



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

« Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D ΣΤΗΝ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ »

ΕΛ ΜΠΙΣΑΡΙ ΣΑΡΑ

ΚΛΙΝΙΚΟΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΑΣ (ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ)

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΒΑΡΒΑΡΑ ΤΡΑΧΑΝΑ ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΑΣΠΑΣΙΑ ΤΣΕΖΟΥ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΔΗΜΑΣ ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΛΑΡΙΣΑ, 2017



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

«VITAMIN D DEFICIENCY AND INFERTILITY»

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής Dr.Ασπασία Τσέζου, για την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετάσχω σε αυτό το ιδιαίτερα ενδιαφέρον μεταπτυχιακό πρόγραμμα, το οποίο με βοήθησε να διευρύνω τις γνώσεις μου στον τομέα της Γενετικής του ανθρώπου. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επίκουρο Καθηγήτρια Κυτταρικής Βιολογίας Dr.Τραχανά Βαρβάρα για τις σημαντικές υποδείξεις και συμβουλές της για την ολοκλήρωση την παρούσας εργασίας. Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τις συναδέλφους μου Dr.Κατσέλη Αναστασία και Παναγιώτα Πίττα MSc για τον πολύτιμο χρόνο και στήριξη που μου παρείχαν. Τέλος θέλω να εκφράσω ένα τεράστιο ευχαριστώ στο συζυγό μου και στο γιο μου για τη συμπαράσταση και την υπομονή που έδειξαν κατά τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια παρουσιάζεται ιδιαίτερα αυξημένο ενδιαφέρον για τη διερεύνηση της επίδρασης της βιταμίνης D στον ανθρώπινο οργανισμό. Πλήθος μελετών επιβεβαιώνουν τα οφέλη της χορήγησης της βιταμίνης D σε άτομα με έλλειψη ή ανεπάρκειά της, τόσο στη βελτίωση των συμπτωμάτων του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών και της ενδομητρίωσης, όσο και στην αύξηση της επιτυχίας της εξωσωματικής γονιμοποίησης.

Για να γίνει κατανοητός ο μηχανισμός παραγωγής και απορρόφησης της βιταμίνης D, καθώς και της ιστοειδικής δράσης της στο αναπαραγωγικό σύστημα, έχουν διεξαχθεί πειράματα σε γενετικά τροποποιημένα ζώα ή σε αγρίου τύπου ζώα με διατροφική έλλειψη βιταμίνης D. Επίσης έγιναν μελέτες σε υπογόνιμα άτομα και των δύο φύλων που ανέδειξαν τη σημασία της βιταμίνης D στην αναπαραγωγική διαδικασία στον άνθρωπο.

Στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα μετά από τη χορήγηση συμπληρωμάτων βιταμίνης D, καταγράφηκαν σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, οπότε και βελτιώθηκε η συχνότητα της εμμηνόρροιας και οι μεταβολικές διαταραχές που παρουσίαζαν, με συνέπεια την αύξηση των ποσοστών κλινικών κήσεων. Στους υπογόνιμους άνδρες, η βιταμίνη D συνδέθηκε θετικά με την ποιότητα του σπέρματος και τα επίπεδα των ανδρογόνων καθώς παρατηρήθηκε ότι θεραπεία με βιταμίνη D μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα της τεστοστερόνης.

Περαιτέρω μελέτες σε αυτό το πεδίο θα συμβάλλουν στον καθορισμό κατευθυντήριων γραμμών για την εφαρμογή συγκεκριμένου πρωτοκόλλου χορήγησης βιταμίνης D σε ζευγάρια με υπογονιμότητα που οφείλεται σε PCOS και κακή ποιότητα σπέρματος.

ABSTRACT

In recent years, there has been a growing interest in investigating the effect of vitamin D in the human body. Numerous studies confirm the benefits of vitamin D, in patients with vitamin D deficiency, for improving the symptoms of PCOS and endometriosis, also, for increasing IVF success rates.

In order to understand the mechanism of production and absorption of vitamin D as well as its tissue-specific activity in the reproductive system, experiments have been carried out on genetically modified animals or on wild-type animals with dietary deficiency of vitamin D.

Following studies were performed on infertile individuals of both sexes, these studies have shown the importance of vitamin D in the reproductive process in humans.

Statistically significant results after administration of vitamin D supplements were recorded in women with polycystic ovarian syndrome, it was shown that Vitamin D improved the incidence of menstruation and metabolic disturbances, resulting in increased rates of clinical pregnancies. Vitamin D was associated with sperm quality and androgen levels in infertile men, observations on these individuals showed that vitamin D therapy may increase testosterone levels.

Further studies in this field will help to set guidelines for implementing a specific vitamin D administration protocol in couples with infertility due to PCOS and poor sperm quality.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εισαγωγή

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 – Γενικό μέρος

1. Πηγές βιταμίνης D
2. Αίτια έλλειψης βιταμίνης D
 - 2.1 Αντηλιακά
 - 2.2 Παχυσαρκία
 - 2.3 Ηλικία
 - 2.4 Κίρρωση του ήπατος
 - 2.5 Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια
 - 2.6 Δυσαπορρόφηση
3. Η επίδραση της βιταμίνης D στο γονιδίωμα
4. Επίπεδα της βιταμίνης D στον οργανισμό
5. Βιταμίνη D και υπογονιμότητα
6. Μεταβολισμός της βιταμίνης D
7. Μεταφορά της βιταμίνης D
8. Μηχανισμός δράσης της βιταμίνης D

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – Ειδικό μέρος

9. Βιταμίνη D και υπογονιμότητα
 - 9.1 Ο ρόλος της βιταμίνης D στην υπογονιμότητα
 - 9.1.1 Μοντέλα ζώων
 - 9.1.1.1 Βιταμίνη D και αναπαραγωγική φυσιολογία σε αρσενικά μοντέλα ζώων
 - 9.1.1.1.1 Μοντέλα Vdr και Cyp27b1 (1α-υδροξυλάσης) knockout αρσενικών ζώων
 - 9.1.1.1.2 Αρσενικοί αρουραίοι με διατροφική έλλειψη βιταμίνης D

9.1.1.2 Βιταμίνη D και αναπαραγωγική φυσιολογία σε θηλυκά μοντέλα ζώων

9.1.1.2.1 Θηλυκοί αρουραίοι με διατροφική έλλειψη βιταμίνης D

9.1.1.2.2 Βιταμίνη D-εγκυμοσύνη, τοκετός, γαλουχία και ζωικά μοντέλα

9.1.2 Βιταμίνη D και γονιμότητα στους ανθρώπους

9.1.2.1 Βιταμίνη D και αναπαραγωγική φυσιολογία στις γυναίκες

9.1.2.1.1 Εξωσωματική γονιμοποίηση - IVF

9.1.2.1.2 Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών - PCOS

9.1.2.2 Βιταμίνη D και αναπαραγωγική φυσιολογία στους άνδρες

Συμπεράσματα

Βιβλιογραφία

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια έχει αλλάξει ο τρόπος που θεωρούμε ότι η βιταμίνη D επιδρά στο ανθρώπινο σώμα. Μέχρι πρόσφατα γνωρίζαμε τη λειτουργία της ως στεροειδή ορμόνη στη διατήρηση του ασβεστίου και την ομοιόσταση του φωσφόρου. Όμως στοιχεία δείχνουν ότι υποβιταμίνωση της D συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο για πολλά νοσήματα όπως καρκίνο(1), αυτοάνοσα νοσήματα, διαβήτη, και καρδιαγγειακές παθήσεις (1, 2, 3), αναδεικνύοντας έτσι τη σπουδαιότητά της. Το ενδιαφέρον των ερευνητών για την κατανόηση της επίδρασης της βιταμίνης D στον ανθρώπινο οργανισμό, είναι ιδιαίτερα αυξημένο. Η βιταμίνη D έχει πολυάριθμες δράσεις, κάτι που αποδεικνύεται από το γεγονός ότι οι υποδοχείς της υπάρχουν σχεδόν σε όλους τους ιστούς του σώματος μας συμπεριλαμβανομένου των ωοθηκών, του ενδομητρίου, του πλακούντα, αλλά και στους όρχεις και στους γαμέτες (4) , γεγονός που υπογραμμίζει τη σημασία αυτής της βιταμίνης/ορμόνης και στην γονιμότητα.

Η βιταμίνη D ανακαλύφθηκε το 1913 από τους Mc Collum και Davis, οι οποίοι μελετούσαν την βιταμίνη A, και με την ανακάλυψη τους αυτή εισήγαγαν στην εποχή τους την έννοια των βοηθητικών διατροφικών ουσιών .

Το 1919 ο Sir Edward Mellanby, στη Μεγάλη Βρετανία, ευαισθητοποιήθηκε από τις διαστάσεις που είχε πάρει η εμφάνιση της ραχίτιδας στη χώρα, ευρέως γνωστή και ως η Αγγλική ασθένεια. Με οδηγό τις μελέτες του McCollum και τις προσωπικές του παρατηρήσεις σχετικά με τις διατροφικές συνήθειες των κατοίκων του Ηνωμένου Βασιλείου, που βασιζόταν κυρίως στη βρώμη, κατέληξε στο συμπέρασμα πως η ραχίτιδα πιθανώς αποτελεί νόσο διατροφικής ανεπάρκειας. Για να αποδείξει την παραπάνω υπόθεση εφάρμοσε αυτό το πρότυπο διατροφής σε σκύλους. Τα σκυλιά που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη διέμεναν σε εσωτερικούς χώρους, μακριά από το φως του ήλιου, με αποτέλεσμα να αναπτύξουν ραχίτιδα, η οποία έχει κοινά γνωρίσματα με την ραχίτιδα στον άνθρωπο. Θεωρώντας ότι η βιταμίνη A ήταν υπεύθυνη για την εμφάνιση της νόσου, κατάφερε να τη θεραπεύσει χορηγώντας τους μουρουνέλαιο.

Χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα της παραπάνω μελέτης, ο Mc Collum αποφάσισε να αποδείξει την υπόθεση, ότι η βιταμίνη A είναι υπεύθυνη για τη θεραπεία της ραχίτιδας. Για το σκοπό αυτό διοχέτευσε οξυγόνο στο μουρουνέλαιο καταστρέφοντας

τη βιταμίνη Α, όμως διαπίστωσε ότι αυτό εξακολουθούσε να διατηρεί την ικανότητα να θεραπεύει τη ραχίτιδα. Υπέθεσε λοιπόν πως κάτι άλλο αποτελούσε θεραπευτικό στοιχείο και όχι η βιταμίνη Α. Κάτι νέο μεσολάβησε, και αυτό ήταν η βιταμίνη D.

Η χημική δομή της βιταμίνης D προσδιορίστηκε τη δεκαετία του 1930 από τον καθηγητή Adolf Windaus στη Γερμανία, ο οποίος έλαβε το βραβείο Νόμπελ Χημείας το 1928 για το έργο του σχετικά με τις στερόλες και τη σχέση τους με τις βιταμίνες. Ο χημικός χαρακτηρισμός της D₃ έγινε το 1936, όταν αποδείχθηκε ότι προέκυψε από την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας επί της 7-δεϋδροχοληστερόλης. Αυτά τα αποτελέσματα καθιστούσαν σαφές ότι η αντιραχιτική ουσία βιταμίνη D ήταν χημικώς ένα στεροειδές και ειδικότερα ένα δευτεροταγές στεροειδές (6).

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι 1 δισεκατομμύριο άνθρωποι παγκοσμίως έχουν έλλειψη βιταμίνης D (5).

Στην παρούσα εργασία θα παρουσιαστεί ενδελεχώς ο ρόλος που διαδραματίζει η έλλειψη της βιταμίνης D στην εμφάνιση υπογονιμότητας. Στο επίκεντρο της θα είναι η κατανόηση του μεταβολισμού της βιταμίνης D και η συσχέτιση της βιταμίνης D με τις ενδοκρινικές διαταραχές στις γυναίκες, με το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και την ενδομητρίωση. Επιπλέον θα παρουσιαστεί η συσχέτιση της βιταμίνης D με τα επίπεδα των ανδρογόνων και την ποιότητα του σπέρματος στους άνδρες αλλά και στην τελική έκβαση της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Λόγω έλλειψης επαρκούς βιβλιογραφίας και δεδομένων στον άνθρωπο προς το ρόλο της βιταμίνης D στην αναπαραγωγή, θα συζητηθούν και δεδομένα από πειράματα σε μοντέλα ζώων.

Η υπογονιμότητα είναι μια σύνθετη διαταραχή με σημαντικές ιατρικές, οικονομικές και ψυχοκοινωνικές πτυχές. Σε πολλές κοινωνίες, τόσο στον ανεπτυγμένο όσο και στον αναπτυσσόμενο κόσμο, οι άτεκνες γυναίκες υποφέρουν από κοινωνικό στιγματισμό.

Ενδεικτικά, αναφέρεται η περίπτωση των Ηνωμένων Αραβικών Εμιράτων σε σύγκριση με την Φινλανδία. Ο παγκόσμιος χάρτης υπογονιμότητας δείχνει ότι στα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα κατά την περίοδο 1990-1995 αντιστοιχούσαν 3.9 τέκνα σε κάθε γυναίκα, ενώ για την περίοδο 2010-2015 η αντιστοιχία μειώθηκε σε 1.8 τέκνα σε κάθε γυναίκα. Η αντίστοιχη αναλογία σε βόρειες χώρες όπως η Φινλανδία

είναι 1.8 τέκνα σε κάθε γυναίκα την περίοδο 1990-1995 και 1.7 τέκνα σε κάθε γυναίκα κατά την περίοδο 2010-2015 (world fertility patterns 2015, United Nations). Παρόλο που η πρόσβαση στις θεραπείες υπογονιμότητας είναι αρκετά εύκολη στα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα και η επιθυμία των ζευγαριών να αποκτήσουν παιδιά είναι έντονη, η απότομη και δραστική αλλαγή στον τρόπο ζωής των ανθρώπων σε αυτή τη γεωγραφική περιοχή έχει συντελέσει σημαντικά στο πρόβλημα της υπογονιμότητας. Πριν από 50 χρόνια δεν υπήρχε κλιματισμός, αντίθετα οι άνθρωποι σήμερα ζουν κατ' αποκλειστικότητα μέσα σε κλειστούς κλιματιζόμενους χώρους ενώ όταν εκτίθενται στον ήλιο είναι τόσο καλά καλυμμένοι, λόγω των ενδυματολογικών παραδόσεων, που είναι σχεδόν αδύνατο να φτάσει η ηλιακή ακτινοβολία στο δέρμα προκειμένου να βιοσυντεθεί η βιταμίνη D. Έτσι, παρόλο που αυτές οι περιοχές όπως τα Ηνωμένα Αραβικά εμιράτα, έχουν πολύ μεγάλη ηλιοφάνεια, ένα ποσοστό 30-90% του πληθυσμού παρουσιάζει έλλειψη βιταμίνης D. Αντίθετα σε βόρειες χώρες με μικρότερη ηλιοφάνεια το ποσοστό αυτό μειώνεται στο 3-21.4% (7).

Η έλλειψη βιταμίνης D εξελίσσεται σε πανδημία, όμως η λύση σε αυτό το πρόβλημα είναι απλή. Μια απλή εξέταση αίματος για την μέτρηση των επιπέδων της D στον οργανισμό, και σε περίπτωση υποβιταμίνωσης λίγα λεπτά έκθεσης στον ήλιο είναι αρκετά για να παραχθούν χιλιάδες μονάδες βιταμίνης D (1000 μονάδες/min) (8) που θα καλύψουν τις ανάγκες του οργανισμού.

Η παραπάνω παρατήρηση αποδεικνύει ότι το πρόβλημα αφορά κύρια στην έλλειψη ενημέρωσης που υπάρχει γύρω από αυτό το θέμα και όχι τόσο στη δυσκολία αντιμετώπισής του.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 – Γενικό μέρος

1. Πηγές βιταμίνης D

Οι πηγές πρόσληψης βιταμίνης D μπορεί να είναι τόσο φυτικές, κυρίως μανιτάρια, που περιέχουν εργοκαλσιφερόλη (βιταμίνη D₂) όσο και ζωικές όπως λιπαρά ψάρια ή μουρουνέλαιο που περιέχουν χοληκαλσιφερόλη (βιταμίνη D₃).

Γιατί όμως το μουρουνέλαιο είναι πλούσιο σε βιταμίνη D; Η μουρούνα είναι ψάρι του βυθού, οπότε δεν είναι δυνατό να παράξει μεγάλες ποσότητες βιταμίνης D αφού δεν εκτίθεται στον ήλιο. Πώς λοιπόν το ήπαρ της μουρούνας αποθηκεύει βιταμίνη D και από πού; Το ψάρι αυτό τρέφεται με μεγάλες ποσότητες ζωοπλαγκτόν(κοπήποδα). Το φυτοπλαγκτόν και το ζωοπλαγκτόν, τα οποία έχουν υπάρξει στους ωκεανούς μας εδώ και 500 εκατομμύρια χρόνια, συνθέτουν βιταμίνη D όταν εκτίθενται στο ηλιακό φως(25).

Έτσι οι μουρούνες που τρέφονται με το ζωοπλαγκτόν αποθηκεύουν την βιταμίνη D (D₃) στο ήπαρ τους, από το οποίο παράγεται το μουρουνέλαιο (24).

Ωστόσο το μεγαλύτερο ποσοστό της βιταμίνης D (80-90%) παράγεται στο δέρμα, διαδικασία επαγόμενη από το ηλιακό φως. Συνεπώς, ακόμα και μια πλήρως ισορροπημένη διατροφή δεν μπορεί να είναι αρκετή για να καλύψει τις ανάγκες μας σε βιταμίνη D, και για αυτόν τον λόγο έχει χαρακτηριστεί ως η βιταμίνη του ήλιου. Εικονιστικά χαράγματα, με παραστάσεις σε σπηλαία δείχνουν ότι οι αρχέγονοι άνθρωποι εκτιμούσαν όχι μόνο τη ζεστασιά, αλλά και τη συνεισφορά του ήλιου στη ζωή τους (26).

Η βιταμίνη D αποδείχθηκε εξάλλου ότι ήταν απαραίτητη για το μεταβολισμό του ασβεστίου και τελικά για την εξέλιξη των ανώτερων μορφών ζωής, για την ανάπτυξη ενδοσκελετών ώστε να βγουν στο έδαφος.

2. Αίτια έλλειψης βιταμίνης D

2.1 Αντηλιακά

Όπως προαναφέρθηκε η βιταμίνη D φωτοσυντίθεται στο δέρμα. Παρεμπόδιση της απορρόφησης της ηλιακής ακτινοβολίας και συγκεκριμένα της UVB μήκους 290-315nm, προκαλεί διαταραχές στην παραγωγή της βιταμίνης D. Έχει αποδειχτεί ότι η χρήση των αντηλιακών μειώνει τη σύνθεση της βιταμίνης D. Συγκεκριμένα, αντηλιακό με δείκτη προστασίας SPF15 μειώνει την παραγωγή της κατά 98% (9).

Παρόλο που η ηλιακή ακτινοβολία θεωρείται ο κύριος υπεύθυνος για την εμφάνιση καρκίνου του δέρματος, είναι απαραίτητη για τη διατήρηση ικανών επιπέδων βιταμίνης D στον οργανισμό καθώς συνεισφέρει στην άμυνα του οργανισμού έναντι διάφορων ασθενειών και στην ανάπτυξη καρκίνου. Αυτή η αντίθεση στα οφέλη και τις παρενέργειες της ηλιακής ακτινοβολίας διχάζει. Ωστόσο, η λύση είναι απλή. Παν μέτρον άριστον!

Μελέτες έχουν δείξει πως λίγα λεπτά έκθεσης στον ήλιο είναι αρκετά για να παραχθούν χιλιάδες μονάδες βιταμίνης D (1000 μονάδες/min)(10) και να καλύψουν τις ημερήσιες ανάγκες του οργανισμού.

Λαμβάνοντας υπόψιν ότι η μελανίνη του δέρματος λειτουργεί ως φυσικό αντηλιακό, όσο πιο σκούρο είναι το χρώμα του δέρματος τόσο περισσότερο χρόνο έκθεσης στον ήλιο χρειάζεται για τη παραγωγή επαρκούς για τον οργανισμό βιταμίνη D. Η περίσσεια της παραγόμενης βιταμίνης D (λιποδιαλυτή βιταμίνη) αποθηκεύεται στον υποδόριο λιπώδη ιστό και καλύπτει τις ανάγκες του οργανισμού κατά τη διάρκεια του χειμώνα όπου η έκθεση στον ήλιο είναι μικρότερη (11).

2.2 Παχυσαρκία

Η ανεπάρκεια βιταμίνης D που σχετίζεται με την παχυσαρκία είναι πιθανό να οφείλεται στη μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα της βιταμίνης D3 που είτε συντίθεται στο δέρμα είτε λαμβάνεται μέσω της διατροφής, λόγω της απόθεσης της σε διαμερίσματα

του σωματικού λίπους (12, 13). Η παχυσαρκία δεν επηρεάζει την ικανότητα του δέρματος να παράγει βιταμίνη D₃, αλλά μπορεί να αλλάξει την ποσότητα βιταμίνης D₃ που απελευθερώνεται από το δέρμα στην κυκλοφορία του αίματος.

2.3 Ηλικία

Η ικανότητα παραγωγής βιταμίνης D σχετίζεται άμεσα με τη ηλικία. Ένας άνθρωπος 70 ετών όταν εκτίθεται στην ίδια ποσότητα ηλιακής ακτινοβολίας με έναν 20 ετών, παράγει περίπου το 25% της βιταμίνης D συγκριτικά με τον νεότερο(14).

2.4 Κίρρωση του ήπατος

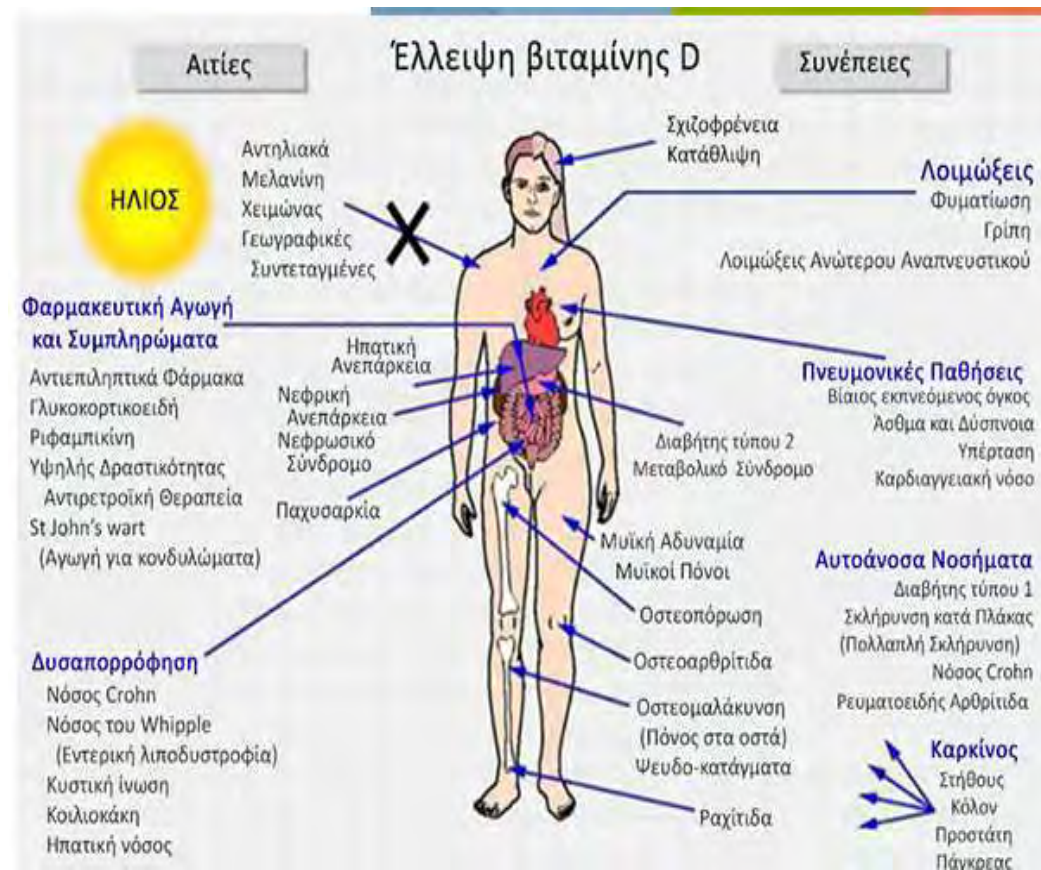
Χαμηλά επίπεδα της βιταμίνης D στο πλάσμα σχετίζονται με ηπατική ανεπάρκεια και ηπατίτιδα C (15). Το ήπαρ διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό της βιταμίνης D και συγκεκριμένα στο μονοπάτι υδροξυλίωσης και τον επακόλουθο σχηματισμό βιολογικώς δραστικών μεταβολιτών. Για το λόγο αυτό είναι αναμενόμενες οι διαταραχές του μεταβολισμού της βιταμίνης D σε ασθενείς με χρόνιες διαταραχές της ηπατικής λειτουργίας.

2.5 Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια

Το ένζυμο 1-άλφα υδροξυλάση, εκφράζεται πρωτίστως στο εγγύς σωληνάριο του νεφρού, στη συνέχεια μετατρέπει τη 25-υδροξυ βιταμίνη D στη 1,25-διυδροξυ βιταμίνη D, η οποία αποτελεί και τη βιολογικά ενεργή μορφή του μορίου(16). Για το λόγο αυτό είναι αναμενόμενες οι διαταραχές του μεταβολισμού της βιταμίνης D σε ασθενείς με χρόνιες διαταραχές της νεφρικής λειτουργίας.

2.6 Δυσασπορρόφηση

Διάφορες γαστρεντερολογικές ασθένειες ή /και χειρουργικές επεμβάσεις προκαλούν έλλειψη της βιταμίνης D λόγω κακής απορρόφησης της από το έντερο (17).



Εικόνα1. Περιβαλλοντικά, φαρμακευτικά και οργανικά αίτια έλλειψης βιταμίνης D και συνέπειες αυτής στον ανθρώπινο οργανισμό (Holick, Chen, AmJClinNutr.2008).

3. Επίδραση της βιταμίνης D στο γονιδίωμα

Τα δεδομένα των A.Hossein-nezhad et al (2013) στη μελέτη με τίτλο “Influence of Vitamin D Status and Vitamin D3

Supplementation on Genome Wide Expression of White Blood Cells” (18), υποδεικνύουν ότι οποιαδήποτε βελτίωση της κατάστασης της βιταμίνης D, επηρεάζει σημαντικά την έκφραση γονιδίων που παρουσιάζουν μεγάλο εύρος βιολογικών λειτουργιών καθώς συμμετέχουν σε πάνω από 160 μονοπάτια που συνδέονται με τον καρκίνο, αυτοάνοσες διαταραχές και καρδιαγγειακές παθήσεις που έχουν συσχετιστεί με ανεπάρκεια της βιταμίνης D. Αυτή η μελέτη αποκαλύπτει μοριακά μονοπάτια που συμβάλλουν στην κατανόηση της ευεργητικής δράσης της βιταμίνης D.

Σύμφωνα με άλλες μελέτες, η ανάλυση έκφρασης σε γενωμικό επίπεδο, δείχνει ότι η βιταμίνη D εμπλέκεται στην έκφραση 291 γονιδίων που σχετίζονται με την

απόπτωση, ανοσολογική λειτουργία, ρύθμιση της μεταγραφής, επιγενετική τροποποίηση, απόκριση στο στρες, κυτταρικό κύκλο και διαφοροποίηση των κυττάρων. Το εύρημα αυτό είναι σύμφωνο με προηγούμενες *invitro* μελέτες που έδειξαν ότι η 1,25 (OH)₂D₃ ελέγχει άμεσα ή έμμεσα περισσότερο από 200 γονίδια, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης, της αγγειογένεσης και των ανοσορυθμιστικών δραστηριοτήτων (19), (20), (21). Οι παρατηρήσεις αυτές υποστηρίζουν προηγούμενες αναφορές που έχουν εκτιμήσει ότι η ενεργοποίηση του υποδοχέα της βιταμίνης D (VDR-Vitamin D Receptor) μπορεί να ρυθμίζει άμεσα ή / και έμμεσα την έκφραση ενός πολύ μεγάλου αριθμού γονιδίων (0,5-5% του συνολικού ανθρώπινου γονιδιώματος δηλαδή περί τα 100-1250 γονίδια) (22).

Πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει 2776 θέσεις πρόσδεσης του VDR (ο οποίος συνδεδεμένος με τους μεταβολίτες της βιταμίνης D δρα ως μεταγραφικός παράγοντας) κατά μήκος του γονιδιώματος καθώς και 229 γονίδια, των οποίων η έκφραση επηρεάζεται από τα επίπεδα της βιταμίνης D στον οργανισμό.

Οι γενωμικές μελέτες που έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα αναφορικά με τη βιταμίνη D παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον, ωστόσο, τα δείγματα μελέτης είναι μικρά και σίγουρα χρειάζονται περισσότερα πειράματα για να κατανοηθεί η επίδραση της βιταμίνης D στο ανθρώπινο γονιδίωμα.

4. Επίπεδα της βιταμίνης D στον οργανισμό

Για τον προσδιορισμό των επιπέδων της βιταμίνης D σε ασθενείς χρησιμοποιείται η 25 (OH) D. Τα επίπεδα που θεωρούνται επαρκή για τη βιταμίνη D 25 (OH) D είναι 30 ng / ml, τα επίπεδα έλλειψης της βιταμίνης D 25 (OH)D είναι 21-29 ng / ml και τα επίπεδα ανεπάρκειας της βιταμίνης D 25 (OH) D είναι 20 ng/ml (σύμφωνα με την Endocrine Society)(βλ. Πίνακα 1). Ο χρόνος ημίσειας ζωής της 1,25(OH)₂D₃ είναι σχεδόν 4-6 ώρες. Αντίθετα, ο χρόνος ημίσειας ζωής της 25(OH)D είναι μεγαλύτερος κατά 3 εβδομάδες περίπου, γεγονός που καθιστά τη μορφή αυτή τον πιο αξιόπιστο μετρήσιμο δείκτη επάρκειας της βιταμίνης D (27).

	Vitamin D Council	Endocrine Society	Food and Nutrition Board	Testing Lab/ies
Έλλειψη	0-30ng/ml	0-20ng/ml	0-11ng/ml	0-31ng/ml
ανεπάρκεια	31-39ng/ml	21-29ng/ml	12-20ng/ml	
επάρκεια	40-80ng/ml	31-100ng/ml	>20ng/ml	32-100ng/ml
τοξικότητα	>150ng/ml			

Πίνακας 1. Οι τιμές επάρκειας-ανεπάρκειας της βιταμίνης D 25(OH)D, όπως ορίζονται από διάφορους διεθνείς οργανισμούς.

5. Βιταμίνη D και υπογονιμότητα

Όπως προαναφέρθηκε, βασική πηγή της βιταμίνης D είναι η ενδογενής παραγωγή της. Στη συνέχεια αυτή δημιουργεί σύμπλοκο με τους υποδοχείς της VDR οι οποίοι υπάρχουν σχεδόν σε όλους τους ιστούς. Το σύμπλοκο VDR με την ενεργή βιταμίνη D πυροδοτεί κατόπιν μια σειρά φωσφορυλιώσεων στο κύτταρο και εν συνεχεία τη μεταγραφή γονιδίων που επιδρούν στη στεροειδογένεση στις ωοθήκες, στους όρχεις, στον πλακούντα, στην γαμετογένεση, στην εμφύτευση του εμβρύου στη μήτρα, και στη υγεία του εμβρύου και της μητέρας (βλ. Εικόνα 2).

Το γεγονός ότι η έλλειψη της βιταμίνης D στα θηλαστικά επηρεάζει τη γονιμότητα, είναι γνωστό εδώ και τρεις δεκαετίες. Το 1980 οι Halloran και DeLuca(28) έκαναν πειράματα σε αρουραίους και απέδειξαν ότι η ανεπάρκεια βιταμίνης D μειώνει τη συνολική γονιμότητα κατά 75%, και την ανάπτυξη των νεογνών κατά 30%. Το 1989 οι Kwiecinski, Petrie και DeLuca (29), απέδειξαν ότι η έλλειψη βιταμίνηςD ευθύνεται άμεσα για μειωμένη αναπαραγωγική ικανότητα και γονιμότητα σε θηλυκούς αρουραίους. Τα τελευταία χρόνια τα πειράματα συσχέτισης της έλλειψης της βιταμίνης D με την υπογονιμότητα έχουν επαναληφθεί, όμως τώρα κάτω από το πρίσμα της γενετικής. Έτσι, πειράματα σε ποντίκια με γενετική τροποποίηση που οδηγεί σε έλλειψη του VDR(VDR knockout)έδειξαν ότι αυτά ανέπτυξαν σημαντική γοναδική ανεπάρκεια, μειωμένο αριθμό και κινητικότητα σπερματοζωαρίων και ιστολογικές ανωμαλίες όρχεων, ωοθηκών και μήτρας.

Οι Dicken et al. (2012), σε πειράματα με μοντέλα ζώων απέδειξαν ότι η έλλειψη της βιταμίνης D στα θηλυκά προκαλεί μειωμένη σηματοδότηση στα μονοπάτια σύνθεσης οιστρογόνων, μειωμένη ωοθυλακιογένεση, ολιγοωογενέση και καθυστερημένη ενήβωση (30).

Σήμερα γνωρίζουμε ότι υποδοχείς της βιταμίνης D και τα ένζυμα μεταβολισμού της D έχουν βρεθεί στο αναπαραγωγικό σύστημα τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες.

Επίσης, υπάρχουν αποδείξεις ότι εκτός από τις στεροειδείς ορμόνες του φύλου, που είναι οι κλασικοί ρυθμιστές της αναπαραγωγικής ικανότητας, και η βιταμίνη D έχει ρυθμιστικό ρόλο στην αναπαραγωγική διαδικασία και στα δύο φύλα.

Στους άνδρες μελέτες έχουν δείξει ότι τα επίπεδα ανδρογόνων σχετίζονται με τα επίπεδα της 25 (OH) D. Πιο συγκεκριμένα, άνδρες με επαρκή επίπεδα 25 (OH) D ($>$ ή $=$ 30 μικρογραμμάρια / λίτρο) είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα τεστοστερόνης και ελεύθερους δείκτες ανδρογόνων, και σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα δεσμευτικής σφαιρίνης ορμονών φύλου SHBG σε σύγκριση με άτομα με χαμηλά επίπεδα (20-29.9 μικρογραμμάρια / 25 (OH) της 25 (OH) D, και σε σύγκριση με άτομα με ανεπάρκεια ($<$ 20 μικρογράμ. / λίτρο) της D(31).

Επίσης, στους άνδρες έχει βρεθεί ότι η βιταμίνη D συνδέεται θετικά με την ποιότητα του σπέρματος (32).

Είναι γνωστό ότι το ασβέστιο (και συνεπώς η βιταμίνη D) είναι κρίσιμο για την σπερματογένεση, κινητικότητα σπέρματος και για την αντίδραση του ακροσώματος(33). Επίσης, είναι απαραίτητη για την λειτουργία των μεταβολικών ενζύμων στους όρχεις, στους αγωγούς εκσπερμάτωσης και για την ωρίμανση των σπερματοζωαρίων (34).

Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι η θεραπεία με βιταμίνη D μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα τεστοστερόνης (35).

Στις γυναίκες το mRNA των VDR υποδοχέων εκφράζεται στις ωοθήκες, στο ενδομήτριο (36), και στον πλακούντα. Οι Viganò et al. (2006), (37) μέτρησαν τα επίπεδα της 1,25 (OH) 2D3 στο υπερκείμενο υγρό των κυττάρων του ενδομητρίου,

που είχαν υποβληθεί σε θεραπεία με βιταμίνη D και διαπίστωσε ότι το ενδομήτριο είναι ικανό για εξωγενή σύνθεση της ενεργής μορφή της βιταμίνης D.

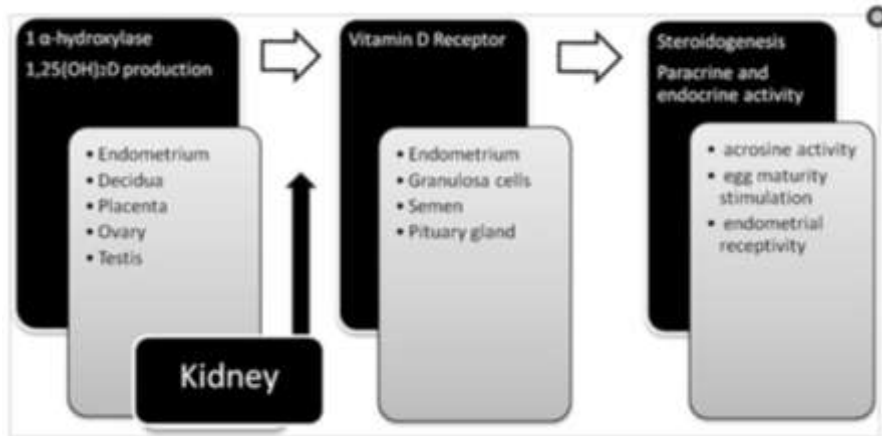
Επίσης, έχει βρεθεί ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ διεγείρει την παραγωγή της προγεστερόνης κατά 13%, της οιστραδιόλης κατά 9% και της οιστρονής κατά 21% από τις ωοθήκες (38).

Παρομοίως, αποδείχθηκε σε κυτταρικές σειρές από χοριοκαρκίνωμα, ότι η δραστηριότητα και η έκφραση της αρωματάσης του P450, που καταλύει την βιοσύνθεση των οιστρογόνων, διεγείρονται από την καλσιτριόλη, έναν από τους πλέον σημαντικούς ενεργούς μεταβολίτες της βιταμίνης D3 (39).

Επιπλέον, ένας πολύ σημαντικός ρόλος της βιταμίνης D είναι ότι σχετίζεται με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών και την υπογονιμότητα, καθώς έχει βρεθεί ότι η βιταμίνη D αυξάνει την ευαισθησία ως προς την ινσουλίνη με αποτέλεσμα τη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη, που είναι ένα από τα χαρακτηριστικά αυτού του συνδρόμου.

Σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, τα χαμηλά επίπεδα της 25-υδροξυβιταμίνης D, $25(\text{OH})\text{D}$, συνδέονται με παχυσαρκία, μεταβολικές και ενδοκρινικές διαταραχές. Τα συμπληρώματα βιταμίνης D μπορεί να βελτιώσουν την συχνότητα της εμμηνόρροιας και τις μεταβολικές διαταραχές στις γυναίκες αυτές.

Επίσης, στις γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, η ρύθμιση της αντιμυλλέριου ορμόνης (anti-mullerian hormone- AMH) μέσω χορήγησης βιταμίνης D έχει βελτιώσει την γονιμότητά τους (40). Γενικότερα φαίνεται ότι η βιταμίνη D έχει θετική επίδραση στην αύξηση των ποσοστών των κλινικών κυήσεων (41).



Εικόνα 2. Επισκόπηση του τύπου παραγωγής και του μηχανισμού απορρόφησης της βιταμίνης D στην ενεργοποίηση της αναπαραγωγικής διαδικασίας, σύμφωνα με τους Dabrowski et al, (2015)

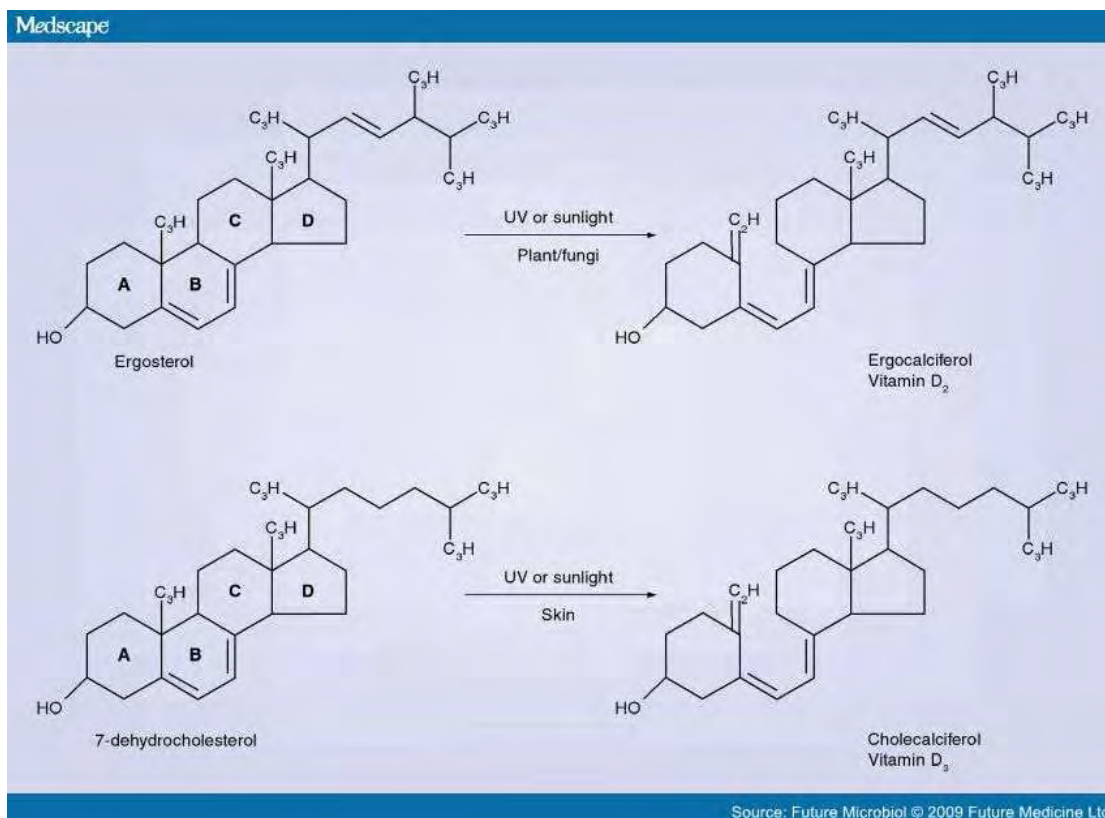
Στην συνέχεια θα παρουσιαστούν επιπλέον στοιχεία που αποδεικνύουν ότι η βιταμίνη D εμπλέκεται στην γονιμότητα των γυναικών, συμπεριλαμβανομένης και της έκβασης της εξωσωματικής γονιμοποίησης.

6. Μεταβολισμός της βιταμίνης D

Η βιταμίνη D είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη, η οποία συναντάται σε δύο μορφές: τη D2 (εργοκαλσιφερόλη) και τη D3 (χοληκαλσιφερόλη). Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό του ασβεστίου (Ca) και του φωσφόρου (P). Οι κύριες δράσεις της περιλαμβάνουν την εντερική απορρόφηση και τη νεφρική επαναρρόφηση του Ca, καθώς και μία άμεση δράση στη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων και των οστεοβλαστών προς το σχηματισμό οστού.

Και οι δύο μορφές της διατροφικής βιταμίνης D (D3 και D2) είναι ανενεργές και απορροφώνται αποτελεσματικά από το έντερο. Η διατροφική βιταμίνη D είναι σχεδόν πανομοιότυπη με τη δερματικής προέλευσης μορφή της, η οποία δρα ως δευτερογενές στεροειδές.

Η βιταμίνη D μεταβολίζεται στον οργανισμό σε μια στεροειδή ορμόνη. Η πρόδρομος μορφή της βιταμίνης D, η 7-δεϋδροχοληστερόλη, είναι ένα ενδιάμεσο μόριο στο μονοπάτι σύνθεσης της χοληστερόλης και αποθηκεύεται στο δέρμα.



Εικόνα 3. Πρόδρομες μορφές της βιταμίνης D και τα προϊόντα μεταβολισμού τους μετά από την επίδραση της UV ακτινοβολίας.

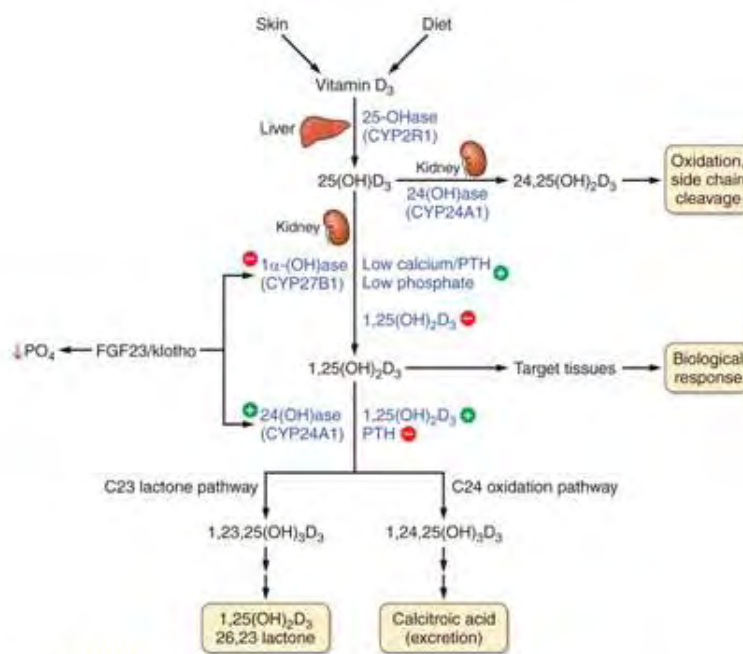
Η ακτινοβολία UV-B επάγει τη μετατροπή της 7-δεϋδροχοληστερόλης σε προβιταμίνη D₃, η οποία εντός 2-3 ημερών ισομερίζεται προς χολεκαλσιφερόλη(βιταμίνη D₃)(βλ. Εικόνα 3). Η βιταμίνη D₃ απελευθερώνεται στην κυκλοφορία και προσδένεται με την πρωτεΐνη μεταφορέα της D (VDBP-vitamin D-binding protein), και συνδεδεμένη κυκλοφορεί στο αίμα (42). Στη συνέχεια, μεταβολίζεται στο ήπαρ με το ένζυμο 25-υδροξυλάση. Ως 25-υδροξυλάση της βιταμίνης D₃ αναφέρονται ορισμένα ένζυμα του κυτοχρώματος P450 (CYPs): CYP2R1, CYP27A1 τα όποια προκαλούν την 25 υδροξυλίωση της βιταμίνης D₃ στην 25 (OH) D, η οποία χρησιμοποιείται, όπως αναφέρθηκε, για τον προσδιορισμό των επιπέδων της βιταμίνης D (βλ. Εικόνα 4).

Η 25 (OH) D μεταφέρεται από το ήπαρ στους νεφρούς από την πρωτεΐνη μεταφορέα της βιταμίνης D (VDBP) και ο μεταβολισμός και ενεργοποίηση της ολοκληρώνονται στα νεφρά από το ένζυμο 1α-υδροξυλάση (CYP27B1) το οποίο μετατρέπει την 25

(OH) D στην ενεργό μορφή της βιταμίνης D την 1,25-διυδροξυβιταμίνη D₃ (1,25 (OH)₂ D₃), η οποία είναι ενεργή seco-στεροειδή ορμόνη(43).

Ωστόσο, το ένζυμο 1α-υδροξυλάση έχει βρεθεί και σε πολλούς άλλους ιστούς όπως ο μαστός, τα οστά και η επιδερμίδα, επιτρέποντας έτσι την τοπική μετατροπή της 25 (OH) D στη δραστική 1,25 (OH)₂D₃ (44). Η 1,25 (OH)₂D₃, αντίθετα με την 25 (OH) D, έχει πολύ μικρότερη ημιζωή, 4-6 ώρες, ενώ αντιπροσωπεύει την πιο βιολογικά ενεργή παραλλαγή της βιταμίνης D (45).

Η έκφραση του CYP27B1 ρυθμίζεται θετικά από την παραθυροειδική ορμόνη (PTH) και από τις χαμηλές συγκεντρώσεις του ασβεστίου και του φωσφόρου στον ορό. Αντίθετα, ρυθμίζεται αρνητικά από την ίδια την 1,25(OH)₂D₃, τις υψηλές συγκεντρώσεις ασβεστίου και φωσφόρου στον ορό και τον αυξητικό παράγοντα ινοβλαστών-23 (FGF-23). Ο τελευταίος εκκρίνεται από τα οστεοκύτταρα στο μυελό των οστών και διαδραματίζει βασικό ρόλο στην ομοιόσταση του ασβεστίου και του φωσφόρου. Αυτοί οι μεταβολικοί μετασχηματισμοί είναι παρόμοιοι για τα D₂ και D₃ μόρια (46).



Sylvia Christakos et al. *Physiol Rev* 2016;96:365-408

Physiological Reviews

©2016 by American Physiological Society

Εικόνα 4. Το μεταβολικό μονοπάτι της βιταμίνης D περιλαμβάνει πολλά ένζυμα του κυτοχρώματος P-450 (CYPs), συμπεριλαμβανομένων των CYP2R1, CYP27A1 και CYP2D25, που θεωρούνται υπονήφια για τη μετατροπή της σε 1,25(OH)₂D₃.

Η απενεργοποίηση της 1,25 (OH)₂D₃ πραγματοποιείται κυρίως από την 24-υδροξυλάση, CYP24A1.

Στους νεφρούς ο καταβολισμός της 1,25 (OH)₂D₃ που πραγματοποιείται μέσω της CYP24A1, περιλαμβάνει τροποποιήσεις στις πλευρικές αλυσίδες seco-στεροειδών. Η απενεργοποίηση πραγματοποιείται μέσω μιας σειράς υδροξυλιώσεων και αντιδράσεων οξείδωσης, όπου τελικά σχηματίζεται είτε το καλσιτροϊκό οξύ, το οποίο απεκκρίνεται δια του χολικού οξέος, είτε η 1α 25(OH)₂ D₃-26,23-λακταΐνη, η οποία είναι ένας ασθενής ανταγωνιστής του VDR.

Η ενεργή βιταμίνη D₃, 1,25(OH)₂D₃ στους ιστούς προκαλεί την αύξηση της έκφρασης του ενζύμου CYP24A1. Η αύξηση των επιπέδων αυτού του ενζύμου προκαλεί τη μείωση της συγκέντρωσης της 1,25(OH)₂D₃, οδηγώντας έτσι στην εξασθένηση των βιολογικών δράσεών της εντός των κυττάρων-στόχων(47).

7. Μεταφορά της βιταμίνης D

Η μεταφορά των 25(OH)D και 1,25(OH)₂D₃ γίνεται μέσω της πρόσδεσης τους με την VitaminDBindingProtein (VDBP), η οποία είναι μια άλφα 1-σφαιρίνη που δρα ως πρωτεΐνη μεταφοράς για όλους τους μεταβολίτες της βιταμίνης D και βρίσκεται στον ορό. Στη συνέχεια, μεταφέρονται στους ιστούς-στόχους, όπου ασκούν τη δράση τους, αφού συνδεθούν με τον Vitamin D Receptor (VDR) (48). Το μεγαλύτερο ποσοστό των διάφορων μορφών της βιταμίνης D συνδέεται με την VDBP, ενώ μόλις το 1% συνδέεται με αλβουμίνη και λιποπρωτεΐνες.

8. Μηχανισμός δράσης της βιταμίνης D

Η βιταμίνη D ανήκει στην οικογένεια των στεροειδών ορμονών. Οι ενδοκυτταρικές δράσεις της βιταμίνης D και των μεταβολιτών της προκαλούνται κυρίως μέσω του ενδοπυρηνικού υποδοχέα της VDR(Vitamin D Receptor)(49), ο οποίος συνδεδεμένος με τους μεταβολίτες της βιταμίνης D δρα ως μεταγραφικός παράγοντας. Είναι μέλος της υπερ-οικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων των στεροειδών ορμονών, της οποίας μέλη είναι και οι υποδοχείς των ορμονών του θυρεοειδούς, των οιστρογόνων, των γλυκοκορτικοειδών και του ρετινοϊκού υποδοχέα X (Retinoid X receptor RXR πυρηνικός υποδοχέας που σχηματίζει ετεροδιμερή με άλλα μόρια , μεταξύ των οποίων και ο VDR).

Ο VDR, όπως προαναφέρθηκε, ασκεί τις εξαρτώμενες από την 1,25(OH)₂D₃ ενδοπυρηνικές δράσεις του ως μεταγραφικός παράγοντας, και εκφράζεται σε πολλούς άλλους ιστούς εκτός του σκελετού, συμπεριλαμβανομένων του εντέρου, του παραθυρεοειδούς αδένου, τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος ενώ πρόσφατως βρέθηκε και στον άξονα υποθάλαμο-υπόφυση, και στην αναπαραγωγική οδό (49,50). Η παρουσία των VDR στις ωοθήκες, τη μήτρα, τον πλακούντα, και τους όρχεις δείχνει έναν ρυθμιστικό ρόλο της βιταμίνης D στην φυσιολογία της αναπαραγωγής (51, 52, 53, 54)

Ο VDR έχει πολύ μεγαλύτερη ικανότητα δέσμευσης (περίπου 100 φορές) της 1,25(OH)₂D₃ σε σχέση με την 25(OH)D. Συγκεκριμένα δεσμεύει 0.1-1 nM της 1,25(OH)₂D₃ ενώ μόλις >100 μM της 25(OH)D (55) .

Η ορμονικά δραστική μορφή της βιταμίνης D $1,25 (OH)_2D_3$ δεσμεύεται στον πυρηνικό υποδοχέα της, VDR, ο οποίος στη συνέχεια ετεροδιμερίζεται με τον υποδοχέα ρετινοειδούς X(RXR). Αυτό το ετεροδιμερές λειτουργεί ως μεταγραφικός παράγοντας συνδεδεμένος στις περιοχές των υποκινητών των γονιδίων-στόχων αλλάζοντας την έκφρασή τους.

Ο υποδοχέας VDR ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων με τρόπο που εξαρτάται από τον προσδέτη (μεταβολίτη της D). Το ετεροδιμερές VDR/RXR δημιουργεί σύμπλοκο με τον υποδοχέα στεροειδών, συν-ενεργοποιητές, πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με VDR και συν-ρυθμιστικές πρωτεΐνες, προτού συνδεθεί στους υποκινητές των γονιδίων στόχων. Έτσι, με τον τρόπο αυτό ρυθμίζει τη έκφραση των γονιδίων στον κάθε ιστό (56).

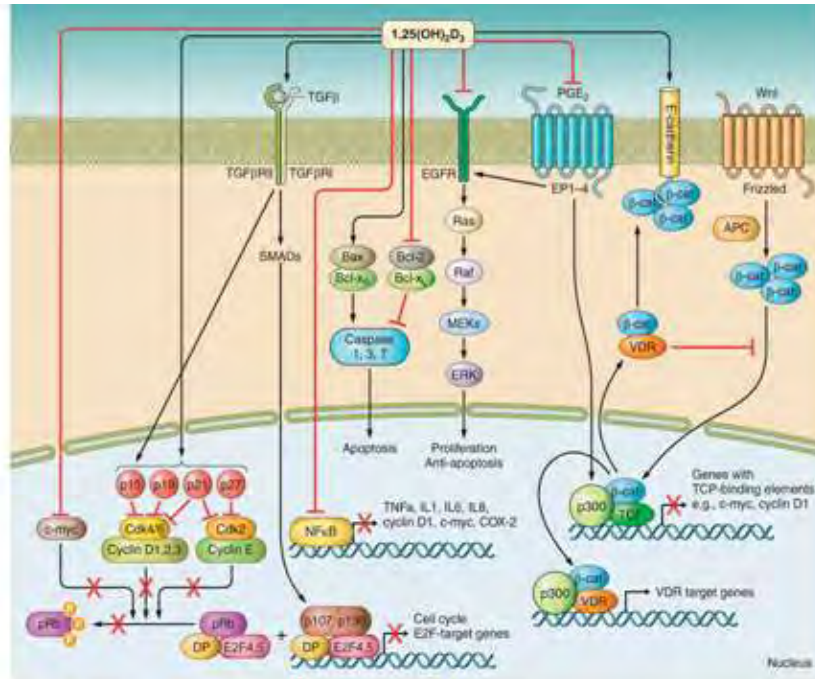
Αν και η επίδραση της δραστικής $1,25 (OH)_2D_3$ στα κύτταρα-στόχους αφορά κυρίως αλλαγές στην γονιδιακή έκφραση η οποία είναι σχετικά αργή, πρόσφατα δεδομένα υποδηλώνουν επιπλέον έναν μη-γονιδιωματικό μηχανισμό σηματοδότησης ο οποίος είναι γρήγορης απόκρισης, και ο οποίος εμπλέκει μεμβρανικούς υποδοχείς δέσμευσης στεροειδών, και συγκεκριμένα τον μεμβρανικό υποδοχέα mVDR και την πρωτεΐνη MARRS(membrane associated rapid response steroid binding protein), η οποία συνδέεται με στεροειδής ορμόνες και είναι υπεύθυνη για τις γρήγορες αποκρίσεις τους. Ο υποδοχέας αυτός είναι επίσης γνωστός και ως Erp57/Grp58. Αυτός ο μηχανισμός βρέθηκε σε μια ποικιλία ιστών συμπεριλαμβανομένου του εντέρου, των οστών, του παραθυρεοειδούς αδένου, του ήπατος, των μονοκυττάρων και των παγκρεατικών βήτα κυττάρων (57, 58, 59, 60). Οι μη μεταγραφικές δράσεις της $1,25(OH)_2 D_3$ περιλαμβάνουν την απορρόφηση του ασβεστίου στο έντερο, την αύξηση της έκκρισης ινσουλίνης από τα παγκρεατικά β-κύτταρα, τη διαμόρφωση της ανάπτυξης του χόνδρου, την ανάπτυξη και διαφοροποίηση των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων και την διάνοιξη των καναλιών ασβεστίου και χλωρίου στους οστεοβλάστες (61).

Η σηματοδότηση μέσω του VDR έχει επιπλέον συνδεθεί με την έκφραση του γονιδίου CYP19 (αρωματάση), συνδέοντας τη βιταμίνη D με την οικογένεια των αναπαραγωγικών στεροειδών ορμονών (62).

Παρόλο που η λειτουργία της μη γονιδιωματικής οδού σηματοδότησης είναι λιγότερο κατανοητή, θεωρείται ότι δρα ως εξής: το σύμπλοκο VDR-μεταβολίτη D ξεκινά το

σήμα για έναν ενδοκυτταρικό καταρράκτη αντιδράσεων που περιλαμβάνουν φωσφορυλίωση του υποδοχέα, ενεργοποίηση της φωσφορικής κινάσης A, παραγωγή του cAMP, και ενεργοποίηση του μονοπατιού των MAP κινασών (mitogen activated protein kinases-MAPK), το οποίο καταλήγει στον πυρήνα του κύτταρου (63). Ακολουθεί η στρατολόγηση και ο ετεροδιμερισμός του 9-cis-υποδοχέα ρετινοειδούς (RXR) (64) και η επαγωγή των ενδοπυρηνικών αντιδράσεων.

Εκτός από τις προαναφερθείσες κλασικές δράσεις της 1,25(OH)₂D₃ στο μεταβολισμό των οστών, ο VDR εμπλέκεται στην έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με την αυτοανοσία, όπως η επαγωγή της καθελικιδίνης (65) και η καταστολή των ιντερλευκινών (IL-17, IL-2 και IL-12), οι οποίες έχουν συσχετισθεί με ελάττωση της φλεγμονής και χαμηλότερο κίνδυνο για αυτοάνοσα νοσήματα, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 (ΣΔ1), η σκλήρυνση κατά πλάκας και η ρευματοειδής αρθρίτιδα (66, 67, 68). Ο VDR διαδραματίζει επίσης βασικό ρόλο στη ρύθμιση αρκετών γονιδίων που συμμετέχουν στην κυτταρική διαφοροποίηση και απόπτωση, στην ογκογένεση (π.χ. επαγωγή των κατασταλτικών γονιδίων p53 και p21), στο μεταβολισμό της γλυκόζης και σε καρδιαγγειακές νόσους (π.χ. ελάττωση των συγκεντρώσεων της ομοκυστεΐνης και επαγωγή του FOXO3, ενός σημαντικού μορίου στην πρόληψη του οξειδωτικού stress) (69).



Sylvia Christakos et al. *Physiol Rev* 2016;96:365-408

Physiological Reviews

©2016 by American Physiological Society

Εικόνα 5. Η 1,25(OH)₂D₃ επάγει σηματοδοτικά μονοπάτια, που εμπλέκονται στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, στην απόπτωση και στην φλεγμονή στον καρκίνο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – Ειδικό μέρος

9. Βιταμίνη D και υπογονιμότητα

9.1 Ο ρόλος της βιταμίνης D στην υπογονιμότητα

Μελέτες που έχουν γίνει τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζώα υποδηλώνουν ότι τα επίπεδα της βιταμίνης D στον οργανισμό παρατηρούνται σε γυναίκες με υπογονιμότητα, ενδομητρίωση και σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (70). Πρόσφατα στοιχεία για τη βιταμίνη D παρέχουν νέες γνώσεις σχετικά με την σύνθετη παθογένεση και τη θεραπεία της υπογονιμότητας. Αρκετές μελέτες σε ζώα και ανθρώπους υποδηλώνουν ότι η βιταμίνη D εμπλέκεται σε πολλές λειτουργίες του αναπαραγωγικού συστήματος και στα δύο φύλα (71). Η σημασία της βιταμίνης D για την βιολογία της αναπαραγωγής υποστηρίζεται από αρκετές μελέτες σε μοντέλα ζώων.

9.1.1 Μοντέλα ζώων

Η πλειονότητα των πειραματικών δεδομένων που καθορίζουν τον ρόλο της 1,25(OH)₂D₃ στην αναπαραγωγή, προέρχονται είτε από μοντέλα τρωκτικών με ανεπάρκεια βιταμίνης D, η οποία προκαλείται από τη διατροφή, είτε από διαγονιδιακούς ποντικούς με ανεπάρκεια του Vdr υποδοχέα, ή με ανεπάρκεια του ενζύμου Cyp27b1 (1α-υδροξυλάση) (72, 73, 74, 75).

Τα διαθέσιμα αποδεικτικά στοιχεία αποτελούν ένδειξη για τη σημασία της βιταμίνης D στην αναπαραγωγική επιτυχία, ενώ υπογραμμίζετε η ανάγκη συμπληρωματικών μελετών που θα επιτρέψουν την καλύτερη κατανόηση του μηχανισμού δράσης της βιταμίνης D στην αναπαραγωγή.

9.1.1.1 Βιταμίνη D και αναπαραγωγική φυσιολογία σε αρσενικά μοντέλα ζώων

9.1.1.1.1 Μοντέλα Vdr και Cyp27b1 (1α-υδροξυλάσης) knock out αρσενικών ζώων

Τα παραπάνω μοντέλα ζώων συνέβαλαν σημαντικά στην τρέχουσα γνώση σχετικά με τη βιταμίνη D και τον ρόλο της στην αναπαραγωγική λειτουργία.

Η έκφραση του Vdr υποδοχέα στο σπέρμα και στους όρχεις, η παρουσία και η δραστηριότητα του Cyp27b1 ενζύμου στους όρχεις, και η τοπική σύνθεση της 1,25

(OH) 2D3 στα κύτταρα Sertoli και Leydig, επιβεβαιώνουν τη συνάφεια της βιταμίνης D με την αναπαραγωγή στα αρσενικά (76, 77, 78).

Η ανεπάρκεια της βιταμίνης D εμπλέκεται σε διαταραχές της σεξουαλικής συμπεριφοράς, της σπερματογένεσης και της γονιμότητας των αρσενικών αρουραίων(79). Οι Kinuta et al. (2000)(79), πραγματοποίησαν σπερματέγχυση σε θηλυκούς αρουραίους άγριου τύπου με σπέρμα που συλλέχθηκε από αρσενικούς αρουραίους με ανεπάρκεια βιταμίνης D, η οποία προκλήθηκε από τη διατροφή. Αυτοί παρήγαγαν 65% λιγότερα σπερματοζώαρια με αποτέλεσμα 73% λιγότερες εγκυμοσύνες θηλυκών αρουραίων με επάρκεια βιταμίνης D (77, 78).

Οι αρσενικοί Vdr null ποντικοί έχουν σημαντική γοναδική ανεπάρκεια, με μειωμένο αριθμό και κινητικότητα σπερματοζωαρίων και ιστολογικές ανωμαλίες των όρχεων (79). Παρομοίως, ολιγοασθενοσπερμία, υπεργοναδοτροπικός υπογοναδισμός και αλλοιωμένη έκφραση και δραστηριότητα της αρωματάσης διαπιστώνονται και στα Cyp27b1 null ποντίκια. Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει το γεγονός ότι τα αναπαραγωγικά όργανα των αρσενικών Cyp27b1 (1α-υδροξυλάσης) null ποντικών φαίνονται σε μεγάλο βαθμό φυσιολογικά παρόλο που η αναπαραγωγική τους ικανότητα είναι μειωμένη (86). Αυτά τα δεδομένα καταδεικνύουν ένα ρυθμιστικό ρόλο του μονοπατιού σηματοδότησης της βιταμίνης D στη λειτουργία των γονάδων. Αξίζει επίσης να αναφερθεί ότι, οι αναπαραγωγικοί και γοναδικοί φαινότυποι διαγονιδιακών ποντικών για τον άλφα υποδοχέα οιστρογόνου και αρωματάσης, είναι παρόμοιοι με αυτούς των μεταλλαγμένων Vdr null αρσενικών ποντικών(80, 81, 82). Αυτές οι τελευταίες παρατηρήσεις υποδηλώνουν ότι η εξασθενημένη σπερματογένεση και η υπογονιμότητα, που είναι εμφανής σε Vdr null αρσενικά ποντίκια, μπορεί εν μέρει να προκαλείται λόγω ελαττωμάτων στα μονοπάτια σηματοδότησης οιστρογόνων, μια υπόθεση που αξίζει λεπτομερή αξιολόγηση.

Ωστόσο, άλλοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η υπασβεστιαμία και η υποφωσφαταιμία, που προκύπτουν από ανεπάρκεια βιταμίνης D, είναι οι κύριοι μηχανισμοί που ευθύνονται για τις ανωμαλίες που παρατηρούνται στη σπερματογένεση. Η ανεπάρκεια βιταμίνης D που σχετίζεται με την υπασβεστιαμία θέτει πιθανώς σε κίνδυνο την αντίδραση του ακροσώματος η οποία απαιτείται για τη γονιμοποίηση (83). Σύμφωνα με την παραπάνω υπόθεση, μια δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε

ασβέστιο και φωσφόρο αποδείχθηκε ότι μπορεί να επαναφέρει τηγονιμότητα σε διαγονιδιακούς Vdr null αρσενικούς ποντικούς με έλλειψη βιταμίνης D προκαλούμενη από τη διατροφή (84, 79, 85).

Όσον αφορά στη στεροειδογένεση των ορμονών του φύλου, στους Vdr knock out ποντικούς, η γονιδιακή έκφραση της αρωματάσης είναι μειωμένη και η δραστηριότητά τους όρχεις και στην επιδιδυμίδα είναι 58% και 35% του άγριου τύπου αντίστοιχα. Επιπροσθέτως τα αυξημένα επίπεδα των LH και FSH υποδεικνύουν υπεργοναδοτροφικό υπογοναδισμό. Τα συμπλήρωμα οιστραδιόλης βελτιώνουν τις ιστολογικές ανωμαλίες στις αρσενικές και θηλυκές γονάδες, ενώ τα συμπλήρωμα ασβεστίου αυξάνουν τη δραστηριότητα της αρωματάσης και διορθώνουν μέρει τον υπογοναδισμό (79). Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι η βιταμίνη D είναι απαραίτητη για την πλήρη γοναδική λειτουργία και στα δύο φύλα.

Έν τούτοις η βιοσύνθεση των οιστρογόνων διατηρείται ακόμη και παρουσία χαμηλών επιπέδων της βιταμίνης D με απαραίτητη προϋπόθεση τη διατήρηση της ομοιόστασης του ασβεστίου.

9.1.1.1.2 Αρσενικοί αρουραίοι με διατροφική έλλειψη βιταμίνης D

Μελέτες έχουν δείξει ότι παρόλο που οι αρσενικοί αρουραίοι με ανεπάρκεια βιταμίνης D είναι ικανοί να αναπαραχθούν, παρουσιάζουν κατά 45% μείωση στην επιτυχία ζευγαρώματος καθώς και 73% μείωση του συνολικού ποσοστού γονιμότητας σε σύγκριση με τους μάρτυρες (controls) (78). Οι όρχεις των αρουραίων με έλλειψη βιταμίνης D έδειξαν ατελή σπερματογένεση και εκφυλιστικές αλλαγές (77). Οι Uhland et al (1992), έδειξαν ότι η επαναφορά των φυσιολογικών επιπέδων του ασβεστίου σε ζώα με ανεπάρκεια της βιταμίνης D, ήταν αρκετή για την αποκατάσταση της γονιμότητας στους αρσενικούς αρουραίους. Έτσι απέδειξαν τόσο ότι η έλλειψη της 1,25 (OH) 2D3 επιδρά αρνητικά στην αναπαραγωγική λειτουργία, προκαλώντας υπογονιμότητα, όσο και ότι η υπασβεστιαμία διαδραματίζει εξίσου καθοριστικό ρόλο (84).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το πείραμα που έγινε σε διαβητικούς αρουραίους, όπου βρέθηκε ότι η θεραπεία με 1,25 (OH) 2D3 έχει προστατευτική δράση στις ζημιές που επάγονται από την αλλοξάνη, φαρμακευτική ουσία που προκαλεί επιλεκτική

καταστροφή των κυττάρων τα οποία παράγουν ινσουλίνη, στο αναπαραγωγικό σύστημα. Με αυτό τον τρόπο η1,25 (OH) 2D3 ενισχύει την παραγωγή της τεστοστερόνης και της 17β-οιστραδιόλης, προστατεύει από το οξειδωτικό στρες και την κυτταρική τοξικότητα, και διατηρεί τον αριθμό και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων (87).

9.1.1.2 Βιταμίνη D και αναπαραγωγική φυσιολογία σε θηλυκά μοντέλα ζώων

Παρόμοια με τις παρατηρήσεις στα αρσενικά ποντίκια με ανεπάρκεια της βιταμίνης D, τα στοιχεία δείχνουν ότι η ανεπάρκεια βιταμίνης D διαταράσσει εξίσου την αναπαραγωγική φυσιολογία των θηλυκών ποντικών (88,89,86,75). Οι 1,25 (OH) 2D3 και VDR πυρηνικοί υποδοχείς εντοπίζονται στο αναπαραγωγικό σύστημα των θηλυκών, ειδικότερα στη μήτρα, στις ωοθήκες, στο μαστικό αδένιο και στον πλακούντα αλλά και στον υποθάλαμο και στην υπόφυση. Η διατροφική ανεπάρκεια της βιταμίνης D σε θηλυκούς αρουραίους έχει ως αποτέλεσμα τη δραστική μείωση της γονιμότητας και συγκεκριμένα 45-70% μείωση της πιθανότητας κυοφορίας, 67-100% μείωση του αριθμού των βιώσιμων νεογνών και 0-33% πιθανότητα τα νεογνά να έχουν φυσιολογικό μέγεθος και να είναι υγιή. Τα δεδομένα αυτά περιγράφονται στα πειραματικά μοντέλα ανεπάρκειας της βιταμίνης D των Halloran et al (1980) και Kwiecinski et al (1989) (88, 89).

Οι διαταραχές στα μονοπάτια σηματοδότησης των οιστρογόνων, πιθανώς συμβάλλουν στη μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας και φυσιολογίας σε θηλυκά με έλλειψη βιταμίνης D, όμως ακριβής μηχανισμός δράσης δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί (90, 86). Ομοίως με τα αρσενικά, έτσι και τα θηλυκά Vdr null ποντίκια, παρουσιάζουν υπεργοναδοτροπικό υπογοναδισμό συνοδευόμενο από μειωμένη δράση της αρωματάσης (79). Ενώ ο υπεργοναδοτροπικός υπογοναδισμός είναι κοινός στις περιπτώσεις ανεπάρκειας της αρωματάσης καθώς και στα διαγονιδιακά Vdr ή Cyp27b1 null θηλυκά ποντίκια, ωστόσο, οι ωοθηκικοί φαινότυποι για αυτά τα ζωικά μοντέλα είναι αρκετά διαφορετικοί. Η μορφολογία των ωοθηκών στα θηλυκά null για την αρωματάση ποντίκια, χαρακτηρίζεται από μεγάλες αιμορραγικές κύστες, καταδεικνύοντας προβλήματα στην ωορρηξία (91). Αντιθέτα, στα Vdr null, καθώς επίσης και στα διαγονιδιακά Cyp27b1 null θηλυκά ποντίκια, οι ωοθήκες στερούνται ωχρού σωματίου, εμφανίζουν υπερτροφικά ενδιάμεσα κύτταρα, και η πρόωρη

ανάπτυξη των ωοθυλακίων φαίνεται ότι σταματά (86, 75). Ο υπεργοναδοτροπικός υπογοναδισμός είναι εμφανής στα *Vdr* null διαγονιδιακά θηλυκά, γεγονός που υποδηλώνει ανθεκτικότητα στη γοναδοτροφίνη (79). Τα διαγονιδιακά θηλυκά *Cyp27b1* null αντιθέτως είναι ευγοναδοτροπικά και εμφανίζουν ισχυρή ωοθηκική απόκριση σε εξωγενείς γοναδοτροφίνες (75). Σύμφωνα με τα παραπάνω δεδομένα τόσο η ωοθηκική ανεπάρκεια όσο και η αντίσταση σε γοναδοτροφίνη δεν ευθύνονται για τον ανώμαλο αναπαραγωγικό φαινότυπο των *Cyp27b1* null θηλυκών ποντικών. Ωστόσο η ωοθυλακική απόκριση σε εξωγενείς γοναδοτροφίνες που περιγράφεται στους *Cyp27b1* null ποντικούς εξηγείται από κάποιο βαθμό δυσλειτουργίας του άξονα υποθαλαμού-υπόφυσης(75).

Σε αντίθεση με τους Dicken et al (2012), οι Sun et al (2010) παρατήρησαν μειωμένους αριθμούς ωοκυττάρων από τις σάλπιγγες *Cyp27b1* null ποντικών, σε σύγκριση με τα άγριου τύπου (controls), μετά από την επαγωγή ωορρηξίας σε ποντίκια 24-25-ημερών (92). Οι διαφορές στην ηλικία των πειραματόζων μπορεί να ευθύνονται για τις διαφορές στις παρατηρήσεις που αναφέρονται στις δύο τελευταίες μελέτες καθώς οι Dicken et al (2012), επικεντρώθηκαν σε νεαρά ενήλικα ζώα, ενώ οι Sun et al (2010) υπερ-διέγειραν θηλυκούς ποντικούς πιθανότατα προ-εφηβικής ηλικίας. Είναι λοιπόν πιθανό η συγκέντρωση των ωοκυττάρων που ανταποκρίνονται σε γοναδοτροφίνη να μειώνεται στα προ-εφηβικά *Cyp27b1* null ποντίκια σε σύγκριση με τα νεαρά ενήλικα θηλυκά (74, 75).

Από πρόσφατη μελέτη των Malloy et al (2009), είναι δυνατό να αντλήσουμε νέες πληροφορίες για τις συνέπειες της *Vdr*-διαμεσολαβούμενης σηματοδότησης στη λειτουργία των ωοθηκών. Η AMH ανήκει στην οικογένεια του αυξητικού παράγοντα μεταμόρφωσης (TGF- β), παράγεται από τα κοκκίωδη κύτταρα της ωοθήκης, ρυθμίζει την πρόσληψη και επιλογή των ωοθυλακίων και αναστέλλει τη δραστηριότητα της αρωματάσης (93, 94). Δεδομένου ότι η σηματοδότηση της βιταμίνης D μπορεί να ρυθμίσει άμεσα την έκφραση της ωοθηκικής AMH, είναι πιθανό η έλλειψη της στα θηλυκά να διαταράξει τη φυσιολογία των ωοθηκών μέσω αλλαγών στη σηματοδότηση της AMH.

Σε αντίθεση με τα αρσενικά, η ικανότητα του ασβεστίου να επαναφέρει την αναπαραγωγική φυσιολογία και τη γονιμότητα στα θηλυκά ζωικά μοντέλα με ανεπάρκεια βιταμίνης D δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί καθώς υπάρχουν αρκετές

μελέτες με αντικρουόμενα αποτελέσματα (73, 74, 75). Οι Johnson και DeLuca (2001) έχουν επισημάνει ότι τα συμπληρώματα ασβεστίου στα Vdr null ποντίκια αποκαθιστούν τη γονιμότητα στα θηλυκά, ωστόσο το μέγεθος της επίδρασης στο περιγραφόμενο μοντέλο είναι δύσκολο να ερμηνευθεί επειδή η ομάδα ελέγχου (control) έλαβε τροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε ασβέστιο, και οι δύο υπό μελέτη ομάδες είχαν εξίσου μικρού μεγέθους νεογνά ($5,29 \pm 2,1$ έναντι $3,5 \pm 1,3$, $n = 4-7$) (85). Το VDR γονίδιο εκφράζεται τόσο στα κύτταρα του ενδομητρίου όσο και στα ανοσιακά κύτταρα που βρίσκονται εντός του ενδομητρίου (95). Στους Vdr null ποντικούς με υποοιστρογονισμό παρατηρούνται εκτός από υποπλασία της μήτρας, μειωμένος σχηματισμός οστών και άλλα σκελετικά προβλήματα. Οι μήτρες των Vdr null ποντικών ανταποκρίνονται σε θεραπεία με χορήγηση οιστρογόνων, υποδεικνύοντας ότι η υποπλασία της μήτρας στα Vdr null ποντίκια είναι εν μέρει συνέπεια του υπογοναδισμού (96). Όμως η διέγερση μέσω της οιστραδιόλης και η χορήγηση συμπληρωμάτων ασβεστίου δεν κατέστειλε τις γοναδοτροφίνες ούτε όμως βελτίωσε τον αναπαραγωγικό φαινότυπο στους Vdr null θηλυκούς ποντικούς. Αυτή η ετερογένεια στους φαινότυπους των θηλυκών ποντικών με ανεπάρκεια βιταμίνης D, που προκαλείται από απουσία των γονιδίων Vdr και Cyp27b1, υποδηλώνει ότι οι γνώσεις μας σχετικά με την κατανόηση του ρυθμιστικού ρόλου της βιταμίνης D δεν είναι επαρκείς.

Σε πρόσφατη μελέτη συγκρίθηκαν διαγονιδιακά Cyp27b1 null θηλυκά ποντίκια με τα άγριου τύπου αδελφιατούς, που σιτίζονταν για διάστημα 3 μηνών μετά τον απογαλακτισμό τους με κανονική τροφή ποντικών, φτωχή στη δραστική μορφή της βιταμίνης D. Τα ποντίκια και των δύο ομάδων εμφάνισαν ακανόνιστους κύκλους οιστρογόνων, μειωμένη γονιμότητα και μειωμένη επιβίωση των νεογνών. Τα παραπάνω ποντίκια φαίνεται να διασώθηκαν έπειτα από χορήγηση συμπληρωμάτων διατροφής και συγκεκριμένα φωσφόρου και ασβεστίου. Τα αποτελέσματα της έρευνας, μας δείχνουν πως η υπογονιμότητα που αρχικά φάνηκε να παρατηρείται στα Cyp27b1 null θηλυκά ποντίκια δεν είναι αποτέλεσμα της άμεσης δράσης της δραστικής μορφής της βιταμίνης D, αλλά επάγεται έμμεσα από το εξωκυτταρικό ασβέστιο και φώσφορο (74).

Η σημαντικότητα των παραπάνω αποτελεσμάτων έγκειται στο γεγονός ότι όταν η 25 (OH) D βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα στην κυκλοφορία, όπως συμβαίνει στα

πειραματικά μοντέλα Cyp27b1 και Vdr null(99), μπορεί να επάγει την ενεργοποίηση του VDR γονιδίου (100). Βλέπουμε λοιπόν πως η συμπληρωματική χορήγηση ασβεστίου οδήγησε σε αύξηση των επιπέδων της 25 (OH) D στην κυκλοφορία και επέτρεψε την ανάκτηση της VDR διαμεσολαβούμενης σηματοδότησης με αποτέλεσμα έναν λιγότερο δραματικό φαινότυπο. Δηλαδή αυτή η παρέμβαση είναι πιθανό να διέσωσε τον αναπαραγωγικό φαινότυπο αυτών των θηλυκών.

Σε αντίθεση με τα αρσενικά, η ικανότητα του ασβεστίου να επαναφέρει την αναπαραγωγική φυσιολογία και τη γονιμότητα στα θηλυκά ζωικά μοντέλα με ανεπάρκεια βιταμίνης D, δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί καθώς υπάρχουν αρκετές μελέτες με αντικρουόμενα αποτελέσματα. Τα δεδομένα αυτά ενισχύονται από τα αποτελέσματα της μελέτης των Dicken et al (2012), οι οποίοι έδειξαν ότι ανωμαλίες στον κύκλο των οιστρογόνων δεν διορθώθηκαν σε θηλυκά Cyp27b1 null ποντίκια, τα οποία απογαλακτίστηκαν με δίαιτα φτωχή σε βιταμίνη D αλλά πλούσια σε ασβέστιο (75).

Ταυτοποιείται λοιπόν ο ρόλος του ασβεστίου στην ενεργοποίηση και ωρίμανση των ωοκυττάρων, που έχει ως αποτέλεσμα την ολοκλήρωση της ωοθυλακικής ανάπτυξης (101).

Τα αποτελέσματα μιας *in vivo* μελέτης έδειξαν ότι η 1,25 (OH) 2D3 αυξάνει σημαντικά το βάρος της μήτρας και προκαλεί την αντίδραση του ενδομητρίου (102), υποδηλώνοντας έναν φυσιολογικό ρόλο στη διαφοροποίηση των κυττάρων του ενδομητρίου σε κύτταρα του στρώματος του ενδομητρίου, που αποτελεί κρίσιμο βήμα στη διαδικασία εμφύτευσης των βλαστοκύστεων. Ωστόσο, πολύ υψηλές δόσεις της 1,25 (OH) 2D3 καταλήγουν σε μειωμένο αριθμό ωχρών σωματίων, μειωμένη προγεστερόνη και μεταβολές στον κύκλο των οιστρογόνων στους αρουραίους (103).

Εκτός από τους μη φυσιολογικούς φαινοτύπους αναπαραγωγής, τα Vdr null ποντίκια παρουσιάζουν και πρόωρη γήρανση, που χαρακτηρίζεται από γνωστική δυσλειτουργία και αλωπεκία. Τα τελευταία χαρακτηριστικά δεν είναι εμφανή ούτε στα διαγονιδιακά Cyp27b1 null ποντίκια αλλά ούτε και σε εκείνα με ανεπαρκή ανάπτυξη προκαλούμενη από τη διατροφική έλλειψη της βιταμίνης D (97). Είναι πιθανό γενετική βλάβη του VDR γονιδίου να προκαλεί αδυναμία σχηματισμού του ετεροδιμερούς VDR/RXR, το οποίο με τη σειρά του οδηγεί σε αλλαγές της

φυσιολογίας της αναπαραγωγής, οι οποίες όμως παρουσιάζουν διαφορές με εκείνες που είναι χαρακτηριστικές για την ανεπάρκεια της βιταμίνης D (98).

9.1.1.2.1 Θηλυκοί αρουραίοι με διατροφική έλλειψη βιταμίνης D

Έχει αποδειχθεί ότι η ανεπάρκεια της βιταμίνης D μειώνει την επιτυχία του ζευγαρώματος και τη γονιμότητα στους θηλυκούς αρουραίους. Συγκεκριμένα, οι θηλυκοί αρουραίοι, στους οποίους χορηγήθηκε τροφή φτωχή σε βιταμίνη D, είναι ικανοί για αναπαραγωγή, αλλά η συνολική γονιμότητα τους είναι μειωμένη και εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο επιπλοκών κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Οι συνέπειες της έλλειψης βιταμίνης D δεν φαίνεται να υποχωρούν με την ομαλοποίηση της υπασβεστιαϊμίας στους θηλυκούς αρουραίους με ανεπάρκεια, καθώς απαιτείται επιπλέον χορήγηση της 1,25 (OH) 2D3 (89).

Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει το γεγονός ότι η χορήγηση οιστρογόνων αύξησε το βάρος της μήτρας των θηλυκών Vdrknock out ποντικών, υποδεικνύοντας ότι η βιταμίνη D παίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή οιστρογόνων στις ωοθήκες (90). Παρατηρείται ακόμη ότι τα θηλυκά Cyp27b1 knockout ποντίκια αναπτύσσουν υπογονιμότητα συνοδευόμενη από μειωμένα επίπεδα οιστρογόνων και προγεστερόνης, αυξημένα επίπεδα FSH και LH, ελαττώματα στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων και σχηματισμό ωχρού σωματίου καθώς και υποπλασία της μήτρας (74). Και πάλι, ο ελαττωματικός αναπαραγωγικός φαινότυπος στα παραπάνω μοντέλα ζώων, κανονικοποιήθηκε όταν οι ποντικοί έλαβαν τροφή διάσωσης, η οποία περιλάμβανε υψηλή περιεκτικότητα σε ασβέστιο, φωσφορικό άλας και λακτόζη. Οι συγγραφείς κατέληξαν λοιπόν στο συμπέρασμα ότι η στειρότητα που παρατηρείται σε ποντίκια με έλλειψη 1,25 (OH) 2D3 δεν είναι άμεση συνέπεια της ενεργούς ανεπάρκειας βιταμίνης D στο αναπαραγωγικό σύστημα αλλά μάλλον έμμεση επίδραση που προκαλείται από ανεπάρκεια σε εξωκυτταρικό ασβέστιο και φώσφορο.

9.1.1.2.2 Βιταμίνη D-εγκυμοσύνη, τοκετός, γαλουχία και ζωικά μοντέλα

Τα επίπεδα της βιταμίνης D φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφύτευση του εμβρύου. Ο μεταγραφικός παράγοντας HOXA 10, διαδραματίζει σημαίνοντα

ρόλοστις διαδικασίες των μορφολογικών, βιοχημικών και μοριακών μεταβολών που συντελούνται στα κύτταρα του ενδομητρίου και στα διαφοροποιημένα κύτταρα τροφοβλάστης κατά τη διαδικασία της εμφύτευσης. Η ενδομητριακή έκφραση του HOXA10 ρυθμίζεται θετικά από τη βιταμίνη D, ενισχύοντας έτσι την υπόθεση η σηματοδότηση της βιταμίνης D να συμβάλλει στην επιτυχή εμφύτευση του εμβρύου και στην ανοσολογική ανοχή (104).

Μεταβολές στη μητρική συμπεριφορά σίτισης, στην παραγωγή γάλακτος και στη γαλουχία περιγράφονται στα θηλυκά ποντίκια με ανεπάρκεια της βιταμίνης D και υπασβεστιαμία μετά τον τοκετό. Η μειωμένη παραγωγή γάλακτος είναι χαρακτηριστική σε πειραματικά μοντέλα ανεπάρκειας βιταμίνης D (105). Ειδικότερα οι μητέρες ποντικοί με ανεπάρκεια βιταμίνης D που προκαλείται από τη διατροφή, παρουσιάζουν ανορεξία, μη φυσιολογική μητρική συμπεριφορά και μειωμένη παραγωγή γάλακτος (106, 107). Η φτώχη σε βιταμίνη D μητρική διατροφή και η μειωμένη παραγωγή γάλακτος έχει ως συνέπεια την υπολειπόμενη ανάπτυξη των νεογνών (105). Παρόλο που τα παραπάνω στοιχεία υποδεικνύουν πιθανή συσχέτιση της μητρικής ανεπάρκειας σε βιταμίνη D με την υπολειπόμενη ανάπτυξη στους απογόνους, είναι δύσκολο να εξακριβωθούν τα ακριβή αίτια. Προκύπτουν λοιπόν τα εξής ερωτήματα: Αντανακλά την εξασθενημένη σηματοδότηση της βιταμίνης D; Είναι αποτέλεσμα της απορρύθμισης των επιπέδων φωσφόρου και ασβεστίου; Η απλά αποτελεί συνέπεια του μητρικού υποσιτισμού και της μειωμένης παραγωγής γάλακτος;

Διαπιστώνουμε πως ενώ η μειωμένη αναπαραγωγική ικανότητα είναι σαφώς εμφανής στα ζωικά μοντέλα με ανεπάρκεια βιταμίνης D, οι ακριβείς μηχανισμοί με τους οποίους επηρεάζεται η αναπαραγωγική φυσιολογία παραμένουν ελάχιστα κατανοητοί.

9.1.2 Βιταμίνη D και γονιμότητα στους ανθρώπους

Η συσχέτιση της διακύμανσης της ηλιοφάνειας κατά τη διάρκεια του έτους με την αναπαραγωγή στους ανθρώπους έχει μελετηθεί εκτενώς από την παγκόσμια επιστημονική κοινότητα τα τελευταία χρόνια.

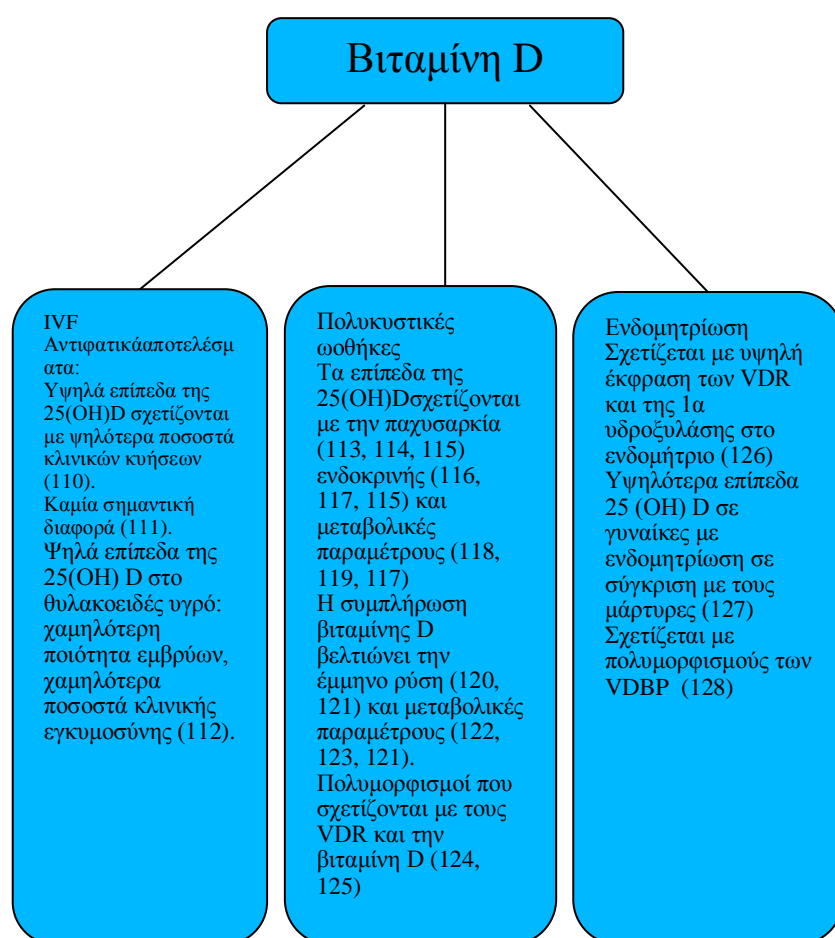
Τα επίπεδα της 25 (OH) D στον ορό των γυναικών, εμφανίζουν εποχιακή διακύμανση, με τα υψηλότερα επίπεδα να παρατηρούνται το καλοκαίρι και το φθινόπωρο και τα χαμηλότερα το χειμώνα και την άνοιξη. Στις βόρειες χώρες, όπου υπάρχει έντονη εποχιακή αντίθεση στη φωτεινότητα, τα ποσοστά συλλήψεων μειώνονται κατά τη διάρκεια των σκοτεινών χειμωνιάτικων μηνών, ενώ τα ποσοστά συλλήψεων κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού παρουσιάζουν έξαρση, η οποία οδηγεί σε μέγιστο αριθμό γεννήσεων την άνοιξη (108). Επιπλέον, τα ποσοστά ωορρηξίας και η δεκτικότητα του ενδομητρίου φαίνεται να μειώνονται κατά τη διάρκεια του χειμώνα στις βόρειες χώρες (109).

Μελέτες των τελευταίων χρόνων εγείρουν υποθέσεις για αλλοιώσεις στον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης που προκύπτουν από την μείωση των επιπέδων της βιταμίνης D στον οργανισμό. Ειδικότερα νεαρές γυναίκες, οι οποίες συμμετέχουν σε αθλήματα που απαιτούν χαμηλό δείκτη μάζας σώματος (BMI οπότε και χαμηλό ποσοστό λίπους, και αφού ο λιπώδης ιστός αποτελεί την κύρια αποθήκη βιταμίνης D), βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για την εμφάνιση δυσλειτουργίας της εμμήνου ρύσεως, συμπεριλαμβανομένης της αμηνόρροιας. Αυτό προκαλείται από μία μεταβολή στην λειτουργία του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-ωοθηκών, με απώλεια της φυσιολογικής έκκρισης της ωχρινοτρόπου ορμόνης και επακόλουθη έλλειψη παραγωγής οιστρογόνων (108).

Έχει παρατηρηθεί ότι η έλλειψη της βιταμίνης D συνδέεται με αυξημένη παραγωγή της ορμόνης μελατονίνης. Η έκκριση αυτής της ορμόνης ρυθμίζεται από το ηλιακό φως, με τρόπο αντίθετο από αυτόν της βιταμίνης D. Ειδικότερα, η έλλειψη φωτός επάγει την παραγωγή μελατονίνης, ώστε να διευκολύνει τον ύπνο, ενώ η παρουσία φωτός διακόπτει την παραγωγή της και με αυτό τον τρόπο διεγείρει τον οργανισμό. Δηλαδή προκύπτει ότι τα επίπεδα της βιταμίνης D και της μελατονίνης στον οργανισμό κατά τη διάρκεια της μέρας, είναι αντιστρόφως ανάλογα. Για το λόγο αυτό έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες, με στόχο να συσχετίσουν τα επίπεδα της μελατονίνης με τη γονιμότητα της γυναίκας. Δυστυχώς δεν έχουν προκύψει ασφαλή συμπεράσματα, κυρίως λόγω της εποχικής διακύμανσης των επιπέδων βιταμίνης D, τα οποία επηρεάζουν αρκετές οδούς, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης του ενδομητρίου και των ωοκυττάρων.

9.1.2.1 Βιταμίνη D και αναπαραγωγική φυσιολογία στις γυναίκες

Υπάρχουν ενδείξεις ότι η βιταμίνη D ασκεί κάποια επίδραση στη γυναικεία αναπαραγωγή, συμπεριλαμβανομένης της έκβασης της εξωσωματικής γονιμοποίησης, του PCOS και της ενδομητρίωσης, καθώς και στη στεροειδογένεση σε υγιείς γυναίκες. Οι ενδείξεις αυτές φαίνονται στην εικόνα 6 και θα συζητηθούν παρακάτω.



Εικόνα 6. Οι προτεινόμενες συσχετίσεις της κατάστασης της βιταμίνης D με τη γυναικεία αναπαραγωγή (Elisabeth Lerchbaum, and Barbara Obermayer-Pietsch_EurJEndocrinol 2012;166:765-778).

9.1.2.1.1 Εξωσωματική γονιμοποίηση - IVF

Μελέτες στις οποίες επιχειρείται διερεύνηση της συσχέτισης των επιπέδων της βιταμίνης D με την εξωσωματική γονιμοποίηση δεν έχουν οδηγήσει μέχρι σήμερα σε σαφή αποτελέσματα (βλ.εικόνα 6). Σε μελέτη που έγινε μεταξύ 84 υπογόνιμων γυναικών που υποβλήθηκαν σε εξωσωματική γονιμοποίηση, οι γυναίκες με υψηλότερα επίπεδα 25 (OH) D στον ορό και στο θυλακοειδές υγρό ήταν στατιστικά πιο πιθανό να επιτύχουν κλινική εγκυμοσύνη μετά την εξωσωματική γονιμοποίηση ενώ τα υψηλά επίπεδα βιταμίνης D συσχετίστηκαν σημαντικά με βελτιωμένες παραμέτρους ελεγχόμενης υπερδιέγερσης ωοθηκών (110). Αντίθετα, οι Aleyasine et al (2011) (111) δεν βρήκαν σημαντική συσχέτιση των επιπέδων της 25 (OH) D στον ορό και στο θυλακίωδες υγρό με την έκβαση των IVF σε μια μελέτη που περιλαμβάνει 82 υπογόνιμες γυναίκες που υποβλήθηκαν σε υποβοηθούμενη αναπαραγωγή.

Μια διατμηματική (crosssectional) μελέτη διερεύνησε το αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης σε γυναίκες με ανεπάρκεια 25 (OH) D με επίπεδα ορού <20 ng / ml. Ο αριθμός των γυναικών που έλαβαν μέρος στη μελέτη ήταν 154 και 181, με επίπεδα της 25 (OH) D ορού <20 ng / ml (ομάδα A), και ≥ 20 ng / ml (ομάδα B) αντίστοιχα. Ο κύριος στόχος της μελέτης ήταν ο προσδιορισμός του ποσοστού κλινικών κύσεων στις δύο ομάδες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα ποσοστά κλινικής κύησης ήταν 20% στην ομάδα A και 31% στην ομάδα B (P = 0,02). Περαιτέρω ανάλυση έδειξε ότι γυναίκες με υψηλότερα επίπεδα 25 (OH) D ορού (> 30 ng / ml) εμφάνισαν υψηλότερα ποσοστά εγκυμοσύνης. Οι A.Paffoni et al (2014) (129) διαπίστωσαν ότι οι γυναίκες που είχαν επαρκή επίπεδα βιταμίνης D ήταν πιθανότερο να παράγουν έμβρυα υψηλής ποιότητας και πιθανότερο να μείνουν έγκυες συγκριτικά με τις γυναίκες που είχαν έλλειψη βιταμίνης D.

Σε μελέτη των Garbedian et al (2013), διερευνήθηκε αν τα επίπεδα της βιταμίνης D θα μπορούσαν να προβλέψουν την πιθανότητα επιτυχούς εμφύτευσης εμβρύων και τα ποσοστά κλινικής εγκυμοσύνης σε 173 υπογόνιμες γυναίκες μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση. Κατά την πειραματική διαδικασία μετρήθηκαν τα επίπεδα της 25 (OH) D ορού μία εβδομάδα πριν από την ανάκτηση ωοκυττάρων. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι οι γυναίκες με επαρκή επίπεδα 25 (OH) D είχαν υψηλότερα

ποσοστά κλινικής εγκυμοσύνης (52,5%) σε σύγκριση με γυναίκες με ανεπαρκή επίπεδα (34,7%) (130).

Σε επόμενη μελέτη των Anifansia et al (2010), προκύπτουν αντικρουόμενα με τα παραπάνω, συμπεράσματα (112). Στη μελέτη συμμετείχαν 101 γυναίκες, οι οποίες υποβλήθηκαν σε 101 IVF κύκλους διέγερσης ωοθηκών, με γονιμοποίηση με ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπερματοζωαρίων (ICSI). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν, έδειξαν ότι οι γυναίκες με επαρκή επίπεδα βιταμίνης D (25 (OH) D, > 30 ng / ml στο θυλακοειδές υγρό) είχαν έμβρυα χαμηλότερης ποιότητας και ήταν λιγότερο πιθανό να επιτύχουν κλινική εγκυμοσύνη, σε σύγκριση με γυναίκες με ανεπαρκή επίπεδα βιταμίνης D (25 (OH) D-20,1-30 ng / ml στο θυλακοειδές υγρό) ή με γυναίκες με σοβαρή έλλειψη βιταμίνης D (25 (OH) D! ≤20 ng / ml στο θυλακοειδές υγρό).

Συμπερασματικά, μέχρι σήμερα δεν έχει διεξαχθεί συστηματική έρευνα για την ακριβή αξιολόγηση των επιδράσεων της βιταμίνης D στις γυναίκες που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση. Δεδομένου ότι η χορήγηση συμπληρωμάτων βιταμίνης D είναι μια φθηνή και απλή παρέμβαση, η πρόσθετη μελέτη σε αυτόν το τομέα έχει τη δυνατότητα να επηρεάσει σημαντικά τον τρόπο θεραπείας της υπογονιμότητας.

9.1.2.1.2 Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών - PCOS

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών PCOS, είναι η πιο κοινή γυναικεία ενδοκρινική διαταραχή και παρατηρείται στο 5-10% των γυναικών που βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία (131, 132, 133).

Το PCOS χαρακτηρίζεται από αυξημένη έκκριση ανδρογόνων των ωοθηκών και των επινεφριδίων, υπερανδρογονικά συμπτώματα, όπως υπερτρίχωση, ακμή και / ή αλωπεκία, ανωμαλίες στην εμμηνόρροια και πολυκυστικές ωοθήκες. Επιπλέον, η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι κοινή στις γυναίκες με PCOS (134), οι οποίες έχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν διαβήτη τύπου 2 (135). Συνολικά, το PCOS είναι η πιο συνηθισμένη αιτία υπογονιμότητας στις γυναίκες, με διαταραχές κύκλου και σπάνια ή αραιή ωοθυλακιορρηξία.

Παρόλο που οι γενετικές αιτίες αυτής της διαταραχής δεν είναι σαφείς, έχει αποδειχθεί ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη και η παχυσαρκία σχετίζονται με το PCOS (133). Η βιταμίνη D επιδρά στον μεταβολισμό επηρεάζοντας την έκκριση ινσουλίνης (71, 136, 137). Επομένως, η αναζήτηση μιας σχέσης μεταξύ του PCOS και του μεταβολισμού της βιταμίνης D φαίνεται να είναι δικαιολογημένη (βλ. Εικόνα 6). Ένας μεγάλος αριθμός μελετών παρατήρησης κατέδειξε τη συσχέτιση των χαμηλών επιπέδων 25 (OH) D και αντίστασης στην ινσουλίνη (116, 119, 118). Ωστόσο και εδώ οι μηχανισμοί συσχέτισης παραμένουν άγνωστοι. Μια από τις θεωρίες πίσω από αυτό το μηχανισμό, βασίζεται στην ρυθμιστική επίδραση της βιταμίνης D στο ενδοκυτταρικό και εξωκυτταρικό επίπεδο του ασβεστίου, που είναι απαραίτητο για τις ενδοκυτταρικές διεργασίες με μεσολάβηση ινσουλίνης, καθώς επηρεάζει την έκκρισή της (138, 139, 140). Μια δεύτερη υπόθεση αφορά στην επιρροή της βιταμίνης D στην έκφραση των υποδοχέων ινσουλίνης, που οδηγεί με τη σειρά του σε αυξημένη δέσμευση της ινσουλίνης (140, 141). Τέλος, μια τρίτη υπόθεση υποστηρίζει, ότι αποκλίσεις των επιπέδων της βιταμίνης D επηρεάζουν το ανοσοποιητικό σύστημα και μπορεί να προκαλέσουν μεγαλύτερη φλεγμονώδη απόκριση που σχετίζεται με την αντίσταση στην ινσουλίνη (140, 142, 113).

Η σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης της βιταμίνης D στον οργανισμό και της παχυσαρκίας έχει καταδειχθεί σε γυναίκες που πάσχουν από PCOS (113, 114, 115). Αυτό είναι συνέπεια της συσχέτισης της παχυσαρκίας και της αντίστασης στην ινσουλίνη, που συνδέεται άμεσα με μειωμένα επίπεδα βιταμίνης D (140, 113, 143, 144). Από την άλλη πλευρά, χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D σε άτομα με παχυσαρκία μπορεί να προκληθούν από την απροθυμία τους να εκθέσουν το σώμα τους στον ήλιο (140). Η έλλειψη βιταμίνης D σχετίζεται επίσης με μια ανισορροπία στους δείκτες υπερανδρογοναιμίας, όπως η δεϋδροεπιανδροστερόνη του ορού (DHEAS), η ολική τεστοστερόνη (T), ο ελεύθερος δείκτης ανδρογόνων (FAI), η ελεύθερη τεστοστερόνη και η σφαιρίνη δέσμευσης ορμονών φύλου (SHBG) (145, 117, 146). Οι Hahn et al (2006), εξέτασαν μια ομάδα 120 γυναικών που είχαν διαγνωστεί με PCOS, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο ραδιοανοσοδοκιμίας και παρατήρησαν σημαντική συσχέτιση μεταξύ της 25 (OH) D και των επιπέδων SHBG και FAI (113). Οι Wehr et al (2009), μελέτησαν μια ομάδα 206 γυναικών με PCOS και μέτρησαν τα επίπεδα της 25 (OH) D στον ορό χρησιμοποιώντας τη μέθοδο ELISA. Η μελέτη αυτή τεκμηρίωσε μια θετική συσχέτιση της 25 (OH) D με την SHBG. Ωστόσο θετική

συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε ούτε με τον FAI, ούτε με την ελεύθερη τεστοστερόνη (116). Σε πιλοτική μελέτη από του Paetal (2012), που έγινε σε 12 υπέρβαρες γυναίκες με PCOS και ανεπάρκεια βιταμίνης D, χορηγήθηκαν συμπληρώματα με υψηλές δόσεις της βιταμίνης και ασβεστίου. Έπειτα από 3 μήνες παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων της συνολικής τεστοστερόνης και ανδροστενεδιόνης των υπό μελέτη ατόμων. Παρόλα αυτά, οι SHBG και FAI και οι παράμετροι της αντίστασης στην ινσουλίνη παρέμειναν αμετάβλητες (143). Άλλες αναφορές καταδεικνύουν ότι επιπλέον χορήγηση βιταμίνης D ή του αναλόγου της, βελτιώνει την ευαισθησία και την έκκριση ινσουλίνης (123) καθώς και τις παραμέτρους της ωοθηκικής ωοθυλακιογένεσης και της ωορρηξίας (147). Η συσχέτιση της συγκέντρωσης βιταμίνης D με μεταβολικές και ενδοκρινικές παραμέτρους στις γυναίκες με PCOS, την ορίζει ως πιθανό δείκτη για το σύνδρομο αυτό και την καθιστά ως ικανή συμπληρωματική θεραπεία για μεταβολικές διαταραχές σε γυναίκες με PCOS (146). Οι Wortsman et al. (2000) (13) κατέδειξαν ότι η αύξηση των επιπέδων των 25 (OH) D 24 ώρες μετά από την ολική έκθεση του σώματος στην υπεριώδη ακτινοβολία ήταν κατά 57% χαμηλότερη σε παχύσαρκους συγκριτικά με άτομα με φυσιολογικό δείκτη μάζας σώματος. Καμία όμως από τις μέχρι σήμερα μελέτες δεν έχει καταφέρει να απαντήσει στο ερώτημα εάν η ανεπάρκεια βιταμίνης D οφείλεται στη παχυσαρκία ή / και αν η παχυσαρκία είναι συνέπεια της ανεπάρκειας βιταμίνης D, γνωρίζοντας ότι η παχυσαρκία μπορεί να συμβάλει στα χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D στην κυκλοφορία, παγιδεύοντας τη βιταμίνη D στο λιπώδη ιστό.

Η υπόθεση ότι η βιταμίνη D εμπλέκεται σε μεταβολικά και ενδοκρινικά μονοπάτια στις γυναίκες με PCOS, υποστηρίζεται από το γεγονός ότι οι VDR ρυθμίζουν περισσότερο από το 3% του ανθρώπινου γονιδιώματος (2, 138). Σε αυτό το πλαίσιο έχει αποδειχθεί ότι οι πολυμορφισμοί Cdx2, Bsm-I, Fok-I, Apa-I και Taq-I του VDR γονιδίου σχετίζονται με τον μεταβολισμό της βιταμίνης D και είναι πιθανό να συμβάλλουν στις εκφάνσεις του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών. Οι Mahmoudi T. (2009), (148) παρατήρησαν την ύπαρξη συσχέτισης του πολυμορφισμού Apa-I με την εκδήλωση του PCOS σε μια ομάδα που περιλάμβανε 162 PCOS και 162 φυσιολογικές γυναίκες από την Τεχεράνη. Σε μια Αυστριακή κοόρτη που περιλαμβάνει 545 PCOS γυναίκες και 145 γυναίκες στην ομάδα ελέγχου, διαπιστώθηκε η ύπαρξη συσχέτισης του πολυμορφισμού Cdx2 με τον μεταβολισμό της ινσουλίνης, ενώ ο πολυμορφισμός Apa-I σχετίστηκε με υπερανδρογοναιμία

(124). Επιπλέον, σε μικρότερη μελέτη που περιλαμβάνει 56 γυναίκες με PCOS από το Ιράν βρέθηκε συσχέτιση των Taq-I και Bsm-I με αυξημένα επίπεδα ορού της LH και μειωμένων επιπέδων SHBG αντίστοιχα (125). Πρόσφατη ευρωπαϊκή μελέτη στην οποία μελετήθηκε το γονιδίωμα 33.996 ατόμων, από 15 διαφορετικές κοόρτες, αναδείχθηκε ο ρόλος κοινών γενετικών πολυμορφισμών στη ρύθμιση των επιπέδων της 25 (OH) D(149).

Τα αποδεικτικά στοιχεία σχετικά με την επίδραση των συμπληρωμάτων της βιταμίνης D στις γυναίκες με PCOS δεν είναι ισχυρά. Υπάρχουν, ωστόσο, μερικές μελέτες σε περιορισμένο αριθμό γυναικών, που καταλήγουν σε πολλά υποσχόμενα συμπεράσματα. Σε μια μελέτη παρέμβασης μικρής κλίμακας που περιλάμβανε 13 προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με χρόνια, σπάνια ή/και αραιή ωοθυλακιορρηξία και υπερανδρογονισμό, η αναπλήρωση βιταμίνης D με εργοκαλσιφερόλη 50.000 IU εβδομαδιαία ή ανά δύο εβδομάδες σε συνδυασμό με χορήγηση 1500 mg ασβεστίου καθημερινά είχε ως αποτέλεσμα την ομαλοποίηση των εμμηνορροϊκών κύκλων σε επτά γυναίκες και την επίτευξη εγκυμοσύνης σε δύο από αυτές (120). Επιπλέον, κλινικά αποδεδειγμένη βελτίωση της ακμής παρατηρήθηκε και στις τρεις γυναίκες που υπέφεραν από αυτήν, έπειτα από την παραπάνω παρέμβαση (120). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στη μελέτη αυτή, δεν κατέστη δυνατό, να γίνει διάκριση μεταξύ των επιδράσεων του ασβεστίου και της βιταμίνης D. Αντίθετα, σε μια πιλοτική μελέτη μεταξύ 13 παχύσαρκων γυναικών με PCOS, η χορήγηση εφάπαξ δόσης 300.000 IU βιταμίνης D3 από το στόμα δεν μετέβαλε σημαντικά τον Δείκτη Μάζας Σώματος BMI ή τα επίπεδα DHEAS, της ολικής τεστοστερόνης, της ελεύθερης τεστοστερόνης και της ανδροστενεδιόνης ενώ είχε θετική επίδραση στην αντίσταση στην ινσουλίνη (122). Τα παραπάνω αποτελέσματα ενισχύονται από μια μελέτη που περιλαμβάνει 15 παχύσαρκες γυναίκες με PCOS, οι οποίες υποβλήθηκαν σε αγωγή με 1 mg calcitriol, ένα ανάλογο της βιταμίνης D, το οποίο χρησιμοποιείται ως συμπλήρωμα της βιταμίνης D, ημερησίως σε διάστημα 3 μηνών. Αποτέλεσμα της θεραπείας με το ανάλογο της βιταμίνης D ήταν η βελτίωση στην έκκριση της ινσουλίνης, η ρύθμιση των ολικών λιπιδίων στον οργανισμό ενώ ο BMI δεν άλλαξε σημαντικά (123). Σε μια άλλη μελέτη που περιλαμβάνει 57 γυναίκες χορηγήθηκαν 50.000 IU βιταμίνης D3 εβδομαδιαίως, σε διάστημα 24 εβδομάδων. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα βελτίωση στο μεταβολισμό της γλυκόζης, τη βελτίωση της συχνότητας της εμμηνορροίας χωρίς όμως να παρατηρείται και εδώ σημαντική αλλαγή του BMI (121)

Μελέτη μεταξύ 60 υπογόνιμων γυναικών με PCOS, η θεραπεία με μετφορμίνη, η οποία χρησιμοποιείται για τη θεραπεία υψηλών επιπέδων σακχάρου στο αίμα, που προκαλούνται από διαβήτη τύπου 2, καθώς και στην αντίσταση ινσουλίνης, σε συνδυασμό με συμπληρώματα ασβεστίου και βιταμίνης D οδήγησε σε υψηλότερο αριθμό κυρίαρχων ωοθυλακίων, συγκριτικά με τη χρήση μόνο μετφορμίνης και εικονικού φαρμάκου, γεγονός που μπορεί να υποδεικνύει ευεργετική επίδραση της στη γονιμότητα (150).

Τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών είναι ιδιαίτερος ελπιδοφόρος, ωστόσο προέρχονται από μη ελεγχόμενες μελέτες παρέμβασης. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχει καμία τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη δοκιμή (RCT) για την αξιολόγηση των επιδράσεων της θεραπείας με βιταμίνη D στις ενδοκρινικές και μεταβολικές παραμέτρους στις γυναίκες με PCOS. Λαμβάνοντας υπόψη τη συσχέτιση της ανεπάρκειας της βιταμίνης D με την αντίσταση στην ινσουλίνη και το διαβήτη τύπου 2 στις γυναίκες με PCOS(3), η επιπλέον έρευνα με RCT θεωρείται αναγκαία.

Η επιπλέον διερεύνηση, με σχεδιασμό πολυπληθέστερων μελετών, σε ένα καλά χαρακτηρισμένο δείγμα γυναικών με και χωρίς PCOS, θεωρείται σημαντική για τον καθορισμό κατευθυντήριων γραμμών για τη μέτρηση της 25 (OH) D και για τη χορήγηση συμπληρωμάτων βιταμίνης D με σκοπό τη βελτίωση της γονιμότητας και των μεταβολικών διαταραχών. Μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να περιλαμβάνουν πολλαπλές αξιολογήσεις της βιταμίνης D σε γυναίκες με PCOS, ανάλογα με την βαρύτητα των συμπτωμάτων του συνδρόμου, όπου αυτό καθίσταται δυνατό. Απώτερος σκοπός είναι η ορθότερη κατανόηση του χρόνου εμφάνισης της έλλειψης της βιταμίνης D σε σχέση με το χρόνο εμφάνισης των συμπτωμάτων του PCOS και την βαρύτητα αυτών, καθώς παραμένουν ακόμη αναπάντητα καίρια ερωτήματα. Είναι η έλλειψη της βιταμίνης D καθοριστικός παράγοντας των μεταβολικών και ορμονικών δυσλειτουργιών του PCOS; Είναι συνέπεια των μεταβολικών και ορμονικών δυσλειτουργιών των PCOS; Είναι πιθανό να ισχύουν και οι δύο παραπάνω υποθέσεις;

9.1.2.2 Βιταμίνη D και αναπαραγωγική φυσιολογία στους άνδρες

Στους άνδρες, η κατάσταση της βιταμίνης D μπορεί να σχετίζεται με την σπερματογένεση, την ποιότητα του σπέρματος, καθώς και με τον υπογναθισμό.

Το ασβέστιο αναγνωρίζεται ως κρίσιμο ενδοκυτταρικό σήμα στην αρσενική φυσιολογία με καθορισμένους ρόλους κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης, της κινητικότητας του σπέρματος, της υπερδραστηριότητας και της αντίδρασης των ακροσωμάτων Yoshida et al.(2008)(33). Ωστόσο, ο ρόλος της βιταμίνης D ως σημαντικός ρυθμιστής του μεταβολισμού του ασβεστίου, στην ποιότητα του σπέρματος και στη σπερματογένεση είναι λιγότερο σαφής και αποτέλεσε το επίκεντρο αρκετών μελετών που διεξήχθησαν τα τελευταία χρόνια. Αναλυτικότερα, οι Blomberg et al. (2011) (151) μελέτησαν τη σχέση της ποιότητας του σπέρματος και των επιπέδων της βιταμίνης D σε μια διατμηματική(cross-sectional) μελέτη που περιελάμβανε 300 τυχαία επιλεγμένους άνδρες. Τα αποτελέσματα της μελέτης υποδεικνύουν θετική συσχέτιση των επιπέδων της 25 (OH) D ορού με τη βιωσιμότητα και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Επιπλέον βρέθηκε ότι οι άνδρες με ανεπάρκεια βιταμίνης D (<10 ng / ml) είχαν μικρότερο ποσοστό κινητικών και μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων σε σύγκριση με άνδρες με φυσιολογικά επίπεδα της βιταμίνης D (>30 ng / ml) (151). Επίσης διερευνήθηκε, *in vitro*, η επίδραση της 1,25 (OH) 2D3 στο ανθρώπινο σπέρμα και διαπιστώθηκε ότι προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης του ενδοκυτταρικού ασβεστίου στα σπερματοζωάρια, μέσω απελευθέρωσής του από ενδοκυττάρια αποθήκες με τη διαμεσολάβηση των Vdr, αύξηση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων και πρόκληση της αντίδρασης του ακροσώματος. Αντίθετα συμπεράσματα παρατηρήθηκαν σε άλλη μελέτη που διερεύνησε τη σχέση της βιταμίνης D με την ποιότητα του σπέρματος σε 307 νεαρούς υγιείς άνδρες. Χαμηλότερος συνολικός αριθμός σπερματοζωαρίων και χαμηλότερο ποσοστό σπερματοζωαρίων κανονικής μορφολογίας, καταγράφηκε σε άντρες με υψηλά επίπεδα βιταμίνης D (152). Με την εισαγωγή στην ανάλυση επιπλέον παραμέτρων όπως η εποχή του χρόνου, το ιστορικό ασθενειών του αναπαραγωγικού συστήματος, το κάπνισμα, ο χρόνος αποχής από το σεξ και η απώλεια μέρους του δείγματος κατά τη διαδικασία συλλογής αλλά και το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ από τη μητέρα του ασθενούς κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης άμβλυνε τα παραπάνω συμπεράσματα. Επιπλέον, οι Foresta et al (2011) (153) εξέτασαν την έκφραση του γονιδίου CYP2R1, το οποίο κωδικοποιεί την

25-υδροξυλάση της βιταμίνης D, σε 57 ασθενείς με σύνδρομο Sertoli cell only (απλασία των γεννητικών κυττάρων, και εκφράζεται σαν αζωοσπερμία) και σε 41 μάρτυρες. Σε άνδρες με σύνδρομο Sertoli cell only παρατηρήθηκε σημαντικά χαμηλότερη έκφραση του CYP2R1 γονιδίου άρα και της πρωτεΐνης καθώς και σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα της 25 (OH) D ορού, σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Είναι αξιοσημείωτο ότι οι ασθενείς με παθολογία όρχεων, παρά τα φυσιολογικά επίπεδα της τεστοστερόνης, παρουσίασαν οστεοπενία, οστεοπόρωση, αυξημένα επίπεδα των οστικών δεικτών και μεταβαλλόμενη πυκνότητα.

Ενώ υπάρχουν ορισμένες ενδείξεις από μελέτες παρατήρησης που υποδηλώνουν μια σύνδεση της αύξησης της βιταμίνης D με τη βελτίωση της ποιότητας του σπέρματος, μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν δεδομένα από RCT που να διερευνούν τα οφέλη της θεραπείας με βιταμίνη D στην ποιότητα του σπέρματος. Σε μια φάσης II τυχαιοποιημένη, διπλα-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη, χορηγήθηκε ελοκασιτόλη, ένα συνθετικό παράγωγο βιταμίνης D3, για 3 μήνες σε 121 άνδρες, ασθενείς με χρόνια σύνδρομο προστατίτιδας και χρόνιου πυελικού πόνου. Η θεραπεία με ελοκασιτόλη μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της IL8 (ιντερλευκίνη 8) στο σπέρμα, υποδηλώνοντας μια βελτιωμένη ποιότητα και κινητικότητα του σπέρματος (154).

Δυστυχώς, τα πειράματα με τη χρήση ελοκασιτόλης, που σχεδιάστηκαν κυρίως για τη θεραπεία της καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη και της υπερδραστικής ουροδόχου κύστης, διακόπηκαν λόγω συχνών και έντονων συμπτωμάτων ερεθισμού του ουροποιητικού συστήματος. Ωστόσο, η ανακάλυψη ότι η 1,25 (OH) 2D3 επηρεάζει τη λειτουργία του σπέρματος μπορεί να είναι χρήσιμη για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων για τη θεραπεία ανδρικών αναπαραγωγικών διαταραχών.

Οι Vdr ανιχνεύονται στους όρχεις, στον προστάτη και στα σπερματοζώαρια (155). Επίσης, τα ένζυμα που μεταβολίζουν τη βιταμίνη D ανιχνεύονται στους ανθρώπινους όρχεις, στη σπερματική οδό, στα ώριμα σπερματοζώαρια και στα κύτταρα Leydig (156, 157). Το CYP24A1 είναι ένα ένζυμο που μεταβολίζει τη βιταμίνη D και λειτουργεί στον έλεγχο της σηματοδότησης της. Η υδροξυλίωση από αυτό το ένζυμο αποτελεί το πρώτο βήμα στον καταβολισμό δραστικών μεταβολιτών της βιταμίνης D. Για την αποφυγή της τοξικότητας από τη βιταμίνη D, ενεργοποιείται ένας κυτταρικός

μηχανισμός ανάδρασης που επάγει την έκφραση του CYP24A1, όσο αυξάνονται τα επίπεδα της 1,25 (OH) 2D3. Σε μια μελέτη που συνέκρινε την έκφραση του CYP24A1 στο σπέρμα 77 υπογόνιμων και 50 γόνιμων νεαρών ανδρών, παρατηρήθηκε σημαντικά μειωμένος αριθμός σπερματοζωαρίων που εκφράζουν το CYP24A1 στους υπογόνιμους άνδρες σε σύγκριση με τους υγιείς. Οι συγγραφείς παρατήρησαν ότι η παρουσία >3% σπερματοζωαρίων θετικών ως προς την έκφραση του CYP24A1 χαρακτήριζε τους γόνιμους έναντι των υπογόνιμων ανδρών με ευαισθησία 66,0% και ειδικότητα 77,9% (156). Για να γίνει κατανοητό εάν το μονοπάτι που ενεργοποιείται από τη βιταμίνη D προκάλεσε τις παρατηρούμενες συσχετίσεις, διεξήχθησαν *in vitro* λειτουργικές μελέτες στο σπέρμα 40 επιπλέον ανδρών (22 γόνιμων, 18 υπογόνιμων). Αποκαλύφθηκε ότι η έκθεση στην 1,25 (OH) 2D3 αύξησε τη συγκέντρωση ενδοκυτταρικού ασβεστίου και βελτίωσε την κινητικότητα στο σπέρμα των γόνιμων ανδρών, σε αντίθεση με αυτό των υπογόνιμων ανδρών (156). Ενώ τα προαναφερθέντα δεδομένα υποδεικνύουν ένα ρόλο για τη βιταμίνη D και του VDR γονιδίου στη σπερματογένεση, στην ωρίμανση του σπέρματος και στην ενδοκρινολογική λειτουργία των όρχεων, απαιτούνται πρόσθετες μελέτες για τον σαφή προσδιορισμό της σημασίας της VDR σηματοδότησης στους αρσενικούς γαμέτες και στη φυσιολογία των γονάδων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα τελευταία χρόνια παρουσιάζεται ιδιαίτερα αυξημένο ενδιαφέρον για τη διερεύνηση της επίδρασης της βιταμίνης D στον οργανισμό και το μηχανισμό δράσης της. Σε αυτό έχουν συνεισφέρει μελέτες που έχουν γίνει σε διάφορα ζωικά μοντέλα και οι οποίες έχουν εμπλουτίσει τις γνώσεις μας σχετικά με τη βιταμίνη D. Έχει αποδειχθεί η άμεση συσχέτιση ανεπάρκειας βιταμίνης D με τα επίπεδα εξωκυττάρου ασβεστίου και φωσφόρου σε ποντίκια με ανεπάρκεια της 25-υδροξυλάσης, καθώς στα τελευταία παρατηρείται υποστροφή της υπογονιμότητας, έπειτα από χορήγηση τροφής πλούσια σε ασβέστιο, φωσφορικό άλας και λακτόζη. Η χορήγηση ασβεστίου οδήγησε επίσης στη διάσωση των ποντικών με έλλειψη Vdr υποδοχέων, καθώς παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού και της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων καθώς και της συνολικής γονιμότητας. Τέλος στα ποντίκια με διατροφική έλλειψη της βιταμίνης D ,έπειτα από χορήγηση της 1,25 (OH) 2D₃, παρατηρήθηκε αύξηση της γονιμότητας και μείωση των επιπλοκών κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης.

Εκτός από μελέτες σε ζωικά μοντέλα έχουν πραγματοποιηθεί και μελέτες σε υπογόνιμα άτομα ώστε να αποδειχθεί η συμμετοχή της βιταμίνης D στην αναπαραγωγή τόσο των γυναικών όσο και των αντρών, συμπεριλαμβανομένης της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Βρέθηκε λοιπόν ότι στις γυναίκες με PCOS, τα χαμηλά επίπεδα της 25 (OH) D συνδέονται με την παχυσαρκία, τις μεταβολικές και τις ενδοκρινικές διαταραχές. Η λήψη συμπληρωμάτων βιταμίνης D μπορεί να βελτιώσει τη συχνότητα της εμμηνόρροιας και τις μεταβολικές διαταραχές στις γυναίκες αυτές με συνέπεια την αύξηση των ποσοστών κλινικών κυήσεων. Αντίθετα σε γυναίκες που πάσχουν από ενδομητρίωση τα υψηλά επίπεδα της 25 (OH) D εντείνουν τα συμπτώματα της νόσου. Επιπλέον, η βιταμίνη D μπορεί να επηρεάσει τη στεροειδογένεση των ορμονών φύλου (οιστραδιόλη και προγεστερόνη) σε υγιείς γυναίκες. Στους υπογόνιμους άνδρες, η βιταμίνη D συνδέεται θετικά με την ποιότητα του σπέρματος και τα επίπεδα των ανδρογόνων καθώς παρατηρήθηκε ότι θεραπεία με βιταμίνη D μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα της τεστοστερόνης. Άνδρες με παθολογία

όρχεων, όπως το Sertoli cell only syndrome, εμφανίζουν χαμηλή έκφραση του CYP21R, χαμηλά επίπεδα 25 (OH) D και οστεοπόρωση παρά τα φυσιολογικά επίπεδα τεστοστερόνης.

Τα αποτελέσματα ορισμένων μελετών παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Οι αντιφάσεις αυτές θα μπορούσαν να εξαιρεθούν εάν συμπεριληφθούν στις μελέτες επιπλέον παράμετροι, όπως το περιβάλλον, κληρονομικοί παράγοντες, λήψη φαρμάκων, λοιμώξεις του αναπαραγωγικού συστήματος και άλλα που θα μπορούσαν με τη σειρά τους να συμβάλλουν επίσης στη μείωση της γονιμότητας.

Εξίσου σημαντικός είναι και ο καθορισμός κατευθυντήριων γραμμών για την εφαρμογή συγκεκριμένου πρωτοκόλλου χορήγησης βιταμίνης D στα υπογόνιμα ζευγάρια.

Αν δηχθούμε την υπογονιμότητα ως ένα δεδομένο πρόβλημα το οποίο παράγεται κύριος από τον σύγχρονο τρόπο ζωής, τότε θα πρέπει τα νεαρά ζευγάρια να ενημερώνονται επαρκώς για όλες της παραμέτρους που θα μπορούσαν να τα βοηθήσουν να αντιμετωπίσουν μια τέτοια κατάσταση. Η βιταμίνη D αποτελεί «κλειδί» σε ό,τι αφορά την ορμονική ισορροπία στις γυναίκες αλλά και την αύξηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων στους άνδρες. Η διάγνωση της υποβιταμίνωσης γίνεται με ένα απλό αιματολογικό τεστ, και η πρόσληψη της είναι εύκολη, αφού μας χαρίζετε απλόχερα από τη φύση, ακόμα και στις χώρες με χαμηλή ηλιοφάνεια, έλλειψη της D αντιμετωπίζεται εύκολα με σκευάσματα-συμπληρώματα που βρίσκονται στο εμπόριο σε διάφορες εύκολα προσλήψιμες μορφές (υγρές, σταγόνες, χάπια), το μόνο που χρειάζεται είναι σοβαρή και συστηματική ενημέρωση, κάτι που σε αρκετές χώρες του κόσμου συμβαίνει ήδη.

Βιβλιογραφία

1. Pilz S, Dobnig H, Winklhofer-Roob B, Riedmüller G, Fischer JE, Seelhorst U, Wellnitz B, Boehm BO & März W. Low serum levels of 25-hydroxyvitamin D predict fatal cancer in patients referred to coronary angiography. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 17 1228–1233. (doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0002)
2. Holick MF. Vitamin D deficiency, 2007. *New England Journal of Medicine* 357 266–281. (Doi: 10.1056/NEJMra070553)
3. Pilz S, März W, Wellnitz B, Seelhorst U, Fahrleitner-Pammer A, Dimai HP, Boehm BO & Dobnig H, 2008 . Association of vitamin D deficiency with heart failure and sudden cardiac death in a large cross-sectional study of patients referred for coronary angiography. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2008 93 3927–3935. (doi:10.1210/jc.2008-0784)
4. Krista D. Sowell, Carl L. Keen, 1, 2 and Janet Y. Uriu-Adams, 2015. Vitamin D and Reproduction: From Gametes to Childhood Healthcare (Basel); 3(4): 1097–1120.
5. Rathish Nair and Arun Maseeh, 2012. Vitamin D: The “sunshine” vitamin. *J Pharmacol Pharmacother.* 3(2): 118–126
6. Hector F DeLuca, 2014. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites. *Nature Article number: 479 (2014) | doi:10.1038/bonekey.2013.213*
7. A. Spiro and J. L. Buttriss, 2014. Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe. *British Nutrition Foundation.*
8. Seckmeyer G, Schrempf M, Wiczorek A, Riechelmann S, Graw K, Seckmeyer S, Zankl M, 2013. A novel method to calculate solar UV exposure relevant to vitamin D production in humans. *Photochem Photobiol.*
9. Matsuoka LY, Ide L, Wortsman J, MacLaughlin J, Holick MF. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D₃ synthesis. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64:1165– 8.
10. Seckmeyer G, Schrempf M, Wiczorek A, Riechelmann S, Graw K, Seckmeyer S, Zankl M, 2013. A novel method to calculate solar UV exposure relevant to vitamin D production in humans. *Photochem Photobiol.*

11. Pilz S, Dobnig H, Winklhofer-Roob B, Riedmüller G, Fischer JE, Seelhorst U, Wellnitz B, Boehm BO & März W. Low serum levels of 25-hydroxyvitamin D predict fatal cancer in patients referred to coronary angiography. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 17 1228–1233. (doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0002)
12. Liesbet Lieben et al., 2011. Calcemic actions of vitamin D: Effects on the intestine, kidney and bone. *Clinical endocrinology& metabolism*
13. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitaminD in obesity. *AmJ Clin Nutr* 2000; 72:690 –3.
14. Holick, 2004. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*
15. Salvatore P. et al, 2009. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology J*.
16. Vitamin D Metabolism and Treatment in Chronic Kidney Diseases. *MEDSCAPE* .2017
17. Bradley R. Javorsky, Nelly Maybee, Shetal H. Padia, Alan C. Dalkin, 2006. *Vitamin D Deficiency in Gastrointestinal Disease*.
18. Arash Hossein-nezhad, 1 Avrum Spira, 2 and Michael F. Holick¹. Influence of Vitamin D Status and Vitamin D3 Supplementation on Genome Wide Expression of White Blood Cells: A Randomized Double-Blind Clinical Trial, *PLoS One J*, 2013
19. Adams JS, Hewison M (2010) Update in Vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*. 95(2): 471–478
20. Holick MF (2007) Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med* 357: 266–281.
21. Giovannucci E (2009) Expanding roles of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*. 94: 418–420.

22. Montecino M, Stein GS, Stein JL, Lian JB, Wijnen AJ, et al. (2008) Vitamin D control of gene expression: temporal and spatial parameters for organization of the regulatory machinery. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 18(2): 163–72, --Tarroni P, Villa I, Mrak E, Zolezzi F, Mattioli M, et al. (2012) Microarray analysis of 1,25(OH)₂D₃ regulated gene expression in human primary osteoblasts. *J Cell Biochem* 113(2): 640–9-- Ramagopalan SV, Heger A, Berlanga AJ, Maugeri NJ, Lincoln MR, et al. (2010) A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution. *Genome Res* 20(10): 1352–60]
23. Sreeram V. Ramagopalan et al. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: Associations with disease and evolution, 2010.
24. Alice Mary Copping. Origin of vitamin D in cod-liver oil: vitamin D content of zooplankton. *Biochem*, 1934.
25. Holick MF. Phylogenetic and evolutionary aspects of vitamin D from phytoplankton to humans. In: Pang PKT, Schreibman MP, eds. *Vertebrate endocrinology: fundamentals and biomedical implications*. Vol3. Orlando, FL: Academic Press, 1989:7– 431,).
26. Michael F Holick. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition*, 2004.
27. Paul L. Kimmel, Mark E. Rosenberg. *Chronic Renal Disease*, page 650.
28. Halloran BP, DeLuca HF. Effect of vitamin D deficiency on fertility and reproductive capacity in the female rat. *J Nutr*. 1980
29. Kwiecinski GG1, Petrie GI, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ restores fertility of vitamin D-deficient female rats. , 1989
30. Cary L. Dicken, Davelene D. Israel , Joe B. Davis, Yan Sun, Jun Shu, John Hardin, , and Genevieve Neal-Perry. Peripubertal Vitamin D₃ Deficiency Delays Puberty and Disrupts the Estrous Cycle in Adult Female Mice. *Biology of Reproduction* 87(2): Article 51, 1-12. 2012

31. Wehr E1, Pilz S, Boehm BO, März W, Obermayer-Pietsch B. Association of vitamin D status with serum androgen levels in men. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010]
32. Massimo Tartagni, Maria Matteo, Domenico Baldini, Mario V. Tartagni, Hala Alrasheed, Maria A. De Salvia, Giuseppe Loverro, and Monica Montagnani, 2015. Males with low serum levels of vitamin D have lower pregnancy rates when ovulation induction and timed intercourse are used as a treatment for infertile couples: results from a pilot study *Reprod Biol Endocrinol* Massimo Tartagni¹, Maria Matteo², Domenico Baldini³, Mario V. Tartagni³, Hala Alrasheed³, Maria A. De Salvia¹, Giuseppe Loverro¹ and Monica Montagnani^{1*}, 2015. *Reproductive biology and endocrinology*. Males with low serum levels of vitamin D have lower pregnancy rates when ovulation induction and timed intercourse are used as a treatment for infertile couples: results from a pilot study
33. Yoshida M, Kawano N, Yoshida K. Control of sperm motility and fertility: diverse factors and common mechanisms, *Cell Mol Life Sci*, 2008, vol. 65 (pg. 3446-3457)
34. Martin Blomberg Jensen. Vitamin D and male reproduction, *NATURE REVIEWS ENDOCRINOLOGY*, 2014
35. Pilz S1, Frisch S, Koertke H, Kuhn J, Dreier J, Obermayer-Pietsch B, Wehr E, Zittermann A. Effect of vitamin D supplementation on testosterone levels in men. *Horm Metab Res.*, 2011
36. Agic A, Xu H, Altgassen C, Noack F, Wolfler MM, Diedrich K, Friedrich M, Taylor RN & Hornung D. Relative expression of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor, vitamin D 1 α -hydroxylase, vitamin D 24-hydroxylase, and vitamin D 25-hydroxylase in endometriosis and gynecologic cancers. *Reproductive Sciences*, 2007
37. Vigano` P, Lattuada D, Mangioni S, Ermellino L, Vignali M, Caporizzo E, Panina-Bordignon P, Besozzi M & Di Blasio AM. Cycling and early pregnant endometrium as a site of regulated expression of the vitamin D system. *Journal of Molecular Endocrinology* 2006 36 415–424.

38. Parikh G1, Varadinova M, Suwandhi P, Araki T, Rosenwaks Z, Poretsky L, Seto-Young D. Vitamin D regulates steroidogenesis and insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) production in human ovarian cells. *Horm Metab Res.* 2010
39. Sun T1, Zhao Y, Mangelsdorf DJ, Simpson ER. Characterization of a region upstream of exon I.1 of the human CYP19 (aromatase) gene that mediates regulation by retinoids in human choriocarcinoma cells. *Endocrinology.* 1998
40. M. Irani, D. Seifer, H. Minkoff, Z. Merhi. Vitamin D supplementation appears to normalize serum AMH levels in vitamin D deficient premenopausal women. *Fertility and sterility j,* 2013
41. K Garbedian et al. Effect of vitamin D status on clinical pregnancy rates following in vitro fertilization. *CMAJ OPEN J,* 2013
42. Ashwell M, Stone EM, Stolte H, Cashman KD, Macdonald H, Lanham-New S, Hiom S, Webb A, Fraser D. UK Food Standards Agency Workshop Report: an investigation of the relative contributions of diet and sunlight to vitamin D status. *Br J Nutr* 2010; 104:603–611.)
43. Daniel D. Bikle. Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chem Biol.* 2014 Mar 20; 21(3): 319–329.
44. Bikle D. Extrarenal synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D and its health implications. In: Holick MF, editor. *Nutrition and Health: Vitamin D.* Humana Press; New York: 2010. pp. 277–295.
45. Paul Lips. Review Relative Value of 25(OH) D and 1,25(OH) 2D Measurements. American Society for Bone and Mineral Research, 2007).
46. Bikle DD, Rasmussen H. The ionic control of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ production in isolated chick renal tubules. *J. Clin. Invest.* 1975; 55:292–298.)
47. Anderson MG, Nakane M, Ruan X, Kroeger PE, Wu-Wong JR. Expression of VDR and CYP24A1 mRNA in human tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2006; 57:234–240.)

48. Chun RF¹, Lauridsen AL, Suon L, Zella LA, Pike JW, Modlin RL, Martineau AR, Wilkinson RJ, Adams J, Hewison M. Vitamin D-binding protein directs monocyte responses to 25-hydroxy- and 1,25-dihydroxyvitamin D. *Clin Endocrinol Metab.* 2010 Jul; 95(7):3368-76. Doi: 10.1210/jc.2010-0195).
49. Christakos S, Dhawan P, Benn B, Porta A, Hediger M, Oh GT, Jeung EB, Zhong Y, Ajibade D, Dhawan K, Joshi S. Vitamin D: molecular mechanism of action. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1116:340–348.
50. Mizwicki MT, Norman AW. The vitamin D sterol-vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid-response signaling. *Sci Signal* 2009; 2:re4.
51. Weisman Y, Harell A, Edelstein S, David M, Spirer Z, Golander A. 1 alpha, 25-Dihydroxyvitamin D₃ and 24,25-dihydroxyvitamin D₃ in vitro synthesis by human decidua and placenta. *Nature* 1979; 281:317–319.
52. Dokoh S, Donaldson CA, Marion SL, Pike JW, Haussler MR. The ovary: a target organ for 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Endocrinology* 1983;112:200–206.
53. Stumpf WE, Sar M, Chen K, Morin J, DeLuca HF. Sertoli cells in the testis and epithelium of the ductuli efferentes are targets for 3H 1,25 (OH)₂ vitamin D₃. An autoradiographic study. *Cell Tissue Res* 1987b; 247:453–455.
54. Johnson JA, Grande JP, Roche PC, Kumar R. Immunohistochemical detection and distribution of the 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor in rat reproductive tissues. *Histochem Cell Biol* 1996;105:7–15.
55. Wecksler WR, Norman AW. A kinetic and equilibrium binding study of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ with its cytosol receptor from chick intestinal mucosa. *J Biol Chem* 1980a; 255:3571–3574.

56. Christakos S, Raval-Pandya M, Wernyj RP, YangW. Genomic mechanisms involved in the pleiotropic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Biochem J* 1996; 316:361–371.
57. Chatterjee M. Vitamin D and genomic stability. *Mutat Res* 2001; 475:69–87.
58. Erben RG, Soegiarto DW, Weber K, Zeitz U, Lieberherr M, Gniadecki R, Mo¨ller G, Adamski J, Balling R. Deletion of deoxyribonucleic acid binding domain of the vitamin D receptor abrogates genomic and nongenomic functions of vitamin D. *Mol Endocrinol* 2002;16:1524–1537.
59. Christakos S, Dhawan P, Benn B, Porta A, Hediger M, Oh GT, Jeung EB, Zhong Y, Ajibade D, Dhawan K, Joshi S. Vitamin D: molecular mechanism of action. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1116:340–348.
60. Daniel D. Bikle. *Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications*. Chem Biol, 2014.
61. P.Lips. *Vitamin D physiology*. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* Volume 92, Issue 1, September 2006, Pages 4–8.
62. Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, and Seino Y. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology* 2000; 141:1317–1324; review for Christakos et al., 2003
63. Yong Zhang,* Donald Y. M. Leung,* † Brittany N. Richers,* Yusen Liu,‡,x, Linda K. Remigio,* David W. Riches,* and Elena Goleva* *Vitamin D Inhibits Monocyte/Macrophage Proinflammatory* *The Journal of Immunology*, 2012, 188: 2127–2135.] *Cytokine Production by Targeting MAPK Phosphatase-1*

64. Christakos S, Raval-Pandya M, Wernyj RP, Yang W. Genomic mechanisms involved in the pleiotropic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Biochem J* 1996; 316:361–371.
65. 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. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006; 311:1770
66. Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev* 2005; 26:662
67. Mora JR, Iwata M, von Andrian UH. (Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol* 2008; 8:685
68. Adorini L, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008 Aug; 4(8):404-12. Doi: 10.1038/ncprheum0855. Epub 2008 Jul 1.
69. Sylvia Christakos, Puneet Dhawan, Annemieke Verstuyf, Lieve Verlinden, Geert Carmeliet. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiological Reviews* Published 1 January 2016 Vol. 96 no. 1, 365-408 DOI: 10.1152/physrev.00014.2015
70. Grundmann M, Von Versen-Hoynck F. Vitamin D role in women's reproductive health. *Reprod Biol Endocrinol*. 2011; 9:146
71. Anagnosis P, Karras S, Goulis DG. Vitamin D in human reproduction a narrative review. *Int J Clin Pract*. 2013;67(3):225-35.
72. Halloran BP, DeLuca HF. Vitamin D deficiency and reproduction in rats. *Science*. 1979; 204:73–74.

73. Johnson LE, DeLuca HF. Reproductive defects are corrected in vitamin D-deficient female rats fed a high calcium, phosphorus and lactose diet. *J Nutr.* 2002; 132:2270–2273.
74. Sun W, Xie H, Ji J, Zhou X, Goltzman D, Miao D. Defective female reproductive function in 1,25(OH)₂D-deficient mice results from indirect effect mediated by extracellular calcium and/or phosphorus. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010; 299:E928–E935.
75. Dicken CL, Israel D, Davis JB, Sun Y, Shu J, Hardin J, Neal-Perry G. Peripubertal vitamin D3 deficiency delays puberty and disrupts the estrous cycle in adult female mice. *Biol Reprod*, 2012 Epub ahead of print.
76. Stumpf WE, Sar M, Chen K, Morin J, DeLuca HF. Sertoli cells in the testis and epithelium of the ductuli efferentes are targets for 3H 1,25 (OH)₂ vitamin D3. An autoradiographic study. *Cell Tissue Res.* 1987b; 247:453–455
77. Osmundsen BC, Huang HF, Anderson MB, Christakos S, Walters MR. Multiple sites of action of the vitamin D endocrine system: FSH stimulation of testis 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors. *J Steroid Biochem.* 1989; 34:339–343
78. Kwiecinski GG, Petrie GI, DeLuca HF. Vitamin D is necessary for reproductive functions of the male rat. *J Nutr.* 1989a; 119:741–744.
79. Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, Seino Y. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology.* 2000; 141:1317–1324.
80. Eddy EM, Washburn TF, Bunch DO, Goulding EH, Gladen BC, Lubahn DB, Korach KS. Targeted disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility. *Endocrinology.* 1996;137:4796–4805.
81. Mahato D, Goulding EH, Korach KS, Eddy EM. Spermatogenic cells do not require estrogen receptor-alpha for development or function. *Endocrinology.* 2000; 141:1273–1276.

82. Couse JE, Mahato D, Eddy EM, Korach KS. Molecular mechanism of estrogen action in the male: insights from the estrogen receptor null mice. *Reprod Fertil Dev.* 2001; 13:211–219.
83. Breitbart H. Intracellular calcium regulation in sperm capacitation and acrosomal reaction. *Mol Cell Endocrinol.* 2002; 187:139–144.
84. Uhlund AM, Kwiecinski GG, DeLuca HF. Normalization of serum calcium restores fertility in vitamin D-deficient male rats. *J Nutr.* 1992; 122:1338–1344
85. Johnson LE, DeLuca HF. Vitamin D receptor null mutant mice fed high levels of calcium are fertile. *J Nutr.* 2001; 131:1787–1791.
86. Panda DK, Miao D, Tremblay ML, Sirois J, Farookhi R, Hendy GN & Goltzman D. Targeted ablation of the 25-hydroxyvitamin D 1 α -hydroxylase enzyme: evidence for skeletal, reproductive, and immune dysfunction. *PNAS* 2001 98:7498-7503. doi:10.1073/pnas.131029498.
87. Hamden K, Carreau S, Jamoussi K, Ayadi F, Garmazi F, Mezgenni N & Elfeki A. Inhibitory effects of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ and *Ajuga iva* extract on oxidative stress, toxicity and hypo-fertility in diabetic rat testes. *Journal of Physiology and Biochemistry* 2008 64 231–239. Doi: 10.1007/BF03216108.
88. Halloran BP, DeLuca HF. Effect of vitamin D deficiency on fertility and reproductive capacity in the female rat. *J Nutr.* 1980; 110:1573–1580.
89. Kwiecinski GG, Petrie GI, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ restores fertility of vitamin D-deficient female rats. *Am J Physiol.* 1989b;256:E483–E487.
90. Yoshizawa T, Handa Y, Uematsu Y, Takeda S, Sekine K, Yoshihara Y, Kawakami T, Arioka K, Sato H, Uchiyama Y, et al. Mice lacking the Vitamin D receptor exhibit impaired bone formation, uterine hypoplasia and growth retardation after weaning. *Nat Genet.* 1997;16:391–396.

91. Britt KL, Drummond AE, Cox VA, Dyson M, Wreford NG, Jones ME, et al. An age-related ovarian phenotype in mice with targeted disruption of the Cyp 19 (aromatase) gene. *Endocrinology*. 2000;141:2614–2623.
92. Malloy PJ, Peng L, Wang J, Feldman D. Interaction of the vitamin D receptor with a vitamin D response element in the Mullerian-inhibiting substance (MIS) promoter: regulation of MIS expression by calcitriol in prostate cancer cells. *Endocrinology*. 2009;150:1580–1587.
93. Durlinger AL, Visser JA, Themmen AP. Regulation of ovarian function: the role of anti-Mullerian hormone. *Reproduction*. 2002;124:601–609.
94. Visser JA, de Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction*. 2006;131:1–9.
95. Evans KN, Nguyen L, Chan J, Innes BA, Bulmer JN, Kilby MD, et al. Effects of 25-hydroxyvitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on cytokine production by human decidual cells. *Biol Reprod*. 2006;75:816–822.
96. Zarnani AH, Shahbazi M, Salek-Moghaddam A, Zareie M, Tavakoli M, Ghasemi J, Rezaia S, Moravej A, Torkabadi E, Rabbani H, et al. Vitamin D(3) receptor is expressed in the endometrium of cycling mice throughout the estrous cycle. *Fertil Steril*. 2010;93:2738–2743.
97. Lester GE, VanderWiel CJ, Gray TK, Talmage RV. Vitamin D deficiency in rats with normal serum calcium concentrations. *Proc Natl Acad Sci*. 1982;79:4791–4794.
98. Keisala T, Minasyan A, Lou YR, Zou J, Kalueff AV, Pyykkö I, Tuohimaa P. Premature aging in vitamin D receptor mutant mice. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2009;115:91–97.
99. Panda DK, Miao D, Bolivar I, Li J, Huo R, Hendy GN, Goltzman D. Inactivation of the 25-hydroxyvitamin D 1alpha-hydroxylase and vitamin D receptor demonstrates

independent and interdependent effects of calcium and vitamin D on skeletal and mineral homeostasis. *J Biol Chem.* 2004;279:16754–16766.

100. Rowling MJ, Gliniak C, Welsh J, Fleet JC. High dietary vitamin D prevents hypocalcemia and osteomalacia in CYP27B1 knockout mice. *J Nutr.* 2007;137:2608–2615.

101. De Felici M, Dolci S & Siracusa . An increase of intracellular free Ca²⁺ is essential for spontaneous meiotic resumption by mouse oocytes. *Journal of Experimental Zoology* 1991 260 401–405. doi:10.1002/jez.1402600314.

102. Halhali A, Acker GM & Garabédian M. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ induces *in vivo* the decidualization of rat endometrial cells. *Journal of Reproduction and Fertility* 1991 91 59–64. doi:10.1530/jrf.0.0910059.

103. Horii I, Takizawa S & Fujii T. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on the female reproductive system in rats. *Journal of Toxicological Sciences* 1992 17 91–105. doi:10.2131/jts.17.91

104. Curtis Hewitt S, Goulding EH, Eddy EM, Korach KS. Studies using the estrogen receptor alpha knockout uterus demonstrate that implantation but not decidualization-associated signaling is estrogen dependent. *Biol Reprod.* 2002;67:1268–1277.

105. Brommage R, DeLuca HF. A maternal defect is responsible for growth failure in vitamin D-deficient rat pups. *Am J Physiol.* 1984b;246:E216–E220.

106. Brommage R, DeLuca HF. Vitamin D-deficient rats produce reduced quantities of a nutritionally adequate milk. *Am J Physiol.* 1984a;246:E221–E226.

107. Brommage R, Jarnagin K, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ normalizes maternal food consumption and pup growth in rats. *Am J Physiol.* 1984;246:E227–E231.

108. Rojansky N, Brzezinski A & Schenker JG. Seasonality in human reproduction: an update. *Human Reproduction* 1992 7 735–745.
109. Rojansky N, Benshushan A, Meirsdorf S, Lewin A, Laufer N & Safran A. Seasonal variability in fertilization and embryo quality rates in women undergoing IVF. *Fertility and Sterility* 2000 74 476–481. doi:10.1016/S0015-0282(00)00669-5.
110. Ozkan S, Jindal S, Greenseid K, Shu J, Zeitlian G, Hickmon C & Pal L. Replete vitamin D stores predict reproductive success following *in vitro* fertilization. *Fertility and Sterility* 2009 94 1314–1319. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.05.019.
111. Aleyasin A, Hosseini MA, Mahdavi A, Safdarian L, Fallahi P, Mohajeri MR, Abbasi M & Esfahani F. Predictive value of the level of vitamin D in follicular fluid on the outcome of assisted reproductive technology. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology* 2011 159 132–137. doi:10.1016/j.ejogrb.2011.07.006.
112. Anifandis GM, Dafopoulos K, Messini CI, Chalvatzas N, Liakos N, Pournaras S & Messinis IE. Prognostic value of follicular fluid 25-OH vitamin D and glucose levels in the IVF outcome. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2010 891 doi:10.1186/1477-7827-8-91.
113. Hahn S, Haselhorst U, Tan S, Quadbeck B, Schmidt M, Roesler S, Kimmig R, Mann K & Janssen OE. Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with insulin resistance and obesity in women with polycystic ovary syndrome. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes* 2006 114 577–583. doi:10.1055/s-2006-948308.
114. Mahmoudi T, Gourabi H, Ashrafi M, Yazdi RS & Ezabadi Z. Calcitropic hormones, insulin resistance, and the polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility* 2010 93 1208–1214. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.11.031.

115. Panidis D, Balaris C, Farmakiotis D, Rousso D, Kourtis A, Balaris V, Katsikis I, Zournatzi V & Diamanti-Kandarakis E. Serum parathyroid hormone concentrations are increased in women with polycystic ovary syndrome. *Clinical Chemistry* 2005 51 1691–1697. doi:10.1373/clinchem.2005.052761.
116. Wehr E, Pilz S, Schweighofer N, Giuliani A, Kopera D, Pieber TR & Obermayer-Pietsch B. Association of hypovitaminosis D with metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *European Journal of Endocrinology* 2009 161 575–582. doi:10.1530/EJE-09-0432.
117. Yildizhan R, Kurdoglu M, Adali E, Kolusari A, Yildizhan B, Sahin HG & Kamaci . Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in obese and non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Archives of Gynecology and Obstetrics* 2009 280 559–563. doi:10.1007/s00404-009-0958-7.
118. Ngo DT, Chan WP, Rajendran S, Heresztyn T, Amarasekera A, Sverdlov AL, O'Loughlin PD, Morris HA, Chirkov YY, Norman RJ & Horowitz JD. Determinants of insulin responsiveness in young women: impact of polycystic ovarian syndrome, nitric oxide, and vitamin D. *Nitric Oxide* 2011 25 326–330. doi:10.1016/j.niox.2011.06.005.
119. Li HW, Brereton RE, Anderson RA, Wallace AM & Ho CK. Vitamin D deficiency is common and associated with metabolic risk factors in patients with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 2011 60 1475–1481. doi:10.1016/j.metabol.2011.03.002.
120. Thys-Jacobs S, Donovan D, Papadopoulos A, Sarrel P & Bilezikian JP. Vitamin D and calcium dysregulation in the polycystic ovarian syndrome. *Steroids* 1999 64 430–435. doi:10.1016/S0039-128X(99)00012-4.
121. Wehr E, Pieber TR & Obermayer-Pietsch . Effect of vitamin D3 treatment on glucose metabolism and menstrual frequency in PCOS women – a pilot study. *Journal of Endocrinological Investigation* 2011 34 757–763. doi:10.3275/7748.

122.Selimoglu H, Duran C, Kiyici S, Ersoy C, Guclu M, Ozkaya G, Tuncel E, Erturk E & Imamoglu S. The effect of vitamin D replacement therapy on insulin resistance and androgen levels in women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Endocrinological Investigation* 2010 33 234–238.

123. Kotsa K, Yavropoulou MP, Anastasiou O & Yovos JG. Role of vitamin D treatment in glucose metabolism in polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility* 2009 92 1053–1058. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.07.1757.

124.Wehr E, Trummer O, Giuliani A, Gruber HJ, Pieber TR & Obermayer-Pietsch B. Vitamin D-associated polymorphisms are related to insulin resistance and vitamin D deficiency in polycystic ovary syndrome. *European Journal of Endocrinology* 2011 164 741–749. doi:10.1530/EJE-11-0134.

125.Ranjad F, Mahban A, Shemirani AI, Mahmoudi T, Vahedi M, Nikzamir A & Zali MR. Influence of gene variants related to calcium homeostasis on biochemical parameters of women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2011 28 225–232. doi:10.1007/s10815-010-9506-4.

126.Agic A, Xu H, Altgassen C, Noack F, Wolfler MM, Diedrich K, Friedrich M, Taylor RN & Hornung D. Relative expression of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor, vitamin D 1 α -hydroxylase, vitamin D 24-hydroxylase, and vitamin D 25-hydroxylase in endometriosis and gynecologic cancers. *Reproductive Sciences* 2007 14 486–497. doi:10.1177/1933719107304565.

127.Somigliana E, Panina-Bordignon P, Murone S, Di Lucia P, Vercellini P & Vigano P. Vitamin D reserve is higher in women with endometriosis. *Human Reproduction* 2007 22 2273–2278. doi:10.1093/humrep/dem142.

128.Borkowski J, Gmyrek GB, Madej JP, Nowacki W, Goluda M, Gabryś M, Stefania k T & Chelmońska-Soyta A. Serum and peritoneal evaluation of vitamin D-binding protein in women with endometriosis. *Postepy Higieny i Medycyny Ddoswiadczalnej* 2008 62 103–111.

129. A Paffoni et al. *J Clin Endocrinol Metab* 99 (11), E2372-E2376. 2014 (Vitamin D Deficiency and Infertility: Insights From in Vitro Fertilization Cycles).
130. Kimberley Garbedian, MD,¹ Miranda Boggild, MD,² Joel Moody, MD,³ and Kimberly E. Liu, MDCMAJ Open Effect of vitamin D status on clinical pregnancy rates following in vitro fertilization. *CMAJ Open*. 2013.)
131. Asunción M, Calvo RM, San Millán JL, Sancho J, Avila S & Escobar-Morreale HF. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2000 85 2434–2438. doi:10.1210/jc.85.7.2434.
132. Diamanti-Kandarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, Filandra FA, Tsianateli TC, Spina GG, Zapanti ED & Bartzis MI. A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999 84 4006–4011. doi:10.1210/jc.84.11.4006.
133. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocrine Reviews* 1997 18 774–800. doi:10.1210/er.18.6.774.
134. Wehr E, Möller R, Horejsi R, Giuliani A, Kopera D, Schweighofer N, Groselj-Strele A, Pieber TR & Obermayer-Pietsch B. Subcutaneous adipose tissue topography and metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *Wiener Klinische Wochenschrift* 2009 121 262–269. doi:10.1007/s00508-009-1162-2.
135. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *New England Journal of Medicine* 2005 352 1223–1236. doi:10.1056/NEJMra041536.

136. Mitri J, Dawson-Hughes B, Hu FB, Pittas AG. Effects of vitamin D and calcium supplementation on pancreatic cell function, insulin sensitivity, and glycemia in adults at high risk of diabetes: the Calcium and Vitamin D for Diabetes Mellitus (CaDDM) randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2011; 94(2): 486–94.
137. George PS, Pearson ER, Witham MD. Effect of vitamin D supplementation on glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis. *Diabet Med*. 2012; 29(8): e142–150.
138. Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92(6): 2017–29.
139. Milner RD, Hales CN. The role of calcium and magnesium in insulin secretion from rabbit pancreas studied in vitro. *Diabetologia*. 1967; 3(1): 47–9.
140. Lerchbaum E, Obermayer-Pietsch B. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Vitamin D and fertility: a systematic review. *European Journal of Endocrinology*. 2012; 166(5): 765–78.
141. Maestro B, Molero S, Bajo S, Davila N, Calle C. Transcriptional activation of the human insulin receptor gene by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Cell Biochem Funct*. 2002; 20(3): 227–32.
142. Shoelson SE, Herrero L, Naaz A. Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology*. 2007; 132(6): 2169–80.
143. Pal L, Berry A, Coraluzzi L, Kustan E, Danton C, Shaw J, et al. Therapeutic implications of vitamin D and calcium in overweight women with polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology*. 2012; 28(12): 965–8.

144. Kamycheva E, Joakimsen RM, Jorde R. Intakes of calcium and vitamin d predict body mass index in the population of Northern Norway. *J Nutr.* 2003; 133(1): 102–6.
145. Merino PM, Codner E, Cassorla F. A rational approach to the diagnosis of polycystic ovarian syndrome during adolescence. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia.* 2011; 55(8): 590–8.
146. Shahrokhi SZ, Ghaffari F, Kazerouni F. Role of vitamin D in female reproduction. *Clinica Chimica Acta.* 2016; 455: 33–8.
147. Irani M, Minkoff H, Seifer DB, Merhi Z. Vitamin D increases serum levels of the soluble receptor for advanced glycation end products in women with PCOS. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99(5): E886–890.
148. Mahmoudi T. Genetic variation in the vitamin D receptor and polycystic ovary syndrome risk. *Fertility and Sterility* 2009 92 1381–1383. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.05.002.
149. Wang TJ, Zhang F, Richards JB, Kestenbaum B, van Meurs JB, Berry D, Kiel DP, Streeten EA, Ohlsson C, Koller DL, Peltonen L, Cooper JD, O'Reilly PF, Houston DK, Glazer NL, Vandenput L, Peacock M, Shi J, Rivadeneira F, McCarthy MI, Anneli P, de Boer IH, Mangino M, Kato B, Smyth DJ, Booth SL, Jacques PF, Burke GL, Goodarzi M, Cheung CL, Wolf M, Rice K, Goltzman D, Hidiroglou N, Ladouceur M, Wareham NJ, Hocking LJ, Hart D, Arden NK, Cooper C, Malik S, Fraser WD, Hartikainen AL, Zhai G, Macdonald HM, Forouhi NG, Loos RJ, Reid DM, Hakim A, Dennison E, Liu Y, Power C, Stevens HE, Jaana L, Vasani RS, Soranzo N, Bojunga J, Psaty BM, Lorentzon M, Foroufard T, Harris TB, Hofman A, Jansson JO, Cauley JA, Uitterlinden AG, Gibson Q, Jarvelin MR, Karasik D, Siscovick DS, Econs MJ, Kritchevsky SB, Florez JC, Todd JA, Dupuis J, Hyppönen E & Spector TD. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet* 2010 376 180–188. doi:10.1016/S0140-6736(10)60588-0.

150. Rashidi B, Haghollahi F, Shariat M & Zayerii F. The effects of calcium-vitamin D and metformin on polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology* 2009 48 142–147. (doi:10.1016/S1028-4559(09)60275-8).
151. Blomberg Jensen M, Bjerrum PJ, Jessen TE, Nielsen JE, Joensen UN, Olesen IA, Petersen JH, Juul A, Dissing S & Jørgensen N. Vitamin D is positively associated with sperm motility and increases intracellular calcium in human spermatozoa. *Human Reproduction* 2011 26 1307–1317. (doi:10.1093/humrep/der059).
152. Ramlau-Hansen CH, Moeller UK, Bonde JP, Olsen J & Thulstrup AM. Are serum levels of vitamin D associated with semen quality? Results from a cross-sectional study in young healthy men. *Fertility and Sterility* 2011 95 1000–1004. (doi:10.1016/j.fertnstert.2010.11.002)
153. Foresta C, Strapazzon G, De Toni L, Perilli L, Di Mambro A, Muciaccia B, Sartori L & Selice R. Bone mineral density and testicular failure: evidence for a role of vitamin D 25-hydroxylase in human testis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011 96 E646–E652. (doi:10.1210/jc.2010-1628)
154. Tiwari A. Elocalcitol, a vitamin D3 analog for the potential treatment of benign prostatic hyperplasia, overactive bladder and male infertility. *IDrugs: the Investigational Drugs Journal* 2009 12 2040–3410.
155. Corbett ST, Hill O, Nangia AK. Vitamin D receptor found in human sperm. *Urology* 2006;68:1345–1349.
156. Blomberg Jensen M, Jørgensen A, Nielsen JE, Bjerrum PJ, Skalkam M, Petersen JH, Egeberg DL, Bangsbøll S, Andersen AN, Skakkebaek NE et al. Expression of the vitamin D metabolizing enzyme CYP24A1 at the annulus of human spermatozoa may serve as a novel marker of semen quality. *Int J Androl* 2012 [Epub ahead of print].

157. Foresta C, Selice R, Di Mambro A, Strapazzon G. Testiculopathy and vitamin D insufficiency. *Lancet* 2010;376:1301