

# **Vitamina D: Produzione, Metabolismo, Meccanismo di Azione e Requisiti Clinici**

# Vitamina D

La vitamina D è una sostanza che può essere considerata a tutti gli effetti un ormone, espletando la sua azione su organi e tessuti target attraverso l'immissione in circolo.

In natura esiste essenzialmente in due forme:

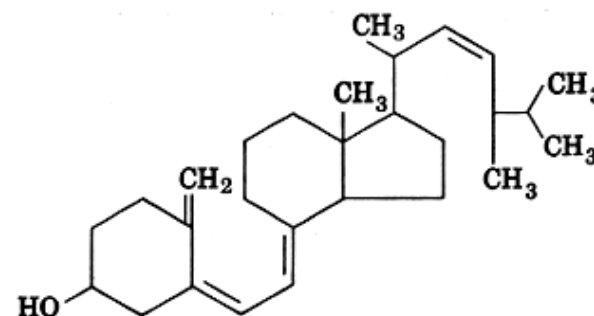
- **vitamina D2** (ergocalciferolo) → di origine vegetale

- **vitamina D3** (colecalfiferolo) → si forma a livello cutaneo per irraggiamento solare a partenza del 7-deidrocolesterolo

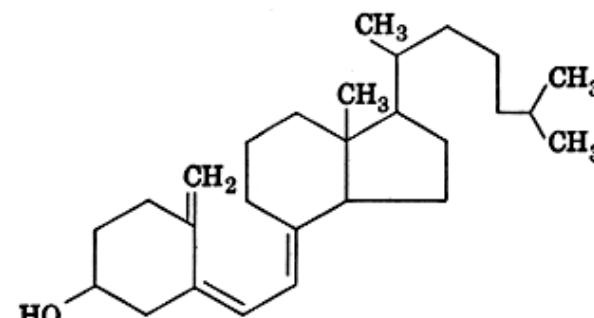
Nei paesi occidentali:

80% ---> produzione endogena

20% ---> alimentare



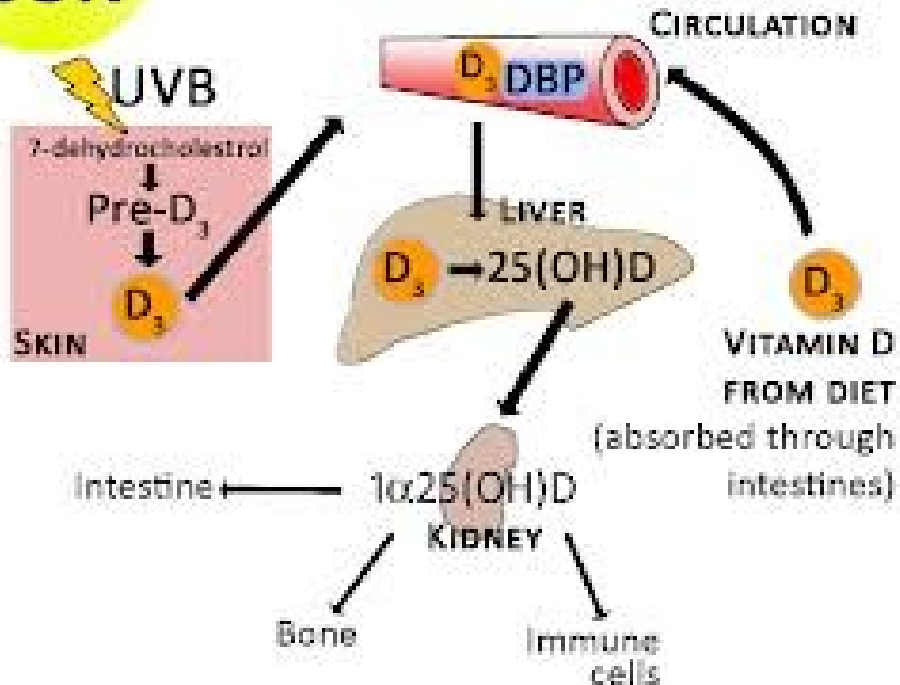
Vitamin D<sub>2</sub> (calciferol)



Vitamin D<sub>3</sub>

## Produzione Vitamina D

SUN



La rapidità e i livelli di vit D dipendono:

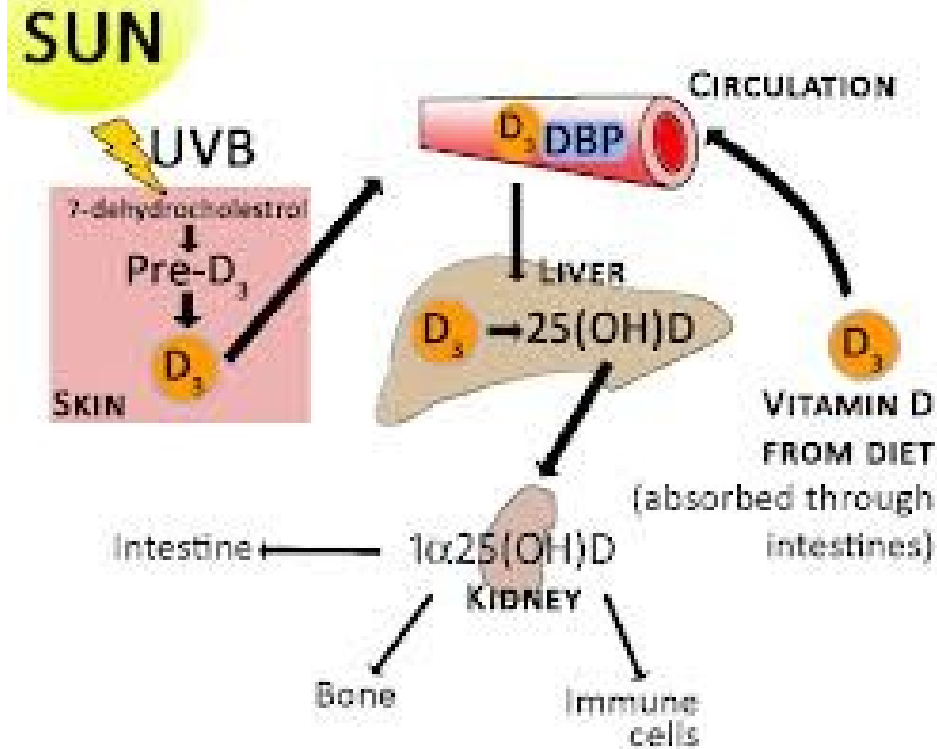
- lunghezza d'onda (290-310 nm)
- pigmentazione cutanea
- latitudine
- intensità di esposizione



Il rischio di tossicità è scarsissimo:

- Pre D<sub>3</sub> ---> lumisterolo e tachisterolo
- Maggiore concentrazione di melanina riduce l'efficacia dell'esposizione

# Metabolismo Vitamina D



La vit D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> sono biologicamente inerti.

Per essere metabolizzata e poter agire viene veicolata in circolo grazie alla DBP (vit D binding protein) ---> siti di storraggio (muscolo e grasso) e tessuti target

Haeney RP et al 2009 J Am Coll Nutr 28:252-256

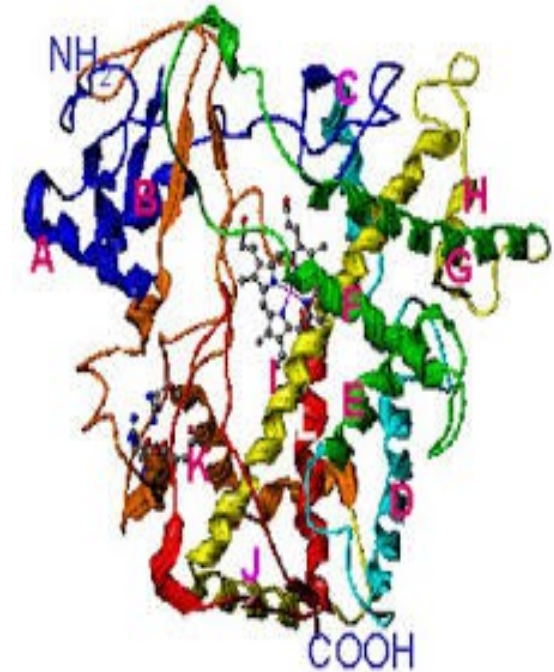
Nel FEGATO  $\xrightarrow{\text{vit D 25 idrossilasi(P450)}}$  25 OH vit D  $\rightarrow$  viene riversata in circolo e non nella bile

Nel RENE  $\xrightarrow{\text{CYP27B1 1a idrossilasi}}$  1,25 (OH)<sub>2</sub> vit D (forma attiva)  $\rightarrow$  VDR

# Metabolismo Vitamina D

La CYP27B1 1a idrossilasi

- Appartiene alla famiglia dei CYP450
- È localizzata nella membrana mitocondriale interna
- È presente per la maggior parte nelle cellule tubulari prossimali ma anche in siti extrarenali (cellule immunitarie, epiteliali normali o maligne)



# Metabolismo Vitamina D

## Mezzi di regolazione della CYP27B1 $\alpha$ -idrossilasi

- Disponibilità del substrato 25(OH)D all'enzima
- Espressione della CYP27B1 idrossilasi
- Disponibilità dei cofattori dell'enzima
- Attività CYP24 idrossilasi

# Metabolismo Vitamina D

## A LIVELLO RENALE

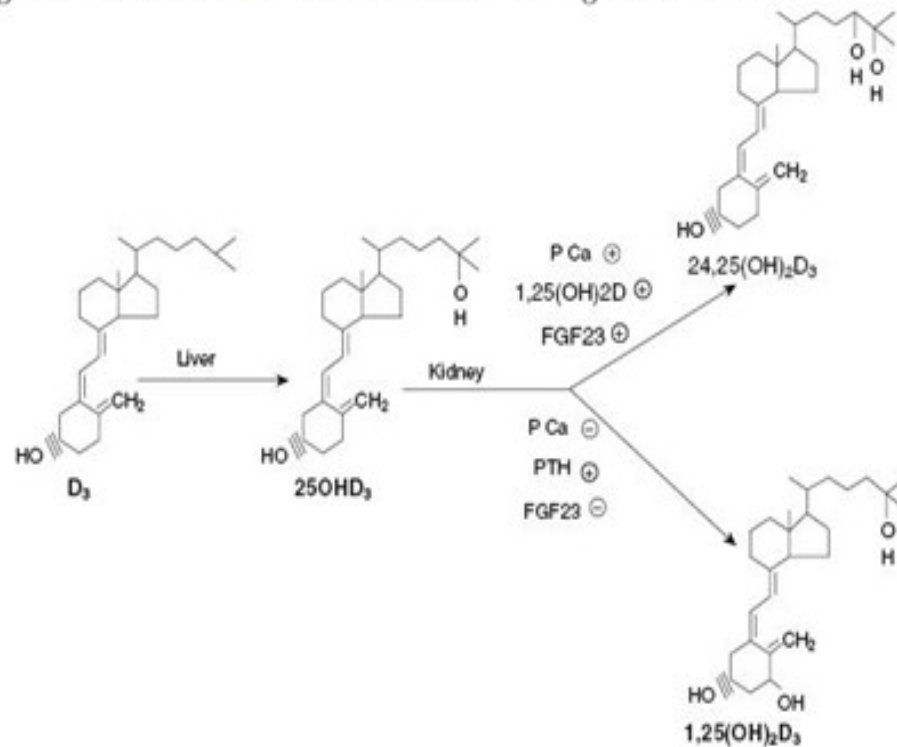
- **Disponibilità del substrato 25(OH)D all'enzima**  
è fornito dall'internalizzazione endocitica del filtrato glomerulare, trasportato dalla DBP/megalina

- **Espressione della CYP27B1 idrossilasi**

A livello del nefrone prossimale è controllata principalmente dai livelli di PTH e FGF23, che sono i principali responsabili della trans-attivazione e trans-inibizione dell'enzima

# Metabolismo Vitamina D

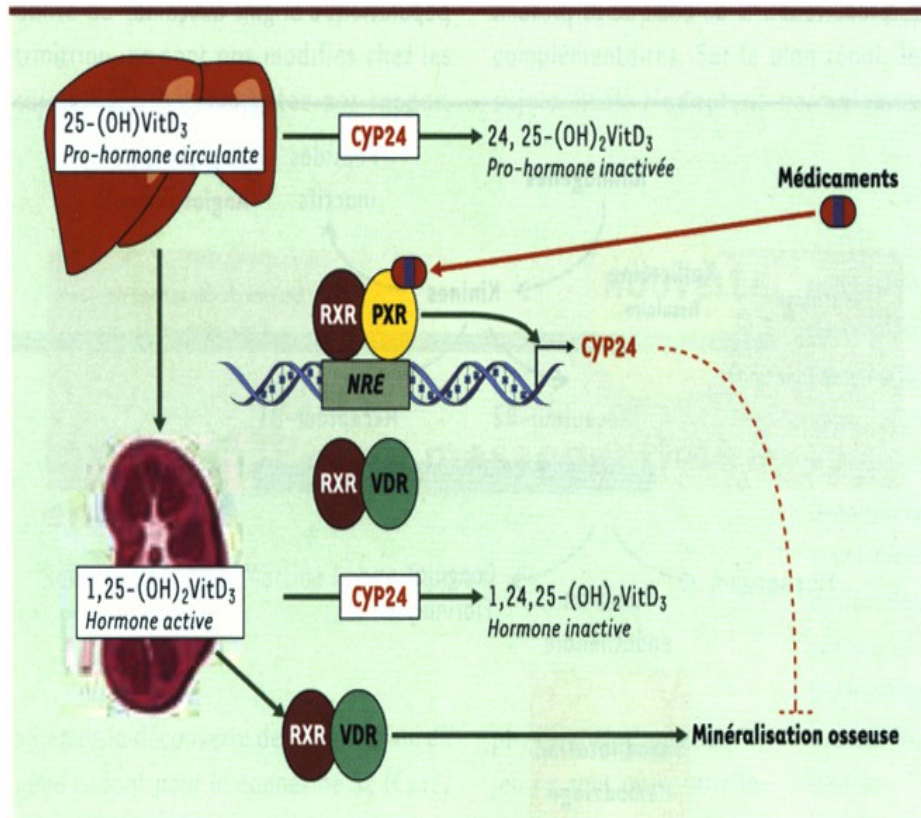
**Fig. 29.2.** The metabolism of vitamin D. The liver converts vitamin D to 25OHD. The kidney converts 25OHD to 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Control of metabolism is exerted primarily at the level of the kidney, where low serum phosphorus, low serum calcium, low FGF23, and high parathyroid hormone (PTH) levels favor production of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, whereas high serum phosphorus, calcium, FGF23, and 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and low PTH favor 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> production.





# Metabolismo Vitamina D

- Attività CYP24 idrossilasi



Ha attività catabolica

1,25(OH)<sub>2</sub>VitD<sub>3</sub>



1,24,25(OH)<sub>3</sub>D → acido calcitroico  
(prodotto inattivo solubile in acqua)

L'espressione del gene CYP24 è controllato dall' 1,25(OH)<sub>2</sub>D per feedback positivo:

[↑1,25(OH)<sub>2</sub>vitD] → ↑ trascrizione CYP24 idrossilasi

# Metabolismo Vitamina D

## La CYP27B1 idrossilasi in tessuti extrarenali:

### Nei macrofagi

- È immune al PTH e FGF23
- Suscettibile all'induzione da ligandi TLR
- Può essere up-regolata da donatori di elettroni non specifici come NO

Hewison M et al.2007 J Steroid Biochem Mol Biol 103:316-321

### Nei cheratinociti

- Presenta caratteristiche intermedie all' 1-idrossilasi renale e macrofagica
- È stimolata da TNF $\alpha$  , INF $\gamma$  e attivazione TRL2

Bikle DD et al.1991. Endocrinology 129:33-38

Shauber J 2007. J Clin Invest 117:803-811

# Trasporto e internalizzazione Vitamina D

**DBP (vitamin D binding protein):**

- Appartiene alla famiglia dell' albumina
- È sintetizzata a livello epatico
- Ha un'emivita di 2- 3 gg
- Presenta alta affinità per la vit D e i suoi metaboliti,  
25(OH)D, 24,25(OH)2D, 1,25(OH)2D

## Trasporto e internalizzazione Vitamina D

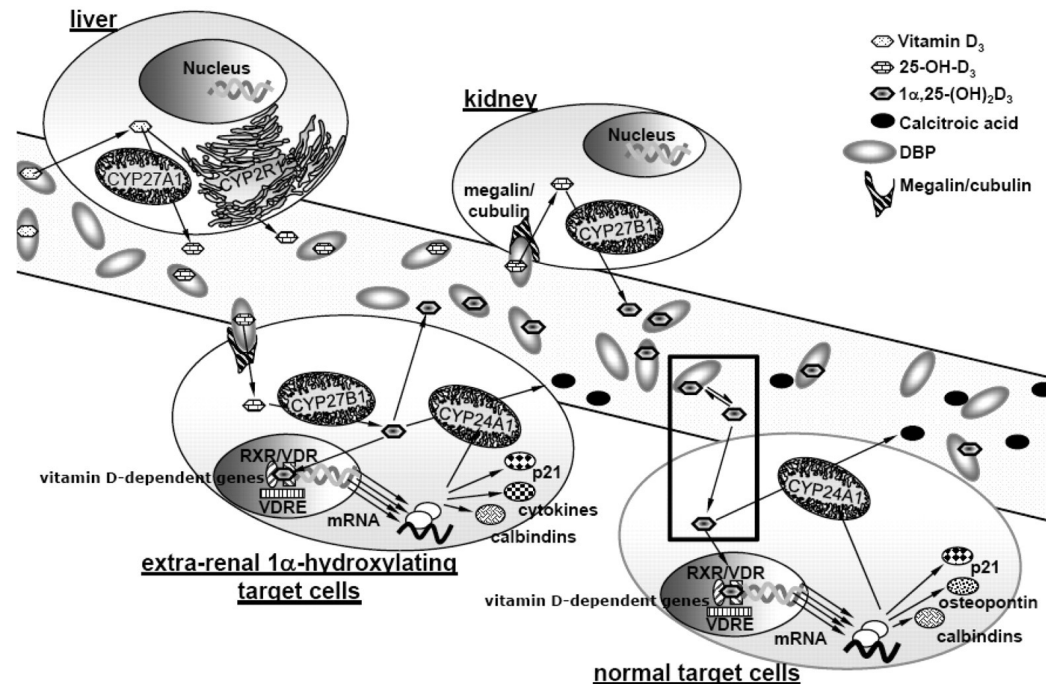
### Internalizzazione

- Ipotesi del "free hormone"????

Il suo passaggio per diffusione attraverso la membrana citoplasmatica è inverosimile perché non spiegherebbe la specificità della vitamina per determinate cellule

- È più probabile che esista un recettore ancorato alla membrana plasmatica x la DBP che verrebbe endocitato

Adams JS 2005. Cell 122:647-649



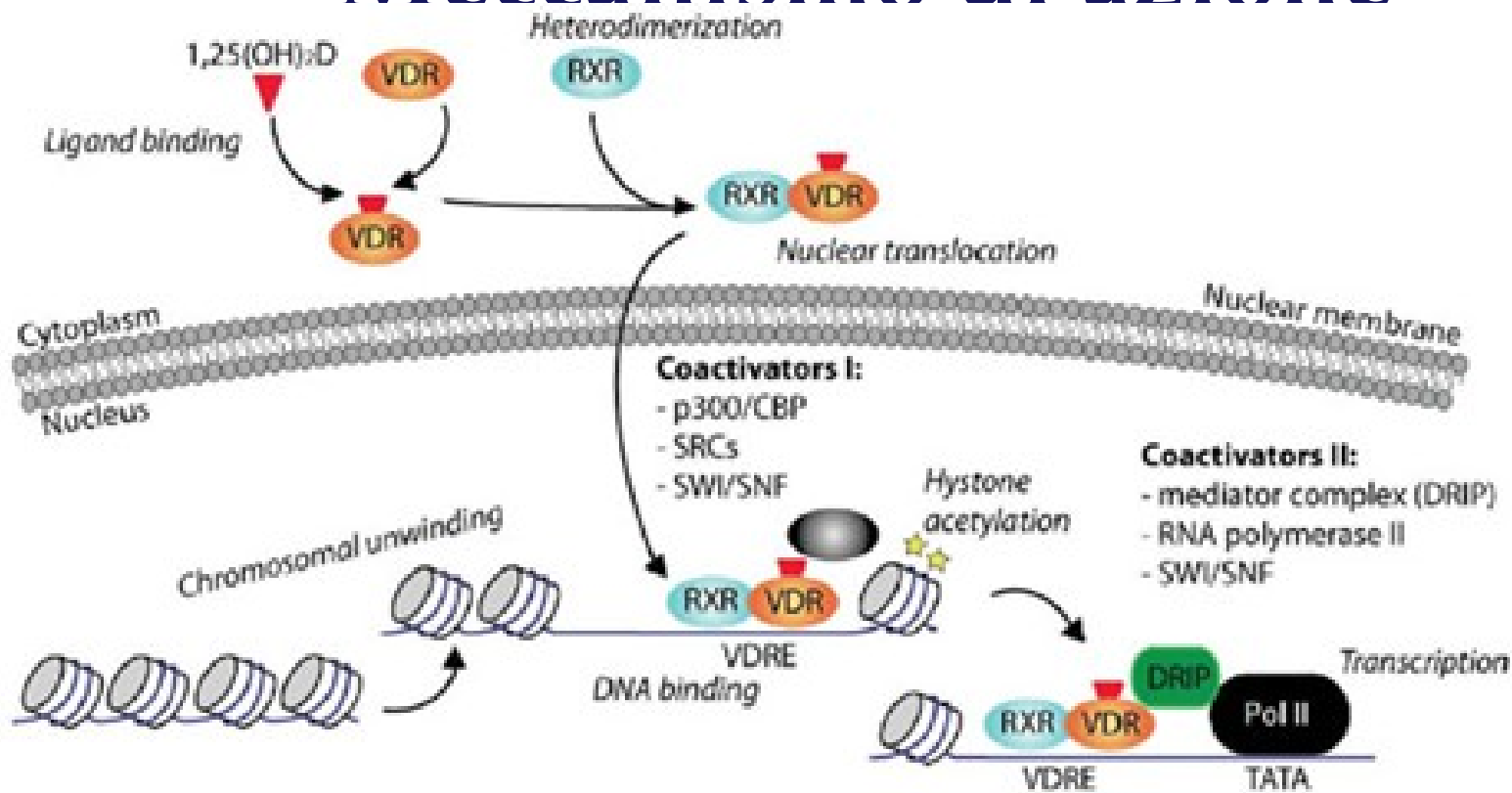
# Meccanismo di azione

Una volta internalizzata la vitamina D agisce attraverso il suo recettore VDR.

## **VDR (vitamin D receptor):**

- Presenta omologia con la famiglia dei recettori per gli steroidi e ormoni tiroidei
- Può essere presente nel citoplasma o nel nucleo
- Mostra alta affinità per la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>
- espresso non solo sui tessuti target
- Molti di questi tessuti hanno anche la CYP27B1

# Meccanismo di azione



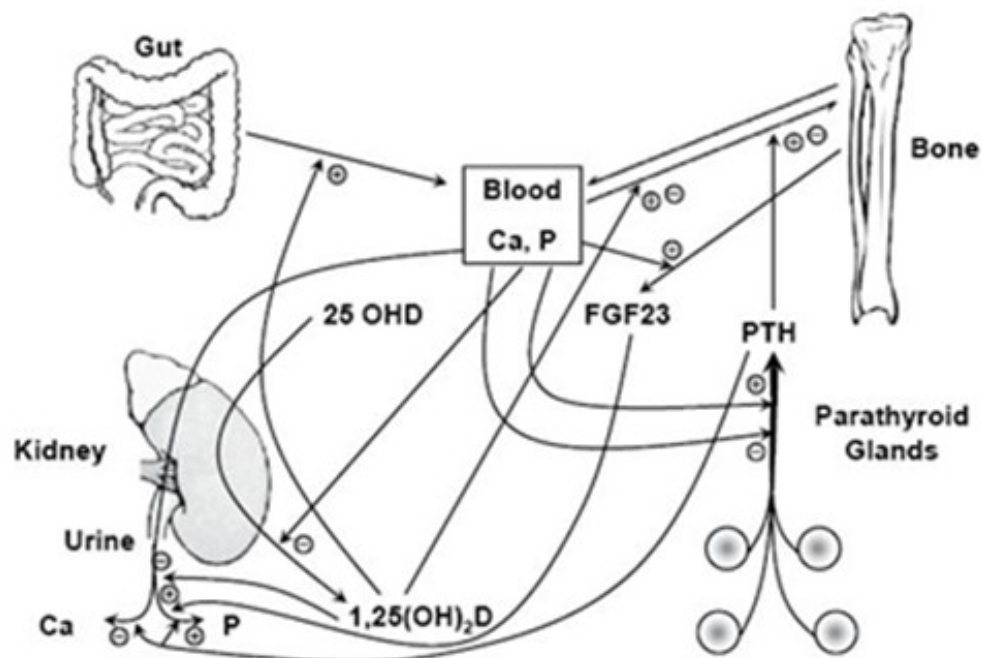
Fattori coinvolti nella trascrizione mediata da VDR :

- TFIIB
- TAFs (TATABinding protein associated factor)
- P160 coattivatori (SRC, steroid receptor activator -1, -2, -3 )  
----> con attività di acetilasi degli istoni (HAT)
- Coattivatori della vit D, DRIP (VDR interacting protein)
- Promotori YY1 e CCAAT

RXR: retinoid X receptor

VDREs: elementi responsivi alla vitamina D

# Regolazione Ca e P



PTH

FGF23

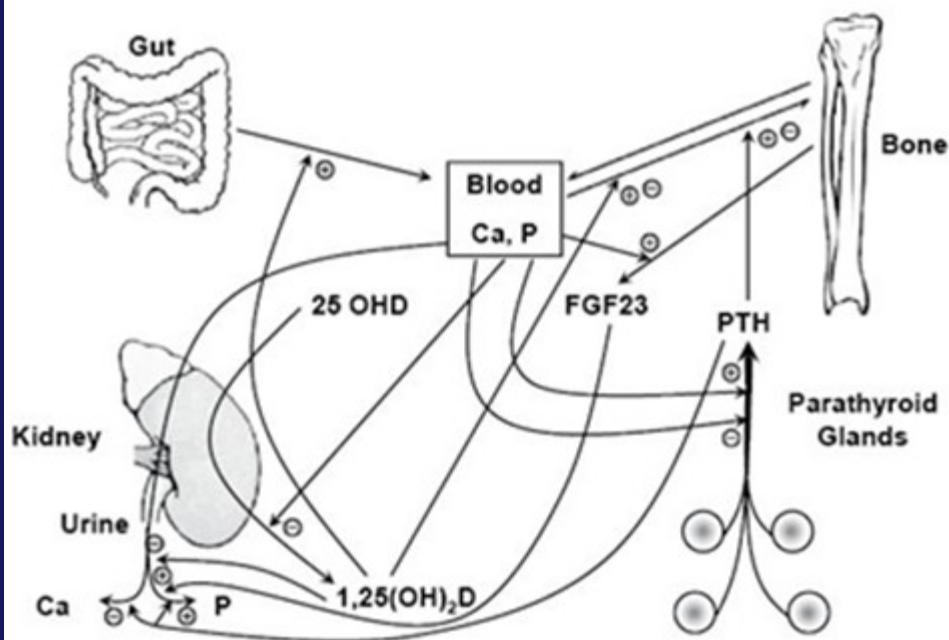
La principale azione della vitamina D è la regolazione del Ca e P nei tessuti target (intestino, rene, ossa).

In quest'azione essa agisce in concerto con altri due ormoni, PTH e FGF23.

Questi tre si influenzano vicendevolmente

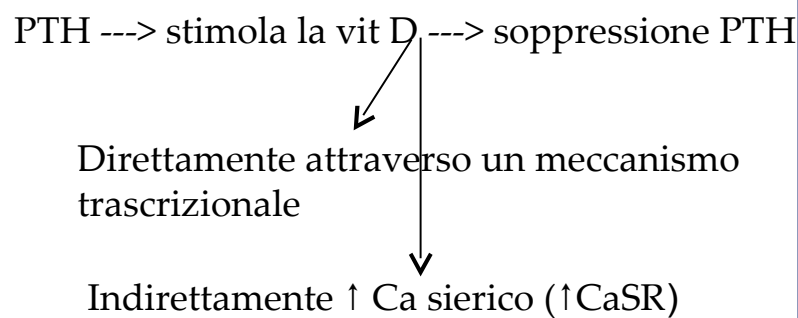


# Regolazione Ca e P



PTH

FGF23



Nel rene FGF23 (attraverso KLOTHO, cofattore della via segnale del FGF23) ----> inibisce la sintesi di vit D (ciò avviene tramite ↑ della trascrizione di CYP24)

Vit d ----> up-regola KLOTHO  
 Perdita di KLOTHO ----> induce CYP27B1

Vit D ----> stimola la trascrizione di FGF23 (OSSA)

(DIETA) ↑ P ----> stimola FGF23 e PTH



# Osso e Vitamina D

## EFFETTI DIRETTI VIT D:

- Up- regulation del RANK-L
- Legame al VDR nell'osteoblasta ---->  
RANKL/RANK ----> Osteoclastogenesi
- Down-regulation dell'OPG

Yasuda H et al 1998 Proc Natl Acad Sci USA 95:3597-3602

- Stimolazione produzione osteocalcina e osteopontina
- Regolazione Runx2, fattore di trascrizione degli OB

Drissi H et al. 2002 Exp Cell Res 274:323-333

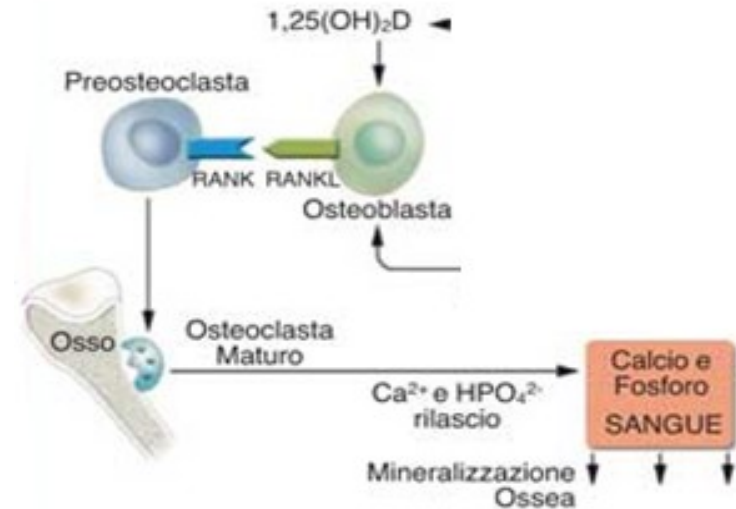
- In topi transgenici l' iperespressione di VDR in OB  $\uparrow$  formazione ossea

Gardiner EM et al.2000 FASEB J 14:1908-1916

**Da questi dati si evince che gli effetti sull'osso sono diversi, sia in termini di formazione che riassorbimento**

## EFFETTI INDIRETTI:

- stimolazione del riassorbimento di Ca e P intestinale



# Osso e Vitamina D

**VDR knockout (KO) mice:**

Iperparatiroidismo secondario

Ipocalcemia

Rachitismo



Dieta ricca di Ca, fosforo, lattosio

Li YC et al 1997 Proc Natl Acad Sci USA 94:9831-9835

Toshizawa T et al. 1997 Nat Genet 16:391-396



I livelli sierici di Ca e PTH si normalizzavano e il rachitismo e l'osteomalacia erano prevenuti

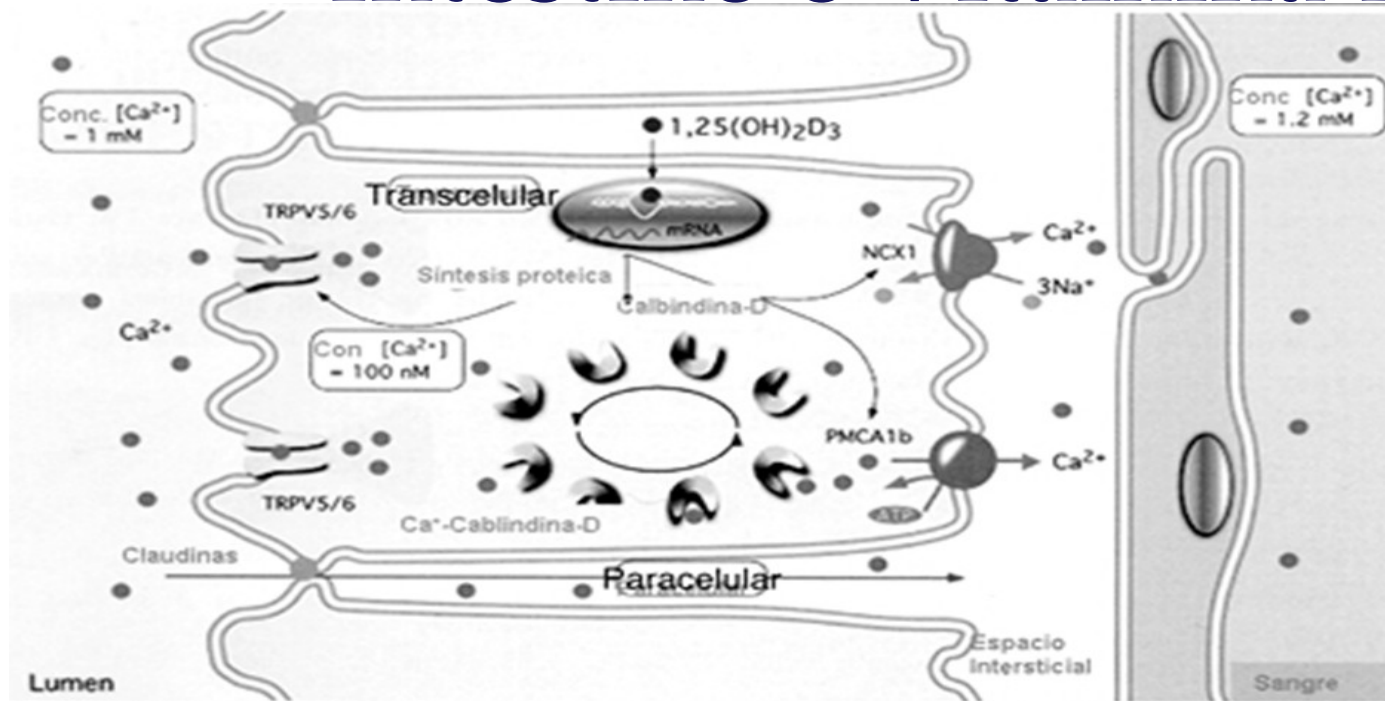
**Il maggior effetto della Vit D è rifornire l'osso di Ca e P dall'assorbimento intestinale rispetto ad un'azione diretta sull'osso**

Amling M et al. 1999 Endocrinology 140:4982-4987

**2) L'espressione transgenica di VDR (nei VDR KO) nell'intestino:  
Normalizzazione Ca sierico, densità e volume osseo**

Xue Y et al. 2009 Gastroenterology 136:1317-1327,1311-1312

# Intestino e Vitamina D



## Processo attivo saturabile

- trans-cellulare
- avviene a livello del duodeno

## Diffusione semplice passiva

- Paracellulare (attraverso le tight junctions e gli spazi intercellulari)



2010 CRIT REV CLIN LAB SCI

Richiede un gradiente di concentrazione del Ca almeno di 4-6 mM

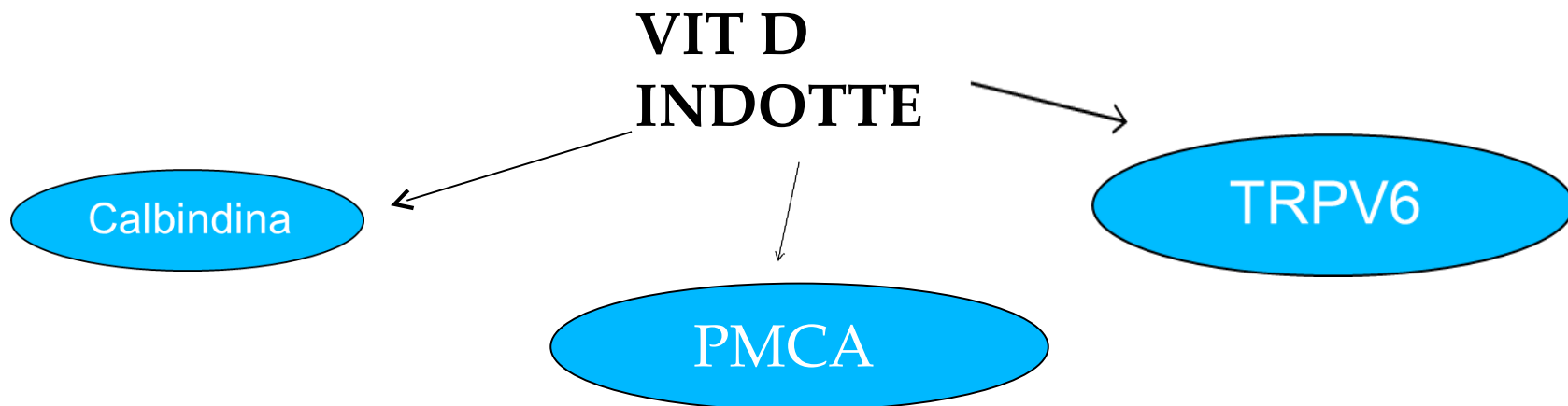
- Avviene in tutto l'intestino (duodeno, digiuno, ileo e colon)

# Intestino e Vitamina D

IL PROCESSO ATTIVO TRANSCELLULARE prevede tre momenti :

- Ingresso di calcio attraverso la membrana dell'orletto a spazzola
- La diffusione intracellulare del Ca
- L'estrusione del calcio, ATP-dipendente, attraverso la membrana basolaterale

In questi processi intervengono 3 proteine che sono indotte dalla vit D



## Intestino e Vitamina D


### La CALBINDINA

- Facilita la diffusione di calcio dall'interno della cellula verso la membrana basolaterale
- Non agirebbe da sola

Akhter S et al,2007.Arch Biochem Biophys 460:227-232

Kutuzova GD et al.2006 Proc Natl Acad Sci USA 103:12377-12381

### Il TRPV6 (transient receptor potential channel)

- Colocalizzato con la calbindina
- Riveste un ruolo chiave nell'entrata del Ca nell'enterocita
- In Calbindin – D9k/TRPV6 double KO mice assorbimento intestinale di calcio è meno efficiente

Benn BS,2008, Endocrinology 149:3196-3205

La Calbindina quindi agirebbe non tanto come facilitatore della diffusione del Ca quanto come modulatore del suo flusso via TRPV6

# Intestino e Vitamina D

Anche l'estrusione del calcio dall'enterocita è condizionata dall'1,25(OH)<sub>2</sub>D

- Essa avrebbe un effetto diretto sull'espressione della pompa del calcio (**PMCA**) a livello della membrana citoplasmatica

Wasserman RH, Fullmer CS. 1995. J Nutr 125: 1971S- 1979S

- In aggiunta l'1,25(OH)<sub>2</sub>D incrementa l'assorbimento intestinale di fosforo in associazione con l'FGF-23.

William KB et al.2007.Am J Physiol Endocrinol Metab 292: 1917-1921

# Rene e Vitamina D

- Stimola il riassorbimento di calcio dal filtrato glomerulare
- ↑ l'attività del PTH sul trasporto di calcio nel tubulo distale ( ↑ la trascrizione del mRNA del recettore del PTH)

Sneddon WB et al., 1999 Cell Physiol Biochem 8;261-277

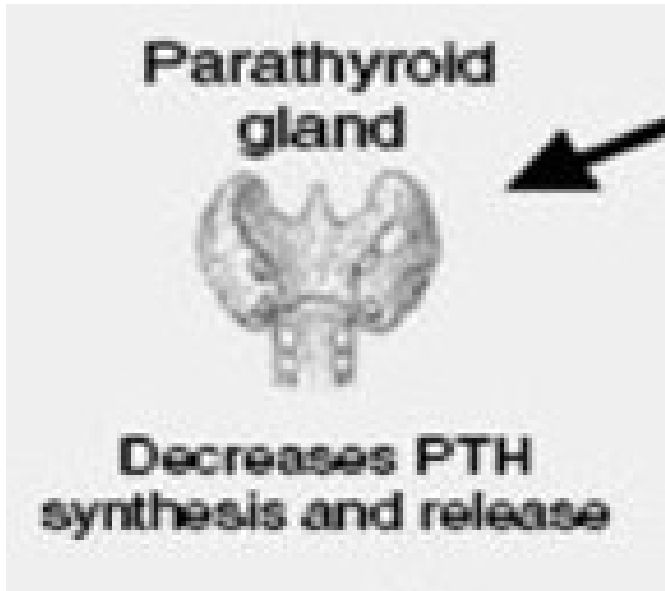
- Sintesi delle calbindine nei tubuli distali e del TRPV5,

Royal- Pandya M, Porta A, et al. 1998. Holick MF (ed.) Vitamin D Physiology, Molecular biology and clinical Applications. Totowa, NJ: Humana Press. pp. 163-173

- Induce inibizione di CYP27B1
- Induzione di CYP24.

Omdahl JL, et al. 2001 Steroids 66. 381-389

# Tessuti Target non classici



## GH. PARATIROIDI

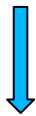
- Inibizione PTH
- Prevenzione della proliferazione delle cellule paratiroidie  
Demay MB et al. 1992 Proc Nat Acad Sci USA 89:8097-8110
- sensibilizzazione  
all'inibizione da parte del calcio (  $\uparrow$  CaSR)  
Canaff L et al 2002 J Biolo Chem 277:30337-30350



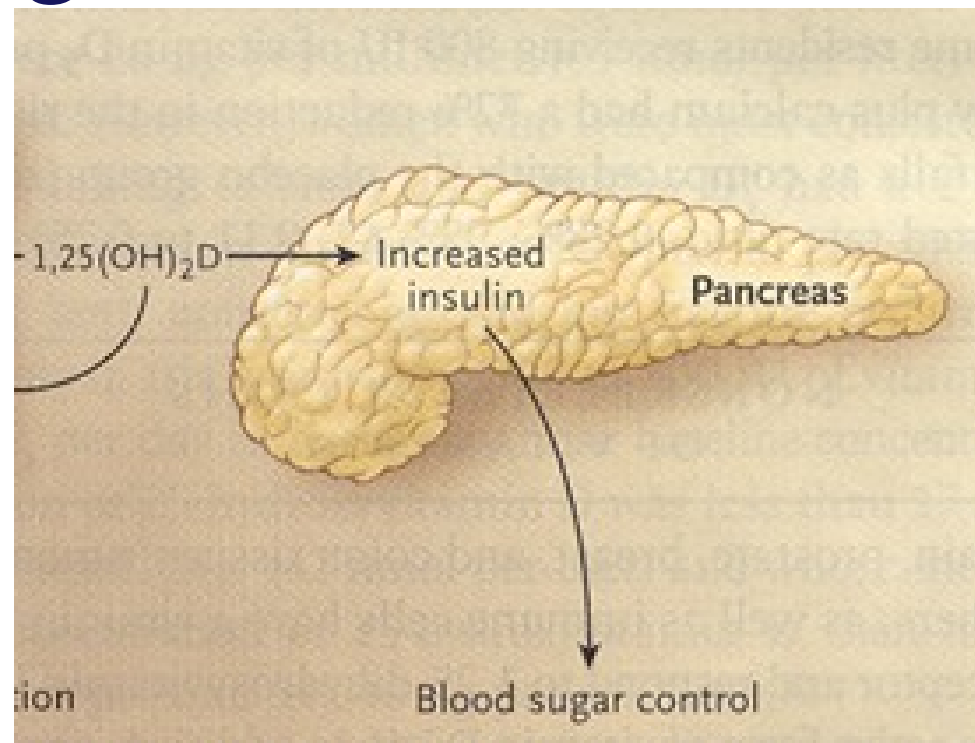
# Tessuti Target non classici

## PANCREAS

- VDR e calbindina sono localizzati nelle cellule B
- Calbindina



depolarizzazione di membrana



-Regolazione Ca e rilascio di insulina

Sooy K et al.1999 J Biol Chem 274:34343-34349

-Protezione contro il danno, citochine mediato, delle cel B

Rabinovitch A et al.2001 Endocrinlgy 142:3649-3655

-Possibili ripecussioni terapeutiche nel diabete I e II

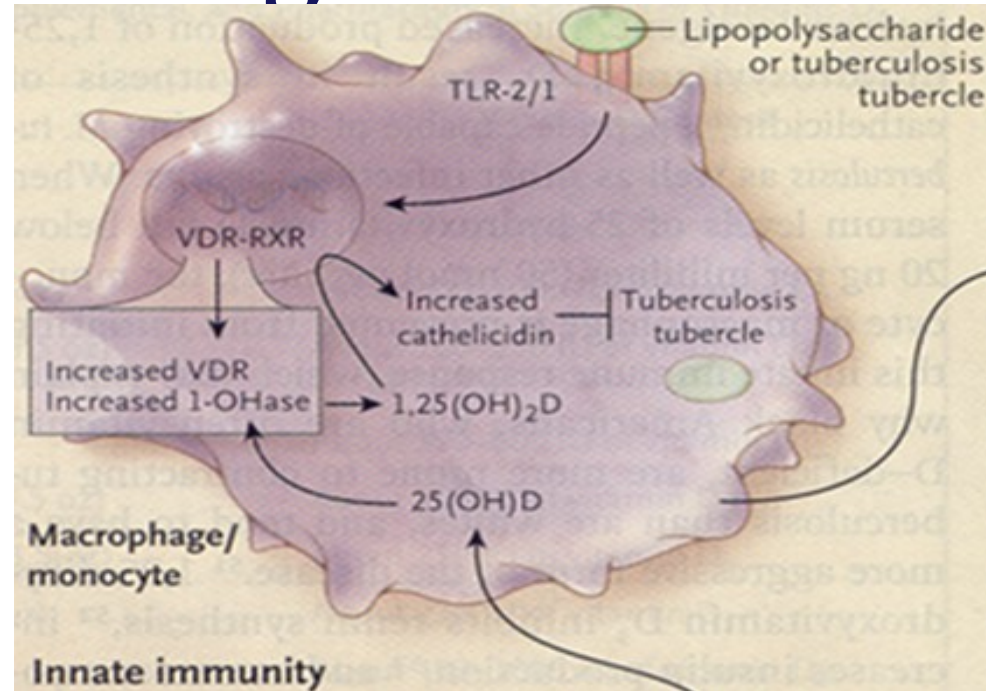
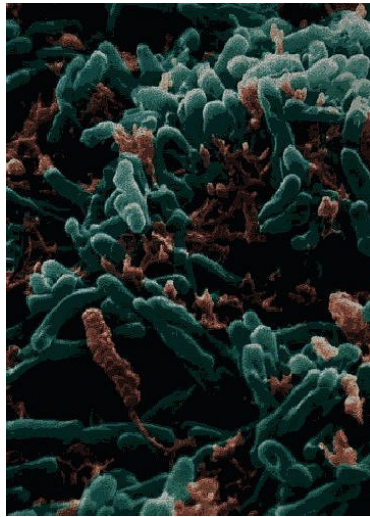


Tra gli effetti non classici della vit D rientra il suo ruolo nel sistema immunitario.

Recenti studi hanno dimostrato che l' $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  regolerebbe sia la risposta immunitaria innata che quella adattativa ma in direzioni opposte:

- Stimolazione dell'immunità innata
- Repressione dell'immunità adattativa





## NELL'IMMUNITÀ INNATA:

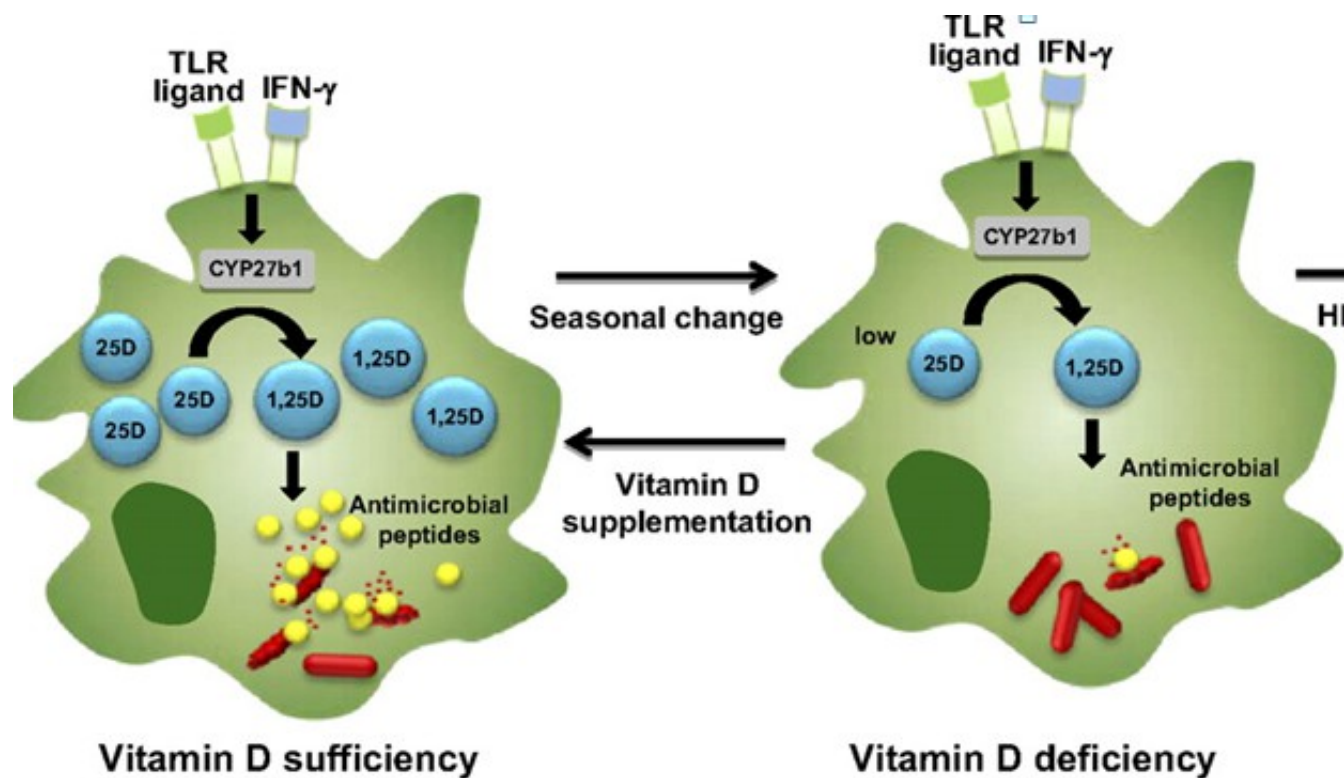
- può inibire la crescita del bacillo di Koch ----> attraverso la sintesi di catelicidina il cui prodotto LL37 è un peptide anti-microbico avente potere battericida

Rook GA et al. 1986. Immunology 57: 159-163

Wang TT et al 2004. Cutting edge J immunol 173:2909-2912

Questa risposta sarebbe comune all'invasione di diversi agenti infettivi, non solo per il Mycobacterium tuberculosis.

# Immunobiologia vit D



Studi successivi hanno confermato questa capacità specie nelle cellule con CYP27B1

Una significativa attività di CYP27B1 è correlata ai TLRs (toll-like receptors, PRR pattern recognition receptors)

# Immunobiologia vit D

Science. 2006 Mar 24;311(5768):1770-3. Epub 2006 Feb 2

## Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response

Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, Ochoa MT, Schaubert J, Wu K, Meinken C, Kamen DL, Wagner M, Bals R, Steinmeyer A, Zügel U, Gallo RL, Eisenberg D, Hewison M, Hollis BW, Adams JS, Bloom BR, Modlin RL

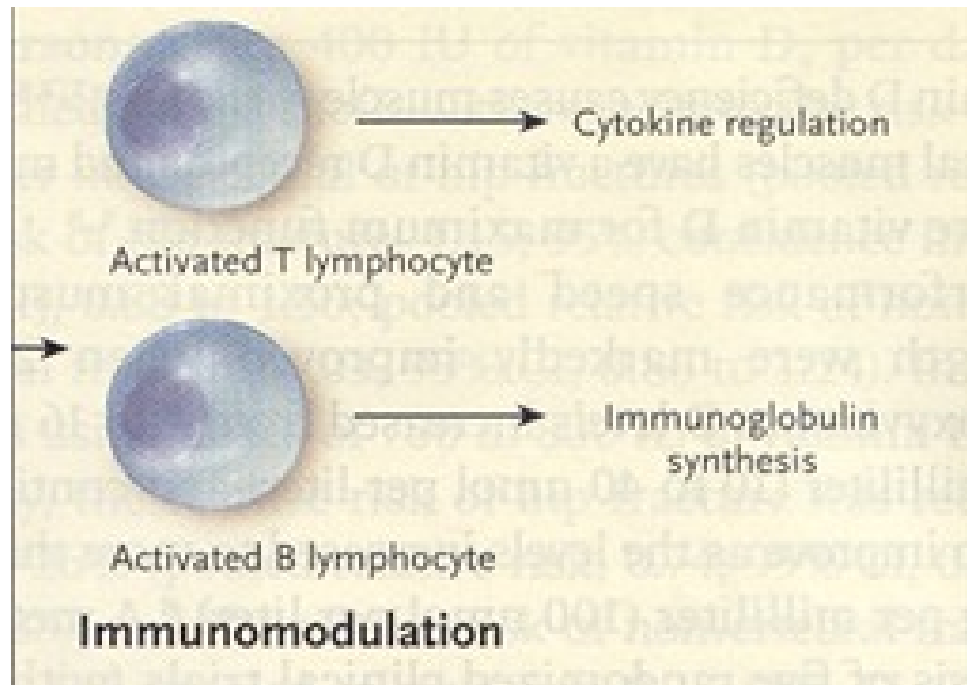
### Abstract

In innate immune responses, activation of Toll-like receptors (TLRs) triggers direct antimicrobial activity against intracellular bacteria, which in murine, but not human, monocytes and macrophages is mediated principally by nitric oxide. We report here that TLR activation of human macrophages up-regulated expression of the vitamin D receptor and the vitamin D-1-hydroxylase genes, leading to induction of the antimicrobial peptide cathelicidin and killing of intracellular Mycobacterium tuberculosis. We also observed that sera from African-American individuals, known to have increased susceptibility to tuberculosis, had low 25-hydroxyvitamin D and were inefficient in supporting cathelicidin messenger RNA induction. These data support a link between TLRs and vitamin D-mediated innate immunity and suggest that differences in ability of human populations to produce vitamin D may contribute to susceptibility to microbial infection.



# Immunobiologia vit D

NELLA IMMUNITÁ ADATTATIVA agirebbe:



- Sui Linfociti B --->

inibendo la proliferazione, la maturazione e la produzione di Ig

- Sulle cellule T (VDR) ---> inibendo Th-1 e Th-17

# Ruolo della vitamina D nella differenziazione epidermica

- La vit D è prodotta nei cheratinociti (che possiedono CYP27B1) ed agisce come un fattore paracrino ed autocrino utile nella loro differenziazione
- La concentrazione quivi prodotta non influisce sulla concentrazione ematica

La differenziazione dei cheratinociti si accompagna ad:

- Aumento di involucrina
- Transglutaminasi
- Filagrina
- Loricrina

barriera intatta

Su MG et al.1994 J Biol Chem 269:14723-14629

## MECCANISMO DI AZIONE:

- $\uparrow$  CaSR
- Induzione fosfolipasi C  $\rightarrow$  attivazione DAG e I3P

# Ruolo della vitamina D nella differenziazione epidermica

Topi con recettore VDR- KO:

- Alopecia
- Difetti di differenziazione: ridotti livelli di involucrina e locrina, perdita di granuli cheratoialini, perdita del gradiente del calcio, interruzione della produzione e secrezione dei corpi lamellari: **funzione di barriera alterata**

Altro ruolo Vit D:

- regolazione dell'espressione di peptidi antimicrobici in risposta alle lesioni epidermiche e alle infezioni



# Considerazioni nutrizionali

Il 25(OH)D sierico è il surrogato ematochimico più affidabile per la valutazione della concentrazione della vit D

RACCOMANDAZIONI DELL'IOM (istituto di Medicina)

Attualmente: >20 ng/ml: sufficienza (97% popolazione) o 600 UI  
> 50 ng/ml: normalità 4000 UI

Ross AC et al. 2011J Clin Endocrinol Metab 96:53-58

Deficienza vit D ---> è correlata a patologie autoimmuni, diabete tipo 1, sclerosi multipla e Crohn

Ponsonby Al et al. 2002. Toxicology 181-182:71-78

# Considerazioni nutrizionali

## STRATEGIE TERAPEUTICHE

Sole ----> fino a 10000 UI vit D3

5-10 minuti (pelle chiara) fornisce 3000 UI

- Rischio di cancro e invecchiamento della cute

Studi hanno dimostrato che supplementazione di vit d3 pari a 100UI aumentano di 0,5-1 ng/ml la vit D sierica

Heaney RP et al. 2003 Am J Clin Nutr 77:204-210

In obesi o pz con malassorbimento occorre una dose maggiore  
700- 800 UI è la dose minima raccomandata x prevenire cadute e fratture  
(IOM 600)

Tossicità: NO a dosi < 10000 UI/die, (IOM) il limite superiore 4000UI

Hathcock JN et al. 2007 Am J Clin Nutr 85:6-18