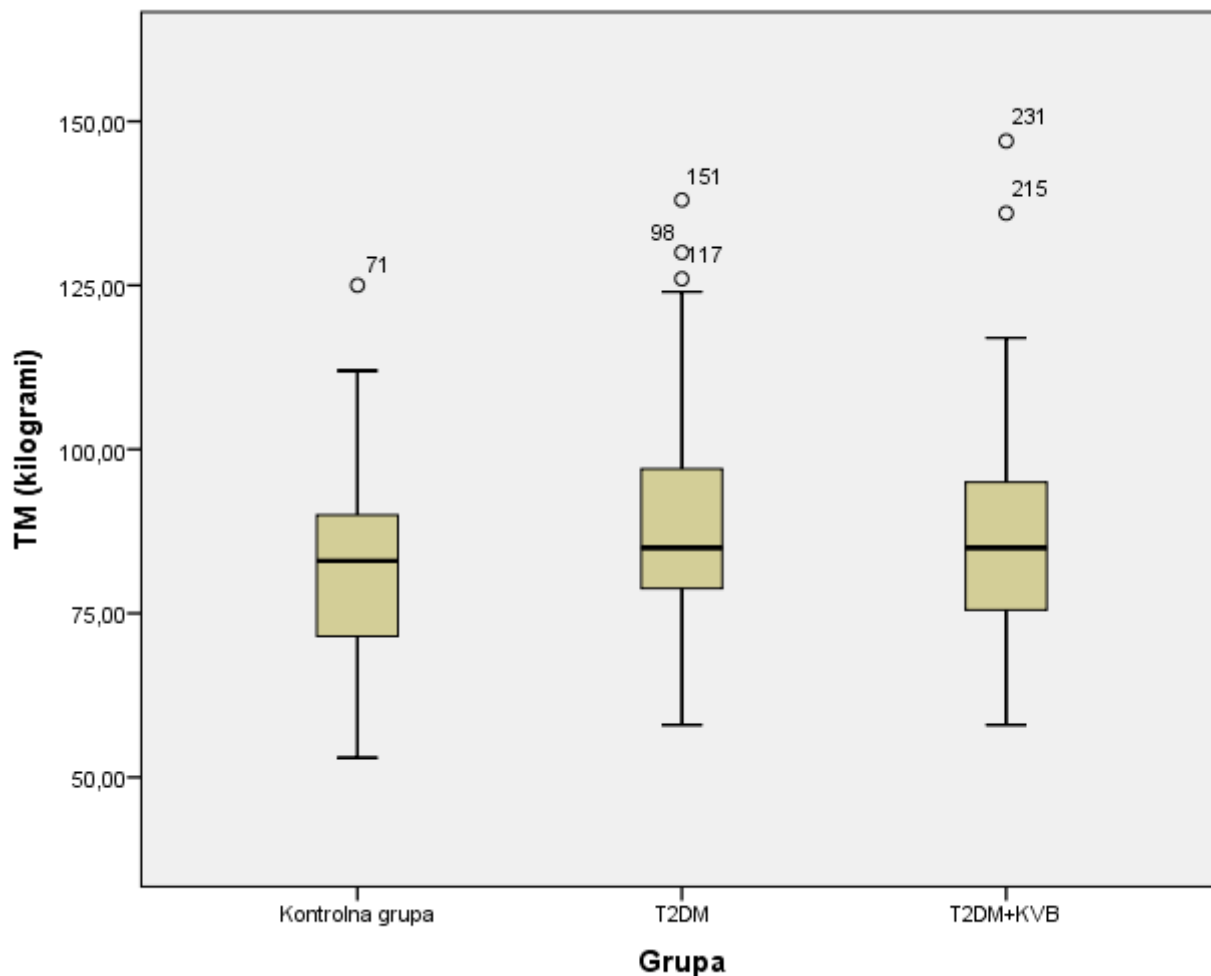


***Grafikon 13:** Distribucija ispitanika u odnosu na prisustvo hipertenzije u grupi T2DM + KVB*

Na **Grafikonu 13** se uočava da je grupi ispitanika sa T2DM i KVB 73,1% ispitanika imalo dijagnozu hipertenzije

Ispitivanje značajnosti razlike u odnosu na prisustvo hipertenzije je pokazalo je među ispitivanim grupama postojala statistički značajna razlika u odnosu na ovu varijablu ($\chi^2=91,548$; $p<0,001$).

Prosječne vrijednosti TM u ispitivanim grupama prikazane su na **Grafikonu 14**.

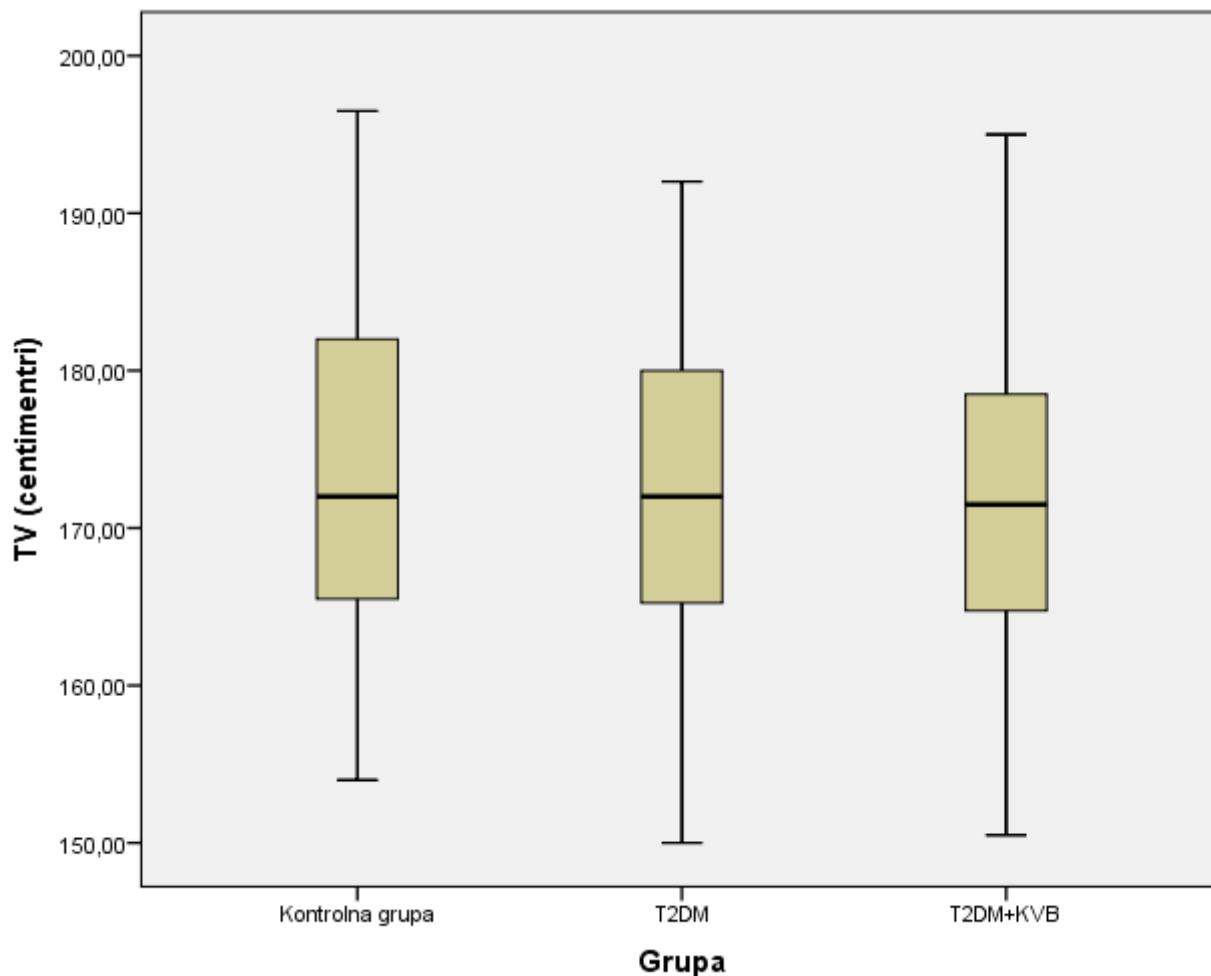


Grafikon 14: Distribucija ispitanika u odnosu na vrijednost TM u ispitivanim grupama

Distribucija ispitanika u odnosu na vrijednost TM u ispitivanim grupama pokazala je da prosječna tjelesna masa u kontrolnoj grupi bila je $81,8 \pm 1,5$ kg, u grupi sa DM $85,5 \pm 2,0$ kg, a u grupi T2DM+KVB $85,5 \pm 2,0$ kg. Ova razlika je bila statistički značajna ($F=3,975$; $p=0,020$). Post-hoc analiza (Bonferonni korekcija) je utvrdila da je razlika bila statistički značajna izmedju slijedećih parova podataka:

- Kontrolna grupa vs. T2DM ($p=0,016$)

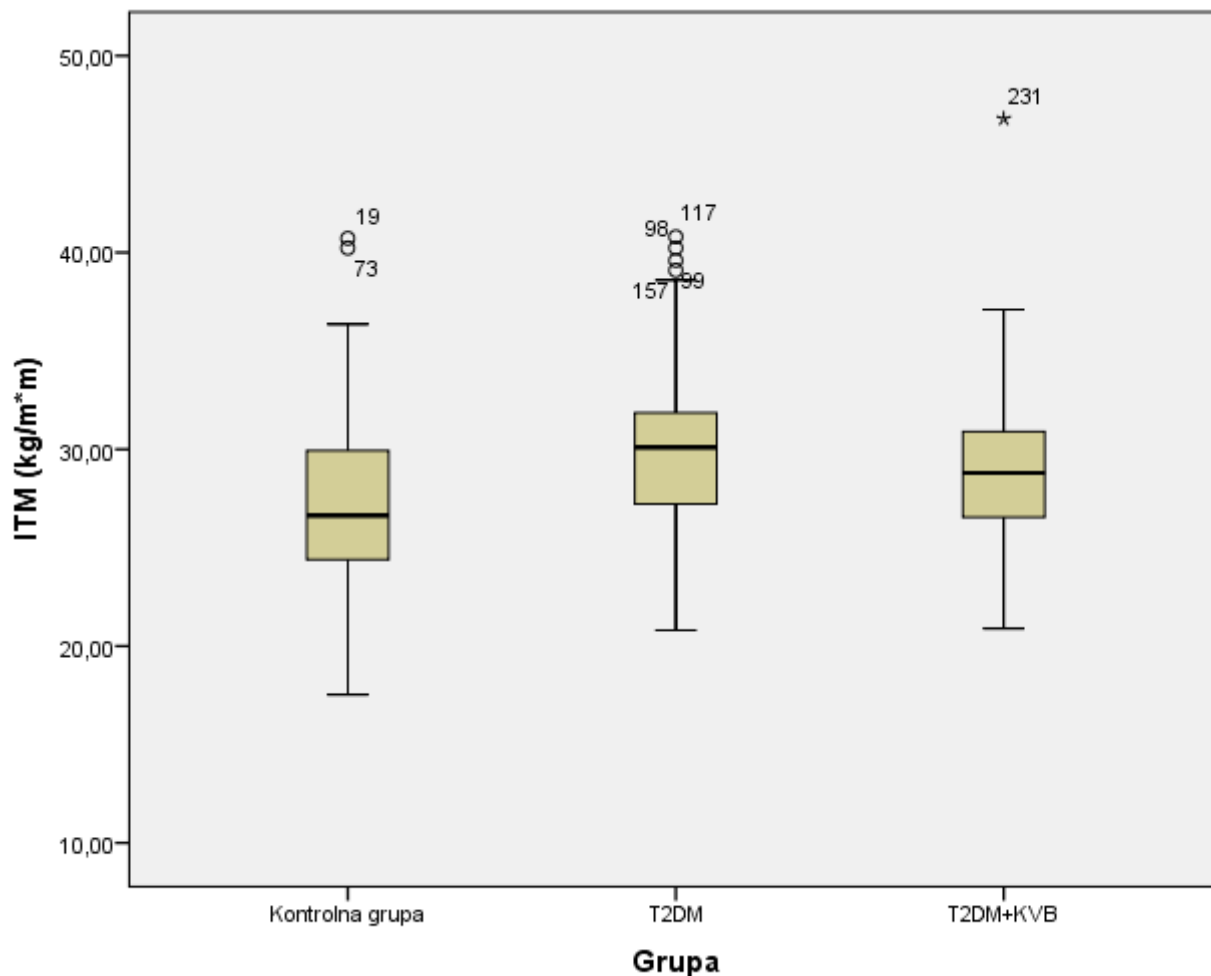
Prosječne vrijednosti TV u ispitivanim grupama prikazana je na **Grafikonu 15**.



Grafikon 15: Distribucija ispitanika u odnosu na vrijednost TV u ispitivanim grupama

Distribucija ispitanika u odnosu na vrijednost TM u ispitivanim grupama pokazala je da prosječna tjelesna visina u kontrolnoj grupi bila je $173,6 \pm 1,1$ cm, u grupi sa DM $172,6 \pm 1,0$ cm, a u grupi T2DM+KVB $171,8 \pm 1,2$ cm. Ova razlika nije bila statistički značajna ($F=0,621$; $p=0,538$).

Distribucija ispitanika u odnosu na ITM prikazana je na **Grafikonu 16**.

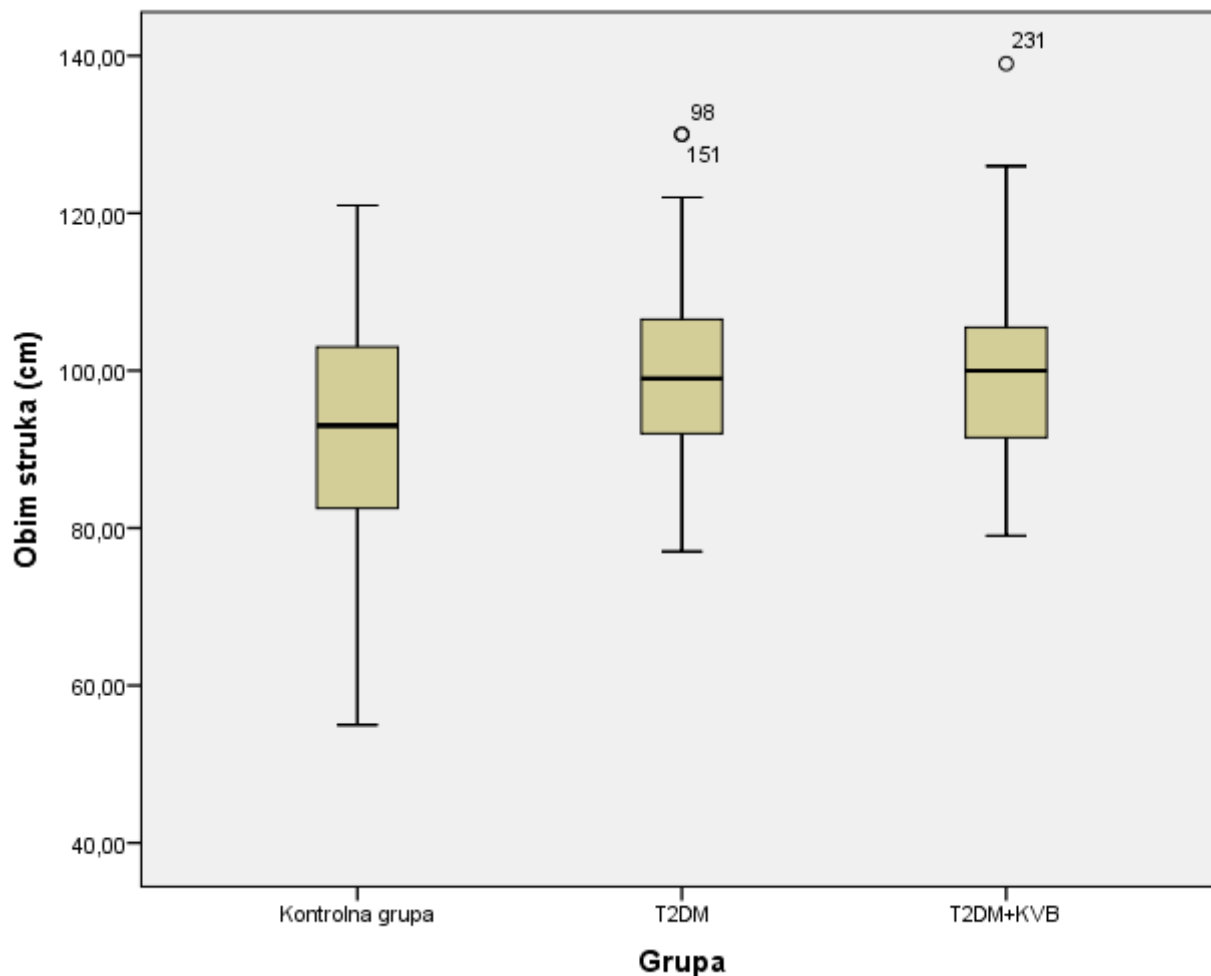


Grafikon 16: Distribucija ispitanika u odnosu na ITM u ispitivanim grupama

Distribucija ispitanika u odnosu na vrijednost ITM u ispitivanim grupama pokazala je da prosječan indeks tjelesne mase u kontrolnoj grupi bio $27,2 \pm 0,5 \text{ kg/m}^2$, u grupi sa DM $29,9 \pm 0,4 \text{ kg/m}^2$, a u grupi T2DM+KVB $29,2 \pm 0,5 \text{ kg/m}^2$. Ova razlika je bila statistički visoko značajna ($F=9,870$; $p<0,001$). Post-hoc analiza (Bonferonni korekcija) je utvrdila da je razlika bila statistički značajna između slijedećih parova podataka:

- Kontrolna grupa vs. T2DM ($p<0,001$)
- Kontrolna grupa vs. T2DM + KVB ($p=0,009$)

Distribucija ispitanika u odnosu na obim struka prikazana je na **Grafikonu 17**.

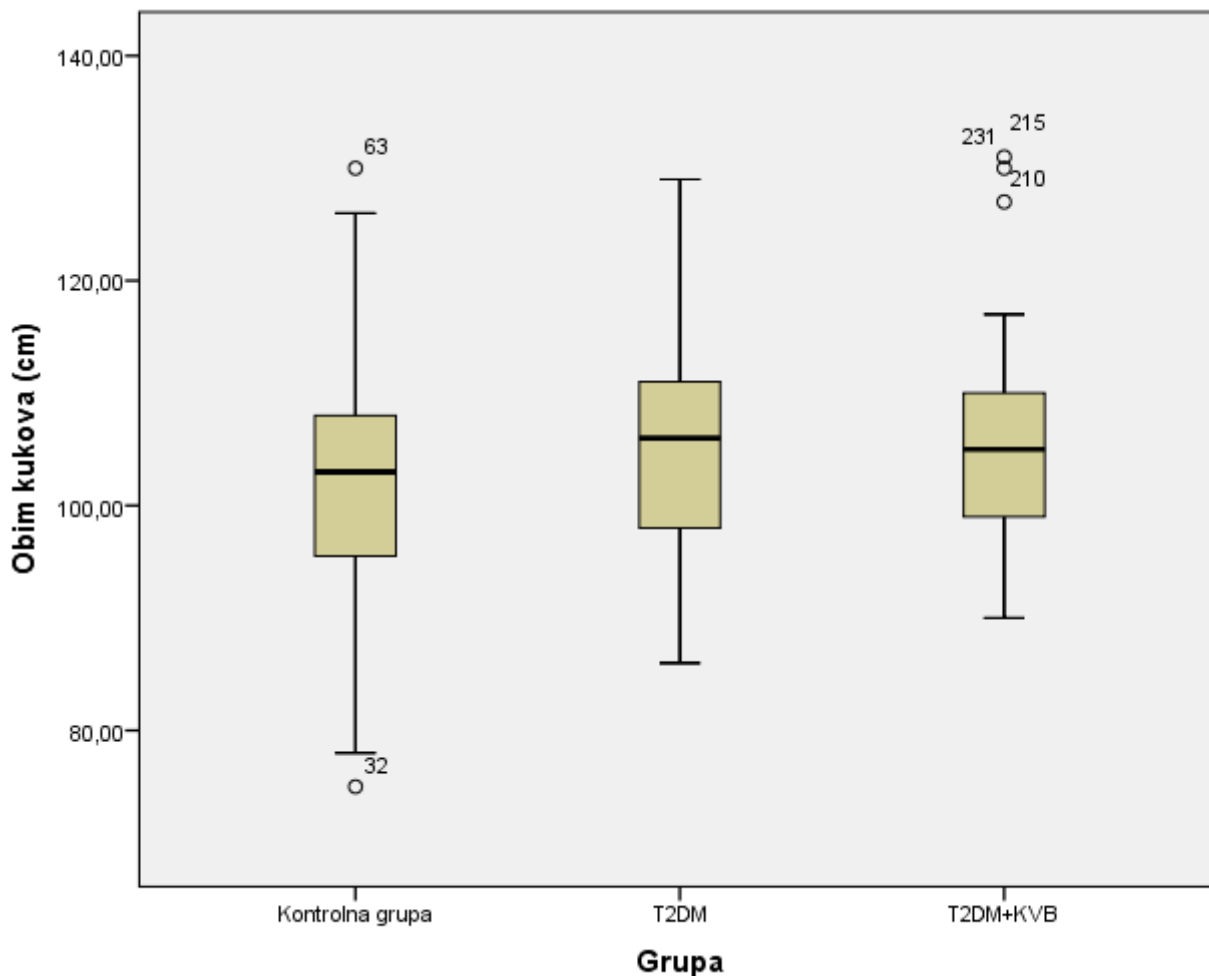


Grafikon 17: Distribucija ispitanika u odnosu na obim struka u ispitivanim grupama

Distribucija ispitanika u odnosu na vrijednost obima struka u ispitivanim grupama pokazala je da vrijednost ove varijable u Kontrolnoj grupi bila $91,5 \pm 1,5$ cm, u grupi sa DM $99,9 \pm 01,2$ cm, a u grupi T2DM+KVB $99,7 \pm 1,4$ cm. Ova razlika je bila statistički visoko značajna ($F=11,738$; $p<0,001$). Post-hoc analiza (Bonferonni korekcija) je utvrdila da je razlika bila statistički značajna između slijedećih parova podataka:

- Kontrolna grupa vs. T2DM ($p<0,001$)
- Kontrolna grupa vs. T2DM + KVB ($p<0,001$)

Distribucija ispitanika u odnosu na obim kukova prikazana je na **Grafikonu 18**.

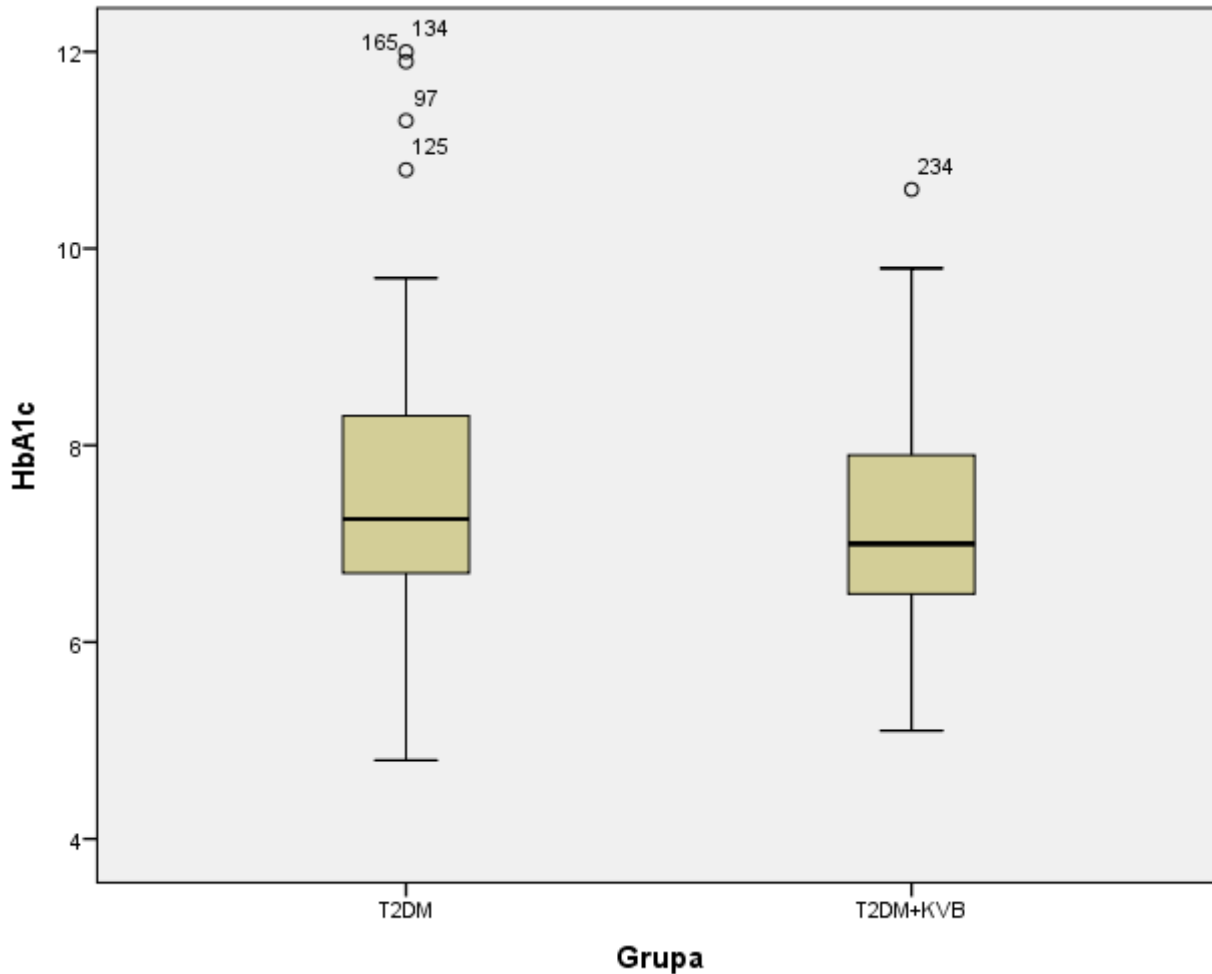


Grafikon 18: Distribucija ispitanika u odnosu na obim kukova u ispitivanim grupama

Distribucija ispitanika u odnosu na vrijednost obima kukova u ispitivanim grupama pokazala je da vrijednost ove varijable u kontrolnoj grupi bila $101,8 \pm 10,9$ cm, u grupi sa DM $105,9 \pm 9,3$ cm, a u grupi T2DM+KVB $104,9 \pm 8,8$ cm. Ova razlika je bila statistički značajna ($F=3,975$; $p=0,020$). Post-hoc analiza (Bonferonni korekcija) je utvrdila da je razlika bila statistički značajna između slijedećih parova podataka:

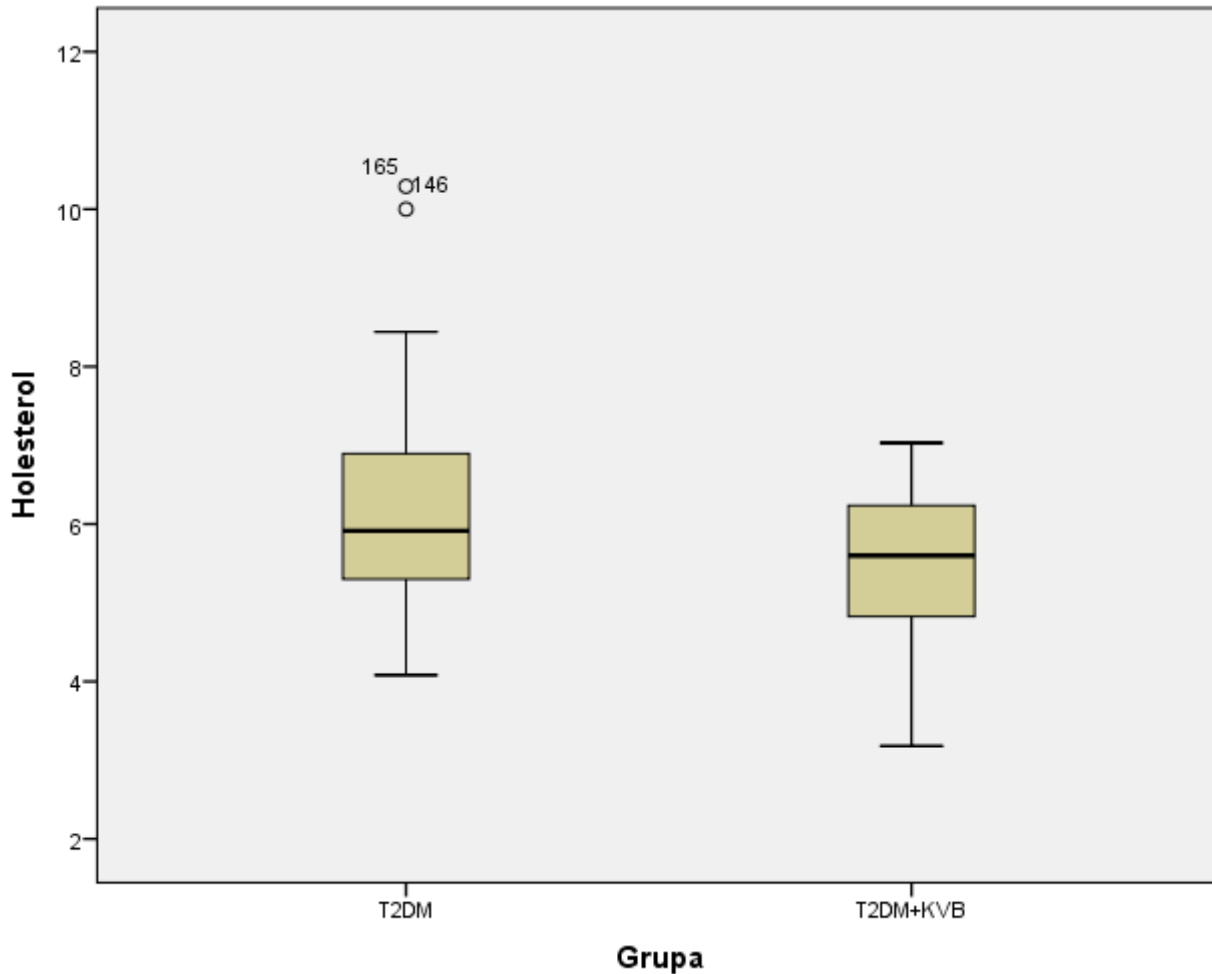
- Kontrolna grupa vs. T2DM ($p=0,021$)

Deskriptivna analiza vrste terapije DM je pokazala da je u grupi sa izolovanim prisustvom ovog oboljenja njih 45 primalo insulin, a njih 43 metformin, OAD. U grupi T2DM+KVB njih 35 je primalo insulin, a njih 32 metformin, OAD.



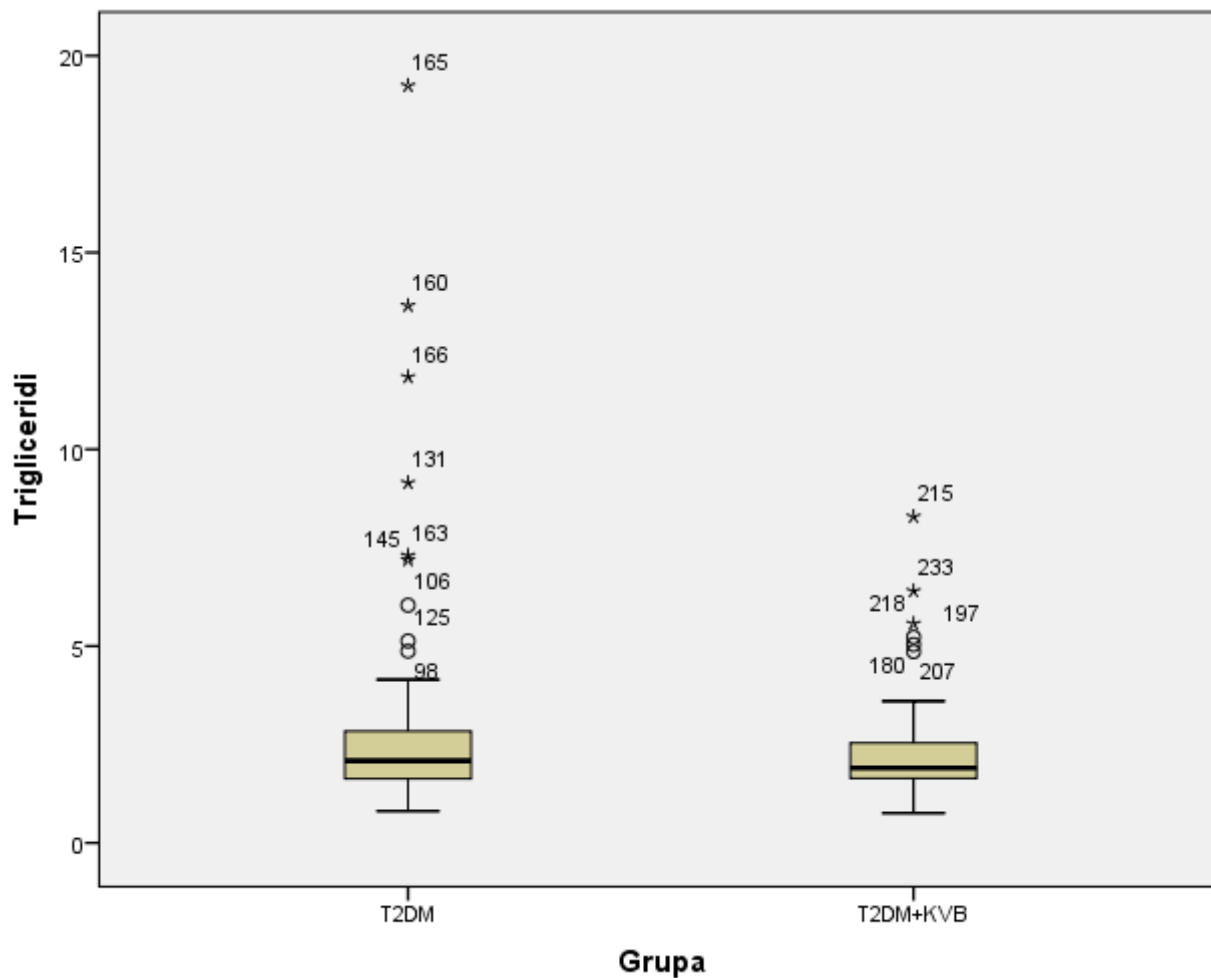
Grafikon 19: Distribucija ispitanika u odnosu na nivo HbA1c u grupama T2DM i T2DM+KVB

Distribucija ispitanika u odnosu na vrijednost HbA1c pokazala je da vrijednost ove varijable u grupi sa DM $7,6 \pm 1,3$ %, a u grupi T2DM+KVB $7,1 \pm 1,0$. Ova razlika je bila statistički značajna ($F=4,102$; $p=0,045$).



Grafikon 20: Distribucija ispitanika u odnosu na nivo holesterola u grupama T2DM i T2DM+KVB

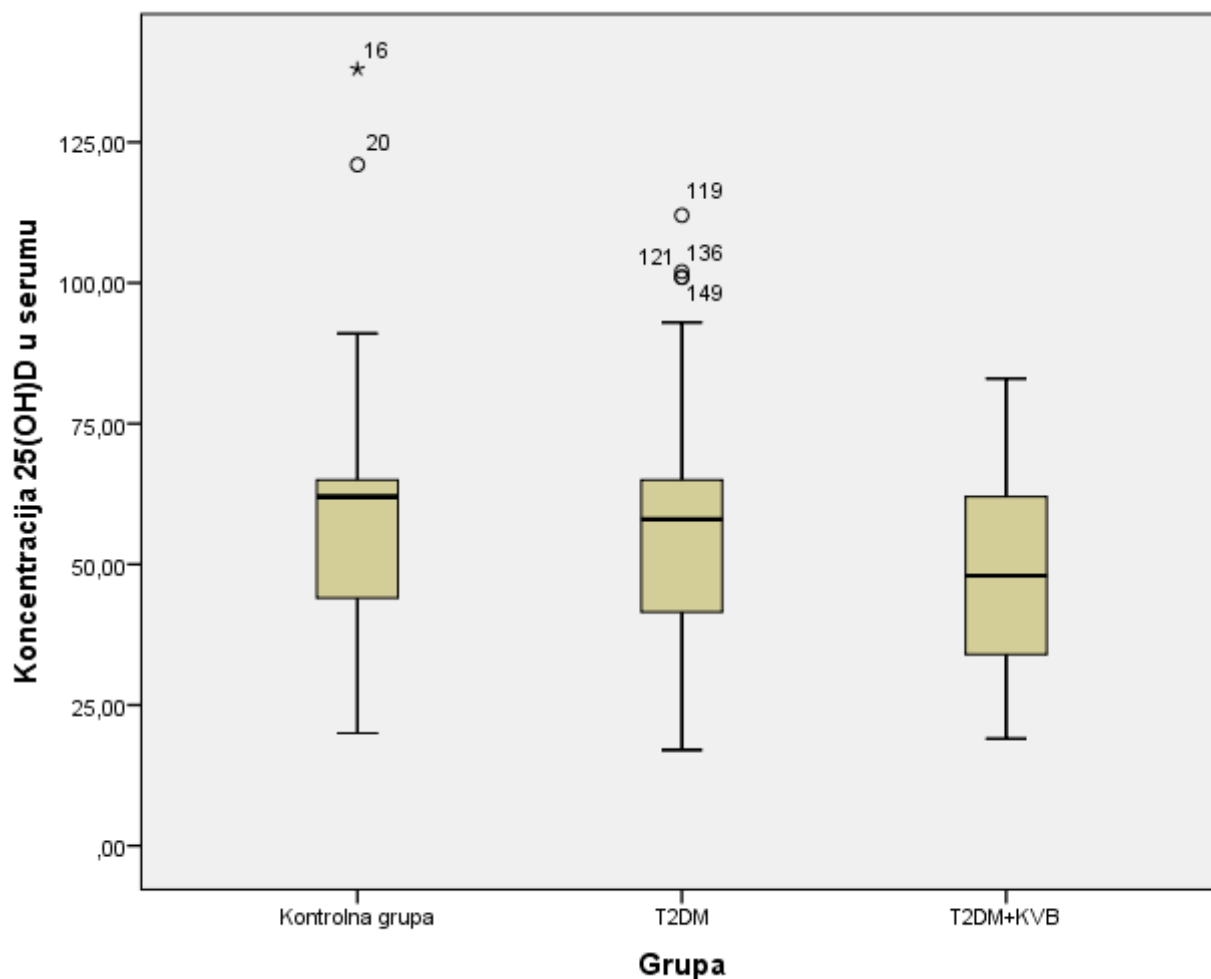
Distribucija ispitanika u odnosu na vrijednost nivoa holesterola u ispitivanim grupama pokazala je da vrijednost ove varijable grupi sa DM $6,1 \pm 1,1$, a u grupi T2DM+KVB $5,5 \pm 0,9$. Ova razlika je bila statistički značajna ($F=12,911$; $p<0,001$).



Grafikon 21: Distribucija ispitanika u odnosu na nivo triglicerida u grupama T2DM i T2DM+KVB

Distribucija ispitanika u odnosu na vrijednost nivoa triglicerida u ispitivanim grupama pokazala je da vrijednost ove varijable grupi sa DM $2,8 \pm 2,7$ (medijana je iznosila 2,09), a u grupi T2DM+KVB $2,3 \pm 1,3$ (medijana je iznosila 1,9). Ova razlika nije bila statistički značajna ($F=1,982$; $p=0,161$).

5.2 Nivo vitamina D u pacijenata i zdravih ispitanika



Grafikon 22: Distribucija ispitanika u odnosu na nivo 25(OH)D u ispitivanim grupama

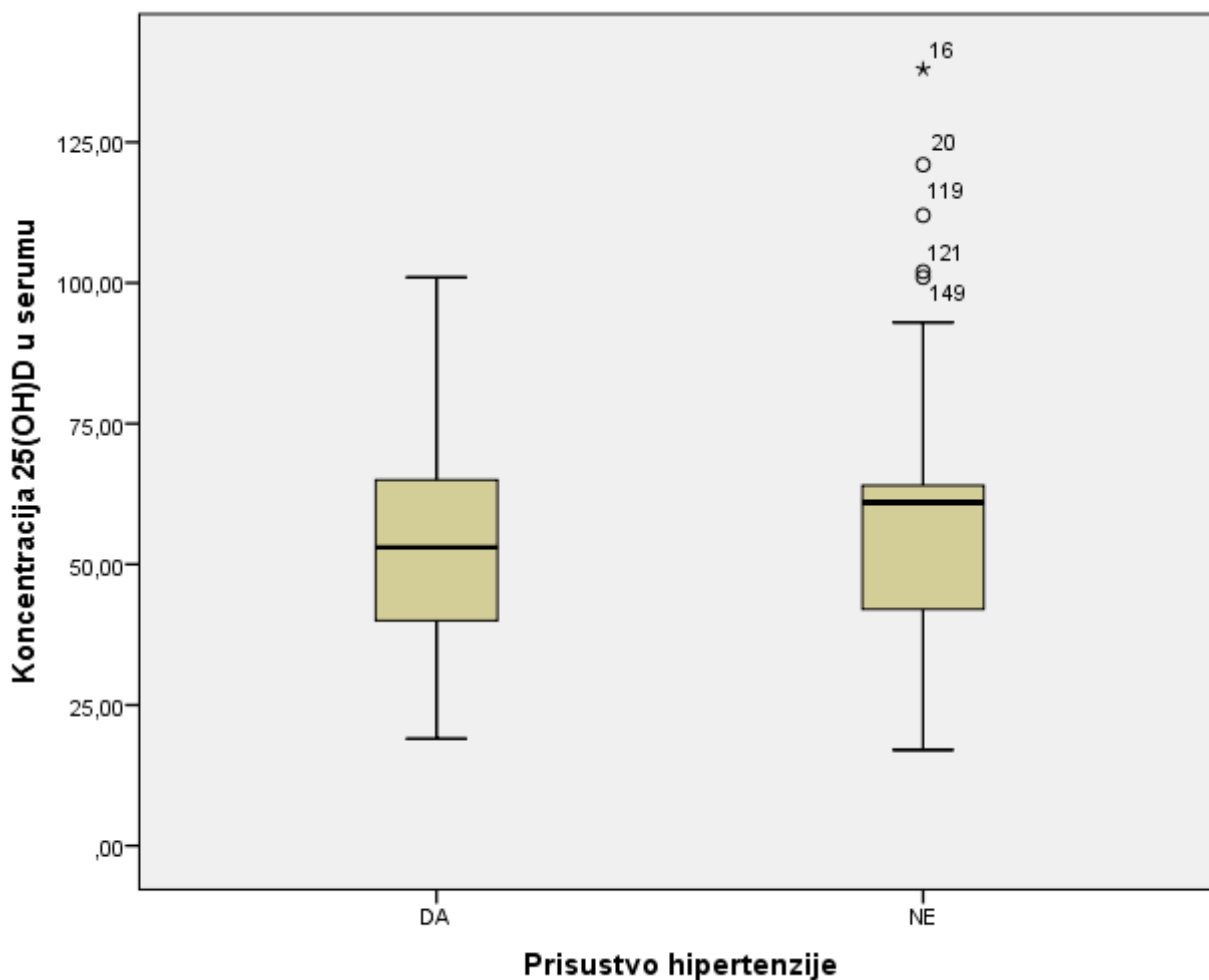
Distribucija ispitanika u odnosu na vrijednost koncentracije vitamina D u ispitivanim grupama pokazala je da vrijednost ove varijable u kontrolnoj grupi bila $56,6 \pm 19,2$, u grupi sa DM $54,2 \pm 19,5$ a u grupi T2DM+KVB $48,4 \pm 16,5$. Ova razlika je bila statistički značajna ($F=3,784$; $p=0,024$). Post-hoc analiza (Bonferonni korekcija) je utvrdila da je razlika bila statistički značajna izmedju slijedećih parova podataka:

- Kontrolna grupa vs. T2DM + KVB ($p=0,022$)

Analiza značajnosti razlike prosječne vrijednosti koncentracije vitamina D u odnosu na pol

ispitanika pokazala je da nije bilo razlike u nivoima 25(OH)D između muških i ženskih ispitanika u svim ispitivanim grupama (ti podaci nisu prikazani).

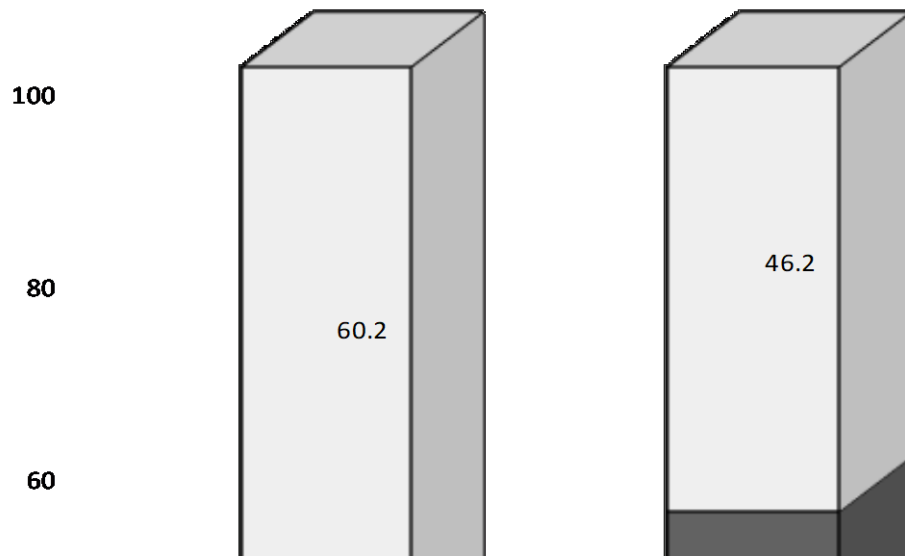
Nije bilo razlike u nivoima vitamina D između pacijenata sa hipertenzijom ($51.0 \pm 1.8\text{ng/ml}$) i ispitanika sa normalnim krvnim pritiskom ($54.1 \pm 1.6\text{ng/ml}$; $p > 0.05$). Ova analiza je prikazana Grafikonu 23.



Grafikon 23: Nivoi 25(OH)D u grupi ispitivanih pacijenata stratifikovanim u odnosu na prisustvo hipertenzije

Korelaciona analiza ispitivanih demografskih, antropometrijskih i kliničkih varijabli ispitanika u odnosu na ishodnu varijablu pokazala je da su u svih ispitanika, 25(OH)D nivoi bili su u inverznoj (obrnutoj) korelaciji sa BMI ($r = -0.127$, $p = 0.048$) i obimom struka ($r = -0.165$, $p = 0.010$), ali nije bilo korelacije sa metaboličkim parametrima (lipidi, HbA_{1c}).

U daljoj analizi prema nivou vitamina 25(OH)D, podijelili smo sve ispitanike u tri kategorije: nedostatak vitamina D (manje od 15ng/ml, vitamin D deficiency), nedovoljnost vitamina D (15 to 20 ng/ml, vitamin D insufficiency) i dovoljno vitamina D (iznad 20 ng/ml). Status vitamina D u svih ispitanika prikazan je na **figuri 11**.

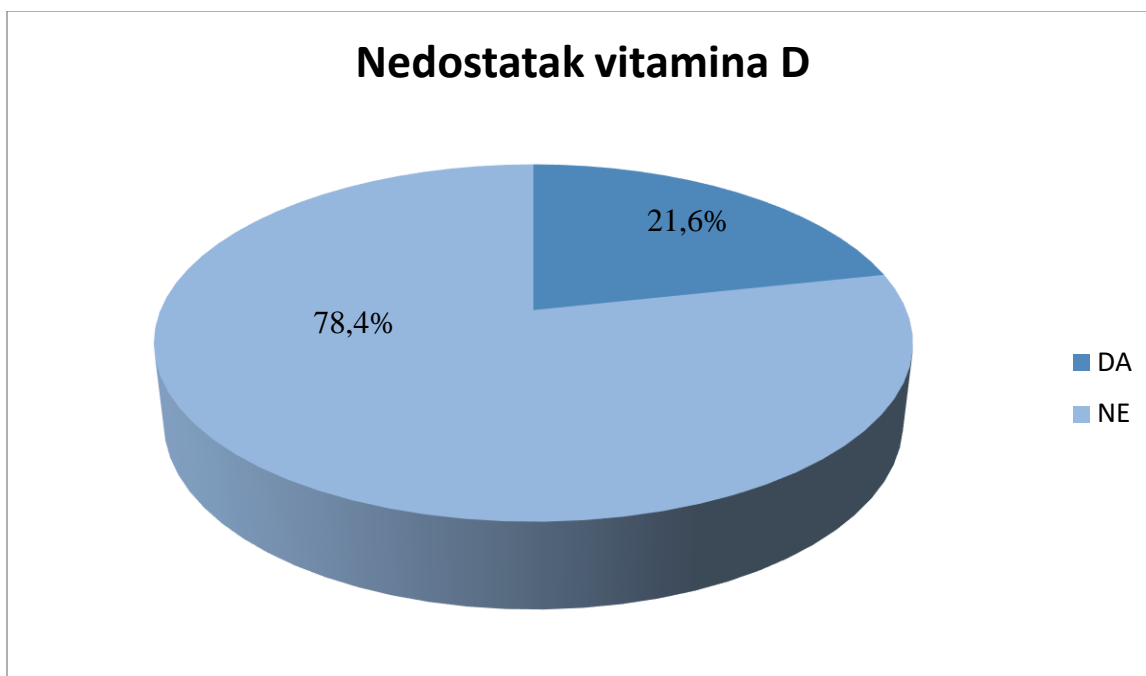


Grafikon 24: Procentualna zastupljenost pacijenata sa nedostatkom vitamina D, nedovoljnošću vitamina D i dovoljnim nivoom vitamina D kod pacijenata sa dijabetesom tipa 2 (T2DM), kod pacijenata sa kardiovaskularnom bolešću (KVB) + T2DM i kod zdravih ispitanika.

Procenat pacijenata sa nedostatkom vitamina D i nedovoljno vitamina D bio je najvisočiji (26.9% obe grupe) u pacijenta sa T2DM plus KVB.

5.3 Grupa ispitanika sa T2DM

Devetnaest pacijenata sa T2DM (21.6%) bilo je sa nedostatkom vitamina D (**Grafikon 25**)



Grafikon 25: Prevalencija pacijenata sa nedostatkom vitamina D u grupi sa izolovanim prisustvom T2DM

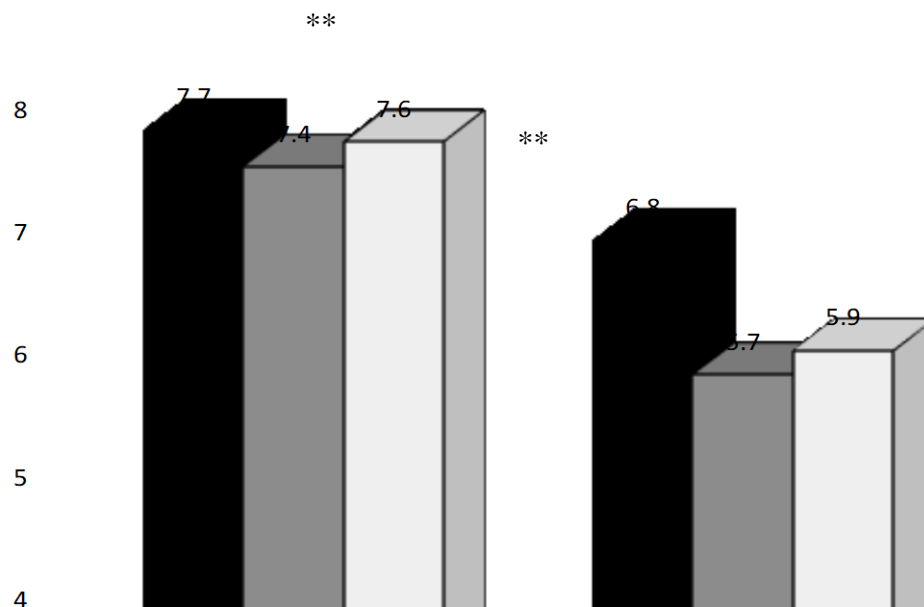
Kliničke karakteristike ove grupe pacijenata a prikazane su u **tabeli 9**.

Oboljeli od T2DM			
25(OH)D	≤ 15 ng/ml	15-20 ng/ml	> 20 ng/ml
N	19 (21.6%)	16 (18.2%)	53 (60.2%)
Dob (godine)	59.7 ± 1.9	62.4 ± 2.1	61.0 ± 1.3
Težina (kg)	88.8 ± 4.0 ^a	85.9 ± 4.0	88.7 ± 1.9
Visina (cm)	169.4 ± 2.5	169.3 ± 2.3	174.8 ± 1.3
ITM (kg/m ²)	31.0 ± 1.0	30.4 ± 1.1	29.4 ± 0.5
Obim struka (cm)	103.8 ± 2.6 ^a	99.4 ± 3.2	97.9 ± 1.3

^a ≤ 15ng/ml vs. > 20ng/ml (p<0.05)

Tabela 9: Kliničke karakteristike 88 oboljelih od T2DM podijeljenih u tri kategorije prema nivou vitamina D (nedostatak vitamina D, nedovoljnost vitamina D i dovoljan nivo vitamina D)

Pacijenti sa T2DM koji su bili sa nedostatkom vitamina D, imali su povećanu tjelesnu težinu i povećan obim struka ($p < 0.05$) u poređenju sa pacijentima oboljelim od T2DM i nivoima vitamina D > 20 ng/ml. Nivo holesterola i triglicerida bio je višiji u pacijenata sa nedostatkom vitamina D u poređenju sa onima čija je vrijednost vitamina D bila 15-20 ng/ml i > 20 ng/ml ($p < 0,01$) (Grafikon 26).

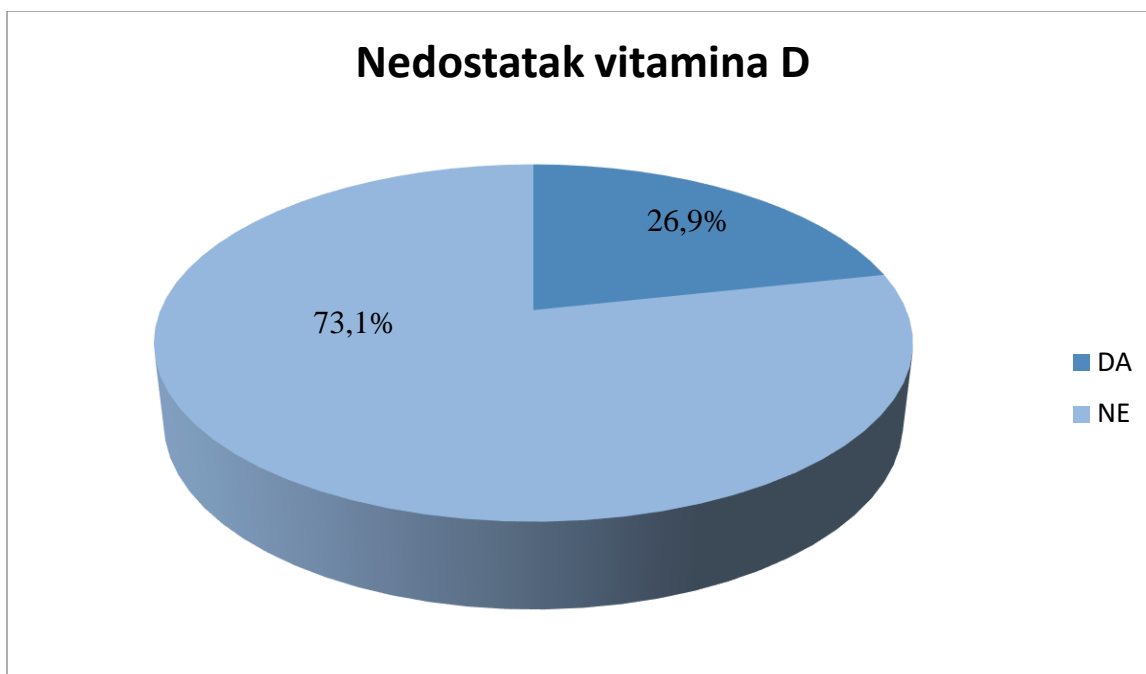


Grafikon 26: Nivo HbA_{1c}, holesterola i triglicerida kod pacijenata sa dijabetesom tipa 2 (T2DM) podijeljenih u tri kategorije prema nivou vitamina D (nedostatak vitamina D, nedovoljnost vitamina D i dovoljan nivo vitamina D)

** Nedostatak vit D vs Vit D nedovoljnost i dovoljno Vit D ($p < 0.01$)

5.4 Pacijenti sa T2DM plus kardiovaskularna bolest (KVB)

Osamnaest pacijenata sa T2DM plus KVB bilo je 26.9% sa nedostatkom vitamina D i isti je broj pacijenata koji je imao nedovoljno vitamina D.



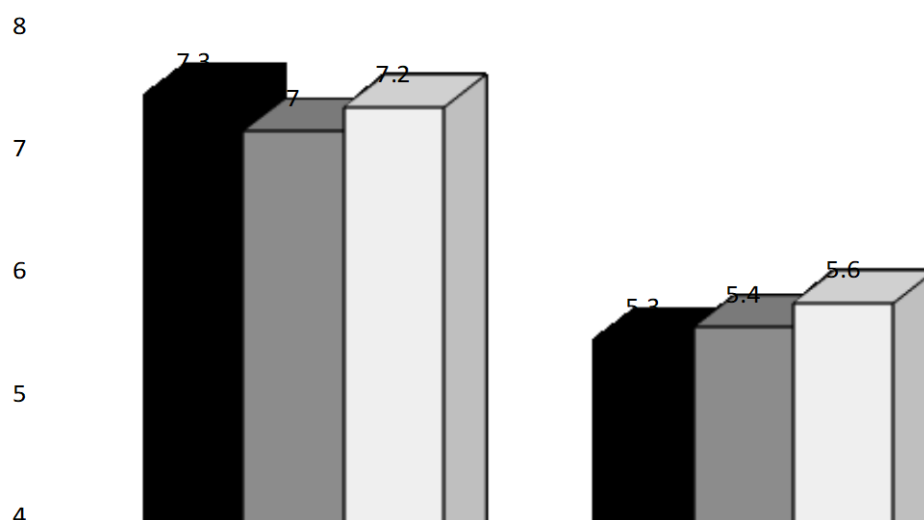
Grafikon 27: Prevalencija pacijenata sa nedostatkom vitamina D u grupi sa T2DM + KVB

Kliničke karakteristike ovih pacijenata prikazane su u **tabeli 10**.

Oboljeli od T2DM + KVB			
25(OH)D	≤ 15 ng/ml	15 - 20 ng/ml	> 20 ng/ml
N	18 (26.9%)	18 (26.9%)	31 (46.2%)
Dob (godine)	63.7 ± 1.7	64.1 ± 2.4	63.2 ± 1.5
Težina (kg)	87.1 ± 5.1	85.0 ± 4.6	84.9 ± 1.9
Visina (cm)	169.5 ± 2.1	173.7 ± 3.0	172.1 ± 1.6
ITM (kg/m ²)	30.2 ± 1.2	28.3 ± 0.9	29.3 ± 0.6
Obim struka (cm)	102.7 ± 3.2	98.6 ± 2.6	98.5 ± 1.7

Tabela 10: Kliničke karakteristike 67 oboljelih od dijabetes melitusa tipa 2 (T2DM) plus kardiovaskularna bolest (KVB) podijeljenih u tri kategorije prema nivou vitamina D (nedostatak vitamina D, nedovoljnost vitamina D i normalan nivo vitamina D)

Nije bilo razlika u različitim parametrima (antropometrijski, lipidi ili HbA_{1c}) između tri podgrupe pacijenata podijeljenih u odnosu na status vitamina D status (nedostatak vitamina D, nedovoljnost vitamina D i normalan nivo vitamina D) (**Grafikon 27**).



Grafikon 27: Nivo HbA_{1c}, holesterola i triglicerida kod pacijenata sa dijabetesom tipa 2 (T2DM) i kardiovaskularnom bolešću (KVB) podijeljenih u tri kategorije prema nivou vitamina D (nedostatak vitamina D, nedovoljnost vitamina D i dovoljan nivo vitamina D)

5.5 Prediktori nivoa vitamina D

Analiza nezavisnih prediktora nivoa 25(OH)D u svih ispitanika pokazala je da su nezavisnu prognostičku vrijednost pokazale slijedeće varijable: tjelesna težina ($p < 0,001$), obim struka ($p = 0,006$) i ITM ($p = 0,001$). Ova vrsta analize je u podgrupi pacijenata sa T2DM pokazala da su nezavisnu prediktivnu vrijednost pokazale varijable tjelesna težina ($p < 0,001$) i obim struka ($p = 0,004$). Kada je u pitanju podgrupa pacijenata sa istovremenim prisustvom i T2DM i KVB prediktor nivoa 25(OH)D bila je vrijednost je ITM ($p = 0,006$).

6 DISKUSIJA

Pokazali smo da je značajan procenat naših pacijenata sa T2DM, pacijenata sa T2DM plus kardiovaskularna bolest (KVB), kao i kod zdravih ispitanika imao nedostatak ili nedovoljnost vitamina D. Najslabija situacija bila je kod pacijenata sa T2DM plus KVB gde je kod čak 27% pacijenata postojao nedostatak ili nedovoljnost vitamina D. Mi smo pronašli da postoji negativna korelacija između serumskih nivoa vitamina D, BMI i obima struka u naših pacijenata, što je u skladu sa drugim studijama (6,11). Nijesmo pronašli bilo koju polnu razliku u serumskim nivoima vitamina D, nasuprot drugim studijama u kojima su autori izvjestili da postoje višoj nivoi u muškaraca u odnosu na žene (9,10). Nijesmo pronašli bilo koju korelaciju između serumskih nivoa vitamina D, dobi ili metaboličkih parametara (HbA_{1c}, lipidi).

Najznačajnija inverzna relacija bila je između nivoa 25(OH)D, BMI i obima struka. Negativan odnos između 25(OH)D i masnog tkiva bio je pripisan zbog porasta u mastima rastvorljivog vitamina D (u adipocitima). Postavljena je hipoteza da je vitamin D koji nastaje u koži ili da se unosi oralnim putem smješten u adipocite prije nego što se transportuje u jetru i konvertuje u 25(OH)D (25). Nije poznato na koji način nastaju rezerve vitamina D u adipocitima ili kakav je njegov aktivni katabolizant. Druge studije pokazuju da promjene u nivoima 25(OH)D u odnosu na dob, pol ili masno tkivo nijesu posljedica genetske varijabilnosti vitamin D vezujućeg proteina (31). Dosljedno poštovanje negativne veze između 25(OH)D sa tjelesnim sastavom (građa) ima biološko porijeklo, prije nego adaptacija na plazmatski transport. Dakle, gojazne osobe su u riziku od nedostatka ili nedovoljnosti vitamina D i mogu imati potrebu da imaju 2-3 puta više vitamina D u odnosu na njihovu dobnu grupu, da bi njihove potrebe za vitaminom D bile zadovoljene (3).

Nedostatak i nedovoljnost vitamina D visoko prevaliraju u čitavom svijetu i u suštini svi smo u riziku (3). Niski nivoi 25(OH)D prisutni su u približno od trećine do polovine inače zdravih osoba srednje i starije životne dobi (1,20,32). Ograničena sinteza u koži uz neadekvatno izlaganje suncu ili pigmentovana koža i neadekvatan unos hranom predstavljaju osnovne-glavne uzroke niskih nivoa 25(OH)D (9,15). Iako su najbolje opisane posljedice nedostatka / nedovoljnosti vitamina D vezane za muskuloskeletni sistem, u porastu je broj referenci koje pokazuju da niski nivoi vitamina D mogu negativno uticati na glukoznu i insulinsku homeostazu, kardiovaskularni sistem, što dovodi do hiperglikemije, insulinske

rezistencije, hipertenzije, srčanog oboljenja i pada kognitivnih funkcija u starijoj populaciji (37,38).

Brojne observacione studije pokazuju udruženost nedostatka / nedovoljnosti vitamina D i poremećene glukoze tolerancije ili T2DM (15,16,39,40,41). Glikemijska kontrola u T2DM zavisi od godišnjeg doba, sa najnižim vrijednostima HbA_{1c} u vrijeme ljeta (9,14,42). Podaci iz Nurses' Health Study pokazuju da žene koje koriste dnevno kombinaciju od 1.200 mg kalcijuma i više od 800 IU vitamina D imaju 33% nižu vjerovatnoću da obole od T2DM od žena koje su koristile manje količine ovih nutrijenata (15,31). Izgleda da su osobe sa nedostatkom / nedovoljno vitamina D u visočijem riziku od nastanka insulinske rezistencije i metaboličkog sindroma. Mehanizmi koji bi mogli objasniti uticaj vitamina D su: uticaj na insulinsku senzitivnost, na funkciju β -ćelija ili na oboje (32). Pankreasne β -ćelije imaju receptore za vitamin D (43). Nedostatak / nedovoljnost vitamina D inhibira insulinsku sekreciju i modulira lipolizu (44). Nadoknada vitamina D poboljšava sekreciju insulina, insulinsku senzitivnost i glukoznu toleranciju u životinja i u osoba sa nedovoljno vitamina D (45,49,50). Nadoknada vitamina D₃ u pacijenata sa tipom 2 dijabetes melitusa povećava nivo 25(OH)D u plazmi i poboljšava prvu fazu insulinske sekrecije procjenom u toku intravenskog testa glukozne tolerancije (50).

Velika cross-sectional studija National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) pokazuje da serumska koncentracija vitamina D (nakon multivarijantnog podešavanja) ima obrnutu povezanost sa prevalencom dijabetesa u ne Hispanic bjelaca i Meksiko-Amerikanaca (39,41). U istoj studiji koncentracija vitamina D bila je u korelaciji sa dokazanom insulinskom rezistencijom [određivana prema homeostatskom modelu procjene (HOMA-R), baziranom na glikemiji natašte i insulinskim nivoima] ali nije nađena korelacija sa funkcijom β -ćelija (procjena prema HOMA- β). Nema korelacije ni između vitamina D i prevalence T2DM ili izmjerene insulinske rezistencije ili β -ćelijske funkcije u ne Hispanic crnaca (41). Izostanak povezanosti može se objasniti činjenicom da stanovništvo druge boje kože ima drugačiju homeostazu vitamina D, kalcijuma i PTH u odnosu na bijelu rasu (97).

Epidemiološke eksperimentalne studije potvrđuju uzročno-posledičnu vezu između nedostatka vitamina D i kardiovaskularnih bolesti (ateroskleroze)

Brojne studije su proučavale odnos koncentracije vitamina D u serumu i procesa ateroskleroze. Studija Strawbridge i kolega pokazalaje da serumska koncentracija 25(OH) vitamina D zavisi i od enzima koji su uključeni u proces sinteze i metabolizma vitamina D, kao što je enzim DHCR7 (7-dehidroholesterol reduktaza) (105). Ovaj enzim reguliše konverziju 7-dehidroholestera u holesterol. U velikom multicentričnoj studiji sa preko 3000 ispitanika (od kojih je preko 900 imalo DM tip 2) pokazano je da genetske varijante lokusa ovog enzima utiču na nivo 25(OH)D u cirkulaciji, kao i da ubrzavaju proces ateroskleroze kod pacijenata sa dijabetes melitusom tipa 2, nezavisno od drugih poznatih kardiovaskularnih faktora rizika (105). Dakle, genetska varijanta u DHCR7 lokusu ubrzava progresiju subkliničke ateroskleroze u oboljelih od T2DM, nezavisno od drugih poznatih kardiovaskularnih faktora rizika.

Serumski nivo 25-hydroxyvitamin, ustanovljen je i kao važan faktor kardiovaskularnog rizika za infarkt miokarda prije 60 godine života (151).

Rezultati kohortne studije urađene u sedam centara (Finska, Švedska, Holandija, Francuska, Italija), u kojoj su ispitivali srednjovječne i starije osobe sa visokim kardiovaskularnim rizikom, u odnosu na ulogu nivoa 25(OH)D u ranoj subkliničkoj aterosklerozi (153). Poznato je da je jedan od surogat markera za aterosklozu i ultrazvučni pregled (visoka rezolucija) tunike intime medije karotidnih krvnih sudova. U studiji su ispitivani i uticaji nadmorske visine i geografske širine na nivo vitamin D. Iako je poznato da je vodeći izvor endogene produkcije vitamina D izlaganje suncu, uočena je pozitivna relacija između nivoa vitamina D i geografske širine u Nordijskim zemljama, na geografskoj širini od 60°, gdje je ultravioletna sunčana radijacija odsutna od oktobrado marta, dok je sunčeva ultravioletna radijacija prisutna tokom čitave godine na jugu Evrope. (153)U stvari, najvisočiji nivoi 25(OH)D izmjereni su u Finskoj u toku zime. Generalno, niži nivoi 25(OH)D izmjereni su u osoba koji žive u klimatskim uslovima sa više sunca. Studija The Euronut SENECA (Zajednička akcija cijele Evrope) sa učesnicima iz 19 gradova u 12 Evropskih zemalja, najniže prosječne koncentracije 25(OH)D tokom zime su pronađene u južnoj Evropi. Ova studija nije pokazala povezanost uloge vitamina D u prevenciji subkliničke ateroskleroze (153).

Oh i saradnici su pokazali da delecija (knock-out) vitamin D receptora (VDR) u makrofagima miševa-KODMAC (Bez vitamin D receptora u makrofagima) je dovoljno da indukuje insulinsku rezistenciju promocijom M2 makrofaga i njihovom akumulacijom u jetri, kao i povećanjem produkcije citokina i hepatičke produkcije glukoze. Što više, brisanje VDR povećava aterosklozu, omogućava punjenje lipidima M2 monocita koji čuvaju, migriraju i prenose holesterol u aterosklerotske plakove, kao i putem povećanog makrofagnog preuzimanja holesterola i esterifikacije (154).(Figura 8)

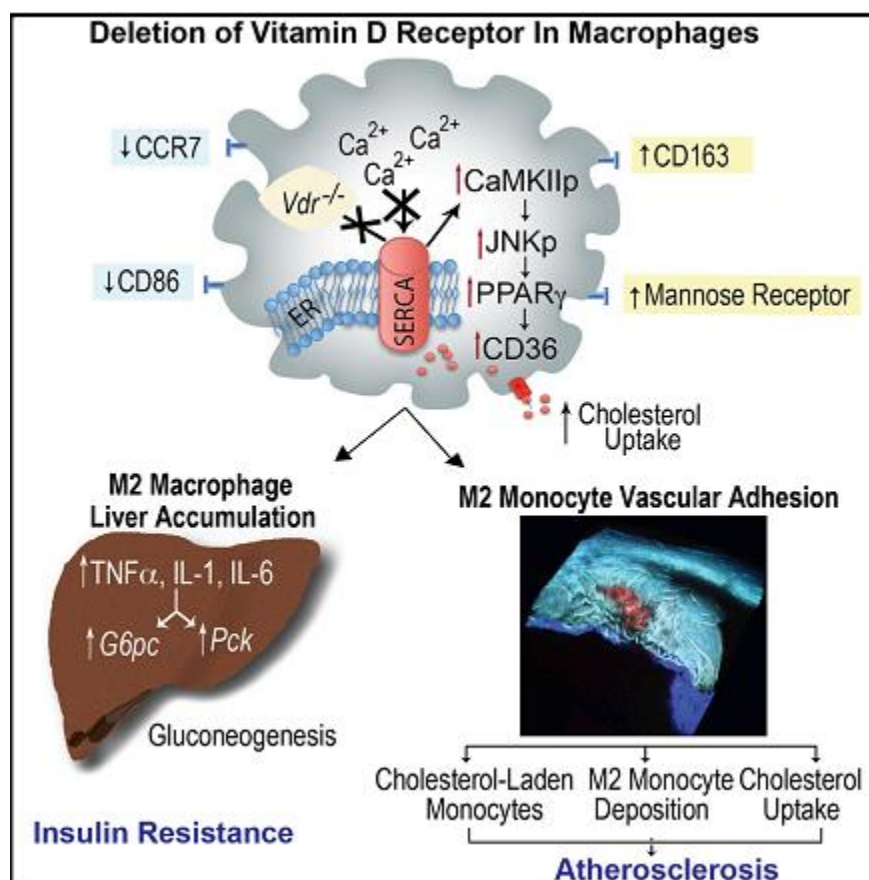


Figura 8: Knock – out (delecija) vitamin D receptora u makrofagima

Porast tkz pjenastih ćelija rezultat je brisanja (nedostatka) VDR-SERCA2b(Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2), interakcija uzrokuje SERCA disfunkciju, aktivaciju ER (endoplasmic reticulum) stresa-CaMKII-JNKp-PPARg signalizacije i indukcija receptora CD36 and SR-A1. Transplantacija ćelija kostne srži koje ekspimiraju VDR u KODMAC miševa poboljšava insulinsku senzitivnost, suprimira

aterosklerozu i smanjuje formiranje pjenastih ćelija. Imunomodulatorni efekti vitamina D u makrofagima su zbog toga kritični u ishrani koja izaziva insulinsku rezistenciju i aterosklerozu u miševa Iz: Oh et al, Deletion of Macrophage Vitamin D Receptor Promotes Insulin Resistance and Monocyte Cholesterol Transport to Accelerate Atherosclerosis in Mice, 2015, Cell Reports 10, 1872-1886 (154).

Kardiovaskularni sistem je pod uticajem nedovoljnog nivoa vitamina D. Nedostatak/nedovoljnost vitamina D uočena je u pacijenata sa akutnim infarktom miokarda, moždanim udarom, srčanom slabosti i kardiovaskularnim oboljenjem (151,155-159). Podaci iz Framingham Heart Study pokazuju da su pacijenti sa najnižim nivoima vitamina D imali 62% više izgleda da im se desi srčani ili moždani udar od onih sa visočijim nivoima vitamina D (149,150). Velika prospektivna studija Wang-a i kolega, u više od 1700 ispitanika pokazuje da je nedostatak/nedovoljnost vitamina D povezana sa porastom kardiovaskularnog rizika (155).

Iannuzzo i kolege su uradili meta analizu šesnaest studija koje su se bavile nedostatkom vitamina D i porastom kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta, pokazali su kontrastne asocijacije između periferne arterijske bolesti i statusa vitamina D (162). Pacijenti sa perifernom arterijskom bolesti imali su niže nivoe vitamina D u odnosu na zdrave ispitanike (kontrolna grupa). Oba poremećaja, nedostatak i nedovoljnost vitamina D bili su značajno udruženi sa perifernom arterijskom bolesti. Nizak nivo vitamina D može predstavljati nezavisni faktor rizika za perifernu arterijsku bolest i kardiovaskularne bolesti (162).

Uprkos brojnim prekliničkim studijama (*in vivo in vitro*), i snažnim epidemiološkim studijama nije dokazana uzročno-posledična veza između hipovitaminoze D, gojaznosti, dijabetesa i metaboličkog sindroma.

U najvećem broju case-control studija (39,40,71,98,100,101), ali ne i svim (102,105), pacijenti oboljeli od T2DM ili sa glukoznom intolerancijom, imaju niži serumski nivo 25-OHD u poređenju sa kontrolnom grupom u kojoj nema oboljelih od dijabetesa.

Hipovitaminoza D, bez obzira da li je posljedica nedostatka, nedovoljnosti ili relativne rezistencije, predstavlja faktor rizika za intoleranciju glukoze. Na primjer, produženi tretman osteomalacije vitaminom D povećava insulinsku sekreciju i poboljšava

glukoenu toleranciju (59,89). U nastavku, poznato je da je hiperinsulinemija povezana sa porastom mineralne gustine kosti u pacijenata sa T2DM i bez T2DM (106). Nasuprot navedenom, jedna visoka doza vitamina D povećava nivo glukoze u pacijenata sa dijabetesom (87). Nema benefita u glukoznoj toleranciji, kada se vitamin D dodaje osobama koje nemaju nedostatak vitamina D (59).

Pittas i njegova ekipa ispitala je povezanost između unosa vitamina D i kalcijuma i incidence T2DM u 83 806 žena, u Nurses Health Study, u velikoj prospektivnoj, opservacionoj i kohort studiji (53,71). Nakon određivanja starosti ispitanika, BMI i nedijetalnih faktora, nađena je obrnuta povezanost između kompletnog (hrana+dodaci) unosa vitamina D i rizika od T2DM. Naglašena je povezanost u odnosu na faktore u ishrani, naročito za magnezijum i kalcijum.

Epidemiološki podaci studije urađene u Londonu, populacija osoba čije je porijeklo iz Bangladeša, pokazuju da redukcija koncentracije vitamina D povećava rizik od nastanka T2DM u odnosu na osobe koje nijesu u riziku (94). Kod ovih pacijenata postoji veća prevalenca T2DM u odnosu na stanovništvo čije je porijeklo Britansko, što se objašnjava razlikom u statusu vitamina D (87). I studija urađena na Novom Zelandu kod pacijenata sa T2DM ili sa oštećenom glukoznom tolerancijom postoji niži nivo vitamina D u odnosu na ispitivanu kontrolnu grupu (39). Njemačka studija je urađena u populaciji starijih Njemaca, pokazala je da postoji inverzna povezanost između vitamina D, glukozne tolerancije i insulinske sekrecije (95).

Studija urađena u Indiji pokušala je da utvrdi vitamin D deficit/nedovoljnost u osoba sa predijabetesom i da se evaluiira odnos između vitamin D statusa i insulinske rezistencije. (98) Osobe sa najnižim vitamin D nivoima (<10 ng/ml) imale su najveću insulinsku rezistenciju (HOMA2-IR: 2.04 ± 0.67) Vitamin D deficit/nedovoljnost može određenu ulogu u razvoju/pogoršanju insulinske rezistencije u osoba sa predijabetesom u Indiji, koji su u visokom kardiovaskularnom riziku. (98)

Stepen apsorpcije ugljenih hidrata nakon obroka, označen je kao glikemijski indeks, ima značajane efekte na post prandijalne hormone i metaboličke odgovore. Visok glikemijski indeks obroka uzrokuje inicijalni period visokog nivoa šećera u krvi i nivoa insulina, potom slijedi u mnogih osoba reaktivna hipoglikemija, sekrecija kontraregulatornih hormona i porast koncentracije serumskih slobodnih masnih kiselina. (87) Ove događaje može promovisati

prevelik unos hrane, nastaje β -ćelijska disfunkcija, dislipidemija i endotelijalna disfunkcija. U isto vrijeme nedostatak vitamina D dovodi do negativnog začaranog krugapogoršanja insulinske rezistencije, β -ćelijske disfunkcije i razvoja gojaznosti, T2DM, kardiovaskularnih bolesti (87). (Figura 6) Ova hipoteza podržana je od laboratorijskih, kliničkih i epidemioloških studija.

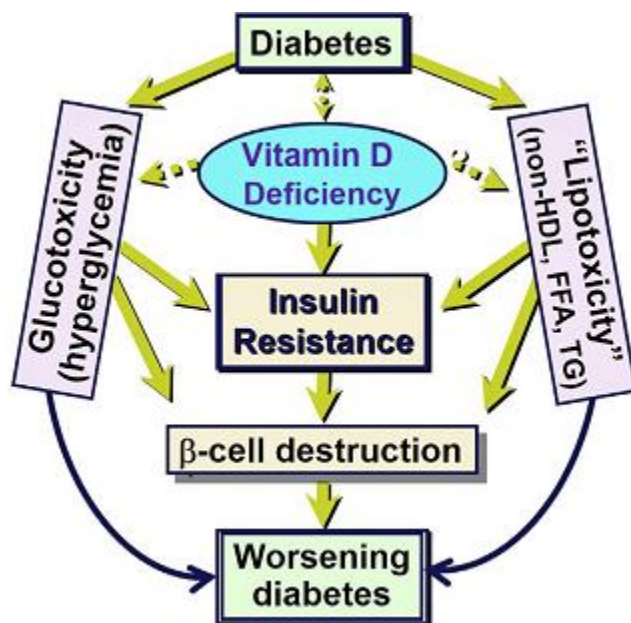


Figura 6: Vitamin D nedostatak (deficiency) povećava rizik od razvoja dijabetesa.

Uloga vitamina D u razvoju insulinske rezistencije i posredno preko glukotoksičnosti i lipotoksičnosti. Vitamin D nedostatak dovodi do negativnog začaranog krugapogoršanja insulinske rezistencije, β -ćelijskog ometanja i razvoja dijabetesa. (FFA=freefatty acids; TG = triglycerides) Modifikovano iz: D.S. Ludwig, *The glycemic index: physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease*, JAMA 287 (18) (2002) 2414–2423. (87).

Unos vitamina D i koncentracija vitamina D pokazuju inverznu povezanost sa prevalencom metaboličkog sindroma (80,101). U najvećoj studiji, u kojoj su korišćeni podaci iz NHANES, korelacija vitamina D (nakon multivarijantnog određivanja, isključen unos kalcijuma) pokazala je inverznu povezanost sa postojanjem metaboličkog sindroma, između oba pola i u sve tri velike rasne ili etničke grupe (100).

Komponentne metaboličkog sindroma, koje su bile nezavisno povezane sa niskim vitaminom D su abdominalna gojaznost i hiperglikemija. Takođe, rezultati ove studije mogu se jednostavno reflektovati kroz inverznu povezanost između serumskog 25-OHD i tjelesne mase ili procenta masti u organizmu (101,102). Nedostatak/nedovoljnost vitamina D povezan je sa insulinskom rezistencijom i metaboličkim sindromom (13,150,152). Studija urađena u Brazilu, u post menopauzalnih žena da je nedostatak/nedovoljnost vitamina D udružen sa višom prevalencom metaboličkog sindroma (150). Vit D nedostatak/nedovoljnost bila je povezana sa višim rizikom i od metaboličkog sindroma, hipertrigliceridemije i nižim HDL holesterolom nego u žena koje su bile sa optimalnim nivoom vitamina D u serumu (150).

Podaci iz nekoliko eksperimentalnih studija pokazuju da bi nedostatak/ nedovoljnost vitamina D mogla promovirati gojaznost. Nedostatak/nedovoljnost vitamina D dovodi do povišenja paratireoidnog hormona, koji može povećati ulazak kalcijuma u adipocite i na taj način povećati lipogenezu (153). Glavni izvor vitamina D je endogena produkcija u koži kod sunčanja (15,142). Jedno od kliničkih stanja najčešće povezivano sa nedostatkom/nedovoljnošću vitamina D jeste gojaznost (87,103,104,146,147,161). Moguće je da je povezanost između gojaznosti i nedostatka /nedovoljnosti vitamina D indirektna, zbog toga što gojazne osobe provode manje vremena na otvorenom prostoru nego mršavije osobe, i na taj način manje se sunčaju. Ipak, hipotetički direktni negativni uticaji gojaznosti na nivo vitamina D ispitivani su u nekoliko studija (148,149). Zato što je vitamin D rastvorljiv u mastima, može biti odložen i smješten u masnom tkivu (148). Prema navedenom, eksperimenti i studije u humanoj populaciji pretpostavljaju da veće odlaganje vitamina D u tjelesnim mastima smanjuje bioraspoloživost endogeno proizvedenog vitamina D u cirkulaciji (149,150,161).

Hipovitaminoza D utiče na razvoj i pogoršanje dijabetesa; hiperglikemiju, hiperlipidemiju, insulinsku rezistenciju, hipertenziju, metabolički sindrom, gojaznost, također rahitis, osteomalaciju i osteoporozu (167).

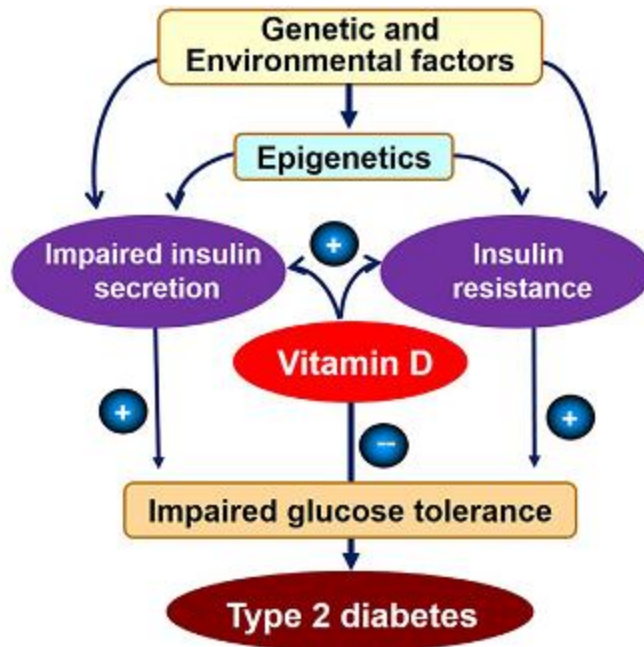


Figura 9: Dijabetes je bolest dualnih efekata; hipovitaminoza D je pogoršava. Integrisanost i uzajamonst odnosa između vitamina D i uobičajenih metaboličkih poremećaja. Iz Wimalawansa SJ et al. Associations of vitamin D with insulin resistance, obesity, type 2 diabetes and metabolic syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018 Jan;175:177-189. (167).

Još uvek nema čvrstih dokaza za uzročno-posledičnu povezanost hipovitaminoze D i povišenog krvnog pritiska

Vitamin D regulše ekspresiju renina nezavisno od metabolizma kalcijuma i 1,25(OH)2D značajno suprimira renin transkripcioni faktor VDR-zavisnim mehanizmom u kulturi ćelija (160). Vitamin D je negativni endokrini regulator renin-angiotenzin sistema (159). Ima važnu ulogu u homeostazi elektrolita, volumena i krvnog pritiska, ovim se sugerše da vitamin D analozi mogu pomoći u prevenciji ili liječenju hipertenzije (160).

U UK porast kardiovaskularnog oboljevanja bio je povezan sa niskom koncentracijom plazmatskog 25(OH)D u zimskom periodu. Slično, krvni pritisak bio je višočiji zimi nego ljeti, varirao je u skladu sa pigmentacijom kože i bio je višočiji u osoba sa nedostatkom/nedovoljnošću vitamina D (158,159).

Interventne studije sa nadoknadom vitamina D (>3000) su u toku. Do sada su uglavnom sprovedene na velikom broju zdravih ljudi, sa različitim baznim nivoima vitamina D i nisu potvrdile uzročnu vezu hipovitaminoze D i hroničnih oboljenja.

Liječenje nedostatka/nedovoljnosti vitamina D može biti jednostavno i nije skup način da se poboljša kontrola šećera u krvi, arterijska hipertenzija, dislipidemija, ateroskleroza i prevenira pogoršanje ozbiljnih komplikacija povezanih sa ovim patološkim stanjima. Samo ishrana ne može biti dovoljna da značajno promijeni nivo vitamina D. Na osnovu naše i drugih studija osobe koje su u riziku za dijabetes melitus, dislipidemiju i kardiovaskularne bolesti vjerovatno će biti obuhvaćeni skriningom za nizak nivo vitamina D, što omogućava zdravstvenim radnicima da što ranije identifikuju ovaj nedostatak u ishrani. Održavanje nivoa 25(OH)D za duži vremenski period iznad 30 ng/ml može zahtijevati 1000-2000 IU/dan vitamina D kao preporuka Americkog društva endokrinologa (Endocrine Society Guideline) dok Institute Of Medicine (IOM) u Americi preporučuje dozu od 400-800IU dnevno (2, 166).

Women's Health Study (cross sectional analiza), velika randomizovana studija dizajnirana da ispita efekte male doze aspirina i vitamina E u kardiovaskularnim oboljenjima, pokazala je obrnutu povezanost između unosa vitamina D i prevalence metaboličkog sindroma, i koja je izostala nakon dodatka kalcijuma u ishrani (104).

Studija koja povezuje genetiku i kliniku proučavala je metabolički efekti 12-to mjesecne nadoknade vitamina D u osoba sa T2DM u odnosu na genetske polimorfizme VDR (108). Ukupan broj od 204 ispitanika dobijao je u dnevnoj dozi vitamina D3 od 2000IU. Određivan je nivo 25(OH)D i metabolički profil bazalno i nakon 12 mjeseci. VDR polimorfizmi (*Taq-I*, *Bsm-I*, *Apa-I* and *Fok-I*) identifikovani su korišćenjem TaqMan genotipskih testova. Dodatak vitamina D značajno je povećao HOMA β -ćelijsku funkciju ($p=0.003$), takođe je značajno snizio trigliceride, totalni i LDL holesterol ($p<0.001$). Poboljšanje u metaboličkom profilu nakon dodatka vitamina D je uticalo na genetske polimorfizme, posebno na nosioce *Taq-I* GG i *Bsm-I* TT genotipova (108).

Studija Deleskog i saradnika pokazala je da visok nivo serumskog 25(OH)D predviđa smanjenje rizika od T2DM u osoba sa predijabetesom ali ne i u osoba sa očuvanom tolerancijom glukoze. (164) Rezultati ove studije pokazuju da bi dodatak vitamina D bio

značajan preventabilni faktor u osoba sa predijabetesom u progresiji prema T2DM (164). U dvije prospektivne studije ispitivana je povezanost unosa vitamina D i učestalosti T2DM (Tabela 4). U Women's Health Study unos 511 IU/dan vitamina D ili više povezan je sa nižim rizikom od nastanka T2DM u poređenju sa unosom 159 IU/dan ili manje (2.7 vs 5.6%) u kohort nastalom T2DM (104). Analizom nijesu bili obuhvaćeni i drugi faktori rizika za T2DM ili unos kalcijuma.

Meta analiza više od 15 interventnih studija na 3000 ispitanika je pokazala da postoji blago poboljšanje ispitivanih parametara samo kod ispitanika sa teškim nedostatkom vitamina D. Međutim, druga meta analiza Mirhosseini-ja i saradnika, pokazala je da je vitamin D suplementacija, u minimalnoj dozi od 100 mg/d (4000 IU/d), značajno redukovala glikemiju našte (FPG), glikozilirani hemoglobin A1c (HbA1c) homeostatski (HOMA-IR) indeks (165). Takođe, značajno utiče na poboljšanje kontrole glikemija u dnevnom profilu i poboljšava insulinsku senzitivnost u oboljelih od T2DM (165). Iz ovih analiza je očigledno da je značaj nadoknade vit D u terapijskom smislu, još uvijek diskutabilan.

12 velikih randomizovanih projekata o efektima suplementacije vitamina D na kardiovaskularne bolesti, respiratorne infekcije, padove, frakture, kancer, šlog i na mortalitet su trenutno u toku, kao što je studija VITAL (VITamin D and OmegA-3 TriaL), studija TIPS (The International Polycap Study 3), studija FIND (Finnish Vitamin D Trial), i D-Health (166). Rezultati ovih impresivnih studija sa velikim brojem ispitanika, variraju od 5000 do >25 000 se očekuju. Novija saznanja iz studije ViDA, na preko 5000 ispitanika, starosti između 50–84god, nijesu pokazala značajnije efekte vitamina D na akutne kardiovaskularne bolesti ili među osobama sa osnovnim $25(OH)D < 50 \text{ nmol/L}$. Ipak, studija je urađena na prethodno zdravim volonterima (166).

Cross-sectional studija (studija poprečnog presjeka), Wimalawansa i kolega pokazala je da su u observacionim i ekološkim studijama uočene inverzne korelacije između vitamin D statusa, hiperglikemija i glikemijske kontrole u pacijenata sa T2DM, i da u smanjenju konverzije predijabetesa u dijabetes, prevencije gojaznosti, postoje određene nejasnoće (167). (Figura 9)

Vitamin D endokrini sistem je operativan ne samo u tkivima odgovornim za kalcijumski transport (crijeva, bubrezi, kosti, mliječne žlijezde, placenta), održavanje nivoa kalcijuma (PTH) ili homeostazu kostiju, već i u mnogim ćelijama u tijelu (163). U opštoj

humanoj populaciji, podaci iz observacionih studija ukazuju na povezanost između niskog vitamina D i brojnih stanja i bolesti: kancer, mišićne slabosti i padova, infekcija, autoimunih bolesti, hipertenzije, kardiovaskularnog rizika i događaja, gojaznosti, dijabetesa, svih aspekata metaboličkog sindroma i drugih zdravstvenih problema (163). Trenutno se u svijetu radi preko 3000 studija o povezanosti vitamina D i navedenih stanja (**Tabela 6**).

RCTs and vitamin D	<i>n</i>
Global number	2,725
Completed trials	216
Recruiting trials	715
Children	676
Pregnancy	141
Topic specific	
Bone trials	1,702
Rickets trials	128
Cancer trials	667
Brain and CNS trials	370
MS trials	36
CV trials	370
Diabetes trials	316
Obesity trials	179
Muscle trials	206
IBD trials	44
Infections and immune disease trials	317

Tabela 6: Broj povezanosti Vitamina D i navedenih stanja
 Iz: Giustina A, Bilezikian JP (eds): *Vitamin D in Clinical Medicine*.
Front Horm Res. Basel, Karger, 2018, vol 50, pp 72–88. (163)

Nedostaci interventnih studija (suplementacija sa vitaminom D) su brojni i uključuju: (A) studije su sa malim brojem ispitanika, (B) samo nekoliko studija su dizajnirane sa glikemijskim ishodom, (C) ciljano nisu ispitivane osobe sa najnižim nivoom vit 25(OH)D, (D) većina nije prijavila upotrebu lijekova za dijabetes; (E) neadekvatno doziranje vit D i (F) kratkoročna suplementacija sa vit D za period praćenja efekta.

Nedostatak naše studije je da se radi o studiji presjeka, bez longitudinalnog praćenja pacijenata i intervencije sa nadoknadom vitamina D. Takođe, nije rađena genetska studija polimorfizma receptora za vitamin D, što i nije bila tema ove disertacije. Radi se o studiji udruženosti, odnosno asocijacije izmjenog nivoa vitamina D sa antropometrijskim, metaboličkim i kardiovaskularnim parametrima, a ne o studiji određivanja uzročno-posljedične veze nedostatka vitamina D, dijabetesa i kardiovaskularnog oboljenja.

Snaga ove studije je da je izabrana grupa pacijenata sa dijabetes melitusom tip 2 i sa kardiovaskularnom bolešću dovoljno velika i homogena. Kod svih pacijenata je određen nivo vitamina D u cirkulaciji i moguće se odrediti dozu vitamina D koja je potrebno da se primjeni u budućnosti radi nadoknade vitamina D. Potrebno je u budućnosti planirani prospektivne intervencijske studije supstitucije vitaminom D kod pacijenata sa dijabetes melitusom tip 2 sa ili bez kardiovaskularnog oboljenja u cilju procjene efekta normalizacije nivoa vitamina D na parametre glikoregulacije, lipidni metabolizam, antropometrijske parametre i kardiovaskularnu funkciju.

U zaključku uzročna veza između nedostatka vitamina D i hroničnih oboljenja još uvijek nije dokazana, zbog nekonzistentnih rezultata interventnih studija do danas. Međutim, danas postoje vrlo solidni podaci (eksperimentalni i snažne epidemiološke studije) koji potvrđuju vezu između endokrine uloge vitamina D u svim tkivima u organizmu a ne samo u onim vezanim za metabolizam kalcijuma (homeostaza kosti). Veliki broj studija (>3000) koje su u toku (Tabela 6) će pojasniti ulogu vitamina D u opštem zdravlju ljudi u budućnosti.

7 ZAKLJUČCI

1. Prema nivou vitamina 25(OH)D, sve ispitanike smo podijelili u tri kategorije: nedostatak vitamina D (manje od 15ng/ml), nedovoljnost vitamina D (15-20 ng/ml) i dovoljno vitamina D (preko 20 ng/ml)
2. Procentualna zastupljenost pacijenata sa nedostatkom vitamina D i nedovoljnošću vitamina D je bila najveća (26.9%) u grupi pacijenata sa dijabetes melitusom tipa 2 (T2DM) i kardiovaskularnom bolešću (KVB)
3. Kod svih ispitanika, nivo vitamina 25(OH)D negativno korelira sa indeksom tjelesne mase i sa obimom struka
4. Kod svih ispitanika, nivo vitamina 25(OH)D ne korelira sa metaboličkim parametrima (holesterol, trigliceridi, HbA_{1c})
5. Nije bilo značajne razlike u nivou vitamina D između muškaraca i žena u svim ispitivanim grupama
6. Nije bilo značajne razlike u nivou vitamina D između pacijenata sa hipertenzijom i sa normalnim arterijskim pritiskom
7. Kod pacijenata sa T2DM, njih 19 (21.6%) je imalo nedostatak vitamina D
8. Pacijenti sa T2DM koji su imali nedostatak vitamina D imali su veću tjelesnu težinu i obim struma u poređenju sa pacijentima sa T2DM koji su imali dovoljno vitamina D
9. Nivo holesterola i triglicerida je bio viši kod pacijenata sa T2DM koji su imali nedostatak vitamina D u poređenju sa onim koji su imali nedovoljnost vitamina D ili dovoljan nivo vitamina D (> 20 ng/ml)
10. Kod pacijenata sa T2DM plus KVB, njih 18 (26.9%) je imalo nedostatak vitamina D
11. Nije bilo razlike u antropometrijskim parametrima (tjelesna težina, indeks tjelesne mase, obim struka) kod pacijenata sa T2DM plus KVB u zavisnosti od nivoa vitamina D u krvi
12. Nije bilo razlike u metaboličkim parametrima (holesterol, trigliceridi, HbA_{1c}) kod pacijenata sa T2DM 2 plus KVB u zavisnosti od nivoa vitamina D u krvi
13. Najbolji prediktori nivoa vitamina D kod svih ispitanika bili su tjelesna težina, obim struka i indeks telesne mase

14. Kod pacijenata sa T2DM prediktori nivoa vitamina D su bili tjelesna težina i obim struka
15. Kod pacijenata sa T2DM plus KVB prediktor nivoa vitamina D bio je indeks tjelesne mase

8 LITERATURA

1. Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 353–373.
2. MokdadAH, FordES, BowmanBA, DietzWH, VinicorF, BalesVS, MarksJS 2003 Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA* 289:76-79
3. Holick MF, Binkley NC, Bishoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heany RP, et al. Evaluation, Treatment and Prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96: 1911-1930
4. Michael F. Holick Vitamin D Deficiency, 2007, *NEJM*, 357:266-281
5. Holick MF. Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 638S-645S.
6. Need AG, Morris HA, Horowitz M, Nordin C. Effects of skin thickness, age, body fat, and sunlight on serum 25-hydroxyvitamin D. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 882-885.
7. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 362-371
8. Mathieu C, Gysemans C, Guilietti A et al Vitamin D and diabetes, *Diabetologia* 2005; 48: 247-1257.
9. S.B. Mohr, C.F. Garland, E.D. Gorham, F.C. Garland, The association between ultraviolet B irradiance, vitamin D status and incidence rates of type 1 diabetes in 51 regions worldwide, *Diabetologia* 51 (8) (2008) 1391–1398.
10. Jacques PF, Felson DT, Tucker KL, Mahnken B, Wilson PW, Rosenberg IH, Rush D. Plasma 25-hydroxyvitamin D and its determinants in an elderly population sample. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 929-936.

11. Snijder MB, van Dam RM, Visser M, Deeg DJ, Dekker JM, Bouter LM, et al. Adiposity in relation to vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4119-4123.
12. Reginster J. The high prevalence of inadequate serum vitamin D levels and implications for bone health. *Current Medical Research and Opinions* 2005; 21: 579-585.
13. **Palomer X, Gonzales-Clemente JM, Blanco-Vaca F, Mauricio D. Role of vitamin D in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diab Obes Met* 2008; 10:185-187**
14. Pearce SH, Cheetham TD. Diagnosis and management of vitamin D deficiency. *BMJ* 2010; 340: b5664.
15. Pittas AG et al, Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2006; 29: 650-656.
16. 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: 2017-2029.
17. Hamed EA, Abu Faddan NH, AdbElhafeez HA, Sayed D. Parathormone - 25(OH)-vitamin D axis and bone status in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2011; 12: 536-546.
18. Soltesz G, Patterson CC, Dahlquist G, EURODIAB Study Group. Worldwide childhood type 1 diabetes incidence--what can we learn from epidemiology? *Pediatr Diabetes* 2007; 8 Suppl 6: 6-14.
19. University of California, Riverside (Center for Visual Computing), Vitamin D Workshop: About Vitamin D, History of Vitamin D (1999)
20. Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, Arnaud S, Galan P, Hercberg S, Meunier PJ. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 1997; 7: 439-443.
21. Lips P, Hosking D, Lippuner K, et al. The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis: an international epidemiological investigation. *J Intern Med* 2006; 260: 245-54.

22. Sullivan SS, Rosen CJ, Halteman WA, Chen TC, Holick MF. Adolescent girls in Maine at risk for vitamin D insufficiency. *J Am Diet Assoc* 2005; 105: 971-4.
23. Nesby-O'Dell S, Scanlon KS, Cogswell ME, et al. Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 187-92.
24. McKenna MJ. Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. *Am J Med* 1992; 93: 69-77.
25. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 690-693.
26. Sedrani SH. Low 25-hydroxyvitamin D and normal serum calcium concentrations in Saudi Arabia: Riyadh region. *Ann Nutr Metab* 1984; 28: 181-5.
27. Marwaha RK, Tandon N, Reddy D, et al. Vitamin D and bone mineral density status of healthy schoolchildren in northern India. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 477-82.
28. El-Hajj Fuleihan G, Nabulsi M, Choucair M, et al. Hypovitaminosis D in healthy schoolchildren. *Pediatrics* 2001; 107: E53.
29. McGrath JJ, Kimlin MG, Saha S, Eyles DW, Parisi AV. Vitamin D insufficiency in south-east Queensland. *Med J Aust* 2001; 174: 150-1.
30. Lee JM, Smith JR, Philipp BL, Chen TC, Mathieu J, Holick MF. Vitamin D deficiency in a healthy group of mothers and newborn infants. *Clin Pediatr (Phila)* 2007; 46: 42-4.
31. Bolland MJ, Grey AB, Ames RW, Horne AM, Mason BH, Wattie DJ, et al. Age-, gender-, and weight-related effects on levels of 25-hydroxyvitamin D are not mediated by vitamin D binding protein. *Clin Endocrinol* 2007; 67: 259-264.
32. Malabanan A, Veronikis IE, Holick MF. Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet* 1998; 351: 805-806.
33. EURODIAB SubStudy 2 Study Group. Vitamin supplement in early childhood and risk for type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999; 42: 51-54.
34. Mathieu C, Waer M, Laureys J et al. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25-Dihydroxyvitamin D₃. *Diabetologia* 1994; 37: 552-558.

35. Gregori S, Giarratana N, Smiroldo S et al. A 1 α , 25-dihydroxyvitamin D(3) analog enhances regulatory T-cells and arrests autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetologia* 2002; 51: 1367-1374.
36. Luong K, Nguyen LTH, Nguyen DNP. The role of vitamin D in protecting type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev* 2005; 21: 338-346.
37. Zittermann A, Schleithoff SS, Koerfer R. Putting cardiovascular disease and vitamin D insufficiency into perspective. *Br J Nutr* 2005; 94: 483-492.
38. Llewellyn DJ, Lang IA, Langa KM, Muniz-Terrera G, Phillips CL, Cherubini A, et al. Vitamin D and risk of cognitive decline in elderly persons. *Arch Intern Med* 2010; 170: 1135-1141.
39. Scragg R, Holdaway I, Singh V, Metcalf P, Baker J, Dryson E. Serum 25-hydroxyvitamin D3 levels decreased in impaired glucose tolerance and diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1995; 27: 181-188.
40. Isaia G, Giorgino R, Adami S. High prevalence of hypovitaminosis D in female type 2 diabetic population. *Diabetes Care* 2001; 24: 1496.
41. Scragg R, Sowers M, Bell C. Serum 25-hydroxyvitamin D, diabetes, and ethnicity in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care* 2004; 27: 2813-2818.
42. Sakura H, Tanaka Y, Iwamoto Y. Seasonal fluctuations of glycosylated hemoglobin levels in Japanese diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 88: 65-70.
43. Johnson JA, Grande JP, Roche PC, Kumar R. Immunohistochemical localization of the 1,25(OH)₂D₃ receptor and calbindin D28k in human and rat pancreas. *Am J Physiol* 1994; 267: E356-360.
44. Tai K, Need AG, Horowitz M, Chapman IM. Vitamin D, glucose, insulin, and insulin sensitivity. *Nutrition* 2008; 24: 279-285.
45. Nyomba BL, Bouillon R, De Moor P. Influence of vitamin D status on insulin secretion and glucose tolerance in the rabbit. *Endocrinology* 1984; 115: 191-197.
46. Iyengar S, Hamman RF, Marshall JA et al. On the role of vitamin D binding globulin in glucose homeostasis: results from the San Luis Valley Diabetes Study. *Genet Epidemiol* 1989; 6: 691-698.

47. 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: 451-454.
48. Brinhurst RF, Demay MB, Krane SM et al. Bone and mineral metabolism in health and disease, *Harrison's Principles of Internal medicine* 2005, 331: 2238-2249.
49. Lind L, Pollare T, Hvarfner A, Lithell H, Sørensen OH, Ljunghall S. Long-term treatment with active vitamin D (alphacalcidol) in middle-aged men with impaired glucose tolerance. Effects on insulin secretion and sensitivity, glucose tolerance and blood pressure. *Diabetes Res.* 1989; 11: 141-147.
50. Borissova AM, Tankova T, Kirilov G, Dakovska L, Kovacheva R. The effect of vitamin D3 on insulin secretion and peripheral insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *Int J Clin Pract* 2003; 57: 258-261.
51. Mattila C, Knekt P, Mannisto S et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration and subsequent risk of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30: 2569-2570.
52. Kirii K, Mizoue T, Iso H et al. Calcium, vitamin D and dietary intake in relation to type 2 diabetes in a Japanese cohort. *Diabetologia* 2009; 52: 2542-2550.
53. Bournalon PM, Billaudel B, Faure-Dussert A. Influence of vitamin D3 deficiency and 1,25dihydroxyvitamin D3 on de novo insulin biosynthesis in the islets of the rat endocrine pancreas. *J Endocrinol* 1999; 160: 87-95.
54. Zeitz U, Weber K, Soegiarto DW, Wolf E, Balling R, Erben RG. Impaired insulin secretory capacity in mice lacking vitamin D receptor. *FASEB J* 2003; 17: 509-511
55. Inomata S, Kadowaki S, Yamatani T et al. Effect of 1 α (OH)-vitamin D₃ on insulin secretion in diabetes mellitus. *Bone Miner* 1986; 1: 187-192.
56. Kadowaki S, Norman AW. Dietary vitamin D is essential for normal insulin secretion from the perfused rat pancreas. *J Clin Invest* 1984; 73: 759-766.
57. Tanaka Y, Seino Y, Ishida M et al. Effect of vitamin D3 on the pancreatic secretion of insulin and somatostatin. *Acta Endocrinol* 1984; 105: 528-533.
58. Chertov BS, Sivitz WI, Baranetsky NG et al. Cellular mechanisms of insulin release: the effects of vitamin D deficiency and repletion on rat insulin secretion. *Endocrinology* 1983; 113: 1511-1518.

59. Boucher BJ. Inadequate vitamin D status: does it contribute to the disorder comprising syndrome "X". *Br J Nutr* 1998; 79: 315-327
60. Chiu KC, Chu A, Go VLW et al. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and β cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 820-825.
61. Orwoll E, Riddle M, Prince M. Effects of vitamin D on insulin and glucagon secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 1083-1087.
62. Sergeev IN, Rhoten WB. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ evokes oscillations of intracellular calcium in a pancreatic β -cell line. *Endocrinology* 1995; 136: 2852–2861.
63. Mathieu C, Van Etten E, Gysemans C et al. In vitro and in vivo analysis of the immune system of vitamin D receptor knockout mice. *J Bone Miner Res* 2001; 16:2057–2065.
64. Pittas AG et al. Vitamin D, Calcium, and Type 2 Diabetes 2007; 92(6):2017-2029
65. Sergeev IN, Rhoten WB. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ evokes oscillations of intracellular calcium in a pancreatic β -cell line. *Endocrinology* 1995; 136: 2852–2861.
66. Maestro B, Campion J, Davila N, Calle C. Stimulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ of insulin receptor expression and insulin responsiveness for glucose transport in U-937 human promonocytic cells. *Endocr J* 2000; 47:383-291
67. Williams PF, Caterson ID, Cooney GJ, Zilkens RR, Turtle JR. High affinity insulin binding and insulin receptor-effector coupling: modulation by Ca²⁺. *Cell Calcium* 1990; 11: 547-556
68. Ojuka EO. Role of calcium and AMP kinase in the regulation of mitochondrial biogenesis and GLUT4 levels in muscle. *Proc Nutr Soc* 2004; 63: 275-278
69. Wright DC, Hucker KA, Holloszy JO, Han DH. Ca⁺⁺ and AMPK both mediate stimulation of glucose transport by muscle contractions. *Diabetes* 2004; 53: 330-335
70. Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, Ballantyne CM, Couper D, Vigo A, Hoogeveen R, Folsom AR, Heiss G. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes* 2003; 52: 1799-1805

71. Cigolini M, Iagulli MP, Miconi V, Galietto M, Lombardi S, Targher G. Serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and prevalence of cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2006; 29: 722–724.
72. Zemel MB. Nutritional and endocrine modulation of intracellular calcium: implications in obesity, insulin resistance and hypertension. *Mol Cell Biochem* 1998; 188: 129-136
73. Draznin B, Sussman KE, Eckel RH, Kao M, Yost T, Sherman NA. Possible role of cytosolic free calcium concentrations in mediating insulin resistance of obesity and hyperinsulinemia. *J Clin Invest* 1998; 82: 1848-1852
74. Draznin B, Sussman KE, Kao M, Sherman N. Relationship between cytosolic free calcium concentration and 2-deoxyglucose uptake in adipocytes isolated from 2- and 12-month-old rats. *Endocrinology* 1988; 122: 2578-2583
75. Reusch JE, Begum N, Sussman KE, Draznin B. Regulation of GLUT-4 phosphorylation by intracellular calcium in adipocytes. *Endocrinology* 1991; 129: 3269-3273
76. Fujita T, Palmieri GM. Calcium paradox disease: calcium deficiency prompting secondary hyperparathyroidism and cellular calcium overload. *J Bone Miner Metab* 2000; 18: 109-125
77. Khanal RC, Nemere I. Regulation of intestinal calcium transport. *Annu Rev Nutr* 2008; 28: 179-196
78. Nilsson M, Stenberg M, Frid AH, Holst JJ, Bjorck IM. Glycemia and insulinemia in healthy subjects after lactose-equivalent meals of milk and other food proteins: the role of plasma amino acids and incretins. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1246-1253
79. Gedik A, Akalin S. Effects of vitamin D deficiency and repletion on insulin and glucagon secretion in man. *Diabetologia* 1986; 29: 142–145.
80. Chiu KC, Chu A, Go VLW et al. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and β cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 820-825.
81. Bowen J, Noakes M, Clifton PM. Effect of calcium and dietary foods in high protein, energy-restricted diets on weight loss and metabolic parameters in overweight adults. *Int J Obes (Lond)* 2005; 29: 957-965

82. Thompson WG, RostadHoldman N, Janzow DJ, Slezak JM, Morris KL, Zemel MB. Effect of energy-reduced diets high in dairy products and fiber on weight loss in obese adults. *Obes Res* 2005; 13: 1344-1353
83. Zemel MB, Thompson W, Milstead A, Morris K, Campbell P. Calcium and dairy acceleration of weight and fat loss during energy restriction in obese adults. *Obes Res* 2004; 12: 582-590
84. Kolb H, Mandrup-Poulsen T. The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation *Diabetologia* 2010; 53: 10–20
85. Prietl B, Pilz S, Tomaschitz A *et al.* Vitamin D supplementation increases the frequency of regulatory T cells in apparently healthy humans. *Diabetologia* 2009; 52: [Suppl1] S1-S550
86. Kolb H, Mandrup-Poulsen T. An immune origin of type 2 diabetes? *Diabetologia* 2005; 48: 1038-1050.
87. D.S. Ludwig, The glycemic index: physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease, *JAMA* 287 (18) (2002) 2414–2423..
88. Hewison M, Gacad MA, Lemire J *et al.* Vitamin D as a cytokine and hematopoietic factor. *Rev Endocr Metab Disord* 2001; 2: 217-227
89. Giulietti A, Gysemans C, Stoffels K *et al.* Vitamin D deficiency in early life accelerates type 1 diabetes in non obese diabetic mice. *Diabetologia* 2004; 47: 451-462.
90. Mauricio D, Mandrup-Poulsen T, Nerup J. Vitamin D analogues in insulin-dependent diabetes mellitus and other autoimmune diseases: a therapeutic perspective. *Diabetes Metab Res Rev* 1996; 12: 57–68.
91. Uitterlinden AG, Fang Y, van Meurs JBJ *et al.* Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004; 338: 143–156.
92. Norman PE, Powell JT. Vitamin D, shedding light on the development of disease in peripheral arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 39–46
93. Szeto FL *et al.* Vitamin D receptor signaling inhibits atherosclerosis in mice. *Mol Endocrinol.* 2012 Jul;26(7):1091-1101

94. Boucher BJ, Mannan N, Noonan K et al. Glucose intolerance and impairment of insulin secretion in relation to vitamin D deficiency in East London Asians. *Diabetologia* 1995; 38: 1239–1245
95. Ogunkolade BW, Boucher BJ, Prahl JM *et al.* Vitamin D receptor (VDR) mRNA and VDR protein levels in relation to vitamin D status, insulin secretory capacity, and VDR genotype in Bangladeshi Asians. *Diabetes* 2002; 51: 2294-2300
96. Bell NH, Greene A, Epstein S, Oexmann MJ, Shaw S, Shary J. Evidence for alteration of the vitamin D-endocrine system in blacks *J Clin Invest* 1985; 76: 470-473
97. Ford ES, Ajani UA, McGuire LC, Liu S. Concentrations of serum vitamin D and the metabolic syndrome among US adults. *Diabetes Care* 2005; 28: 1228-1230
98. Dutta Det al. Serum vitamin-D predicts insulin resistance in individuals with prediabetes. *Indian J Med Res.* 2013 Dec;138(6):853-60.
99. Parikh SJ, Edelman M, Uwaifo GI, Freedman RJ, Semega-Janneh M, Reynoldo J, Yanovski JA. The relationship between obesity and serum 1,25-dihydroxy vitamin D concentrations in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1196-1199
100. Hypponen E, Power C. Vitamin D status and glucose homeostasis in the 1958 British birth cohort: the role of obesity. *Diabetes Care* 2006; 29: 2244-2246
101. Christiansen C, Christensen MS, Mc Nair P, Nielsen B, Madsbad S. Vitamin D metabolites in diabetic patients decreased serum concentration of 24,25-dihydrovitamin D. *Scand J Clin Invest* 1982; 42: 487-491
102. Nyomba BL, Bouillon R, Bidingija M, Kndjingu K, De Moor P. Vitamin D metabolites and their binding protein in adult diabetic patients. *Diabetes* 1986; 35: 911-915
103. Strawbridge RJ, DeleckogA, McLeod O, et al. A serum 25-hydroxyvitamin D concentration-associated genetic variant in DHCR7 interacts with type 2 diabetes status to influence subclinical atherosclerosis (measured by carotid intima–media thickness). *Diabetologia* 2014; 57: 1159–1172
104. Martins D, Wolf M, Pan D, Zadshir A, Tareen N, Thadhand R, Felsenfeld A, Levine B, Mehrotra R, Norris K. Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum

levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 2007; 167: 1159-1165

105. Ishida H, Seino Y, Matsukura S, Ikeda M, Yawata M, Yamashita G, Ishizuka S, Imura H. Diabetic osteopenia and circulating levels of vitamin D metabolites in type 2 (noninsulin-dependent) diabetes. *Metabolism* 1985; 34: 797-801
106. Ishida H, Norman AW. Demonstration of a high affinity receptor for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in rat pancreas. *Mol Cell Endocrinol* 1988; 60: 109–117.
107. Bischoff-Ferrari HA, Borchers M, Gudat F, Duermuller U, Stahelin HB, Dick W. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 265-269
108. Nasser M. Al-Daghri et al, Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms Modify Cardiometabolic Response to Vitamin D Supplementation in T2DM Patients; *Scientific Reports* volume 7, Article number: 8280 (2017)
109. Jurutka PW, Whitefield GK, Hsieh JC *et al.* Molecular nature of the vitamin D receptor and its role in regulation of gene expression. *Rev Endocr Metab Disord* 2001; 2: 203-216
110. Zella JB, DeLuca HF. Vitamin D and autoimmune diabetes. *J Cell Biochem* 2003; 88: 216-222
111. Hossein-nezhad, A SpiraA, Holick MF. Influence of vitamin D status and vitamin D₃ supplementation on genome wide expression of white blood cells: a randomized double-blind clinical trial. *PloS One* .2013;8:e58725
112. Lind L, Hanni A, Lithell H, Hvarfner A, Sorensen OH, Ljunghall S. Vitamin D is related to blood pressure and the other cardiovascular risk factors in middle-aged men. *Am J Hypertens* 1995; 8: 894-901
113. Uitterlinden AG, Fang Y, van Meurs JBJ et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to vitamin D related disease states. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89, 90: 187–193

114. Hitman GA, Mannan N, McDermott MF, *et al.* Vitamin D receptor gene polymorphisms influence insulin secretion in Bangladeshi Asians. *Diabetes* 1998; 47: 688-690
115. 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: 451-454.
116. Ortlepp JR, Lausher J, Hoffmann R *et al.* The vitamin D receptor gene variant is associated with the prevalence of type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Diabet Med* 2001; 18: 842-845
117. Tsoukas CD, Provvedini DM, Manolagas SC. 1,25-hydroxyvitamin D₃: a novel immunoregulatory hormone. *Science* 1984; 224: 1438-1440
118. Frankel BJ, Heldt AM, Grodsky GM. Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. *Science* 1984; 209: 823-825
119. Durrin LK, Haile RW, Ingles SA *et al.* Vitamin D receptor 3'-untranslated region polymorphisms: lack of effect on mRNA stability. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1453: 311-320
120. Mathieu C, Gysemans C, Guilletti A *et al.* Vitamin D and diabetes, *Diabetologia* 2005; 48: 1247-1257.
121. Daiger SP, Scahnfield MS, Cavalli-Sforza LL. Human group-specific component (Gc) proteins bind vitamin D and 25-hydroxy-vitamin D. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 2076-2080
122. Nykjaer A, Dragun D, Walther D *et al.* An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D₃. *Cell* 1999; 96: 507-515
123. Baier L. The Pima Diabetes Genes Group: suggestive linkage of genetic markers on chromosome 4q12 to NIDDM and insulin action in Pima Indians: new evidence to extend associations in other populations (Abstract). *Diabetes* 1996; 45 (Suppl. 2): 30A
124. Braun A, Kofler A, Morawietz S *et al.* Sequence and organization of the human vitamin D-binding protein gene. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1216: 385-394

125. Malecki MT, Klupa T, Wanic K *et al.* Vitamin D binding protein gene and genetic susceptibility to type 2 diabetes mellitus in a Polish population. *Diabetes Clin Pract* 2002; 57: 99-104
126. Pratley RE, Thompson DB, Prochazka M *et al.* An autosomal genomic scan for loci linked to prediabetic phenotypes in Pima Indians. *J Clin Invest* 1998; 101: 1757-1764.
127. Szathmary EJE. The search for genetic factors controlling plasma glucose levels in Dogrib Indians. In: Chakraborty R, Szathmary EJE eds. *Diseases of Complex Etiology in Small Populations: Ethnic Differences and Research Approaches*. New York: Alan R. Liss Inc, 1985: 199-225
128. Klupa T, Malecki M, Hanna L *et al.* Amino acid variants of the vitamin D-binding protein and risk of diabetes in white American and European origin. *Eur J Endocrinol* 1999; 141: 490-493
129. Kirk RL, Serjeantson SW, Zimmet P. Genes and diabetes in the Pacific. In: Mimura G, Baba S, Goto Y, Kobberling J eds. *Clinocogenetic Genesis of Diabetes Mellitus*. Amsterdam: Excerpta Medica. 1982: 34-41
130. Szathmary EJE. The effect of GC genotype on fasting insulin level in Dogrib Indians. *Hum Genet* 1987; 75: 368-372
131. Ye WZ, Dubois-Laforgue D, Bellanne-Chantelort C *et al.* Variations in the vitamin D-binding protein (Gc locus) and risk of type 2 diabetes in French Caucasians. *Metabolism* 2001; 50: 366-369
132. Glorieux FH, St-Arnaud E. Molecular cloning of 25(OH)D₃-1 alpha hydroxylase: an approach to the understanding of vitamin D pseudodeficiency. *Recent Prog Horm Res* 1998; 53: 341-349
133. Kitanaka S, Takeyama M, Murayama A *et al.* Inactivating mutations in the 25-hydroxyvitamin D₃ 1alpha-hydroxylase gene in patients with pseudovitamin D-deficiency rickets. *N Engl J Med* 1998; 338: 653-661
134. Porcu L, Meloni A, Casula L *et al.* A novel splicing defect (IVS6+ 1G>T) in patient with pseudovitamin D deficiency rickets. *J Endocrinol Invest* 2002; 25: 557-560

135. Lindgren CM, Mahtani MM, Widwn E *et al.* Genome-wide search for type 2 diabetes mellitus susceptibility loci in Finnish families: the Botnia study. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 509-516
136. Malecki MT, Klupa T, Wolkow P *et al.* Association study of the vitamin D: 1alpha-hydroxylase (CYP1alpha) gene and type 2 diabetes mellitus in a Polish population. *Diabetes Metab* 2003; 29: 119-124
137. Dace A, Martin-el YC, Bonne J *et al.* Calcitriol is a positive effector of adipose differentiation in the OB 17 cell line: relationship with the adipogenic action of triiodothyronine. *Biochem Biophys Res Common* 1997; 232: 771-776
138. Snijder M, van Dam R, Visser M, Deeg D, Seidell J, Lips P. To: Mathieu C, Gysemans C, Giulietti A, Bouillon R. [Comment on: Vitamin D and diabetes;48:1247-1257 (2005)] *Diabetologia* 2006; 49: 217-218.
139. Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol* 2009; 19: 73-78
140. Dobnig H, Pliz S, Scharnagl H, Renner W, Seelhorst U, Wellnitz B, Kinkeldei J, Boehm BO, Weinrauch G, Maerz W. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin d and 1,25-dihydroxyvitamin d levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med* 2008; 1340-1349
141. 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: 1174-1180
142. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, Benjamin EJ, D'Agostino RB, Wolf M, Vasan RS. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008; 117: 503-511
143. Konradsen S, Ag H, Lindberg F, Hexeberg S, Jorde R. Serum 1,25-hydroxy vitamin D is inversely associated with body mass index. *Eur J Nutr* 2008; 47: 87-91
144. Martini LA, Wood RJ. Vitamin D status and the metabolic syndrome. *Nutr Rev* 2006; 64: 479-486
145. Rosentreich SJ, Rich C, Volwiler W. Deposition in the release of vitamin D3 from body fat: evidence for a storage site in the rat. *J Clin Invest* 1971; 50: 679-687

146. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Ann J Clin Nutr* 2000; 72: 690-693
147. Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, Liu CY, Vasani RS, Murahito JM, Meigs JB, Cupples LA, D'Agostino EB Sr, O'Donnell CJ. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* 2007; 116: 30-48
148. Cheng S, Massaro JM, Fox CS, Larson M, Kezes M, McCabe E, Robins S, O'Donnell CJ, Hoffmann U, Jaques P, Booth S, Vasani RS, Wolf M, Wang T. Adiposity, Cardiometabolic Risk, and Vitamin D Status: The Framingham Heart Study. *Diabetologia* 2010; 59: 242-248
149. E.B. Schmitt et al Vitamin D deficiency is associated with metabolic syndrome in postmenopausal women *Maturitas* 107 (2018) 97–102
150. A. Deleskog et al. Serum 25 – hydroxyvitamin D concentration, established and emerging cardiovascular risk factors and risk of myocardial infarction before the age of 60 years. *Atherosclerosis* 2012; 223:223e229
151. Chin et al. Physical Activity, Vitamin D, and ASCVD *J Clin Endocrinol Metab*, April 2017, 102(4):1227–1236
152. Anna Deleskog et al, Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentration in Subclinical Carotid Atherosclerosis, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33:2633-2638; originally published online September 26, 2013
153. Oh et al, Deletion of Macrophage Vitamin D Receptor Promotes Insulin Resistance and Monocyte Cholesterol Transport to Accelerate Atherosclerosis in Mice, 2015, *Cell Reports* 10, 1872-1886.
154. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008; 117: 503-511.
155. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 18–28.
156. Pilz S, Tomaschitz A, Ritz E, Pieber TR. Vitamin D status and arterial hypertension: a systematic review. *Nat Rev Cardiol* 2009; 6: 621-630.

157. Burgaz A, Byberg L, Rautiainen S, Orsini N, Håkansson N, Arnlöv J, et al. Confirmed hypertension and plasma 25(OH)D concentrations amongst elderly men. *J Intern Med* 2011; 269: 211-218.
158. Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest* 2002; 110: 229–238.
159. O’Connell TD, Berry JE, Jarvis AK, Somerman MJ, Simpson RU. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulation of cardiac myocyte proliferation and hypertrophy. *Am J Physiol* 1997; 272: H1751–H1758.
160. Andjela T. Drincic Volumetric Dilution, Rather Than Sequestration Best Explains the Low Vitamin D Status of Obesity, *Obesity* (2012) 20, 1444–1448.
161. Gabriella Iannuzzo et al. Association of Vitamin D Deficiency With Peripheral Arterial Disease: A Meta-Analysis of Literature Studies, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 103, Issue 6, 1 June 2018,
162. Giustina A, Bilezikian JP (eds): Vitamin D in Clinical Medicine. *Front Horm Res. Basel, Karger, 2018, vol 50, pp 72–88.*
163. Deleskog A, Hilding A, Brismar K, Hamsten A, Efendic E, Östenson CG. Low serum 25-hydroxyvitamin D level predicts progression to type 2 diabetes in individuals with prediabetes but not with normal glucose tolerance. *Diabetologia* 2012; 55: 1668–1678
164. Mirhosseini N, Vatanparast H, Mazidi M, Kimball SM. The Effect of Improved Serum 25-Hydroxyvitamin D Status on Glycemic Control in Diabetic Patients: A Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; 102: 3097-3110.
165. Karin MA Swart et al, Effects of vitamin D supplementation on markers for cardiovascular disease and type 2 diabetes: an individual participant data meta-analysis of randomized controlled trials, *Am J Clin Nutr* 2018;107:1043–1053.
166. Wimalawansa SJ et al. Associations of vitamin D with insulin resistance, obesity, type 2 diabetes and metabolic syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018 Jan;175:177-189.

9 BIOGRAFIJA dr SRETENA KAVARIĆA

Kavarić Jovana Sreten, rođen 15.09.1960. godine u Titogradu (današnja Podgorica), Crna Gora.

Osnovnu školu završio je 1974. godine.

Gimnaziju „Slobodan Škerović“ završio je 1979. godine.

Medicinski fakultet u Novom Sadu završio je 1984. godine.

Specijalizaciju iz interne medicine, Medicinski fakultet Univeziteta u Beogradu završio je 1992. godine.

Užu specijalizaciju iz endokrinologije, Medicinski fakultet Univeziteta u Beogradu završio je 1998. godine. Naslov uže specijalističkog rada: „Značaj određivanja kalcitonina kod pacijenata sa nodoznom tireoideom“, mentor prof dr Vera Popović Brkić.

Zvanje magistra endokrinologije stekao je na Medicinskom fakultetu Univeziteta u Beogradu 2004. god. Naslov magistarskog rada: „Nivo BNP (Brain Natriuretic Peptide) u pacijenata liječenih od akromegalije“, mentor prof dr Vera Popović Brkić.

Radnu karijeru je započeo u Domu zdravlja Titograd decembra 1984. god.

Od 1998. godine radi u Kliničkom centru Crne Gore. Direktor je Klinike za interne bolesti od 2008. god.

Asistent je na Medicinskom fakultetu u Podgorici, Crna Gora.

Član je EASD (European for Study in Diabetes) i ESE (European Society for Endocrinology).

U braku je sa suprugom Majom od 1989. godine, ima četvoro djece.

10 SKRAĆENICE:

T2DM (Dijabetes melitus typus 2, DM tip 2)
DBP (D-binding protein-vitamin D vezujuća bjelančevina)
DM (Dijabetes melitus)
25OH-Vit D3 (Vitamin D)
T1DM (Diabetes melitus tip1)
UVB (ultravioletno B zračenje)
PTH (Paratireoidni hormon)
HbA1c (Glikozilirani hemoglobin)
VDR (Vitamin D Receptor)
B-ćelija (Beta ćelija pankreasa)
Ca⁺⁺ (Kalcijum-jonizovani)
Feed back (Negativna povratna sprega)
GLUT4 (Glukozni transporter 4)
Tregs (T regulatorne ćelije)
TNF- α (Tumor nekrotizujući faktor alfa)
TNF- β (Tumor nekrotizujući faktor beta)
IL-2 (Interleukin 2)
IL-6 (Interleukin 6)
CRP (C-reaktivni protein)
NK (Natural killer, prirodni ubica)
IL-12 (Interleukin 12)
Interferon- γ (Interferon ipsilon)
HOMA-R (Homeostatski model procjene-rezistencije)
HOMA- β (Homeostatski model procjene u odnosu na β ćeliju)
NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey)
DHCR7 (7-dehidroholesterol reduktaza)
SNPs (Jednostavni nukleotidni polimorfizmi)
mVDR (membranski vitamin D receptor)
cGMP (Ciklični gvanozin monofosfat)
3'UTR (3' neprotumačeni region)
mRNA (prenosna ribonukleinska kiselina, RNK)
DBP (Vitamin D Binding Protein ili kalbindin-D28k)
CYP1 α (1 α -hydroxylase, alfa hidroksilaza)
GIT (Gastrointestinalni trakt)
CYP27B1 (25-hidroksivitamin D-1 α -hidroksilaza)
TC (heterozigotne haplotipske kombinacije)
vs (versus-naspram)
In vitro (U živo)
FGF-23 (faktor rasta fibroblasta 23)
VDR-RXR (vitamin D receptor-retinoična kiselina x-receptorski kompleks)
TRPV6 (tranzitorni receptorski potencijal katjonskih kanala, subfamilija V, član 6)
CaBP (calbindin 9K, kalcijum-noseći protein)
RANKL (Receptor aktivirajućeg nuklearnog faktora- κ B liganda)
Gc (Grupno specifična komponenta)
BMI (Body Mass Index-indeks tjelesne mase)

OGTT (Oralni glukoza tolerans test)
Cdx2 (Crijevno-specifični transkripcioni faktor)
LDL (Lipoprotein niske gustine)
HDL (Lipoprotein visoke gustine)
KVB (Kardio vaskularna bolest)
TFIIB (Bazalni transkripcioni faktor IIB)
FPG (Glikemija našte)
PPAR gamma (Peroksizom proliferator-aktivirajući receptor γ)
C/EBP α (CCAAT povećavajući vezujući protein-alpha)
AHA (Američka kardiološka asocijacija)
OAD (Oralni antidijabetici)
SENECA (Zajednička akcija cijele Evrope)
FFA (Slobodne masne kiseline)
TG (Trigliceridi)

11 IZJAVA O AUTORSTVU, IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE I ELEKTRONSKE VERZIJE DOKTORSKOG RADA, IZJAVA O KORIŠĆENJU

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani dr Sreten J. Kavarić

broj upisa 4600/3

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

"Značaj određivanja vitamina D u pacijenata sa dijabetes melitusom tip 2"

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 04.07.2018

Kavarić Sreten

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Sreter J Kavarić

Broj upisa: 4600/3 od 07.03.2013

Studijski program: Medicina, Interna medicina-endokrinologija

Naslov rada: "Značaj određivanja vitamina D u pacijenata sa dijabetes melitusom tip 2"

Mentor: prof dr Vera Popović Brkić

Potpisani



izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesec rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 04.07.2018 god



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

“Značaj određivanja vitamina D u pacijenata sa dijabetes melitusom tip 2”

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo

2. Autorstvo – nekomercijalno

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerade

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na pojedini listi).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 04.07.2018 god

