

Vitamín D – současný stav poznání, účinku a významu v humánní medicíně

P. NOVOSAD¹, P. HRDÝ¹, P. FOJTÍK²

¹Mediekos Labor, s. r. o., Zlín, Osteologické centrum, Zlín

²Centrum péče o zažívací trakt, Vitkovická nemocnice, a. s., Ostrava-Vítkovice

SOUHRN

Novosad P., Hrdý P., Fojtík P.: **Vitamín D – současný stav poznání, účinku a významu v humánní medicíně**

Vitamín D je jedním z nejstarších hormonů, které produkují formy života přes 750 mil. let. Fytoplankton, zooplankton a mnoho živočichů, kteří přicházejí do styku se slunečním zářením, mají schopnost tento vitamín vytvářet. Vitamín D je kriticky důležitý pro rozvoj, růst a udržování při životě od narození až po jeho smrt. V dnešní době probíhá intenzivní výzkum v mnoha medicínských oborech nebo u samostatných klinických diagnóz. Současný medicínský výzkum vitamínu D se považuje za velmi důležitý.

Klíčová slova: vitamín D, metabolismus, hydroxylace, receptor, cílový orgán

SUMMARY

P. Novosad, P. Hrdý, P. Fojtík: **Vitamin D – state-of-the-art knowledge, effect and role in human medicine**

Vitamin D is one of the oldest hormones, having been produced by life forms for over 750 million years. Phytoplankton, zooplankton and most animals that are exposed to sunlight have the capacity to produce vitamin D. In humans, vitamin D is critically important for the development, growth and maintenance of a healthy body, from birth until death. Intensive research is underway in many medicinal disciplines or clinical diagnoses. Current medical research of vitamin D is considered very important.

Keywords: vitamin D, metabolism, hydroxylation, molecular level, receptor, target organ

Osteologický bulletin 2011;16(3):87–95

Adresa: MUDr. Pavel Novosad, Mediekos Labor, s. r. o., Zlín, Osteologické centrum, Antonínova 4464, 760 01 Zlín, e-mail: pnovosad@mediekoslabor.cz

Došlo do redakce: 27. 6. 2011

Přijato k tisku: 12. 8. 2011

Vzhledem k obrovskému rozsahu této problematiky stáli autoři před problémem, jak tuto látku předložit. Jednou formou je odkázat na velmi obsáhlé monografie. Zvolili jsme však formu druhou, velmi zkratkovitě a orientačně podat základní poznatky srozumitelně pro všechny obory. I přes maximální zhuštěnost textu je třeba jej rozdělit do tří částí. Moderní monografie pak budou udány v literatuře.

I. ČÁST: Historie, intermediární metabolismus, genetické zprostředkování a transkripce účinku vitamínu D

II. ČÁST: Základní negenové a neklasické účinky vitamínu D

III. ČÁST: Základní účinky na jednotlivé orgány, onemocnění a základní využití poznatků o vitamínu D v diagnostice a terapii, včetně nových analogů vitamínu D

Celá problematika je rozdělena do 37 kapitol. Literatura je udávána u každé části.

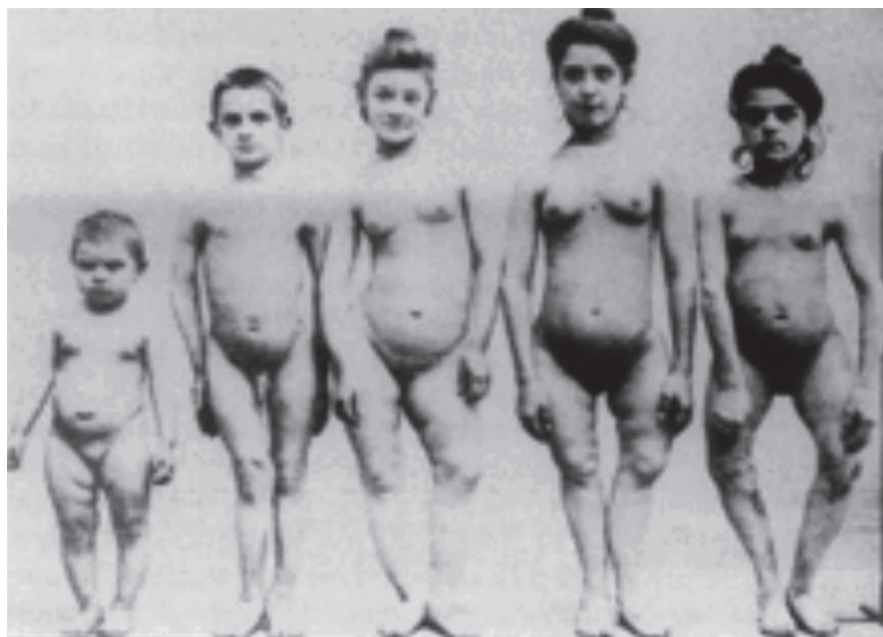
Historie vitamínu D

Studium vitamínu D a jeho role ve fyziologii živého organismu je jedním z nejdůležitějších okamžiků výzkumu fyziologie v II. polovině 20. století. Vedlo k objevu příslušného receptoru (vitamín D receptor VDR) a interakcí s transkripčním intercelulárním mechanismem v cílových buňkách, jeho efektů v regulaci růstu a diferenciaci některých specializovaných buněk, což má velký význam v současné onkologii.

Dále bylo studium vitamínu D velkým impulzem ke studiu regulací cytochromem P-450, který obsahuje různé enzymy, a v neposlední řadě k syntéze širokého spektra analogů vitamínu D. A tak od principu léčení křivice v 19. století

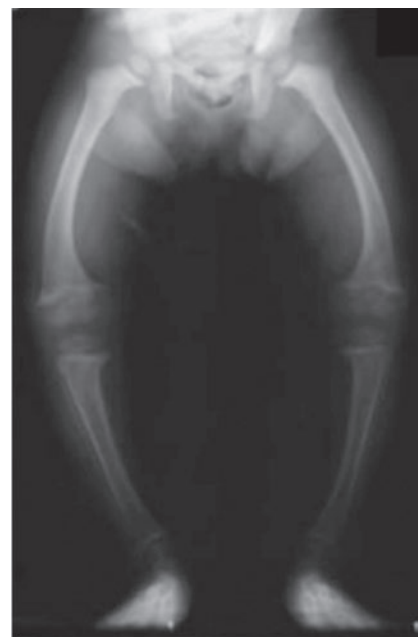
Obr. 1

Rodina trpící křivicí z roku 1910. Paříž.
Us Nationale Library of medicine 2007.
Wikipedia <http://www.nlm.nih.gov/exhibition>



Obr. 2

Anterioposteriorní pohled na 2letého
chlapce s křivicí. M. L. Richardson,
Bild Rachitis 2004.
Wikipedia de: Bild: Rachitis.jpg.



Obr. 3

Děti s vrozenou křivicí. Převzato ze J. F. Rosen et al.
J Pediatr 1979;94:729–735.



vede cesta k výzkumu jedné z nejdůležitějších látek použitelné k terapii mnoha nemocí dneška [6].

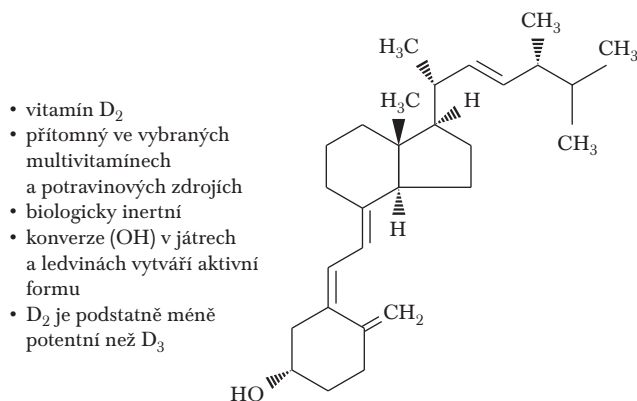
Onemocnění Rickets (rachitis, křivice) (obr. 1) byla poprvé popsána v roce 1645 Whistlerem. Křivice je nemoc způsobená nedostatkem vitamínu D, Ca a fosfátů. Tento nedostatek vede k měknutí a oslabení kostní tkáně. Osteomalacie je nalezena pod stejným obrazem, kde výsledkem je také zmenšená mineralizace osteoidu kosti.

Termín rickets je odvozeno od anglického slova wricken, které znamená zkroutit nebo podvrtnout. V některých evropských zemích se nazývá tato nemoc také Anglická nemoc, protože všeobecným populačním medicínským problémem se stal tento problém ve velkých britských městech. To bylo v době industriální revoluce v 19. století. Křivice se podle definice nalézá pouze u dětí před uzavřením růstových plotének, zatímco osteomalacie se projevuje v každém věku. Některé děti mohou mít osteomalacii, zatímco křivice u dospělých je prakticky vždy špatná diagnóza [3,5]. Klasické změny na skeletu jsou na obr. 2, přehled rtg změn udává P. Renton [45]. Křivice může být i geneticky vrozená. V průběhu poznávání mechanismu vzniku se deklarují D-dependentní křivice typu I (VDDR-I), D-dependentní křivice typu II (VDDR-II), pseudo-vitamín D deficitní křivice typu II (PDDR-II), calcitriol-rezistentní křivice nebo vrozená vitamín D rezistentní křivice (HVDRR), kde se velmi často, ale ne vždy nalézá alopecie. Základním defektem je vždy ztráta syntézy, nebo reakce na 1,25(OH)2D3. Tedy vrozená rezistence na vitamín D (obr. 3) [6,7,8,44].

Jako prevence nebo léčba u negenetické formy se empiricky provádělo léčení rostlinami a olejem z tresčích jater (cod liver oil). To pak vedlo k objevu aktivního principu vitamínu D. Co se týká potravin, nově bylo u některých exotických hub nalezeno významné množství vitamínu D. Asi

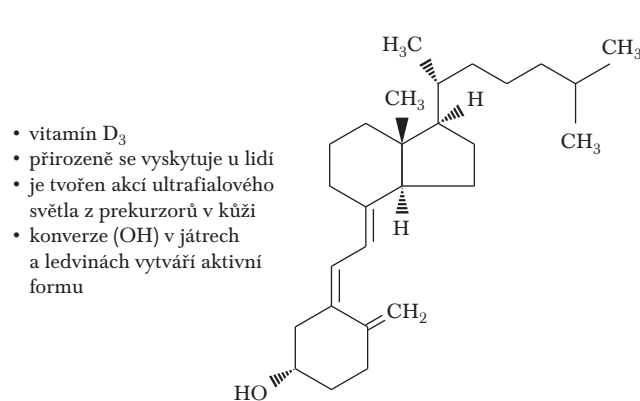
Obr. 4

Chemická struktura Ergocalciferolu. Upraveno dle AM Parfitt et al. Am J Clin Nutr 1982;36:1014–1031.



Obr. 5

Chemická struktura Cholecalciferolu. Upraveno dle AM Parfitt et al. Am J Clin Nutr 1982;36:1014–1031.



nejznámější je u nás Shitake 129 I.U., Portabella 493 I.U., resp. Maitake 943 I.U. (vše na 84 g). Některé z nich musí ale napřed projít UV ozářením [21].

Intermediární metabolismus vitamínu D

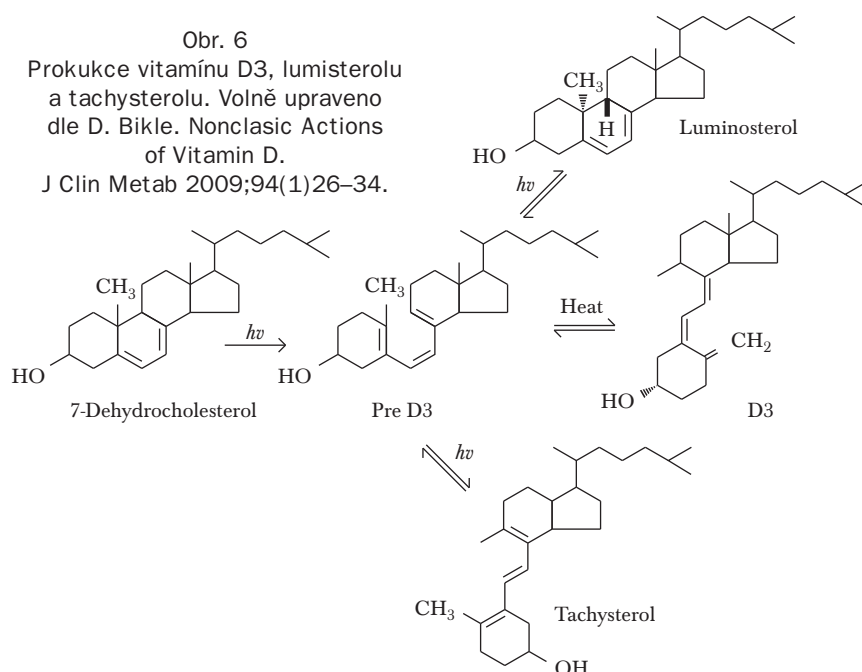
Vitamín D se vyskytuje ve dvou formách. Formě D₂ (obr. 4) a formě D₃ (obr. 5), které se liší chemicky svým bočním řetězcem. Vitamín D₂ je získáván pouze z rostlin. Vitamín D₃ se vytváří i v lidském organismu a získává se z několika málo potravin. Z technického hlediska vzato vitamín D není vlastně vitamín, ale steroidní hormon. Jeho jméno je vzato z v tucích rozpustných prohormonů. (Substance, které jsou prekurzory hormonů a mají vlastní malou hormonální aktivitu.) [43]

Biologická aktivita D₂ a D₃ byla v poslední době studována na univerzitě ve Wisconsinu [13]. Probandům byl podáván D₂, resp. D₃ 50 000 I.U. měsíčně, stejná dávka 1x měsíčně nebo placebo. Počáteční plazmatické koncentrace kalcidiolu v nich nepřevyšovaly 30 ng/ml. Compliance pacientů byla mezi 91,8–98,7 %. Po denním podávání bylo zvýšení u vitamínu D₃ o 32 % a 29 % po podávání měsíčním a u vitamínu D₂ 21 % po denním, resp. 11 % po měsíčním podávání. Závěr této studie znamená signifikantní rozdíl mezi podáváním vitamínu D₃, resp. D₂ ve smyslu zvýšení 25(OH)D₃ vitamínu v krevním řečišti. Vitamín D₃ je proto více efektivní ve vlastní léčbě. Zmíněné boční řetězce ovlivňují jejich vazbu na proteinové nosiče.

Vitamín D₃ vzniká ze 7-dehydrocholesterolu (obr. 6) UV zářením rozsahu

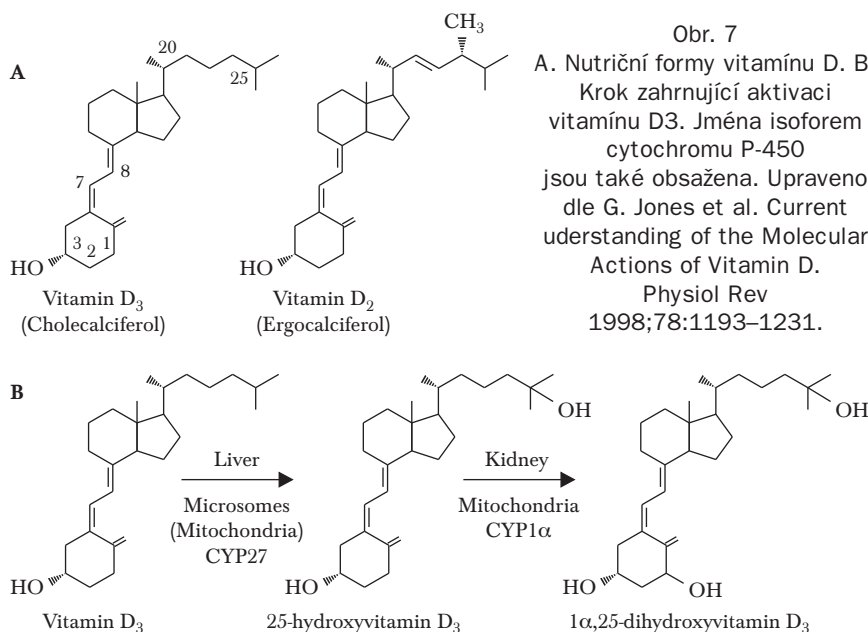
Obr. 6

Prokukce vitamínu D₃, lumisterolu a tachysterolu. Volně upraveno dle D. Bikle. Nonclassic Actions of Vitamin D. J Clin Metab 2009;94(1)26–34.



Obr. 7

A. Nutriční formy vitamínu D. B. Krok zahrnující aktivaci vitamínu D₃. Jména isoformů cytochromu P-450 jsou také obsažena. Upraveno dle G. Jones et al. Current understanding of the Molecular Actions of Vitamin D. Physiol Rev 1998;78:1193–1231.



270–300 nm (UV záření typu B). Rozbitím B kruhu na formu preD₃ pak izomerizuje tepelnou energií na D₃ a dlouhodobým permanentním UV zářením na tachysterol a lumisterol. Tyto metabolity se mohou v noci zase vrátit do výchozí chemické formy, a mohou tak částečně doplňovat depo D₃. Definované záření lze zachytit na kůži filtrem vyšším jak st. 3.

Metabolická aktivace vitamínu D₃ je provedena specifickým cytochromem P-450, který obsahuje enzymy vitamínu D₃-25hydroxylázu (CYP27). Je předpokládán také jiný cy-

tochrom a to v hepatocytu a 25 hydroxyvitamín D-1alfa-hydroxyláza (CYP1alfa) v renálním proximálním tubulu (obr. 7) [38]. Obě známé hydroxylázy jsou umístěny na vnitřní mitochondriální membráně těchto buněk (obr. 8).

Syntéza v játrech je regulována velmi volně, zatímco syntéza 1,25(OH)₂D₃ renální alfa-hydroxylázou je regulována přísně hladinou 1,25(OH)₂D₃, kalcie a faktorem FGF 23 (Fibroblast growth factor). Celý systém je pak ještě nadřazeně regulován parathormonem.

Třetím vitamínem vztaženým k enzymům obsažených v cytochromu P-450 je 24,25-hydroxyvitamín (D-24 hydroxyláza (CYP24)). Zpočátku se myslelo, že je přítomen pouze v ledvině a byl zahrnován toliko do metabolismu 25-OH-D₃ na 24,25-dihydroxyvitamín D₃-24hydroxylázou (obr. 9).

24-hydroxylace byla nejprve izolována jako 1.24.25(OH)₂D₃. Ale následně se ukázalo, že se objevuje ve všech cílových tkáňových buňkách pro vitamín D zahrnující erytrocyty, osteoblasty, keratinocyty a buňky parathyreoidey. Dnes je známo, že CYP24 používá 1,25(OH)₂D₃ také jako substrát, protože CYP24 je široce distribuován v lidském organismu a je striktně indukován v cílových buňkách 1,25(OH)₂D₃ a preferuje 1,25(OH)₂D₃ jako substrát před 25-OH-D₃. Jeho role se jeví jako začátek katabolismu. Enzym CYP 24 katalyzuje několik kroků katabolické degradace 1,25(OH)₂D₃, a tak je celý soubor degradace znám jako C-24 oxidační cesta, která začíná 24-hydroxylací, kulminuje biliární exkreční formou kyseliny calcitriolové (obr. 10) [10].

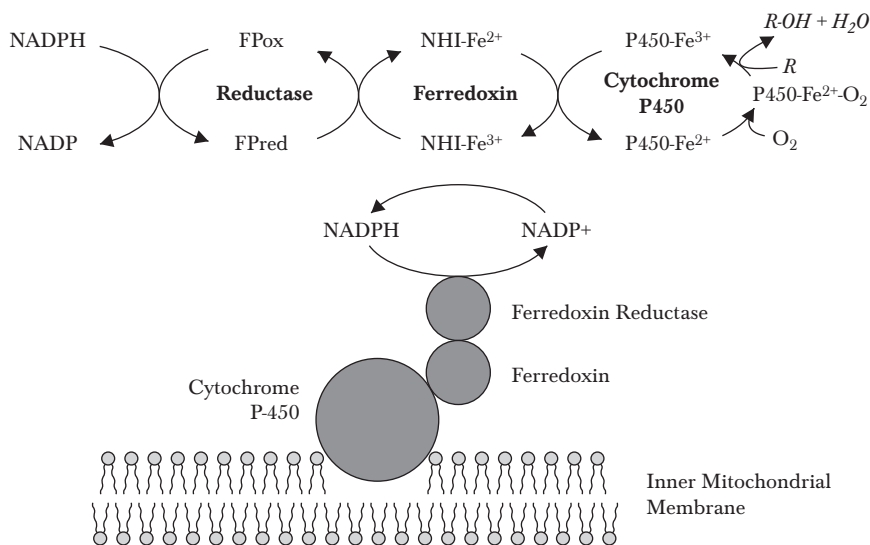
Z toho je zřejmé, že syntéza a degradace 1,25-(OH)₂D₃ je těsně spojena a tento fakt vyžaduje jemnou regulační hormonální regulaci na buněčné úrovni a to je důvod pro vysoké a specificky jemné sladení P-450 cytochromů právě z těchto důvodů [17,28].

Metabolity vitamínu D jsou transportovány v krvi vázané na proteiny. Převažuje vazba na vazebný protein (vitamín D binding protein, DBP) a albumin. Velmi nepatrná část cirkuluje jako „free forma“ DBP představuje asi (85–88 % vazebné kapacity) a albumin (12–15 %). Ve volné formě je cca 0,03 % 25OHD a 24,25(OH)₂D a 0,04 % 1,25(OH)₂D₃ [42].

DBP jsou známy jako skupina specifických globulinů (Gc-globulinů). Jsou známy 3 polymorfismy, které v organismu alternují přenosnou funkci DBP a to bílkovina o hmotnosti

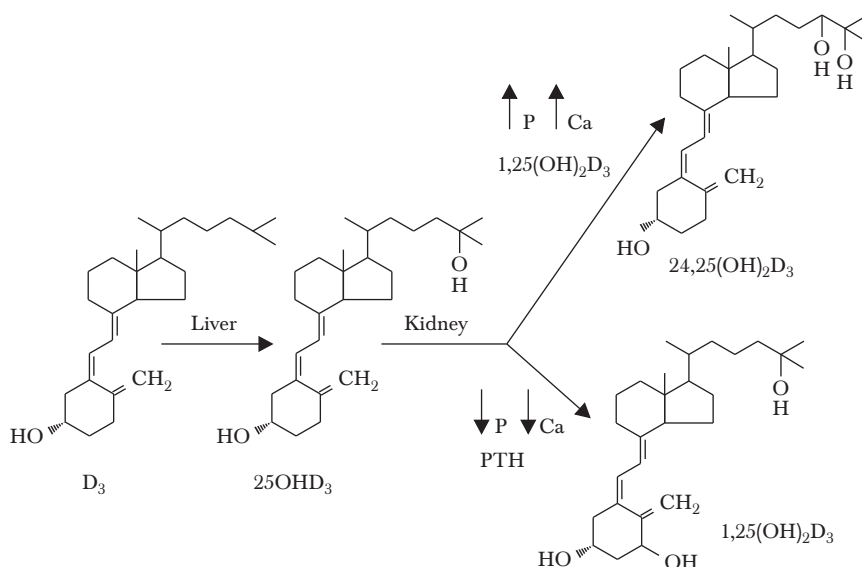
Obr. 8

Řetěz elektronového transportu pro mitochondriální steroidní hydroxylázy a koncept uspořádání komponent mitochondriálního cytochromu P-450. Upraveno dle G. Jones et al. Current understanding of the molecular Action of Vitamin D. Physiol Rev 1998;78:1193–1231.



Obr. 9

Proces ukazující počátek katabolismu účinkem 24-hydroxylázy. Volně zpracováno dle G. Makin et al. Target cell metabolism of 1,25 dihydroxyvitamín D₃ to calcitriol acid Evidence for a pathway. Biochem J 1989;262:173–180.



58 kDa se 458 aminokyselinami, které jsou homologní k albuminu a alfa fetoproteinu (AFP) (40 % na úrovni nukleotidů a 23 % na úrovni aminokyselin.)

DBP podobný albuminu a AFP nejsou exkluzivně tvořeny v játrech, ale obsahují je také ledviny, tuk a testes. Ačkoli transport vitamínu D může být hlavní vlastností této bílkoviny, DBP má vysokou afinitu i k aktinu a může sloužit jako odstraňovač aktinu, který se uvolňuje z mrtvých buněk. DBP slouží také jako aktivátor makrofágů a osteoklastů [32].

Vitamín D necirkuluje dlouhou dobu v krevním řečišti, ale je téměř bezprostředně předán do jater k další metabolizaci, nebo do tukové tkáně k uskladnění.

U lidského organismu může vitamín D v zásobním depu přetrvávat po měsíce nebo dokonce roky. V játrech pak bezprostředně dochází k prvnímu kroku aktivace zvláště 25-hydroxylaci. První nálezy ukazovaly na to, že tato aktivace může probíhat pouze v játrech, ale později byly zjištěny podobné metabolické aktivity ve střevě a ledvinách [27].

Nosné bílkoviny se mohou snížit na velmi nízké hladiny u enteropatie, která se někdy vyskytuje u nefrotického syndromu. Nosné bílkoviny pro vitamín D mohou být sníženy až na velmi nízké hladiny. Takto tedy nemoci jater, ledvin a střevní choroby mohou mít za následek snížené hladiny vitamínu D, ale nemusejí být znát příznaky deficitu vitamínu D, protože koncentrace jejich volné frakce může být normální.

V souhrnu přehledu základního biochemického metabolismu můžeme říci následující (obr. 11):

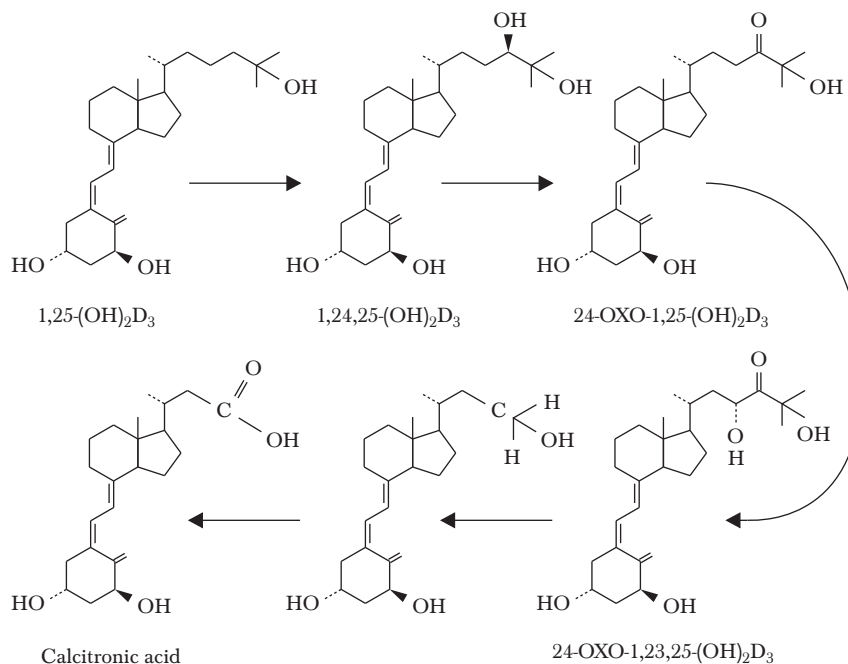
Vitamín D₃ je přednostně zachytáván a transportován z kůže prostřednictvím DBP. Játra a i jiné tkáně metabolizují vitamín D buď z kůže, nebo z gastrointestinálního traktu (GIT) na 25OHD, který je hlavně v ledvinách hydroxylován na 1,25(OH)₂D, ačkoli tuto enzymatickou aktivitu mají také kožní keratinocyty a makrofágy. 1,25(OH)₂D vitamín je základní hormonální forma vitamínu D, která je zodpovědná za jeho biologickou aktivitu.

Přesto jako míra vitamínu D v krvi je měřen 25OHD₃ vitamín. Důvody jsou jednak biologický poločas, poločas vitamínu 25(OH)D₃ je 15 dnů, jednak tvoří rovnováhu intra - extracelulární. 1,25(OH)₂D₃ je velmi labilní,

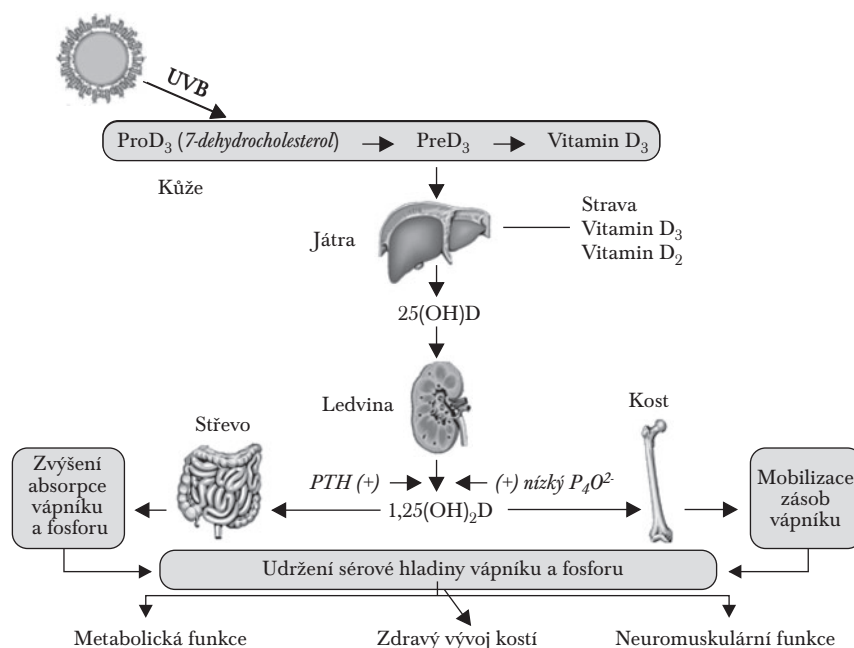
jeho poločas je jen 15 hodin. Produkce 1,25(OH)₂D₃ v ledvinách je kontrolována a stimulována parathormonem a inhibována Ca a fosfáty a faktorem FGF23.

Tvorba vitamínu 1,25(OH)₂D₃ může probíhat ale i mimo ledviny. Extrarenální produkce vitamínu 1,25(OH)₂D₃ je odlišná. Hladina vitamínu D se zvyšuje působením cytokinů

Obr. 10
Metabolická oxidační cesta C-24. Upraveno dle G. Jones et al. Current understanding of the Molecular Actions of Vitamin D. Physiol Rev 1998;78:1193-1231.

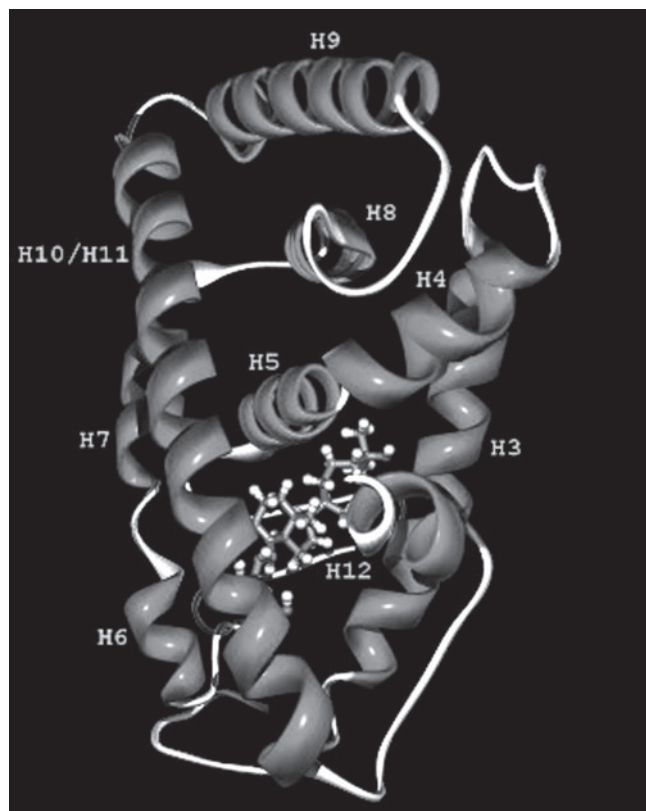


Obr. 11
Souhrnný pohled na metabolismus vitamínu D. Volně upraveno dle M. F. Holick. Int. 1998; [supl.2], 24-25.



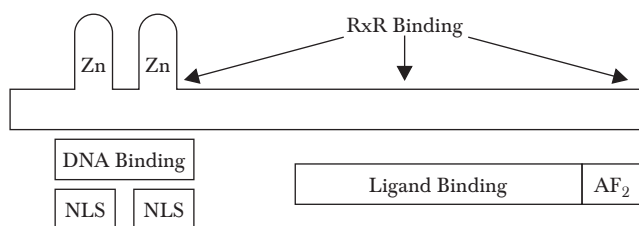
Obr. 12

Tří dimenzionální struktura receptoru vitamínu D. Převzato ze P. Rotkiewicz, W. Sicinska, A. Kolinsky, HF DeLuca. Model of three-dimensional structure of vitamin D receptor and its binding mechanism with 1- α -25 dihydroxyvitamin D₃. *Proteins* 2001;44:188–191.



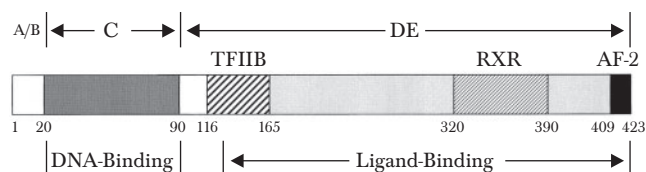
Obr. 13

Základní schéma struktury receptoru vitamínu D (VDR). Volně upraveno dle RM Evans. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1988;240:889–895.



Obr. 14

Podrobné schéma domén, ze kterých je VDR složen, a jejich kvantitativní rozložení. Upraveno dle MG Rosenfeld, VV Lunyak, CK Glass. *Sensors and signals a coactivator (corepresor) epigenetic code for integrating signal dependent programs of transcriptional response.* *Genes* 2006;20:1405–1428.



jako TNF tumor necrosis alfa TNF a interferonem gama (IFN) [42].

Snížení hladiny 1,25(OH)D se děje snížením hladiny v buňkách, a to buď omezením produkce, nebo zvýšením stimulace katabolismu 1,24 hydroxylázy, která je vyvolána indukcí enzymu CYP24A. 1,25(OH)2D₃ je hydroxylován na 24. pozici, a tím je vlastně zahájen katabolismus tohoto aktivního metabolitu. To zároveň slouží jako velmi důležitá zpětná vazba u případné toxicity vitamínu D. Další katabolických metabolitů pak nacházíme v organismu prakticky několik, což je vlastně jedna z limitujících podmínek pro laboratorní stanovení a prozatím praktické nemožnosti standardizace a unifikace různých laboratorních metod. U makrofágů je enzym CYP24A buď zcela chybějící, nebo částečně defektní. U některých granulomatózních onemocnění, jako je sarkoidóza, se tak můžeme setkat s hyperkalcemií a hyperkalciurií způsobenou elevací 1,25(OH)2D₃ vitamínu [24].

Biologické zprostředkování aktivity vitamínu D

I. Forma genové hormonální aktivity, kdy kalcitriol je ligandem pro transkripční faktor receptoru vitamínu D (VDR).

II. Negenová aktivita

Dělí se ještě na účinky kalcemické a nekalcemické.

I. Genová hormonální aktivita

VDR, jehož krystalografický obraz můžeme vidět na obr. 12, byl objeven v roce 1969 a sekvenován v roce 1987. VDR je členem velmi rozšířené rodiny nukleárních hormonálních receptorů, který zahrnuje receptory pro glukokortikoidy, mineralokortikoidy, pohlavní hormony, thyroïdní hormony a metabolity vitamínu A, retinoidy a složky cholesterolového metabolismu jako žlučové kyseliny, isoprenoidy, mastné kyseliny a eicosanoidy (arachinoidy) [11,41]. Tato široká škála této rodiny nemá známý ligand, a proto je známa jako „orphan receptor“ (neboli sirotčí receptory – což znamená, že pro jednotlivé receptory nebyly definovány příslušné ligandy). Proto se také VDR nazývá ligand-aktivující transkripční faktor [12]. Tento receptor je velmi rozšířen do různých tkání jako klasická cílová tkáň pro vitamín D. Těchto cílových tkání je víc jak 150 [15].

Struktura receptoru vitamínu D

VDR je molekula přibližně o hmotnosti 50–60 kD. U jednotlivých živočišných druhů se liší. U krysy má 423 aminokyselin a u člověka má 4 aminokyseliny navíc na NH₂ zakončení. Základní struktura je ukázána na obr. 13. VDR má v porovnání s ostatními nukleárními receptory velmi krátkou N terminální doménu. Jako ostatní nukleární receptory může být VDR rozděleno do několika funkčních domén. Rozdělení těchto domén je ukázáno na obr. 14.

Na NH₂ konci je zkrácená doména 20 aminokyselin, jejíž funkce dodnes není pro funkci VDR zcela jasná. Poté následuje DNA – vazebná doména nazývaná C doménou, která je umístěna mezi 20.–90. aminokyselinou. D – neboli závažná doména je umístěna přibližně mezi 90.–130. aminokyselinou. Následuje COOH terminální E, neboli ligand vazebná doména mezi 130–423 aminokyselinami.

Dnes je již známa velká skupina genů, kterou reguluje vitamín D cestou VDR receptoru. Jedna skupina regulována vitamínem D je skupina „kalbindinů“ [30]. Patří mezi ně i geny zodpovídající za tvorbu kalbindinu D9K, který je přítomen hlavně ve střevě, ale i jiných orgánech.

Ve střevě má uplatnění při absorpci kalcia z lumen ze střeva, D28K-kalbidin zahrnuje absorpci z glomerulárního filtrátu. Podrobně bude tato problematika rozebrána v části II. Nedávno byly objeveny regulační vztahy VDR k mnoha genům, které obahovaly VDRE v promotorech a mnoho genů, které nebyly považovány za cílené pro vitamín D. Význam těchto faktů je nyní studován [31].

Transkripce receptoru vitamínu D

1.25(OH)2D iniciuje genovou transkripci. 1.25(OH)2D vstupuje do cílové buňky a váže se na VDR. VDR pak heterodimerizuje s retinoidem X na receptor RXR. To zvyšuje afinitu VDR/RXR komplexu pro vitamín a pro prvky odpovídající na vitamín D (VDRE) a specifické sekvenci nukleotidů v promotoru oblasti odpovídající na vitamín D. Vazba VDR/RXR komplexu k VDR je proteinový komplex nazývaný koaktivátor VDR/RXR komplexu DRIP. Koaktivátorový komplex ovlivňuje prostor mezi VDRE a RNA polymerázou II a ostatními proteiny při iniciaci komplexu centrovaného do nebo do okolí TATA prostoru nebo jiného transkripčního regulačního elementu. SRC koaktivátory pocházejí z histonů acetyltransferázy (HAT), které otvírají strukturu, aby byla schopná provést transkripci. Transkripce je iniciována produkci korespondující mRNA, která opouští jádro a je změněna na korespondující protein (*obr. 16*) [26,36].

Mechanismus účinku vitamínu D

VDR vázaný na 1.25(OH)2D vytváří heterodimer s jinými nukleárními hormonálními receptory, zvláště pak z rodiny Retinoidu X Receptoru. Tento komplex se váže na speciální DNA sekvenci nazývanou VDRE. Nicméně některé akce vitamínu 1.25(OH)2D jsou mnohem bezprostřednější a mohou být zprostředkovány receptorem D vázaným na membránu, který je charakterizován mnohem hůře než nukleární receptor promotoru genu. Rozmanitost přídatných proteinů nazývaných koaktivátorové komplexy s aktivovaným VDR/RXR heterodimerem buď vytváří můstek z komplexu VDR/RXR vázající se na VDRE proteiny zodpovědné za transkripci, nebo jako RNA polymeráza II se váže na startovací místo transkripce nebo pomáhá rozpadu chromatinu na místě genu cestou přijetí histonu acyltransferázy (HAT) dovolující pokračování transkripce.

Receptor vitamínu D reagující s proteinovým komplexem (DRIP nebo Mediator) je příklad prvního typu komplexu koaktivátoru. Rodina steroidního receptoru koaktivátoru (SRC-1) je příkladem pozdějších typů koaktivátorů. Rozdílné geny se liší v rozdílné regulaci těmito koaktivátory. Kromě toho koaktivátory mají množství korepresorů. Jak koaktivátory, tak korepresory mohou být specifické pro rozdílné geny a způsobovat odlišnou expresi těchto koagulatorů, a tím určovat některá specifika pro aktivitu 1.25(OH)2D-VDR [26,37].

Literatura

- Bikle DD. For Whom the Bugs Toll; They Toll for D. *Science* 2006;24:311(5768):1770–1773.
- Bikle DD, Nemanic MK, Whitney O, Elias PW. Neonatal human foreskin keratinocytes produce 1.25-dihydroxyvitamin D3. *Biochemistry* 1986;8:25(7):1545–1548.
- Yasuda T. *Clin Calcium* 2009;19(1):109–116.
- Pugliese MT, Blumberg DL, Hludzinsky J et al. Nutritional rickets in suburbia. *J Am Coll Nutr* 1998;17:637–641.
- Wagner CL, Greer FR. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics* 2008;122(5):1142–1152.
- Feldman D, Malloy PJ. Hereditary 1.25-dihydroxyvitamin D resistant rickets: molecular basis and implications for the role of 1.25(OH)2D3 normal physiology. *Mol Cell Endocrinol* 1990;72:C57–C62.
- Hughes MR, Malloy PJ, O'Malley B W, Pike JW, Feldman D. Genetic defects of the 1.25-dihydroxyvitamin D3 receptor. *J Recept Res* 1999;11:699–716.
- Malloy PJ, Pike JW, Feldman D. Hereditary 1.25-dihydroxyvitamin D resistant rickets. In: Feldman D, Glorieux F., Pike JW Vitamin D, (eds). Academic Press, San Diego, CA, 2000; pp.756–788.
- Holick MF, McCollum. Award Lecture: Vitamin D-new horizons the 21st. century. *Am J Clin Nutr* 1994;60:619–630.
- Makin G, Lohnes D, Byford V, Ray R, Jones G. Target cell metabolism of 1.25-dihydroxyvitamin D3 to calcitric acid. Evidence for a pathway. *Biochem J* 1989;262:173–180.
- Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1988;240:889–895.
- Horst RL, Kozsewski NJ, Reihardt TA. 1alpha-Hydroxylation of 24-hydroxyvitamin D2 represent a minor physiological pathway for the activation of vitamin D2 in mammals. *Biochemistry* 1990;29:578–582.
- Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:677–681.
- McKenna NJ, O'Malley BW. An issue of tissues: dividing the split personalities of selective estrogen receptor modulators. *Nat Med* 2000;6(9):960–962.
- Christakos S, Dhawan P, Liu Y, et al. New insights into the mechanisms of vitamin D action. *J Cell biochem* 2003;88:695–705.
- Rastinejad FT, Perlmann RM, Sigler PB. Structural determinants of nuclear receptor assembly on DNA direct repeats. *Nature* 1995;375:203–211.
- Svarek K, Bergseth S, Oftebro H, Pedersen JJ. Subcellular localization of vitamin D3 25-hydroxylation in human liver. *J Biol Chem* 1984;259:10936–10946.
- Sone T, Ozono K, Pike JW. A 55-kilodalton accessory factor facilitates vitamin D receptor binding. *Mol Endocrinol* 1991;5:1578–1586.
- Whitfield GK, Hsieh JC, Nakajima S, MacDonald PN et al. A highly conserved region in the hormone-binding domain of the human vitamin D receptor contains residues vital for heterodimerization with retinoid X receptor and for transcriptional activation. *Mol Endocrinol* 1995;9:1166–1179.
- Zechel C, XQ Shen, JY Chen, et al. The dimerization interfaces formed between the DNA binding domains of RXR, RAR and TR determine the binding specificity and polarity of the full-length receptors to direct repeats. *EMBO J* 1994;13:1425–1433.
- Institute of Medicine Washington. Dietary Reference Intakes for vitamin D and calcium. www.iom.edu/Activities/Nutrition/DRIVitDCalcium.aspx. Accessed, 2010. Posted: 11/11/2010, US Pharmacist 2010; Jobson Publishing.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *Engl J Med* 2007;357(3):266–281.
- Holick MF. Vitamin D, importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 2004;79(3):362–371.
- Bikle DD, M.D., Ph.D. – Professor of Medicine, University of California – VA Medical Center, 4150 Clement St.(111N), San Francisco, CA Vitamin D, Chapter 3, 2008; Production, Metabolism and Mechanisms of Action.
- Holick MF. Vitamin D: a D-Lightful health perspective. *Nutr Rev* 2008;66(10 Suppl 2):S182–194.
- Blanco JCG, Wang IM et al. Transcription factor TFIIIB and the vitamin D receptor cooperatively activate ligand-dependent transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:1535–1539.
- Blunt JW, DeLuca HF, Schnoes HK. 25-Hydroxycholecalciferol. A biologically active metabolite of vitamin D3. *Biochemistry* 1968;7:3317–3322.
- Cali JJ, Russell DW. Characterization of human sterol 27-hydroxylase. A mitochondrial cytochrome P-450 that catalyzes multiple oxidation reactions in bile acid biosynthesis. *J Biol Chem* 1991;266:7774–7778.
- Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J* 1996;10:940–954.
- Christakos SR, Gill S, Lee H. Li. Molecular aspects of the calbindins. *J Nutr* 1992;122:678–682.
- Darwish HM, DeLuca HF. Recent advances in the molecular biology of vitamin D action. *Prog. Nucleic Acid Res Mol Biol* 1996;53:321–344.
- DeLuca HF. Vitamin D: metabolism and function. In: Monographs on Endocrinology, edited by F. Gross, M. M. Grombach et al. New York: Springer-Verlag, 1979; pp1–78.
- DeLuca HF, Schnoes HK. Metabolism in mechanism of action of vitamin D3. *Ann Rev Biochem* 1976;45:631–666.
- Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1968;240:889–895.

35. Feldman DF, Glorieux H, Pike W. Vitamin D. San Diego, CA: Academic 1999; pp 1–1285.
36. Jin CH, Pike JW. Human vitamin D receptor-dependent transactivation in *Saccharomyces cerevisiae* requires retinoid X receptor. *Mol Endocrinol* 1996;10: 196–205.
37. Lohnes D, Jones G. Further metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in target cells. *Proceedings of the First international Congress on Vitamins and Biofactors in Life Science. J Nutr Sci* 1992; Vitaminol. Special Issue: pp 75–78.
38. Madhok TC, DeLuca HF. Characteristics of the rat liver microsomal enzyme system converting cholecalciferol to 25-hydroxycholecalciferol. Evidence for participation of cytochrome P-450. *Biochem J* 1979;184:491–499.
39. Mangelsdorf DJ, Evans RM. The RXR heterodimers and orphan receptors. *Cell* 1995;83:841–850.
40. Munder M, Herzerberg IM, Zierold C et al. Identification of the porcine intestinal accessory factor that enables DNA sequence recognition by vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:2795–2799.
41. Rotkiewicz P, Sicinska W, Kolinsky A, DeLuca HF. Model of three-dimensional structure of vitamin D receptor and its binding mechanism with 1- α -25-dihydroxyvitamin D₃. *Proteins* 2001;44:188–191.
42. Bikle D. Vitamin D. Production, Metabolism and mechanism of Action. Ed 2009; University of California.
43. Holick MF. Vitamin D-Physiology molecular Biology and clinical applications, Humana Press, New Jersey 1999; pp 1–17.
44. Malloy PJ, Pike JW, Feldman D. The Vitamin D Receptor and the Syndrome of Hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D-Resistant Rickets. *Endocrine Reviews* 1999; 20(2):156–188.
45. Renton P. Radiology of rickets, osteomalacia and hypothyroidism. *Hosp Med* 1998;59(5):399–403.