



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

VITAMINA D: DAGLI ALIMENTI ALLA  
FUNZIONE BIOLOGICA E CONDIZIONI DI  
IPOVITAMINOSI

VITAMIN D: FROM FOOD TO BIOLOGICAL  
FUNCTIONS AND DISEASES FROM ITS  
DEFICIENCY

TIPO TESI: compilativa

Studente:

RACHELE SANTONI

Relatore:

PROF. MICHELE CIANCI

ANNO ACCADEMICO 2020-2021



# SOMMARIO

ELENCO DELLE FIGURE .....	4
ACRONIMI E ABBREVIAZIONI .....	5
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI .....	6
CAPITOLO 1 VITAMINA D: .....	7
1.1 Forme e produzione di Vitamina D.....	9
1.2 Funzioni biologiche .....	10
1.3 Fonti alimentari e livelli di assunzione .....	12
CAPITOLO 2 VIE METABOLICHE DELLA VITAMINA D:.....	15
2.1 Meccanismo di sintesi.....	16
2.2 Colesterolo e destini metabolici.....	18
2.3 Attivazione vitamina D tramite idrossilazione ed enzimi coinvolti.....	20
CAPITOLO 3 MECCANISMO DI AZIONE VITAMINA D .....	27
3.1 A livello genetico.....	28
3.2 Trasporto nel torrente ematico e destinazione finale della vitamina.....	32
3.3 Proteina DBP, o D-binding protein.....	34
CAPITOLO 4 CORRELAZIONE CARENZA VITAMINICA E PATOLOGIE .....	36
CAPITOLO 5 STUDI SUGLI ALIMENTI FORTIFICATI CON VITAMINA D .....	40
5.1 Latte fortificato .....	41
5.2 Yogurt fortificato .....	42
5.3 Formaggio fortificato.....	43
5.4 Conclusioni .....	44
CONCLUSIONI .....	45
BIBLIOGRAFIA .....	47

## ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1: Struttura chimica Vitamina D2 e Vitamina D3 .....	8
Figura 2: Alimenti con vitamina D3 .....	13
Figura 3: Livelli ematici.....	14
Figura 4: 1,25-diidrossivitamina D3 .....	15
Figura 5: Processo di sintesi vitamina D3.....	17
Figura 6: Vie metaboliche del 7-DHC. ....	20
Figura 7: Citocromo P450.....	21
Figura 8: Via metabolica della vitamina D. ....	22
Figura 9: Idrossilazioni vitamina D .....	24
Figura 10: Biosintesi della vitamina D ed enzimi coinvolti.....	26
Figura 11: Rappresentazione schematica dei domini funzionali del VDR .....	29
Figura 12: Struttura tridimensionale del VDR. ....	29
Figura 13: Schema del meccanismo molecolare dell'azione della vitamina D attraverso l'espressione genica mediata da VDR. ....	31
Figura 14: Acido calcitroico .....	33
Figura 15: Struttura genica e cromosomica di DBP.....	35
Figura 16: Struttura del DBP umano legata al 25OHD.....	35
Figura 17: Variazioni sieriche 25(OH)D dopo l'assunzione di alimenti fortificati con vitamina D.....	41
Figura 18: Assunzione alimentare (media $\pm$ DS) dei soggetti dello studio al basale, 12 mesi e 24 mesi .....	42

## ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

D2	Vitamina D2 o Ergocalciferolo
D3	Vitamina D3 o Colecalciferolo
7-DHC	7-Deidrocolesterolo
DHCR7	Enzima 7-deidrocolesterolo reductasi
VDR	Recettore vitamina D
VDRE	Elementi di risposta alla vitamina D
PTH	Ormone paratiroideo
25(OH)D	Calcidiolo
1,25(OH) <sub>2</sub> D	Calcitriolo
RANKL	Attivatore del recettore del ligando del fattore nucleare kappa-B
CAMP	Adenosina monofosfato ciclico
DBP	Proteina legante la vitamina D
CYP2R1	Enzima 25-idrossilasi
CYP27B1	Enzima 1-idrossilasi
CYP27A1	Enzima mitocondriale 25-idrossilasi
CYP24A1	Enzima 24-idrossilasi
NADPH	Nicotinammide adenina dinucleotide fosfato
RXR	Recettore retinoide X
CBP	Proteina legante il calcio

## INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

La vitamina D è una vitamina liposolubile a cui normalmente ci si riferisce a una classe di composti costituita da 5 diversi proormoni liposolubili.

In questa tesi si prenderà in esame soltanto le due forme di vitamina D più importanti, la vitamina D2 detta ergocalciferolo e la vitamina D3 detta colecalciferolo.

Tali vitamine sono indispensabili per controllare e regolare numerosi processi metabolici, in particolare metabolismo del calcio e del fosforo.

Si andranno a definire le fonti alimentari della vitamina e in particolar modo verrà analizzato il processo metabolico per la sua formazione, con particolare attenzione alle fasi e ai vari enzimi coinvolti.

Sarà fatta un'importante considerazione sul colesterolo, in particolare sul 7-deidrocolesterolo precursore della vitamina D e quindi essenziale per la sua formazione e futura funzione.

Essendo la vitamina D un proormone si evidenzierà il suo meccanismo d'azione a livello genetico, con l'interazione tra il recettore della vitamina D VDR e la sequenza di DNA a cui si lega il complesso.

Infine, si delinea l'importanza della vitamina D nei processi metabolici e di conseguenza le possibili patologie cliniche che possono insorgere con un deficit ematico della stessa.

# Capitolo 1

## VITAMINA D

Le vitamine sono composti organici indispensabili per le funzioni vitali dell'organismo, fanno parte dei micronutrienti poiché il corpo ne ha bisogno solo in piccole quantità. Si possono suddividere in due grandi gruppi: idrosolubili e liposolubili.

Le vitamine idrosolubili si sciolgono in acqua, ne fanno parte la vitamina C, o acido ascorbico e le vitamine del gruppo B. Le vitamine liposolubili si sciolgono nei grassi e sono la A, D, E, K.

La loro azione è più articolata e varia, in alcuni casi, come per la vitamina D, possono anche avere un ruolo simile agli ormoni.

La vitamina D è una vitamina liposolubile rappresentata da 5 diverse forme, le più importanti sono la vitamina D2 ergocalciferolo e la vitamina D3 detta colecalciferolo. Entrambe sono utili al fabbisogno dell'uomo ma differiscono sotto alcuni aspetti.

La Vitamina D2 è di provenienza vegetale, deriva dall'ergosterolo e viene assunta solo con l'alimentazione.

La Vitamina D3 è prodotta dal corpo quando la radiazione ultravioletta penetra nella pelle e converte il 7-deidrocolesterolo nella pre-vitamina D3, che viene rapidamente convertita in vitamina D3.

Le due forme hanno attività biologica molto simile e possono essere considerate come precursori della forma attiva della vitamina.

Attualmente vi è un enorme interesse scientifico per lo studio di questa molecola che va dalla comprensione dell'attività biologica alle innumerevoli funzioni che svolge.

La letteratura scientifica che valuta la relazione tra l'adeguatezza della vitamina con la malattia umana è molto vasta, ma è stato affermato che è attivamente coinvolta in molti compiti.

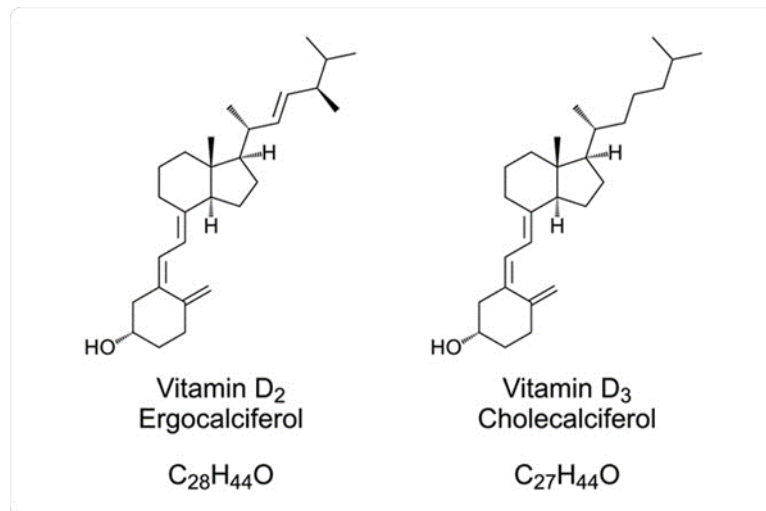
Una panoramica delle principali funzioni può essere descritta determinando il ruolo essenziale della vitamina che governa l'assorbimento del calcio a livello renale e quello del fosfato a livello intestinale.

Regola inoltre i processi di mineralizzazione dell'osso per mantenere la forza ossea e muscolare tramite i recettori espressi nelle cellule muscolari.

È stata determinata anche la partecipazione alla funzionalità del sistema cardiovascolare (Daniel D. Bikle, 2014).

Il suo meccanismo d'azione è piuttosto anomalo, poiché agisce più come un ormone steroideo che come una vitamina.

Essa, infatti, penetra nella cellula e raggiunge un recettore nucleare al quale si lega VDR (vitamin D receptor), attivando la produzione di varie proteine, tra cui dei trasportatori per il calcio.



**Figura 1: Struttura chimica Vitamina D2 e Vitamina D3**

*([https://www.newsmedical.net/image.axd?picture=2021%2F3%2Fshutterstock\\_1891270564.jpg](https://www.newsmedical.net/image.axd?picture=2021%2F3%2Fshutterstock_1891270564.jpg))*

Dal punto di vista chimico la vitamina D deriva dagli steroidi, che sono derivati ossidati degli steroli, hanno quattro anelli idrocarburici condensati, di cui tre sono a sei atomi di carbonio, e un anello a cinque atomi con disposizione simile al ciclopentanoperidrofenantrene.

La varietà di questi composti sta nella diversità dei gruppi funzionali e della catena laterale alchilica.



La vitamina non mantiene questa struttura predefinita, ma diventa un secosteroide in cui l'anello B del tipico nucleo steroideo è sostituito da un ponte 5,7-diene, coniugato con un altro doppio legame, a formare il sistema cis-trienico. (Ranuccio Nuti, 1986)

Le due forme vitaminiche D2 e D3 si differenziano nella struttura chimica per la presenza di un doppio legame tra C22 e C23 e un gruppo metile in C24 nella catena laterale nella D3.

### 1.1 Forme e produzione di Vitamina D

La vitamina D nel corpo proviene da fonti endogene ed esogene.

La fonte esogena rappresentata dalla vitamina integrata tramite la dieta può fornire colecalciferolo (vitamina D3) di origine animale o ergocalciferolo (vitamina D2) di origine vegetale.

La vitamina D2 viene sintetizzata in seguito all'esposizione alla luce ultravioletta dell'ergosterolo, presente nei lieviti e nelle piante.

L'ergosterolo è un alcol steroideo non saturo a 28 atomi di carbonio, è costituito dal nucleo tetraciclico proprio degli steroidi a cui è unita al C17 una catena olefinica a 9 atomi di carbonio.

Distribuito largamente nel regno vegetale e particolarmente abbondante nei funghi e nelle alghe, è un componente fondamentale della membrana cellulare dei miceti, dove svolge le stesse funzioni del colesterolo nelle cellule animali.

La vitamina D2 prima di poter espletare la propria attività nel corpo deve subire un processo di idrossilazione al livello renale che la rende biologicamente attiva. (<https://www.my-personaltrainer.it/vitamina-d.html>)

La fonte endogena di vitamina D è rappresentata sempre dal colecalciferolo che viene però sintetizzato negli strati basali dell'epidermide dal 7-deidrocolesterolo mediante irradiazione ultravioletta (UV).

Da questo processo si forma una pre-vitamina D3 che isomerizza a D3 in un processo termosensibile ma non catalitico. (Daniel D. Bikle, 2014)

Per quanto riguarda la produzione di D3, essa non avviene con un processo enzimatico, viene sintetizzata nella cute dalla conversione del 7-deidrocolesterolo a previtamina D3 dopo l'esposizione ai raggi ultravioletti (spettro 280-320 UVB) attraverso una reazione proteolitica.

La pre-vitamina D3 è un composto intermedio e instabile che subisce rapidamente il riarrangiamento del doppio legame e si converte spontaneamente in un composto termodinamicamente più stabile, la vitamina D3.

L'eccesso di pre-vitamina D3 o vitamina D3 viene distrutto dalla luce solare per cui un'eccessiva esposizione al sole non comporta un avvelenamento da tale composto.

I raggi UV risultano essere la strategia migliore per ottenere quantità adeguate di vitamina D3 endogena che viene immagazzinata nel tessuto adiposo e rimane come deposito nei periodi in cui c'è meno esposizione al sole.

La sintesi cutanea della vitamina D dipende da fattori come la pigmentazione della pelle, contenuto cutaneo di 7-deidrocolesterolo, età, latitudine geografica, la quantità di pelle esposta o l'uso di creme solari.

È stato dimostrato che la diversa pigmentazione della pelle nell'uomo influenza notevolmente la produzione.

Soltanto una piccola quantità di radiazione UVB è in grado di penetrare nell'epidermide di una pelle notevolmente scura e pigmentata per produrre la vitamina.

Ciò è stato appurato esponendo adulti con diversi tipi di pelle, alla stessa quantità di radiazioni.

Mentre gli adulti di etnia europea hanno aumentato i livelli ematici di vitamina D3 di oltre 30 volte, gli adulti di etnia africana non hanno dimostrato nessun aumento significativo di tali livelli. (Matthias Wacker & Michael F. Holick, 2013)

## **1.2 Funzioni biologiche**

La vitamina D è in realtà un ormone.

La maggior parte delle sue azioni sono mediate dal legame al recettore della vitamina D (vitamin D receptor) VDR, inizialmente individuato nelle cellule della mucosa intestinale ma presente in tutti i tessuti sui quali la vitamina esercita una qualche azione: reni, ossa, paratiroidi, pelle e vari elementi cellulari del sistema immunitario.

La vitamina D svolge innumerevoli funzioni nell'organismo, ma la principale è quella che ha sull'omeostasi del calcio e del fosforo, processo cooperato con l'ormone paratiroideo (PTH) e della calcitonina. (Maria Luisa Brandi, Raffaella Michieli, 2015)

È necessario mantenere il livello di calcio nel sangue in un range ben preciso per evitare conseguenze irreversibile all'organismo.

Quando si ha un'ipocalcemia, ovvero una bassa concentrazione di calcio nel siero, le ghiandole paratiroidi rilasciano PTH che a livello del rene e della mucosa intestinale stimola la conversione della vitamina D3 nella forma attiva.

Successivamente a livello dei tessuti bersaglio la vitamina permette di normalizzare il livello sierico promuovendo il rilascio di calcio. (Maria Luisa Brandi, Raffaella Michieli, 2015)

Nel tratto gastroenterico grazie all'interazione del calcitriolo (1,25-diidrossicolecalciferolo o 1,25(OH)D) con il recettore intestinale della vitamina D (VDR) aumenta l'efficienza dell'assorbimento del calcio.

Nell'osso promuove la mobilizzazione del calcio osseo attraverso un aumento della differenziazione di cellule precursori in osteoclasti, cellule responsabili del processo di riassorbimento dell'osso.

La forma biologicamente attiva di vitamina è riconosciuta dal suo recettore nell'osteoblasto, in modo da causare un aumento dell'espressione dell'attivatore del recettore del fattore nucleare kB ligando (RANKL).

Quest'ultimo lega il RANK presente sui preosteoclasti, inducendo la maturazione del preosteoclasto in osteoclasto maturo.

L'osteoclasto maturo rimuove il calcio e il fosforo dall'osso, mantenendo i livelli necessari di calcio e fosforo nel sangue. (Holick, 2006)

Al contrario quando la concentrazione ematica del calcio aumenta in maniera eccessiva la tiroide secerne calcitonina, ormone che a sua volta inibisce l'attività delle paratiroidi che riduce l'attività di riassorbimento dell'osso e l'assorbimento di calcio nell'intestino, aumentandone l'escrezione con le urine.

Per cui in caso di carenza di vitamina D si registrano problemi più o meno severi a carico dello scheletro, come il rachitismo caratteristico dei bambini, causato da un difetto di ossificazione del tessuto osseo di nuova formazione, fino all'osteomalacia tipica degli adulti,

comporta un difetto di mineralizzazione della matrice ossea con deficit di minerali con conseguente fragilità ossea suscettibile a fratture, malformazioni e dolori.

La vitamina D è protagonista anche nell'attivazione del sistema immunitario, il quale comprende due tipi di immunità che cooperano tra loro.

L'immunità innata che rappresenta la prima linea difensiva dell'organismo in grado di prevenire le infezioni.

Fanno parte del sistema immunitario innato i linfociti NK (Natural killer), i mastociti, gli eosinofili, i basofili, i macrofagi, i neutrofilo e le cellule dendritiche.

Mentre l'immunità adattativa crea una memoria immunologica dopo una risposta iniziale ad un agente patogeno specifico e porta ad una risposta immunitaria potenziata negli eventuali successivi incontri con quel patogeno, le cellule che agiscono in questo tipo di risposta immunitaria sono dette linfociti.

La vitamina D entra a far parte del meccanismo dell'immunità innata; infatti, la risposta immunitaria comporta l'attivazione di alcuni recettori che possono trovarsi sia sulla membrana plasmatica di alcune cellule immunitarie sia all'interno del loro citoplasma.

Il compito di questi recettori è quello di legarsi a strutture molecolari specifiche presenti sui patogeni e scatenare la risposta immunitaria.

I recettori Toll-like (TLR) sono la classe principale di recettori dell'immunità innata che riconoscono molecole espresse comunemente dai batteri o dai virus.

La risposta immunologica comporta l'attivazione di questi recettori nelle cellule polimorfonucleate, nei monociti e macrofagi che promuove l'induzione di peptidi antimicrobici (AMP) come la catelicidina che uccidono il patogeno.

L'espressione di questa molecola è indotta dalla vitamina D nella forma attiva sia nelle cellule mieloidi che in quelle epiteliali.

È stato affermato che adeguati livelli di vitamina D promuovono la risposta immunitaria innata. (Daniel D. Bikle, 2014)

### **1.3 Fonti alimentari e livelli di assunzione**

La vitamina D può essere introdotta anche dalla dieta.

Le fonti naturali di vitamina D non sono molto abbondanti e si trovano principalmente nell'olio di fegato di pesce (olio di fegato di merluzzo) e nei pesci grassi come aringhe, anguille, sardine e salmone.

La vitamina D nel pesce è la D3, mentre quella D2 di origine vegetale è presente in quantità trascurabili in piante e funghi, prodotta dall'irradiazione UVB dell'ergosterolo.

Normalmente la forma D2 viene usata per fortificare gli alimenti e quindi come integratore.

Come già definito, la differenza nella struttura chimica della vitamina D2 dalla D3, riducono la sua affinità per il DBP (proteina legante la vitamina D) nel sangue, con conseguente eliminazione più rapida dal torrente ematico.

Ragion per cui a meno che non venga somministrata quotidianamente, l'integrazione di D2 non determina un livello ematico tanto elevato quanto quello della vitamina D3.

L'esposizione alla luce solare risulta essere la miglior fonte di produzione di vitamina D (D2 o D3) per l'organismo umano. (Daniel D. Bikle, 2014)

<b>Latte e latticini</b>	<b>Contenuto medio di vitamina D</b>
Latte vaccino	5-40 UI/L
Latte di capra	5-40 UI/L
Burro	30 UI/100 g
Yogurt	2,4 UI/100 g
Panna	30 UI/100 g
Formaggi	12-40/100 g

<b>Altri alimenti</b>	<b>Contenuto medio di vitamina D</b>
Maiale	40-50 UI/100 g
Fegato di manzo	40-70 UI/L
Dentice, merluzzo, orata, palombo, sogliola, trota, salmone, aringhe	300-1500/100 g
Olio di fegato di merluzzo	400 UI/5ml (1 cucchiaino da the)
Tuorlo d'uovo	20 UI/100 g

§UI: Unità Internazionali \*Adattata da Saggese et al. 2018

**Figura 2: Alimenti con vitamina D3**

([https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1030827/SCHEDA\\_CITTADINO\\_VIT-D\\_31.10.2019.pdf](https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1030827/SCHEDA_CITTADINO_VIT-D_31.10.2019.pdf))

Le concentrazioni sieriche di vitamina D dipendono dall'età, a parità di esposizione solare, il soggetto anziano ne produce il 30% in meno, dal genere, dall'assunzione di farmaci e dall'etnia.

L'apporto dietetico di colecalciferolo (D3) e l'efficace esposizione alla luce solare sono i principali fattori che determinano la concentrazione sierica di vitamina.

La crescente evidenza scientifica degli effetti correlati di bassi livelli circolanti di vitamina D ha indotto una ricerca approfondita per la sua determinazione.

Il dosaggio della vitamina D nella forma sierica calcidiolo 25(OH)D rappresenta il metodo più accurato per stimare lo stato di riserva di vitamina D nell'organismo. (Binkley N, 2010)

I valori desiderabili di calcidiolo 25(OH)D sono compresi tra 20 e 40 ng/mL.

Infatti, per valori superiori ai 20 ng/mL si considera garantita l'efficacia per il metabolismo scheletrico.

Valori indicativi di "carenza" di vitamina D sono individuati inferiori a 20 ng/mL.

Il dosaggio di laboratorio per la determinazione della vitamina è rappresentato dal calcidiolo (25-idrossivitamina D o 25(OH)D) che è il metodo più accurato per stimare lo stato di riserva vitaminica D di insufficienza, carenza o intossicazione;

Questa analisi risulta appropriata in pazienti con condizioni associate a rischio di carenza o insufficienza di vitamina D e per il monitoraggio negli adulti che assumono integratori.

**Tabella I - Interpretazione dei livelli ematici di 25(OH)D.**

Definizione	nmol/L	ng/ml
Carenza	<50	<20
Insufficienza	50-75	20-30
Eccesso	>250	>100
Intossicazione	>375	>150

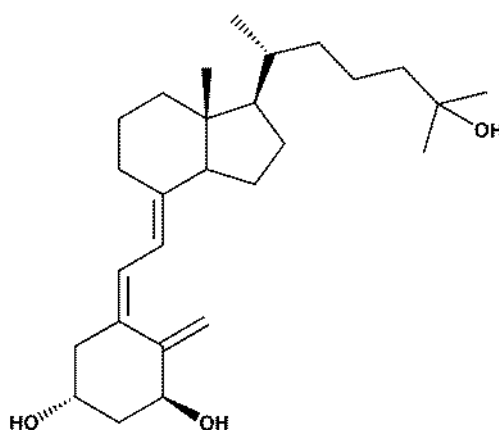
**Figura 3: Livelli ematici**

(<https://i2.wp.com/vitaminad.it/wp-content/uploads/2015/10/Immagine1.jpg>)

## Capitolo 2

### VIE METABOLICHE DELLA VITAMINA D

Per svolgere le funzioni nell'organismo la vitamina D si deve trovare nella forma ormonale biologicamente attiva, calcitriolo o 1,25-diidrossivitamina D<sub>3</sub> (1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>).



*Figura 4: 1,25-diidrossivitamina D<sub>3</sub>*

[https://isosciences.com/wp-content/uploads/product\\_images/2018-3-21\\_5154UNL.png](https://isosciences.com/wp-content/uploads/product_images/2018-3-21_5154UNL.png)

Per tanto per comprendere il suo ruolo è necessario definire gli aspetti del metabolismo, la sua attivazione e il meccanismo d'azione nei tessuti bersaglio.

Fino a non molto tempo fa si riteneva che la vitamina D fosse attiva direttamente a livello degli organi interessati senza nessuna necessità di subire particolari modificazioni strutturali.

In seguito, è stato invece dimostrato che prima di svolgere le sue specifiche azioni fisiologiche deve andare incontro ad un processo di metabolizzazione che nel corso delle ricerche si è rivelato sempre più complesso. (Ranuccio Nuti, 1986)

La vitamina D<sub>3</sub> è prodotta nella pelle dal 7-deidrocolesterolo sotto l'influenza della luce UV, viene prima metabolizzata a calcidiolo (25 idrossi-vitamina D (25OHD), quindi alla forma ormonale calcitriolo (1,25-diidrossivitamina D (1,25 (OH)<sub>2</sub>D).

In questo processo intervengono enzimi che regolano le due reazioni di idrossilazione consecutive della vitamina catalizzate da specifici enzimi del citocromo P450.

La prima idrossilazione si verifica a livello del carbonio in posizione 25, ha luogo nel fegato con l'enzima 25-idrossilasi (CYP2R1) per formare il pro-ormone, calcidiolo (25-idrossivitamina D).

Questa forma si lega ad una proteina specifica trasportatrice, la proteina legante la vitamina D (DBP).

Il livello di questo metabolita calcidiolo 25(OH)D nel siero è quello che riflette meglio lo stato della vitamina D nell'individuo. (Maria Luisa Brandi, Raffaella Michieli, 2015)

La seconda idrossilazione si verifica a livello del carbonio in posizione 1 della 25-idrossivitamina D da parte della 1 $\alpha$ -idrossilasi renale (CYP27B1) ed è responsabile della sintesi del metabolita biologicamente attivo il calcitriolo (1,25-diidrossivitamina D).

Questa molecola è il ligando per il recettore della vitamina D (VDR), un fattore di trascrizione che si lega ai siti nel DNA chiamati elementi di risposta alla vitamina D (VDRE). (Daniel D. Bikle, 2014)

Vi è una possibile terza idrossilazione tramite la 24-idrossilasi, che avviene sempre nel rene e si produce un terzo metabolita il 24,25-diidrossicolecalciferolo, una forma inattiva della vitamina.

## 2.1 Meccanismo di sintesi

La vitamina D<sub>3</sub>, colecalciferolo, è la forma naturale della vitamina D che viene prodotta nella pelle dal 7-deidrocolesterolo (7-DHC) tramite un processo non enzimatico.

La reazione nella pelle è un processo puramente fotochimico che non richiede enzimi.

La radiazione efficace per la sua produzione copre la gamma spettrale di (255–330 nm) con un massimo a circa 295 nm (UVB).

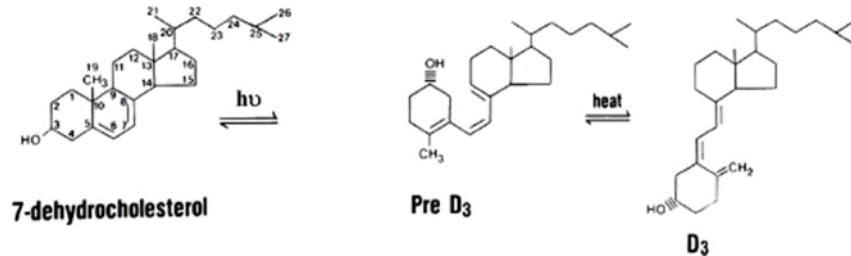
Un'esposizione di tutto il corpo alle radiazioni UVB per 15-20 min è in grado di indurre la produzione fino a 250  $\mu$ g di vitamina D. (Mostafa WZ, Hegazy RA, 2014)

Il 7-DHC assorbe la luce ultravioletta che determina una rottura eterociclica del legame 9,10 per produrre la previtamina D<sub>3</sub> (Pre-D<sub>3</sub>).

Quest'ultimo è un composto biologicamente inerte che isomerizza spontaneamente in D<sub>3</sub>, subendo un riarrangiamento sensibile alla temperatura di tre doppi legami.



Inizialmente si ha la forma 6-s-cis che ruota rapidamente attorno al suo legame singolo 6,7 formando la conformazione trans più comunemente rappresentata e più stabile. (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)



**Figura 5: Processo di sintesi vitamina D3.**

***L'anello B del 7-DHC viene rotto dalla radiazione UVB e il pre-D3 formato si isomerizza a D3 in un processo termosensibile.***

***(<https://europepmc.org/articles/PMC3968073/bin/nihms-557928-f0001.jpg>)***

Questo primo processo dipende dall'intensità dell'irradiazione ultravioletta quindi dalla stagione e dalla latitudine ma è influenzato anche dal livello di pigmentazione della pelle.

La melanina nella pelle impedisce ai raggi UVB di raggiungere il 7-DHC limitando la produzione di D3. (Daniel D. Bikle, 2014).

Una volta sintetizzata per via cutanea la vitamina viene rilasciata dalla membrana plasmatica ed entra nella circolazione sistemica legata alla proteina legante la vitamina D (DBP).

Le concentrazioni sieriche di vitamina D3 raggiungono il picco 24–48 ore dopo l'esposizione ai raggi UV.

Successivamente i livelli di vitamina D3 diminuiscono in modo esponenziale con un'emivita sierica compresa tra 36 e 78 ore. (Mostafa WZ, Hegazy RA, 2014)

Essendo una molecola liposolubile, la vitamina D3 può essere assorbita dagli adipociti e immagazzinata nel grasso sottocutaneo come riserva per un uso successivo.

La distribuzione della vitamina nel tessuto adiposo prolunga la sua emivita corporea totale a circa due mesi. (Mostafa WZ, Hegazy RA, 2014)

Poiché possa attivarsi ed esplicare le sue funzioni nell'organismo la vitamina D deve subire una serie di reazioni chimiche, ovvero delle idrossilazioni successive in vari tessuti.

L'idrossilazione è una reazione chimica caratterizzata dall'introduzione di gruppi idrossile (OH-) in una molecola.

La prima reazione di idrossilazione che subisce la molecola è a livello del fegato, la vitamina D trasportata dal circolo sanguigno è trasformata in calcidiolo (idrossi-vitamina D o 25(OH)D) mediante l'enzima 25-idrossilasi.

Molti enzimi del citocromo P- 450 (CYP) inclusi CYP2R1, CYP27A1 e CYP2D25 sono stati considerati autori responsabili della conversione della vitamina D in 25 (OH)D.

È stato visto che il CYP2R1, identificato per la prima volta come vitamina D 25-idrossilasi microsomiale è la principale 25-idrossilasi. (Daniel D. Bikle, 2014)

Sebbene l'enzima 25-idrossilasi è fondamentale per questa reazione, anche altri enzimi hanno un'attività di idrossilazione che può influenzare i livelli di calcidiolo 25(OH)D nel sangue. (Daniel D. Bikle, 2014)

A questo punto il calcidiolo 25(OH)D rientra nel circolo sanguigno legandosi nuovamente alle DBP (proteina legante vitamina D) e raggiunge il rene.

Qui può andare incontro a due diverse reazioni di idrossilazione, catalizzate da differenti idrossilasi: la 1 $\alpha$ -idrossilasi e la 24-idrossilasi.

Queste due reazioni producono rispettivamente calcitriolo (1,25-diidrossicolecalciferolo o 1,25(OH)D) che quindi subisce un'ulteriore idrossilazione in posizione 1 e produce la vitamina D attiva, o seguire la seconda via e trasformarsi in 24,25-diidrossicolecalciferolo (24,25(OH)D), una forma inattiva. (Ranuccio Nuti, 1986)

L'1,25(OH)<sub>2</sub>D rappresenta la forma biologicamente attiva della vitamina D<sub>3</sub> che è stata quindi considerata un pro-ormone da cui deriva l'ormone vero e proprio.

Il metabolita finale è in grado di agire sugli organi bersaglio come intestino, ossa e reni senza essere ulteriormente idrossilato. (Ranuccio Nuti, 1986)

## **2.2 Colesterolo e destini metabolici**

Il colesterolo è uno steroide che presenta una struttura a quattro anelli carboniosi e in posizione C3 del primo anello è legato un gruppo alcolico.

Questo gruppo polare, attaccato alla restante molecola neutra la rende nel complesso un composto anfipatico.

La maggior parte del colesterolo viene prodotto dall'organismo per via endogena con oltre 20 enzimi coinvolti.

Tutte le cellule sono in grado di sintetizzare colesterolo a partire dall'acetil-coenzima A ma sono i perossisomi delle cellule epatiche che ne producono la maggior parte. (Maria Pia Boschi, Pietro Rizzoni, 2013)

Il colesterolo è il precursore degli ormoni steroidei e degli acidi biliari, ma non della vitamina D3 come spesso viene erroneamente affermato. (Anika V. Prabhu, Winnie Luu, Dianfan Li, Laura J. Sharpe, Andrew J. Brow, 2016)

Il ruolo di precursore della vitamina D3 appartiene al 7-deidrocolesterolo (7DHC) che è sia un substrato dell'enzima 7-deidrocolesterolo reduttasi (DHCR7) nella fase finale della via di Kandutsch-Russell, sia un precursore della vitamina D3 tramite l'azione della luce ultravioletta che provoca la scissione del legame C (9-10) nel 7DHC. (Anika V. Prabhu, Winnie Luu, Dianfan Li, Laura J. Sharpe, Andrew J. Brow, 2016)

La produzione di vitamina D dal 7-DHC sotto l'influenza della luce solare (UVB) è un processo termosensibile non enzimatico.

Mentre la produzione del colesterolo a partire dal 7-DHC è regolato da processi enzimatici, tra cui l'enzima DHCR7 che comprende 475 amminoacidi, incorporato nel reticolo endoplasmatico e utilizza NADPH come cofattore.

Presenta 10 domini transmembrana, un sito di legame NADPH nella regione catalitica e un dominio sensibile agli steroli. (Robert C. Tuckey a, Edith K.Y. Tang a, Yunzhi A. Chen a, Andrzej T. Slominski, 2021)

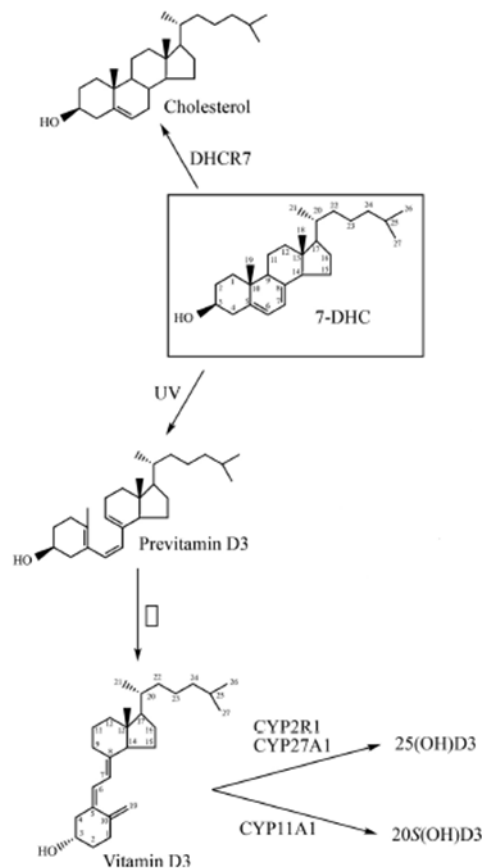
Questo enzima converte il 7-DHC in colesterolo, quindi la sua attività determina la quantità di 7-deidrocolesterolo disponibile per la produzione di vitamina D.

Il DHCR7 si trova in numerosi tessuti diversi dalla pelle, inclusi il cervello, i muscoli e il cuore. (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)

Sono state riscontrate delle mutazioni inattivanti dell'enzima DHCR7 che determinano la sindrome di Smith-Lemli-Opitz, un disturbo dello sviluppo.

Questi pazienti soffrono principalmente delle conseguenze di una quantità insufficiente di colesterolo, steroidi o acidi biliari, ma sembrano essere più sensibili alla luce UVB e possono

presentare concentrazioni sieriche di calcidiolo 25(OH)D più elevate rispetto ai soggetti normali. (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)



**Figura 6: Vie metaboliche del 7-DHC.**

***Il 7-DHC è sia un substrato dell'enzima 7-deidrocolesterolo reduttasi (DHCR7) per produrre colesterolo, sia un precursore della vitamina D3.***

***(Selective ability of rat 7-Dehydrocholesterol reductase (DHCR7) to act on some 7-Dehydrocholesterol metabolites but not on lumisterol metabolites Robert C. Tuckey a, Edith K.Y. Tang a , Yunzhi A. Chen a , Andrzej T. Slominski)***

### 2.3 Attivazione vitamina D tramite idrossilazione ed enzimi coinvolti

La vitamina D3 sintetizzata per via cutanea si diffonde attraverso il sangue fino al fegato legata alla proteina legante la vitamina D (DBP) mentre la vitamina D3 assunta per via alimentare viene assorbita nell'intestino tenue e trasportata dai chilomicroni e dalle lipoproteine.

Entrambe arrivano al fegato ma seguendo vie diverse.

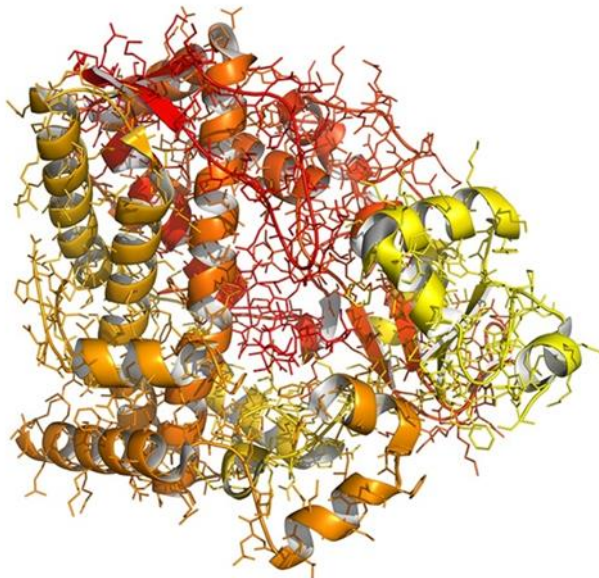
L'enzima epatico 25-idrossilasi codificato dal gene CYP2R1 converte la vitamina D a calcidiolo (25-idrossi-vitamina D o 25(OH)D).

Per diventare biologicamente attivo il calcidiolo 25(OH)D viene convertito nella forma ormonale calcitriolo (1,25-diidrossivitamina D o 1,25(OH)<sub>2</sub>D) principalmente nei reni ma anche in altri tessuti che esprimono l'enzima 1 $\alpha$ -idrossilasi che è codificato dal gene CYP27B1. (Daniel D. Bikle 2014)

Il metabolismo della vitamina D è quindi regolato da 3 fasi principali: la 25- idrossilazione, 1 $\alpha$ -idrossilazione e la 24-idrossilazione.

Tutte queste reazioni di idrossilazione sono eseguite da ossidasi a funzione mista (CYP) del citocromo P450. (Daniel D. Bikle, 2014)

La famiglia del citocromo P450 rappresenta il principale sistema enzimatico dedicato alla sintesi e al catabolismo di ormoni e farmaci nell'organismo umano. (Giuseppe Vezzoli, Lorenza Macrina, Teresa Arcidiacono, 2014)



**Figura 7: Citocromo P450**

[https://www.newsmedical.net/image.axd?picture=2018%2F7%2Fshutterstock\\_117135547.jpg](https://www.newsmedical.net/image.axd?picture=2018%2F7%2Fshutterstock_117135547.jpg)

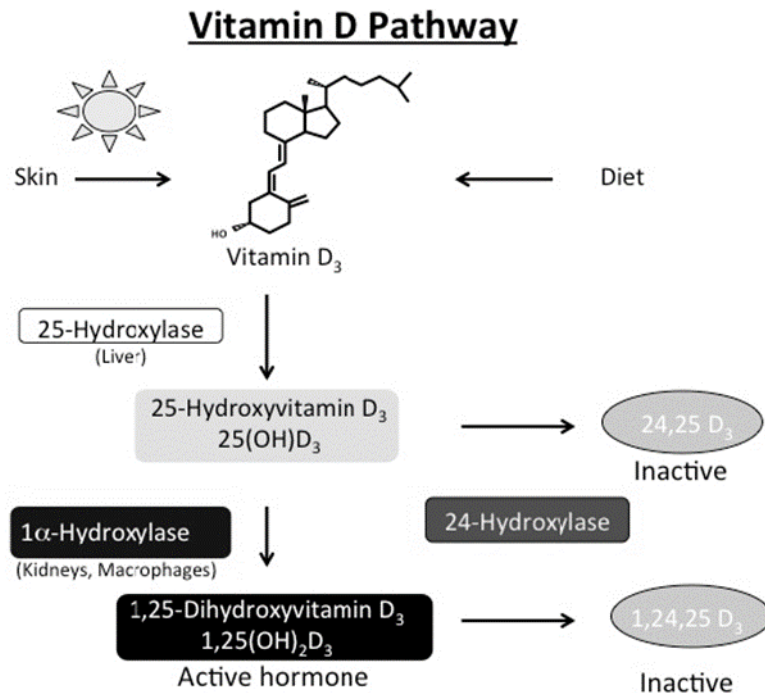
Questi tre passaggi per l'attivazione della vitamina D3 sono eseguiti da specifici enzimi che si trovano nel reticolo endoplasmatico (ER) come l'enzima CYP2R1 o nei mitocondri come gli enzimi CYP27A1, CYP27B1, CYP24A1.

Il donatore di elettroni per gli enzimi ER è il dinucleotide ridotto di nicotinamide adenina dinucleotide fosfato (NADPH) mentre il donatore di elettroni per gli enzimi mitocondriali è composto da ferredossina e ferredossina reductasi. (Daniel D. Bikle, 2014)

La prima reazione di idrossilazione che subisce la vitamina D<sub>3</sub> è da parte della 25-idrossilasi presente nel reticolo endoplasmatico e nei microsomi delle cellule epatiche.

È stato dimostrato che la epatectomia o l'isolamento del fegato dalla circolazione eliminano la capacità di trasformare la D<sub>3</sub> in calcidiolo 25(OH)D<sub>3</sub>. (Ranuccio Nuti, 1986)

Gli studi iniziali hanno suggerito che il CYP27A1, un enzima mitocondriale con sostanziale omologia sia con CYP27B1 che con CYP24A1 (rispettivamente 1 $\alpha$  e 24-idrossilasi) è la 25-idrossilasi principale. (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)



**Figura 8: Via metabolica della vitamina D.**

**La vitamina D<sub>3</sub> viene formata nella pelle dalla fotoconversione del 7-deidrocolesterolo o introdotta con la dieta. Successivamente viene convertita in 25-idrossivitamina D<sub>3</sub> (25(OH)D<sub>3</sub>). La 25(OH)D<sub>3</sub> viene attivata a 1,25-diidrossivitamina D<sub>3</sub> dalla 1 $\alpha$ -idrossilasi. La 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> rappresenta l'ormone attivo e induce anche il proprio catabolismo tramite l'enzima 24-idrossilasi. I metaboliti della vitamina D idrossilati vengono ulteriormente metabolizzati ed escreti nella bile.**

**(Vitamin D Metabolism in Dairy Cattle and Implications for Dietary Requirements, Corwin D Nelson)**

Un altro enzima è stato identificato nella frazione microsomiale del fegato di topo, il CYP2R1 che svolge la stessa reazione di idrossilazione sia sulla vitamina D2 che vitamina D3.

Uno studio nel topo ha dimostrato che la doppia eliminazione di questi enzimi CYP2R1 e CYP27A1 non riduce a zero il livello ematico di calcidiolo 25(OH)D suggerendo una compensazione da parte di altri enzimi con attività 25-idrossilasi. (Daniel D. Bikle, 2014)

Finora sono state descritte cinque mutazioni funzionali nel CYP2R1. (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)

La prima mutazione identificata è la mutazione leu99pro nel CYP2R1 in un nigeriano con patologia del rachitismo.

Ulteriori mutazioni includono K242N, trovato in un eterozigote composto con deficit di CYP2R1 e rachitismo familiare, mutazioni eterozigoti composte che coinvolgono un sito di splicing (367 + 1,G ad A) e un inserto 768,iT) in una famiglia araba e una delezione (gly42\_leu46 con un arg inserito) in una famiglia francese. (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)

La mutazione leu99pro è stata riprodotta in vitro e ha ridotto profondamente l'attività enzimatica del CYP2R1.

Per tanto il CYP2R1 ricopre il ruolo principale di 25-idrossilasi ma altri enzimi hanno la stessa attività di idrossilazione che può influenzare i livelli di calcidiolo 25(OH)D nel torrente ematico. (Daniel D. Bikle, 2014)

È stato accertato che la produzione di questo metabolita è regolata prevalentemente dallo stato vitaminico attraverso un meccanismo a feed-back che coinvolge il prodotto stesso della reazione, il calcidiolo 25(OH)D.

L'aumento nel plasma delle concentrazioni di D3 è in grado di esercitare un'azione di freno sull'attività della 25-idrossilazione. (Ranuccio Nuti, 1986)

Sebbene queste mutazioni abbiano provocato poca o nessuna attività della 25-idrossilasi in vitro, i soggetti mantengono livelli normali o addirittura elevati di calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D, e in alcuni casi rispondono sia alla vitamina D che alla 1 $\alpha$ OHD con ulteriori aumenti di calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D. (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)

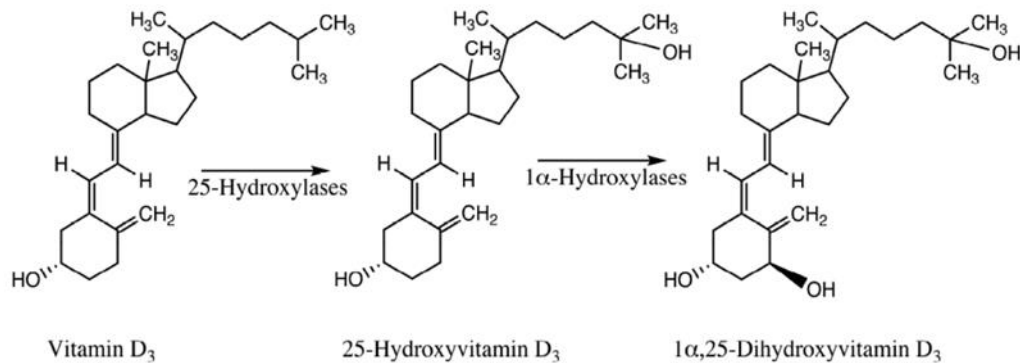
Da adulti tendono a perdere il loro bisogno di integrazione di vitamina D.

Tali dati suggeriscono che CYP2R1 non è l'unico enzima con attività 25-idrossilasi ma ci sono enzimi che possono entrare in gioco per compensare l'attività del CYP2R1 quando viene attenuata. (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)

La seconda idrossilazione che subisce la vitamina D3 è da parte della  $1\alpha$ -idrossilasi, la conversione del calcidiolo 25(OH)D in calcitriolo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  avviene a livello del parenchima renale.

L'enzima CYP27B1 serve per catalizzare la sintesi di calcitriolo ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ) attraverso l'idrossilazione renale del calcidiolo (25-idrossivitamina D o 25(OH)D).

Il CYP27B1 presenta aspetti omologhi ad altri enzimi mitocondriali coinvolti nel metabolismo della vitamina D come il CYP27A1 e CYP24A1. (Daniel D. Bikle, 2014)



**Figura 9: Idrossilazioni vitamina D**

[https://f1000researchdata.s3.amazonaws.com/manuscripts/5036/fe2748d3-6bf3-481e-aedc-e382c22029ad\\_figure1.gif](https://f1000researchdata.s3.amazonaws.com/manuscripts/5036/fe2748d3-6bf3-481e-aedc-e382c22029ad_figure1.gif)

A differenza della 25-idrossilazione, c'è solo questo enzima riconosciuto per avere questa attività e mutazioni indotte sul gene che lo regola hanno dimostrato una carenza di vitamina D causata da una inadeguata produzione di calcitriolo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ . (Daniel D. Bikle, 2014)

Il rene è la principale fonte di calcitriolo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  circolante, ma molti altri tessuti, tra cui le ossa, la placenta e le cellule del sistema immunitario esprimono il CYP27B1 producendo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ . (Daniel D. Bikle, 2014)

La regolazione del CYP27B1 in questi siti extracellulari differisce da quella del rene.

Nel rene il CYP27B1 è regolato principalmente dall'ormone paratiroideo (PTH) che stimola l'attività enzimatica mentre il fattore di crescita dei fibroblasti 23 (FGF23) e calcitriolo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  inibiscono il CYP27B1. (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)

La stimolazione da parte del PTH coinvolge l'AMP ciclico (cAMP) e gli elementi di risposta cAMP che sono stati trovati nel promotore prossimale del gene CYP27B1. (Daniel D. Bikle, 2014).



Mentre la regolazione del CYP27B1 extrarenale è diversa, infatti i cheratinociti rispondono al PTH con un aumento della produzione di calcitriolo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  anche se non hanno il recettore PTH.

Il meccanismo di stimolazione per queste cellule rimane ancora poco chiaro. (Daniel D. Bikle, 2014)

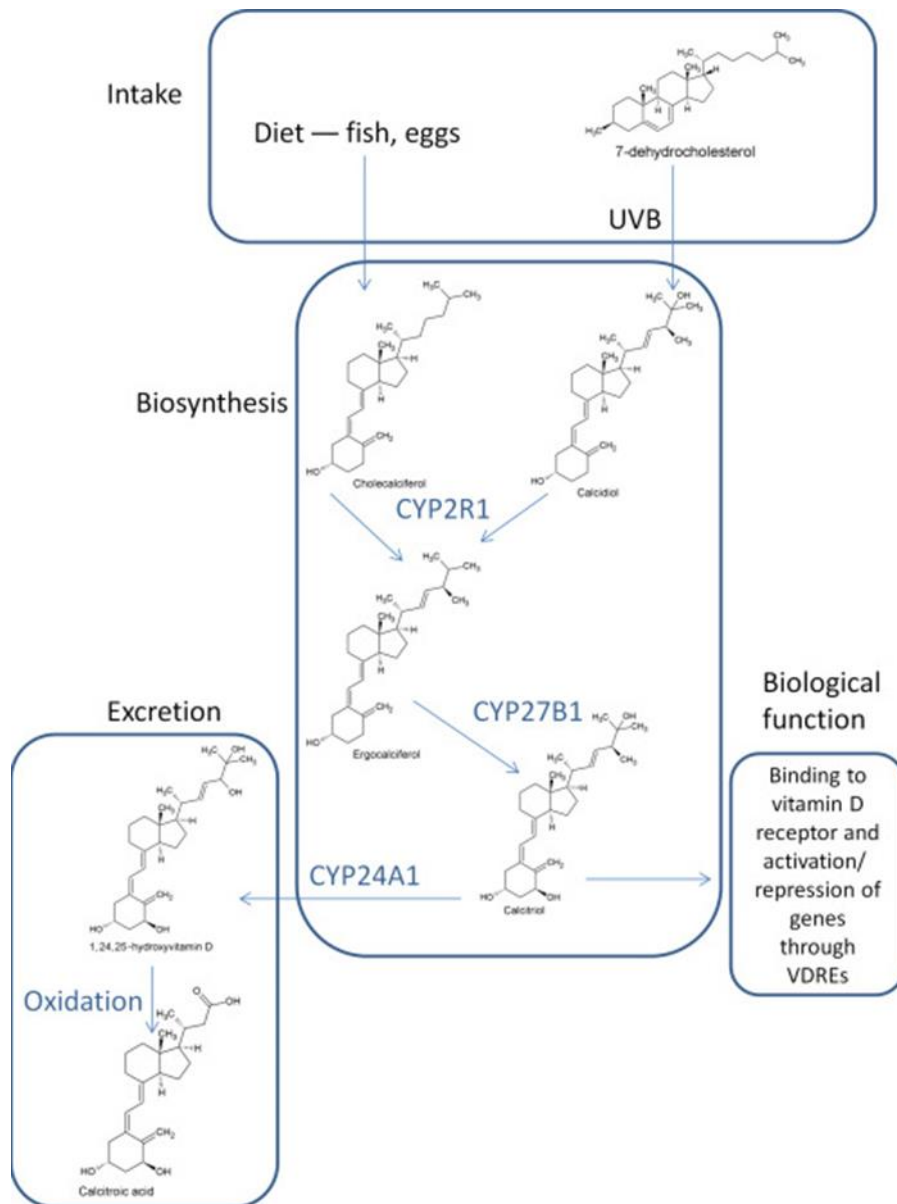
L'ultimo enzima coinvolto nella idrossilazione della vitamina D è il CYP24A1 che è l'unica 24-idrossilasi accertata nel metabolismo vitaminico.

Nell'uomo questo enzima ha sia attività 24-idrossilasi che 23-idrossilasi ma una mutazione genetica da ala 326 a gly 326 nel CYP24A1 sposta la reazione di catalizzazione dalla 24-idrossilazione alla 23-idrossilazione che viene quindi favorita. (Daniel D. Bikle, 2014).

La via della 24-idrossilasi termina con quella biologicamente inattiva producendo acido calcitroico, mentre la via 23-idrossilasi produce il metabolita biologicamente attivo  $1,25,26,23$  lattone. (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)

Queste reazioni a più fasi sono tutte catalizzate dallo stesso enzima il CYP24A1 che preferisce però come substrato ideale il calcitriolo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  rispetto al calcidiolo  $25(\text{OH})\text{D}$ . (Daniel D. Bikle, 2014)

La regolazione del CYP24A1 è uguale a quella del CYP27B1.



**Figura 10: Biosintesi della vitamina D ed enzimi coinvolti**  
 (<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S008367291500059X-f11-01-9780128048245.jpg>)

## Capitolo 3

### MECCANISMO DI AZIONE VITAMINA D

La vitamina D ricopre molti ruoli come l'omeostasi del calcio, la proliferazione cellulare e la differenziazione cellulare in molti tessuti bersaglio. (Shigeaki Kato, 2000)

La maggior parte di queste azioni biologiche sono esercitate attraverso il controllo mediato dal recettore nucleare della vitamina D (VDR) dei geni bersaglio.

Per comprendere la funzione globale del sistema della vitamina D nei processi fisiopatologici, è stato dedicato un grande sforzo alla rilevazione di VDR in vari tessuti e cellule, molti dei quali sono stati identificati come bersagli della vitamina D. (Yongji Wang, Jinge Zhu, Hector F. DeLuca, 2012)

I recettori per la vitamina D che sono localizzati sul nucleo e sulla membrana cellulare hanno effetti su molti organi a riprova del loro importante ruolo fisiologico, non solo nel metabolismo minerale, ma anche in numerose altre funzioni dell'organismo. (Sabrina Pigozzo, Emine Meral Inelmen, Paola Lucato, Enzo Manzato, Giuseppe Sergi, 2017)

Con la scoperta del recettore della vitamina D (VDR) in quasi tutti i tessuti e migliaia di VDR siti di legami in tutto il genoma che controllano molti geni, l'interesse per la vitamina D e il suo impatto su molteplici processi biologici è molto aumentato negli anni.

VDR appartiene alla superfamiglia dei recettori ormonali nucleari e agisce come fattore di trascrizione inducibile da un ligando. (Shigeaki Kato, 2000)

I recettori VDR nelle cellule possono trovarsi o nel nucleo, sono in grado di stimolare direttamente la trascrizione di geni e quindi la sintesi ex novo di proteine (meccanismo genomico) o localizzati sulla membrana cellulare agiscono inducendo la formazione di secondi messaggeri. (Sabrina Pigozzo, Emine Meral Inelmen, Paola Lucato, Enzo Manzato, Giuseppe Sergi, 2017)

Tale meccanismo d'azione non genomico è in grado di modulare in maniera rapida la risposta cellulare a vari stimoli. (Adami S., 2011)

La forma ormonale calcitriolo (1,25-diidrossivitamina D o 1,25(OH)<sub>2</sub>D) è il ligando per il recettore della vitamina D (VDR) che si lega ai siti nel DNA chiamati elementi di risposta alla vitamina D (VDRE). (Daniel D. Bikle, 2014)

Analoghi di calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D sono in fase di sviluppo per mirare a specifiche malattie dovute a carenze vitaminiche. (Daniel D. Bikle, 2014)

### 3.1 A livello genetico

La funzione biologica del calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D è quella di regolare l'espressione genica attivando il recettore della vitamina D (VDR).

Non sorprende infatti che la vitamina D influisca su molti processi cellulari attraverso il VDR.

In una recente analisi dove è stata usata una nuova tecnologia di sequenziamento del DNA per creare una mappa del legame del recettore della vitamina D con il genoma umano, i ricercatori hanno evidenziato la presenza 2.776 siti di legame per il recettore della vitamina D lungo la lunghezza del genoma.

Hanno inoltre dimostrato che la vitamina D ha un effetto significativo sull'attività di 229 geni tra cui IRF8, precedentemente associato alla sclerosi multipla, e PTPN2, associato alla malattia di Crohn e al diabete di tipo 1. (Ramagopalan SV, Heger A, Berlanga AJ, Maugeri NJ, Lincoln MR, Burrell A, Handunnetthi L, Handel AE, Disanto G, Orton S, Watson CT, Morahan JM, Giovannoni G, Ponting CP, Ebers GC, Knight JC., 2010)

Inoltre, VDR può regolare vari mRNA che coinvolgono l'espressione di numerose proteine.

Il VDR è un recettore ormonale nucleare che forma un eterodimero con il recettore retinoide X (RXR).

I domini di legame al DNA dell'eterodimero VDR/RXR riconoscono sequenze di DNA, note come elementi di risposta alla vitamina D (VDRE), nelle regioni promotrici dei geni sensibili alla vitamina D (Haussler, 2013).

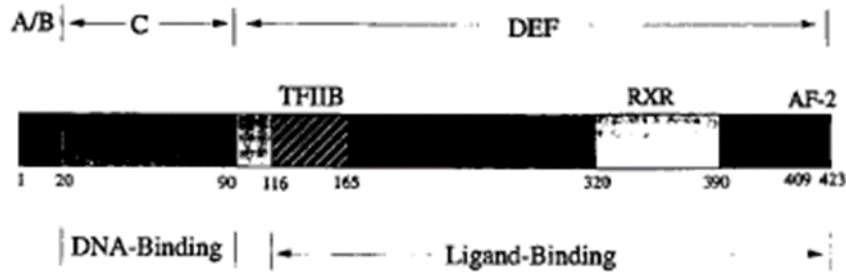
Il VDR umano si trova nel cromosoma 12 ed è composto da 9 esoni.

L'esone 2 contiene il sito di inizio della traduzione e la sequenza nucleotidica che codifica per il dominio corto A/B (24 amminoacidi), a cui si legano fattori di trascrizione come TFIIB, e il primo dito di zinco del dominio di legame del DNA (DBD) (65 amminoacidi).

L'esone 3 codifica il secondo dito di zinco del DBD. (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)

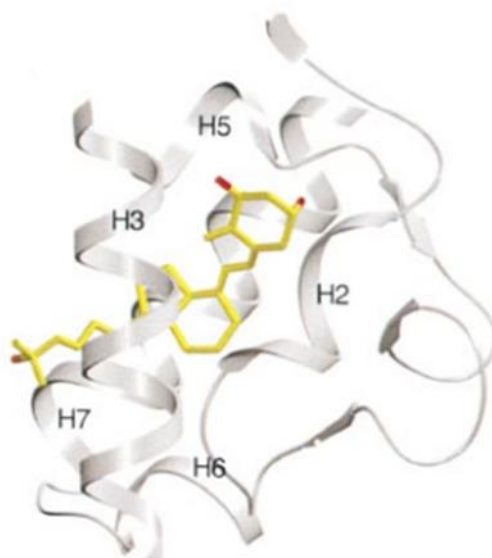
Gli esoni 4–6 codificano per la regione cerniera (143 amminoacidi).

Gli esoni 7-9 codificano parte della regione cerniera, l'intero dominio di legame del ligando (E/F) (195 amminoacidi) incluso il dominio AF2 e le 3 regioni prime non tradotte (UTR). (Daniel D Bikle, MD, PhD, 2020)



**Figura 11: Rappresentazione schematica dei domini funzionali del VDR**  
*(Mechanisms and Functions of Vitamin D Receptor F. DeLuca, Ph.D., and Claudia Zierold, Ph.D)*

Sono stati descritti i domini del VDR e anche la sua struttura tridimensionale con le rispettive eliche proteiche H2, H3, H5, H6, H7 come dimostrato in figura.



**Figura 12: Struttura tridimensionale del VDR.**  
*In giallo rappresentata la struttura della vitamina D.*  
*(The Crystal Structure of the Nuclear Receptor for Vitamin D Bound to Its Natural Ligand, N. Rochel, J. M. Wurtz, A. Mitschler, B. Klaholz, and D. Moras)*

Il complesso attivato  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3\text{-VDR-RXR}$  si lega specificamente agli elementi di risposta alla vitamina D (VDRE), composti da due ripetizioni esanucleotidiche intervallate da un numero variabile di nucleotidi (ad esempio, GGTCCA-NNN-GGTCCA, dove N è qualsiasi nucleotide) nelle regioni promotrici dei geni bersaglio. (Kristin K. Deeb, Donald L. Trump and Candace S. Johnson, 2007)

Il meccanismo di legame del complesso viene descritto in figura 3.

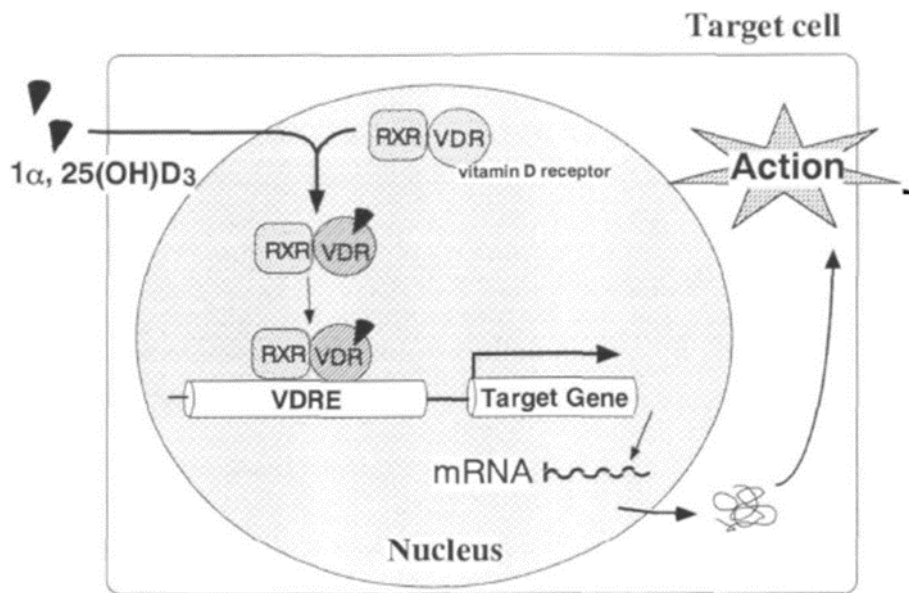
Per l'attivazione trascrizionale, VDR occupa il semisito 3' mentre RXR si lega al semisito 5' di VDRE. (Kristin K. Deeb, Donald L. Trump and Candace S. Johnson, 2007)

Quando questi due strutture VDR e RXR sono legati al VDRE, solo il VDR legherà il suo ligando mentre l'RXR non legherà nulla e fungerà da cofattore nel complesso di trascrizione.

È molto probabile che il complesso di trascrizione non sia semplicemente un eterodimero poiché altre proteine, in particolare TFIIB, sembrano essere necessarie per la formazione. (Hector F. DeLuca, and Claudia Zierold, 2010)

Una volta formato il complesso di trascrizione, il VDR viene fosforilato nel dominio di legame del ligando sulla serina 205 o 208.

Si verifica il piegamento del DNA attorno al VDRE, che posiziona il complesso di trascrizione per l'inizio della trascrizione del gene bersaglio. (Hector F. DeLuca and Claudia Zierold, 2010)



**Figura 13: Schema del meccanismo molecolare dell'azione della vitamina D attraverso l'espressione genica mediata da VDR.**

*(The Function of Vitamin D Receptor in Vitamin D Action, Shigeaki Kato)*

Il VDR attivato serve a regolare la trascrizione dei geni sotto il controllo dei VDRE accessibili.

I classici bersagli del VDR nei reni e nell'intestino sono geni che codificano per il trasporto del calcio e le proteine leganti il calcio. (Haussler, 2013)

La risposta trascrizionale è proporzionale alla concentrazione di calcitriolo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  e VDR nella cellula.

La concentrazione di calcitriolo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  richiesta per suscitare una risposta dipende dall'abbondanza del VDR e dei VDRE accessibili nel gene bersaglio (Haussler, 2013)

Ad esempio, CYP24A1, uno dei geni bersaglio della vitamina D più reattivi, risponde a concentrazioni picomolari di calcitriolo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  nei reni e nelle cellule epiteliali intestinali. (Corwin D Nelson, 2014)

Anche l'espressione della 24-idrossilasi (24-OHase) è sotto il controllo di più VDRE e come tale è altamente sensibile agli aumenti delle concentrazioni di calcitriolo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  nella maggior parte delle cellule che hanno il VDR (Haussler, 2013).

### 3.2 Trasporto nel torrente ematico e destinazione finale della vitamina

La vitamina D<sub>3</sub> integrata tramite dieta o prodotta nella pelle deve essere trasportata a tessuti come il fegato dove viene metabolizzata nella sua forma comune presente nel circolo, calcidiolo 25(OH)D.

La 25(OH)D a sua volta viene trasportata al rene dove viene ulteriormente idrossilata con la formazione del metabolita biologicamente attivo calcitriolo (1,25-diidrossivitamina D o 1,25(OH)<sub>2</sub>D).

Negli individui normali, circa l'85% dei metaboliti circolanti della vitamina D è legato al DBP.

L'albumina lega circa il 15% di questi metaboliti e lo fa con un'affinità molto inferiore.

Circa lo 0,4% del calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D totale e lo 0,03% del calcidiolo 25(OH)D totale sono liberi nel siero non legati a proteine. (Daniel David Bikle, and Janice Schwartz, 2019)

Per definizione il metabolita della vitamina D "biodisponibile" è la somma del metabolita della vitamina D libero e di quello legato all'albumina, che misura quindi circa il 15% negli individui sani.

L'ipotesi dell'ormone libero afferma che solo la frazione degli ormoni non legata a proteine è in grado di entrare nelle cellule ed esercitare i loro effetti biologici. (David Bikle, and Janice Schwartz, 2019)

Analizzato come sono veicolati i metaboliti della vitamina D, essi giungono a destinazione di vari tessuti e organi bersaglio dove esplicano la loro funzione metabolica.

Come già evidenziato i recettori per la vitamina D attiva si trovano in molti distretti del corpo.

Quando il metabolita attivo calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D giunge all'intestino determina un aumento dell'assorbimento di calcio attraverso l'induzione della sintesi di una proteina espressa dalle cellule dell'epitelio ("calcium binding protein", CBP), che lega lo ione e lo trasporta dal lume al citoplasma cellulare. (Sabrina Pigozzo, Emine Meral Inelmen, Paola Lucato, Enzo Manzato, Giuseppe Sergi, 2017)

Un'altra destinazione della vitamina sono le cellule muscolari dove è in grado di stimolare la produzione di proteine muscolari, ma soprattutto di attivare alcuni meccanismi di trasporto del calcio a livello del reticolo sarcoplasmatico, che sono essenziali nella contrazione muscolare. (Maria Luisa Brandi, Raffaella Michieli, 2015)



L'effetto sul tessuto osseo si esplica attraverso l'interazione con recettori VDR espressi dagli osteoblasti. Il calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D promuove la sintesi di alcune proteine, soprattutto l'osteocalcina, fondamentali per l'omeostasi del tessuto osseo.

Il calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D ha anche effetti extra-scheletrici dovuti alla presenza dei recettori in vari tipi di cellule con l'espressione del 1- $\alpha$ -idrossilasi nei macrofagi attivati, negli osteoblasti, nei cheratinociti e nella prostata, colon e mammella. (Sabrina Pigozzo, Emine Meral Inelmen, Paola Lucato, Enzo Manzato, Giuseppe Sergi, 2017)

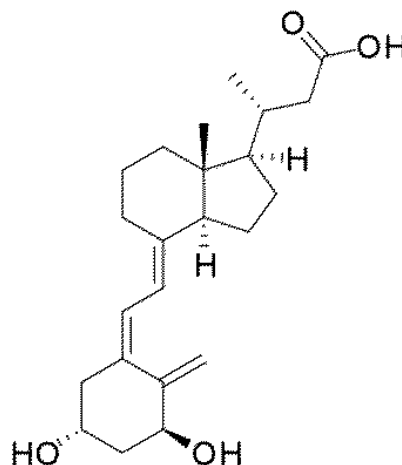
Una volta esplicate le varie funzioni metaboliche i composti della vitamina D devono essere eliminati dal corpo tramite diverse vie di degradazione.

Nel complesso meccanismo metabolico renale della vitamina D lo stesso calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D rappresenta un substrato per l'azione della 24-idrossilasi con la formazione del 1,24,25(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub> un derivato triidrossilato che viene eliminato. (Ranuccio Nuti, 1986)

Il calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D può andare incontro in ultimo ad una reazione di scissione della catena laterale dando così luogo all'acido 24, 25, 26, 27- tetranor-1-alfa OHD<sub>3</sub> 23-carbossilico o acido calcitroico.

Questo processo di conversione si verifica a livello epatico e probabilmente intestinale e rimane per il momento sconosciuto il sistema enzimatico responsabile. (Ranuccio Nuti, 1986)

I composti della vitamina D vengono escreti fondamentalmente nella bile, con eliminazione finale nelle feci.



**Figura 14: Acido calcitroico**

([https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/11/Calcitroic\\_acid.svg/256px-Calcitroic\\_acid.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/11/Calcitroic_acid.svg/256px-Calcitroic_acid.svg.png))

### 3.3 Proteina DBP, o D-binding protein

Quasi tutti i metaboliti della vitamina D nel siero sono legati dalla medesima proteina legante la vitamina D (in sigla DBP, dall'inglese D-binding protein).

Il DBP è un membro della famiglia delle proteine del siero dell'albumina. (Haddad, 1995)

La proteina legante la vitamina D (DBP, VDBP), chiamata anche componente specifico del gruppo (Gc), è una glicoproteina plasmatica da 52 a 58 kDa con una serie di funzioni indipendenti dal suo ruolo di proteina di trasporto della vitamina D.

Partecipa al controllo dello sviluppo osseo, lega gli acidi grassi, sequestra l'actina e modula le risposte immunitarie e infiammatorie. (Corwin D Nelson, 2014)

Il DBP è molto abbondante nel siero e ha un'elevata affinità per i metaboliti della vitamina D.

Di conseguenza, oltre il 99,9% di calcidiolo 25(OH)D e il 99% di calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D nel siero sono legati da questa proteina. (White and Cooke, 2000)

Il gene umano che codifica per la DBP si trova sul cromosoma 4q12-q13.

È lungo 35 kb e comprende 13 esoni che codificano 474 amminoacidi, inclusa una sequenza leader di 16 amminoacidi.

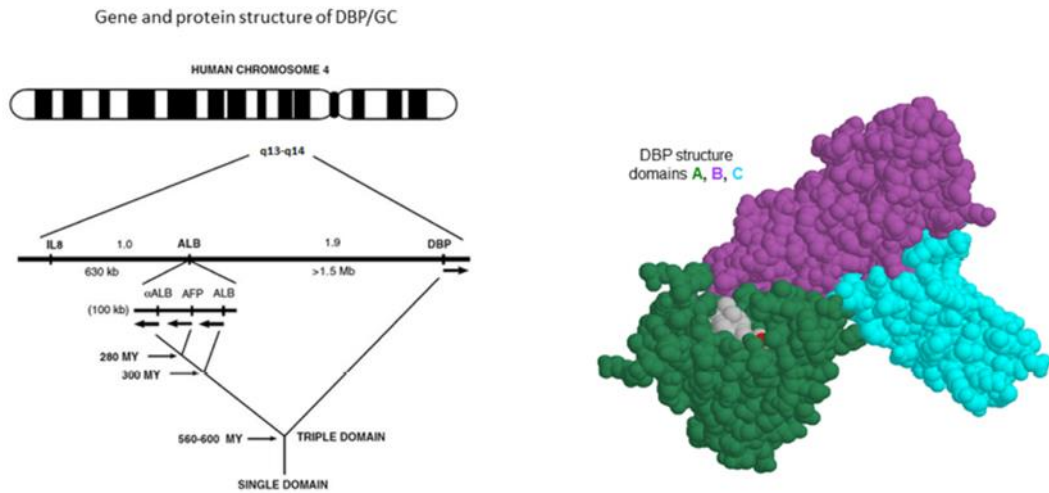
Il fegato rappresenta la fonte principale di produzione di DBP e la sua regolazione è influenzata da estrogeni, glucocorticoidi e citochine infiammatorie ma non dalla stessa vitamina D. (Daniel David Bikle, and Janice Schwartz, 2019)

Strutturalmente la proteina legante la vitamina D comprende 3 domini.

Il primo dominio è il sito di legame per i metaboliti della vitamina D (aa 35-49).

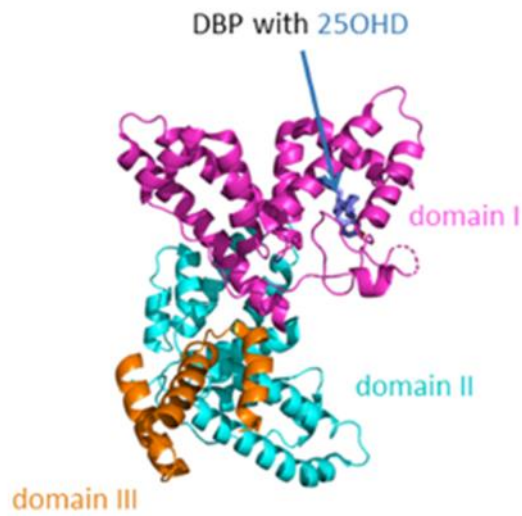
Il legame con gli acidi grassi utilizza un unico sito ad alta affinità sia per l'acido palmitico che per l'acido arachidonico, ma solo l'acido arachidonico compete con il calcidiolo 25(OH)D per il legame.

Il sito di legame dell'actina si trova in aa 373-403, che copre parti dei domini 2 e 3, ma è coinvolto anche parte del dominio 1. (Daniel David Bikle, and Janice Schwartz, 2019)



**Figura 15: Struttura genica e cromosomica di DBP**

*(Vitamin D Binding Protein: A Historic Overview, Roger Bouillon, Frans Schuit, Leen Antonio and Fraydoon Rastinejad)*



**Figura 16: Struttura del DBP umano legata al 25OHD**

*(Vitamin D Binding Protein: A Historic Overview, Roger Bouillon, Frans Schuit, Leen Antonio and Fraydoon Rastinejad)*

## Capitolo 4

### CORRELAZIONE CARENZA VITAMINICA E PATOLOGIE

La vitamina D è uno dei nutrienti essenziali per sostenere la salute dell'uomo in quanto ha potenti effetti su diversi sistemi biologici.

La mancata esposizione alla luce solare, una dieta non equilibrata, un mancato funzionamento di reni e fegato, che non possono convertire la vitamina D nella forma attiva, o l'assunzione di farmaci che contrastano l'assorbimento della stessa, possono portare a condizioni di ipovitaminosi. La carenza di vitamina D, soprattutto se protratta nel tempo, può portare a quadri patologici gravi soprattutto nei soggetti anziani.

Studi epidemiologici hanno dimostrato che la carenza di calcidiolo 25(OH)D è strettamente associata a malattie croniche comuni come disordini metabolici ossei, tumori, malattie cardiovascolari e diabete. (Hanmin Wang, Weiwen Chen, Dongqing Li, Xiaoe Yin, Xiaode Zhang, Nancy Olsen and Song Guo Zheng, 2017)

Bassi livelli ematici di vitamina D sono particolarmente frequenti in Italia, soprattutto negli anziani e nei mesi invernali dove l'esposizione alla luce solare è minore.

86% delle donne italiane sopra i 70 anni presentano concentrazioni di calcidiolo 25(OH)D <25 nmol/L alla fine dell'inverno e questa rilevazione assume aspetti drammatici nei soggetti con comorbidità, sia per la scarsa esposizione solare che per squilibri dietetici. (Sabrina Pigozzo, Emine Meral Inelmen, Paola Lucato, Enzo Manzato, Giuseppe Sergi, 2017)

Negli ultimi anni, l'accumulo di prove epidemiologiche e di laboratorio hanno evidenziato che il deficit di calcidiolo 25(OH)D è correlato all'insorgenza e alla progressione di molte malattie croniche. (Hanmin Wang, Weiwen Chen, Dongqing Li, Xiaoe Yin, Xiaode Zhang, Nancy Olsen and Song Guo Zheng, 2017)

Tra queste vi è il diabete, che è la quarta causa di morte nella maggior parte dei Paesi industrializzati, con oltre il 40% dei casi diagnosticati che coinvolge soggetti con un'età maggiore di 65 anni.

È stato dimostrato che il deficit di calcidiolo 25(OH)D è correlato allo sviluppo del diabete in quanto i metaboliti della vitamina D influenzano significativamente il metabolismo del glucosio, migliorando la secrezione e la sensibilità all'insulina. (Sabrina Pigozzo, Emine Meral Inelmen, Paola Lucato, Enzo Manzato, Giuseppe Sergi, 2017)

È importante specificare che ci sono due forme di diabete, il diabete di tipo 1 ha cause di base immunitaria dovute alla distruzione delle cellule beta pancreatiche che porta a una carenza completa di insulina.

Mentre per lo sviluppo del diabete di tipo 2, sono spesso presenti compromissioni della funzione delle cellule beta pancreatiche, insulino-resistenza o infiammazione sistemica.

Ci sono diversi studi a sostegno del fatto che la vitamina D influenza lo sviluppo del diabete di tipo 2. (Anastassios G. Pittas, Bess Dawson-Hughes, 2010)

Un ruolo della vitamina D nella funzione delle cellule beta pancreatiche potrebbe essere mediato dal legame del calcitriolo (1,25-diidrossivitamina D o 1,25(OH)<sub>2</sub>D) circolante al recettore della vitamina D delle cellule beta aumentando la sensibilità all'insulina, inibendo i fattori infiammatori, alleviando il processo di infiammazione cronica del pancreas per migliorare la funzione delle cellule delle isole β pancreatiche. (Hanmin Wang, Weiwen Chen, Dongqing Li, Xiaoe Yin, Xiaode Zhang, Nancy Olsen and Song Guo Zheng, 2017)

Inoltre, inibisce anche l'azione del sistema renina-angiotensina, che promuove la secrezione di insulina.

L'integrazione di vitamina D può migliorare la funzionalità delle isole β pancreatiche e la tolleranza al glucosio. (Hanmin Wang, Weiwen Chen, Dongqing Li, Xiaoe Yin, Xiaode Zhang, Nancy Olsen and Song Guo Zheng, 2017)

Per questo motivo gli individui con deficit di calcidiolo 25(OH)D hanno una maggiore resistenza all'insulina e il rischio di insorgenza del diabete di tipo 2.

Livelli ridotti di vitamina D sono collegati all'insorgenza e alla progressione anche di altre varie malattie, tra cui il cancro (Holick e Chen, 2008).

Diverse evidenze sanciscono la relazione tra vitamina D e cancro. Bassi livelli circolanti di vitamina D sono associati ad un aumentato rischio di sviluppare il cancro, un'elevata assunzione di vitamina D è associata a un ridotto rischio di cancro e l'aggressività di un cancro è minore in estate quando la produzione di vitamina D è maggiore. (Vitamin D and cancer, Laura Vuolo, Carolina Di Somma, Antongiulio Faggiano and Annamaria Colao)

Questa relazione è supportata da studi epidemiologici e in vitro i quali hanno dimostrato che l'esposizione delle cellule tumorali ad alte concentrazioni di composti della vitamina D ne inibiscono la proliferazione. (Laura Vuolo, Carolina Di Somma, Antongiulio Faggiano and Annamaria Colao, 2012)

Altri studi indicano che livelli di calcidiolo 25(OH)D inferiori a 20 ng/ml sono associati ad un rischio di insorgenza del 30-50% di cancro del colon, della prostata e della mammella, correlato a una maggiore mortalità per questi tumori. (Hanmin Wang, Weiwen Chen, Dongqing Li, Xiaoe Yin, Xiaode Zhang, Nancy Olsen and Song Guo Zheng, 2017)

Sono state evidenziate altre correlazioni tra vitamina D e patologie, recentemente è stata suggerita l'importanza della vitamina D nel preservare la funzione cognitiva, evidenziando un legame tra bassi livelli ematici del metabolita e il rischio di demenza.

Tra i meccanismi che possono spiegare questo legame vi sarebbero l'ubiquitariet  dei recettori VDR (Vitamin D receptor) nel tessuto cerebrale (comprese le aree coinvolte nei processi relativi alla funzione mnesica) e il coinvolgimento di alcune aree cerebrali nella produzione di 1- $\alpha$ -idrossilasi. (Sabrina Pigozzo, Emine Meral Inelmen, Paola Lucato, Enzo Manzato, Giuseppe Sergi, 2017)

La VDR   altamente espressa nell'ipotalamo, nei gangli dei neuroni, nell'ippocampo e nei tessuti cerebrali in via di sviluppo, suggerendo che la vitamina D pu  essere coinvolta nello sviluppo e nella funzione del cervello. (Hanmin Wang, Weiwen Chen, Dongqing Li, Xiaoe Yin, Xiaode Zhang, Nancy Olsen and Song Guo Zheng, 2017)

Pertanto, molti studi suggeriscono che la vitamina D   necessaria per il normale sviluppo e funzionamento del cervello.

L'associazione tra bassi livelli di calcidiolo 25(OH)D e molte condizioni neurodegenerative come la sclerosi multipla, il morbo di Alzheimer, il morbo di Parkinson e i disturbi neurocognitivi è supportata da molti dati in vitro e in vivo. (Carolina Di Somma, Elisabetta Scarano, Luigi Barrea, Volha V. Zhukouskaya, Silvia Savastano, Chiara Mele, Massimo Scacchi, Gianluca Aimaretti, Annamaria Colao, and Paolo Marzullo, 2017)

Un'altra conseguenza delle condizioni di ipovitaminosi è stata associata alle malattie cardiovascolari.

La patogenesi delle malattie cardiovascolari è determinata da una varietà di fattori di rischio, tra cui colesterolo alto, fumo, obesità, ipertensione e diabete.

È stato però dimostrato che anche bassi livelli sierici di calcidiolo 25(OH)D sono strettamente correlati all'insorgenza di malattie cardiovascolari.

Il ruolo della vitamina D nel sistema cardiovascolare è provato dalla presenza dei suoi recettori VDR non solo nel cuore ma anche nell'intero sistema cardiovascolare.

La forma attiva calcitriolo 1,25(OH)<sub>2</sub>D della vitamina D si combina con il VDR che quindi regola l'espressione di molti geni. (Hanmin Wang, Weiwen Chen, Dongqing Li, Xiaoe Yin, Xiaode Zhang, Nancy Olsen and Song Guo Zheng, 2017)

I metaboliti della vitamina D agiscono su più domini della funzione cardiovascolare compresi quelli relativi all'infiammazione, alla trombosi e alle vie del sistema renina-angiotensina-aldosterone. (Hanmin Wang, Weiwen Chen, Dongqing Li, Xiaoe Yin, Xiaode Zhang, Nancy Olsen and Song Guo Zheng, 2017)

Ampi studi epidemiologici hanno dimostrato che il deficit di calcidiolo 25(OH)D è un segnale di rischio di malattie cardiovascolari.

## Capitolo 5

### STUDI SUGLI ALIMENTI FORTIFICATI CON VITAMINA D

Tenendo conto delle molteplici funzioni della vitamina D e della riduzione del rischio di malattie, è evidente che mantenere uno status adeguato è importante.

Per questo motivo è possibile arricchire una varietà di alimenti con la vitamina D, realizzando dei prodotti potenziati per aumentare la concentrazione sierica di calcidiolo 25(OH)D.

È stato necessario valutare il significato biologico del consumo di questi alimenti con degli studi epidemiologici randomizzati controllati.

Di seguito sono riportati alcuni studi che hanno analizzato l'aumento di concentrazione sierica di calcidiolo 25(OH)D nel sangue dopo aver fornito agli individui in esame almeno 10 µg di vitamina D assunti giornalmente con alimenti fortificati.

La maggior parte degli interventi durava da tre a dodici settimane e veniva eseguita durante i mesi invernali, quando la sintesi cutanea di vitamina D è bassa.

Due studi su nove avevano una durata maggiore di ventiquattro mesi.

I volontari erano generalmente sani, rappresentanti di entrambi i sessi e gruppi di età compresi tra i 18 e gli 87 anni.

Gli alimenti fortificati usati sono stati latte, yogurt e formaggio.

Di seguito è riportata la tabella con gli studi epidemiologici e le variazioni delle concentrazioni sieriche di calcidiolo 25(OH)D dopo l'assunzione degli alimenti fortificati.



Table 2. Change in serum 25(OH)D after intake of foods enhanced with vitamin D.

Food source	References	Daily dose ( $\mu\text{g}$ ) vitamin D ( $\mu\text{g}$ vitamin D/100 g product)	Duration and population	Study groups (product portion)	Change from baseline of serum 25(OH)D (%)
Fortified milk	Chee <i>et al.</i> , 2003 [64]	10 $\mu\text{g}$ (2.2 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	24 months 50–65 years, postmenopausal females $n = 200$	1. vitamin D <sub>3</sub> + Ca-fortified skimmed milk 2. Usual diet	25.0 <sup>#</sup> 4.1 <sup>#</sup>
	Daly <i>et al.</i> , 2006 [65]	20 $\mu\text{g}$ (5.0 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	24 months 50–87 years, ambulatory community-living (male) $n = 167$	1. Vitamin D <sub>3</sub> + Ca-fortified UHT milk, reduced fat 2. Usual diet	7.4 <sup>#</sup> -19.9 <sup>#</sup>
Fortified yogurt drink	Nikooyeh <i>et al.</i> , 2011 [68]	25 $\mu\text{g}$ (5.0 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	12 weeks, October-March 30–60 years, diabetic subjects (fasting blood glucose $\geq 126\text{ mg/dL}$ ) $n = 90$	1. Vitamin D <sub>3</sub> -fortified yogurt drink 2. Vitamin D <sub>3</sub> + Ca-fortified yogurt drink 3. Plain yogurt drink	75.0 67.6 -10.6
Fortified cheese	Johnson <i>et al.</i> , 2005 [66] (study 1)	15 $\mu\text{g}$ (17.6 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	2 winter months $\geq 60$ years, subjects (total serum cholesterol <240 mg/dL) $n = 110$	1. Vitamin D <sub>3</sub> -fortified process cheese 2. Placebo process cheese 3. No cheese	-8.7 10.0 5.6
	Wagner <i>et al.</i> , 2008 [71]	100 $\mu\text{g}$ * (2083.3 or 1690.8 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) **	8 weeks, January–April 18–60 years, healthy subjects $n = 80$	1. Vitamin D <sub>3</sub> -fortified regular fat cheddar cheese *** 2. Vitamin D <sub>3</sub> -fortified reduced fat cheddar cheese 3. Vitamin D <sub>3</sub> supplement to be taken with food 4. Vitamin D <sub>3</sub> supplement to be taken without food 5. Placebo regular fat cheddar cheese 6. Placebo supplement	128.8 120.7 106.5 111.0 -7.8 <sup>##</sup>

Figura 17: Variazioni sieriche 25(OH)D dopo l'assunzione di alimenti fortificati con vitamina D

*(The Potential Role of Vitamin D Enhanced Foods in Improving Vitamin D Status, Louise O'Mahony, Magdalena Stepien, Michael J. Gibney, Anne P. Nugent and Lorraine Brennan)*

### 5.1 Latte fortificato

Due studi a lungo termine (24 mesi) hanno utilizzato latte fortificato con vitamina D<sub>3</sub> per fornire 10  $\mu\text{g}$  o più al giorno.

Gli aumenti relativi alle concentrazioni sieriche variano tra gli studi (25,0% contro 7,4%) che possono essere il risultato di popolazioni di studio molto diverse.

Va notato che nello studio di Daly et al. 2006 è stata riportata una diminuzione del 20% di calcidiolo 25(OH)D sierico per il gruppo di controllo.

Mentre per lo studio di Chee et al. 2003 i risultati sono riportati nella tabella seguente.

**Table 3** Serum 25-hydroxyvitamin D levels (nmol/l) of subjects at baseline, 12 and 24 months (mean  $\pm$  SD)

	N	Baseline	12 months	24 months
Milk	91	69.1 $\pm$ 16.1	87.3 $\pm$ 48.6*	86.4 $\pm$ 22.0*
Control	82	68.4 $\pm$ 15.7	73.1 $\pm$ 20.3	71.2 $\pm$ 21.7

\*Significantly different from baseline (paired *t*-test) at  $P < 0.01$

**Figura 18: Assunzione alimentare (media  $\pm$  DS) dei soggetti dello studio al basale, 12 mesi e 24 mesi (con il metodo della registrazione alimentare di 3 giorni)**

La tabella mostra che il livello sierico medio di calcidiolo 25(OH)D del gruppo di controllo non è significativamente diverso dal basale.

Tuttavia, le concentrazioni sieriche medie di vitamina D sono aumentate significativamente nel gruppo integrato con latte fortificato a 12 e 24 mesi dello studio ( $P < 0,01$ ).

(W.S.S. Chee  $\&$  A.R. Suriah  $\&$  S.P. Chan  $\&$  Y. Zaitun Y.M. Chan., 2003)

In entrambi gli studi, le concentrazioni di calcidiolo 25(OH)D sono aumentate rispetto all'inizio, per questo si è concluso che la vitamina D era biodisponibile negli alimenti e ha migliorato lo stato di calcidiolo 25(OH)D nel siero. (Louise O'Mahony, Magdalena Stepien, Michael J. Gibney, Anne P. Nugent and Lorraine Brennan, 2011)

## 5.2 Yogurt fortificato

I partecipanti sono stati chiamati a seguire una dieta di mantenimento del peso per 2 settimane secondo le linee guida dell'American Diabetes Association (ADA), successivamente le quantità equivalenti di latticini nella dieta sono state sostituite da 2 porzioni della bevanda allo yogurt fortificato.

L'assunzione alimentare è stata valutata all'inizio e alla fine del periodo di intervento. (Bahareh Nikooyeh, Tirang R Neyestani, Maryamosadat Farvid, Hamid Alavi-Majd, Anahita Houshiarrad, Ali Kalayi, Nastaran Shariatzadeh, A'azam Gharavi, Soudabeh Heravifard, Nima Tayebinejad, Shabnam Salekzamani, and Malihe Zahedirad, 2011)

Allo stesso modo, l'assunzione giornaliera di 25  $\mu$ g di vitamina D3 in una bevanda allo yogurt con o senza aggiunta di calcio ha aumentato significativamente le concentrazioni sieriche di calcidiolo 25(OH)D dopo 12 settimane, rispettivamente del 75,0% e del 67,6%, a

fronte di una diminuzione del 10,6% nel gruppo di controllo. (Louise O'Mahony, Magdalena Stepien, Michael J. Gibney, Anne P. Nugent and Lorraine Brennan, 2011)

In questo studio sono state utilizzate 1000 UI/die in 2 dosi divise, che, sulla base delle attuali conoscenze, sono ritenute sicure.

Questa dose è stata efficace nel raggiungere una concentrazione sierica di calcidiolo 25(OH)D pari a 0,50 nmol/L nella maggior parte dei soggetti, una concentrazione considerata ottimale da molti esperti. (Bahareh Nikooyeh, Tirang R Neyestani, Maryamosadat Farvid, Hamid Alavi-Majd, Anahita Houshiarrad, Ali Kalayi, Nastaran Shariatzadeh, A'azam Gharavi, Soudabeh Heravifard, Nima Tayebinejad, Shabnam Salekzamani, and Malihe Zahedirad, 2011)

### 5.3 Formaggio fortificato

La fortificazione del formaggio con vitamina D è stata esaminata in due studi separati di otto settimane mostrando risultati diversi.

Nello studio di Johnson, il consumo di formaggio fortificato (15 µg di vitamina D) ha comportato una diminuzione dell'8,7% nel siero di calcidiolo 25(OH)D.

Lo studio è stato progettato per determinare l'effetto di 2 mesi di consumo giornaliero di formaggio fuso fortificato con vitamina D3.

I soggetti testati sono 110 uomini e donne anziani ( $\geq 60$  anni), sono stati randomizzati a ricevere formaggio fortificato con vitamina D, formaggio non fortificato o nessun formaggio. I livelli sierici di calcidiolo 25(OH)D sono stati misurati all'inizio e alla fine dello studio.

Il gruppo del formaggio fortificato con vitamina D ha avuto una diminuzione maggiore della 25(OH)D rispetto ad altri gruppi, a causa di una maggiore concentrazione di calcidiolo 25(OH)D al basale. (J. L. Johnson, V. V. Mistry, M. D. Vukovich, T. Hogue-Lorenzen, B. W. Hollis, and B. L. Specker, 2005)

Questo studio è stato progettato per determinare se la vitamina D nel formaggio fortificato sia effettivamente biodisponibile quando viene consumato.

I risultati hanno dimostrato che è disponibile sebbene abbiamo osservato una diminuzione delle concentrazioni sieriche di calcidiolo 25(OH)D nel gruppo dei formaggi fortificati con vitamina D, ipotizzando che ciò sia dovuto alle concentrazioni sieriche più elevate di calcidiolo 25(OH)D al basale.

(J. L. Johnson, V. V. Mistry, M. D. Vukovich, T. Hogue-Lorenzen, B. W. Hollis, and B. L. Specker, 2005)

Il secondo studio di Wagner et al. ha mostrato un aumento del 120% circa della concentrazione sierica di calcidiolo 25(OH)D dopo una dose settimanale di 700 µg di vitamina D formaggio fortificato.

Ha coinvolto 80 soggetti che sono stati assegnati in modo casuale ai gruppi, e i risultati hanno mostrato che la vitamina D è biodisponibile dal cheddar fortificato e dal formaggio magro.

La variazione della 25(OH)D dal basale a 8 settimane è stata significativamente maggiore nei soggetti che consumavano cheddar fortificato o formaggio magro rispetto a quelli che consumavano il placebo. (Wagner, D.; Sidhom, G.; Whiting, S.J.; Rousseau, D.; Vieth, R., 2008)

Inoltre, i formaggi fortificati hanno prodotto un cambiamento nella 25(OH)D che non differiva dall'integratore di vitamina D, dimostrando che la vitamina D è ugualmente biodisponibile dal formaggio fortificato come dall'integratore. (Wagner, D.; Sidhom, G.; Whiting, S.J.; Rousseau, D.; Vieth, R., 2008)

#### **5.4 Conclusioni**

Concludendo, la vitamina D era biodisponibile su tutti i prodotti lattiero-caseari studiati e hanno migliorato lo stato di vitamina D nel siero. (Louise O'Mahony, Magdalena Stepien, Michael J. Gibney, Anne P. Nugent and Lorraine Brennan, 2011)

È stato quindi dimostrato che un deficit sierico di calcidiolo 25(OH)D può essere migliorato con l'assunzione di alimenti fortificati con vitamina D, determinando quindi la sua disponibilità per l'organismo.

## CONCLUSIONI

La vitamina D è una vitamina liposolubile rappresentata da 5 diverse forme, le più importanti sono la vitamina D2 ergocalciferolo e la vitamina D3 detta colecalciferolo.

Questo metabolita si comporta da ormone e ciò implica una vasta influenza nelle funzioni biologiche associate, tra le più importanti troviamo quella sull'omeostasi del calcio e del fosforo.

La vitamina D2 è di provenienza vegetale quindi assimilabile solo ed esclusivamente con l'alimentazione, la vitamina D3 può essere prodotta per via endogena dall'organismo o assunta tramite dieta.

L'assunzione di vitamina D tramite alimentazione consta in pochi cibi in cui quantità vitaminica è molto limitata. Tra le fonti alimentari principali troviamo l'olio di fegato di pesce (olio di fegato di merluzzo) e nei pesci grassi come aringhe, anguille, sardine e salmone, a livello vegetale nelle piante e funghi.

Per questo motivo l'esposizione alla luce solare risulta essere la miglior fonte di produzione endogena di vitamina D per l'organismo umano. Prima di svolgere le sue specifiche azioni fisiologiche, la vitamina deve andare incontro ad un processo di metabolizzazione.

La produzione inizia nella pelle dal 7-deidrocolesterolo sotto l'influenza della luce UV, viene prima metabolizzata a calcidiolo (25 idrossi-vitamina D o 25(OH)D), quindi alla forma ormonale biologicamente attiva calcitriolo (1,25-diidrossivitamina D o 1,25(OH)<sub>2</sub>D).

Tutte queste reazioni di idrossilazione sono eseguite da ossidasi a funzione mista (CYP) del citocromo P450.

La maggior parte delle sue funzioni sono mediate dal legame al recettore della vitamina D (vitamin D receptor) VDR presente in molti tessuti.

La forma ormonale calcitriolo (1,25-diidrossivitamina D o 1,25-diidrossivitamina D) è il ligando per il recettore della vitamina D (VDR) che si lega ai siti nel DNA chiamati elementi di risposta alla vitamina D (VDRE).

Questo legame permette alla vitamina di esplicare la sua funzione all'interno dell'organismo.

Come dimostrato la vitamina è responsabile di molti meccanismi biologici e una bassa concentrazione ematica comporta stati di ipovitaminosi responsabili di quadri clinici anche piuttosto gravi.

Tra le patologie determinate dalla mancanza di vitamina troviamo l'insorgenza del diabete, lo sviluppo del cancro, rischio di demenza e il manifestarsi di patologie cardiovascolari.

Le cause dell'ipovitaminosi possono riscontrarsi in una mancata esposizione al sole, una dieta non equilibrata o un mancato funzionamento di reni e fegato che non possono attuare processi di idrossilazione della vitamina.

Per ovviare a carenze vitaminiche si può ricorrere all'uso di alimenti fortificati con vitamina D che rimane biodisponibile nell'organismo e ne determina un aumento nella concentrazione ematica.

Tra i possibili alimenti fortificati con Vitamina D troviamo latte fortificato dove studi hanno dimostrato che le concentrazioni di calcidiolo 25(OH)D sono aumentate rispetto all'inizio dell'integrazione, come con lo yogurt e formaggio fortificato.

Concludendo si può affermare che la vitamina D è biodisponibile su tutti i prodotti lattiero-caseari studiati e hanno migliorato lo stato di vitamina D nel siero.

Questo apre possibili quote di mercato per questi alimenti ad elevato valore funzionale.

## BIBLIOGRAFIA

Anastassios G. PittasBess Dawson-Hughes: Vitamin D and diabetes, (2010), J Steroid Biochem Mol Biol. Author manuscript, 121(1-2), pp. 425–429.

Bahareh Nikooyeh, Tirang R Neyestani, Maryamosadat Farvid, Hamid Alavi-Majd, Anahita Houshiarrad, Ali Kalayi, Nastaran Shariatzadeh, A'azam Gharavi, Soudabeh Heravifard, Nima Tayebinejad, Shabnam Salekzamani, and Malihe Zahedirad: Daily consumption of vitamin D– or vitamin D + calcium–fortified yogurt drink improved glycemic control in patients with type 2 diabetes: a randomized clinical trial, (2011), Am J Clin Nutr 2011, Volume 93, pp.764–71.

Carolina Di Somma, Elisabetta Scarano, Luigi Barrea, Volha V. Zhukouskaya, Silvia Savastano, Chiara Mele, Massimo Scacchi, Gianluca Aimaretti, Annamaria Colao, and Paolo Marzullo: Vitamin D and Neurological Diseases: An Endocrine View, (2017), International Journal of molecular sciences, Volume 11, pp. 2482.

Corwin D Nelson and Kathryn E. Merriman: Vitamin D Metabolism in Dairy Cattle and Implications for Dietary Requirements, (2014), Department of Animal Sciences University of Florid pp. 78-91.

Daniel D Bikle, MD, PhD: Vitamin D: Newer Concepts of Its Metabolism and Function at the Basic and Clinical Level, Journal of the Endocrine Society, (2020), Volume 4, Issue 2.

Daniel D Bikle: Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications (2014), Chemistry & Biology 21, Elsevier, pp. 319-323.

Daniel David Bikle, and Janice Schwartz: Vitamin D Binding Protein, Total and Free Vitamin D Levels in Different Physiological and Pathophysiological Conditions, (2019), Front Endocrinol (Lausanne), Volume 10, pp. 317.

Dennis Wagner, Gloria Sidhom, Susan J Whiting, Dérick Rousseau: The bioavailability of vitamin D from fortified cheeses and supplements is equivalent in adults, (2008), Journal of Nutrition , Volume 138(7), pp.1365-71.

Giuseppe Vezzoli, Lorenza Macrina, Teresa Arcidiacono: Citocromi P450 ed interazione tra i farmaci, (2014), *Giornale di clinica nefrologica e dialisi* V.26 N.4, pp. 359-60.

Hanmin Wang, Weiwen Chen, Dongqing Li, Xiaoe Yin, Xiaode Zhang, Nancy Olsen and Song Guo Zheng: Vitamin D and Chronic Diseases (2017), *Jourlan Aging Dis.*, Volume 8(3), pp. 346–353.

Hector F. DeLuca, Ph.D., and Claudia Zierold, Ph.D: Mechanisms and Functions of Vitamin D, (2010), *Nutrition Reviews*, Volume 56(s1) pp.S4 - S10.

Holick MF: Resurrection of vitamin D deficiency and rickets, *J Clin Invest* (2006), 116, pp. 2062-72.

<https://www.my-personaltrainer.it/vitamina-d.html>

J. L. Johnson, V. V. Mistry, M. D. Vukovich, T. Hogie-Lorenzen, B. W. Hollis, and B. L. Specker: Bioavailability of Vitamin D from Fortified Process Cheese and Effects on Vitamin D Status in the Elderly, (2005), *American Dairy Science Association*, 88, pp. 2295–2301.

Kristin K. Deeb, Donald L. Trump and Candace S. Johnson: Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics (2007), *Reviews Nature Publishing Group*, Volume 7(9) pp. 684-700.

Laura Vuolo, Carolina Di Somma, Antongiulio Faggiano and Annamaria Colao: Vitamin D and cancer, (2012), *Front Endocrinol (Lausanne)*, Volume 3, pp.58.

Louise O'Mahony, Magdalena Stepien, Michael J. Gibney, Anne P. Nugent and Lorraine Brennan: The Potential Role of Vitamin D Enhanced Foods in Improving Vitamin D Status, (2011), Volume 3(12), pp.1023–1041.

Maria Luisa Brandi, Raffaella Michieli: Vitamina D: Tutto ciò che avreste voluto sapere e non avete mai osato chiedere, (2015), *Serie editoriale Disease Management, SIMG Società Italiana di Medicina Generale*, pp. 5-27.

Maria Pia Boschi, Pietro Rizzoni: *Le biomolecole* (2013), Zanichelli editore S.p.a, Bologna.

Mark R Haussler, G Kerr Whitfield, Ichiro Kaneko, Carol A Haussler, David Hsieh, Jui-Cheng Hsieh, Peter W Jurutka: Molecular mechanisms of vitamin D action, (2013), *Calcified Tissue International* Volume 92, pp. 77–98.



Matthias Wacker & Michael F. Holick: Sunlight and Vitamin D a global perspective for health, (2013), *Dermato-Endocrinology*, Landes Bioscience, pp. 51-108.

Michael F. Holick and Tai C Chen: The Vitamin D Deficiency Pandemic and Consequences for Nonskeletal Health: Mechanisms of Action (2008), *Mol Aspects Med*. Volume 6, pp. 361–368.

Mostafa WZ, Hegazy RA, Vitamin D and the skin: Focus on a complex relationship: A review, *J Adv Res* (2014).

Neil Binkley, Rekha Ramamurthy, Diane Krueger: Low vitamin D status: definition, prevalence, consequences, and correction, (2010), Review article volume 39, Issue 2, pp. 287-301.

Peter White, Nancy E Cooke: The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein, (2000), *Trends Endocrinol. Metab*, Volume 11, pp. 320-327.

Prabhu Anika V., Luu Winnie, Li Dianfan, Sharpe Laura J., Brown Andrew J., DHCR7: A vital enzyme switch between cholesterol and vitamin d production, (2016), pp. 4-46.

Ramagopalan SV, Heger A, Berlanga AJ, Maugeri NJ, Lincoln MR, Burrell A, Handunnetthi L, Handel AE, Disanto G, Orton S, Watson CT, Morahan JM, Giovannoni G, Ponting CP, Ebers GC, Knight JC: A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: Associations with disease and evolution. *Genome Research*, (2010), Volume 20, pp. 1352–1360.

Ranuccio Nuti: Fisiologia della Vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi postmenopausale, *Caleidoscopio*, Rivista mensile di Medicina anno 4 numero 17 (1986), pp. 6-48.

Robert C. Tuckey a, Edith K.Y. Tang a, Yunzhi A. Chen a, Andrzej T. Slominski: Selective ability of rat 7-Dehydrocholesterol reductase (DHCR7) to act on some 7-Dehydrocholesterol metabolites but not on lumisterol metabolites, (2021), *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 212(Pt B), Elsevier.

Robin M Daly, Melanie Brown, Shona Bass, Sonja Kukuljan, and Caryl Nowson: Calcium- and Vitamin D<sub>3</sub>-Fortified Milk Reduces Bone Loss at Clinically Relevant Skeletal Sites in Older Men: A 2-Year Randomized Controlled Trial, (2006), *Journal of bone and mineral research*, Volume 21 (3), pp.397–405.

S. Adami, E. Romagnoli, V. Carnevale, A. Scillitani, A. Giusti, M. Rossini, D. Gatti, R. Nuti, S. Minisola: Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo, (2011) *Rassegna, Reumatismo*, Volume 63 (3), pp. 129-147.

Sabrina Pigozzo, Emine Meral Inelmen, Paola Lucato, Enzo Manzato, Giuseppe Sergi: Vitamina D: aspetti clinici e di laboratorio, (2017) *biochimica clinica*, Volume 41, n.1, pp. 12-19.

Shigeaki Kato: The Function of Vitamin D Receptor in Vitamin D Action, *The Journal of Biochemistry*, (2000) Volume 127, Issue 5, pp. 717–722.

W.S.S. Chee ÆA.R. Suriah ÆS.P. Chan ÆY. ZaitunY.M. Chan: The effect of milk supplementation on bone mineral density in postmenopausal Chinese women in Malaysia, (2003), *International Osteoporosis Foundation and National Osteoporosis Foundation*, Volume 14, pp. 828–834.

Yongji Wang, Jinge Zhu, Hector F. DeLuca: Where is the vitamin D receptor? (2012), *Archives of Biochemistry and Biophysics* Volume 523(1), pp. 123-33.