

bhattoa.harjit.pal_23_22

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

**A CSONTANYAGCSERE ÉS A D-VITAMINHÁZTARTÁS BIOKÉMIAI
MARKEREI.**

ANALITIKAI KIHÍVÁSOK, KLINIKAI ALKALMAZÁSOK



DR. BHATTOA HARJIT PAL

**DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
LABORATÓRIUMI MEDICINA INTÉZET**

Debrecen, 2022

ELŐSZÓ

Indiában születtem egy 300 lakossal büszkélkedő észak-indiai kis faluban, és 1990 óta élek Debrecenben. Annak idején nem gondoltam, hogy Magyarországra kerülök, illetve azt egyáltalán nem, hogy ez lesz a második hazám. A sors ajándéka, hogy az életem több mint kétharmadát Magyarországon éltem le, családom lett, és az itt szerzett tapasztalatokkal, ismeretségekkel, barátságokkal, tudással gazdagodhattam. A Debreceni Egyetem volt mindig is az állandó pont az életemben, itt tanultam, itt dolgozom, itt ismerkedtem meg életem párjával, és van szerencsém a Debreceni Egyetemet, Magyarországot képviselni különböző nemzetközi szakmai bizottságokban. Számomra Magyarország bizonyult a lehetőségek földjének, a Debreceni Egyetem által biztosított környezet tette lehetővé számomra azt, hogy elérjem szakmai életem eddigi legjelentősebb mérföldkövét jelen disszertációm elkészítésével.

A disszertáció megírása komoly nosztalgiával kísért izgalmas folyamat volt számomra, felidézése annak, hogy a különböző élethelyzetekben éppen milyen tudományos kutatást folytattam vagy melyik kéziratot készítettem. Tudományos érdeklődésem középpontja a csontanyagcsere és a D-vitamin háztartás lett, számos együttműködésnek köszönhetően szerencsém volt a téma klinikai, rutindiagnosztikai és analitikai kérdéseivel több megközelítésben foglalkozni. Jelen disszertációban összegezem a tevékenységemet.

TARTALOMJEGYZÉK

ELŐSZÓ	1
TARTALOMJEGYZÉK	2
RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	5
1. BEVEZETÉS.....	8
1.1. A csontforgalom markerei (Bone Turnover Markers – BTM)	10
1.1.1. A csontlebontás markerei	11
1.1.2. A csontképzés biomarkerei.....	12
1.1.3. Pre-analitikai és analitikai megfontolások a rutin laboratóriumban végzett csontforgalmi- marker-meghatározásokról	15
1.1.5. A csontforgalom biomarkereinek klinikai alkalmazhatósága	18
1.2. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-marker (BTM) tesztsomagok leírása és teljesítőképesége	23
1.2.1. PINP tesztek	23
1.2.2. β -CTx tesztek	25
1.3. OPG-RANK-RANKL-Cisztatin.....	27
1.4. Szklerosztin	28
1.5. D-vitamin.....	29
1.5.1. A D-vitamin forrásai és képződése.....	30
1.5.2. A D-vitamin metabolizmusa.....	34
1.5.3. Lebomlás	38
1.5.4. A D-vitamin metabolitok mérése	40
1.5.5. A 25OHD vérszint mérése.....	52
1.5.6. D-vitamin és a mikrobiális fertőzések csökkentésének mechanizmusai	58
2. CÉLKITŰZÉSEK.....	61
3. VIZSGÁLATI SZEMÉLYEK ÉS MÓDSZEREK	62
3.1. Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány	62
3.1.1. Posztmenopauzális nők tanulmánya.....	62
3.1.2 A HunMen tanulmány	64
3.2. A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány	67
3.2.1. Szklerosztin tanulmány	67
3.2.2. Az OPG és RANKL tanulmány	68
3.3. A terhességi és laktációs tanulmány	69
3.4. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata	71
3.5. A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány.....	72

3.6. Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör-betegek (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya	75
3.6.1. A férfi T2DM tanulmány	75
3.6.2. A férfi PsA tanulmány	76
3.6.3. A PsA-pQCT tanulmány	78
3.7. A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya HunMen kohorsz mintain.....	80
3.8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya	82
3.9. Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról	86
3.10. A COVID-19 járvány és D-vitamin tanulmány	88
4. EREDMÉNYEK.....	89
4.1. Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány	89
4.1.1 Posztmenopauzális nők tanulmánya	89
4.1.2. A HunMen tanulmány	92
4.2. A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány	97
4.2.1. A szklerosztin tanulmány	97
4.2.2. Az OPG és RANKL tanulmány	102
4.3. A terhességi és laktációs tanulmány	106
4.4. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata	109
4.5. A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány	110
4.6. Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör-betegek (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya	120
4.6.1. A férfi T2DM tanulmány	120
4.6.2. A férfi PsA tanulmány	124
4.6.3. A PsA-pQCT tanulmány.....	126
4.7. A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya HunMen kohorsz mintáin.....	133
4.8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya	135
4.9. Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról	140
4.10. A COVID-19 járvány és D-vitamin tanulmány	148
5. MEGBESZÉLÉS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK.....	154
5.1. Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány	154
5.1.1. Posztmenopauzális nők tanulmány	154
5.1.2. A HunMen tanulmány	156
5.2. A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány	161
5.2.1. A szklerosztin tanulmány	161
5.2.2. Az OPG és RANKL tanulmány	163
5.3. A terhességi és laktációs tanulmány	169

5.4. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata	171
5.4.1. PINP	172
5.4.2. β -CTX	175
5.4.3. További tervek	177
5.5. A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány	177
5.6. Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör-betegek (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya	180
5.6.1. A férfi T2DM tanulmány	180
5.6.2. A férfi PsA tanulmány	182
5.6.3. A PsA-pQCT tanulmány	185
5.7. A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya HunMen kohorsz mintáin.....	189
5.8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya	191
5.9. Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról	196
5.10. A COVID-19 járvány és D-vitamin tanulmány	203
6. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK	209
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	214
8. IRODALMI HIVATKOZÁSOK.....	216
9. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK	245
10. AZ ÉRTEKEZÉSBEN NEM TÁRGYALT NEMZETKÖZI ÉS HAZAI KÖZLEMÉNYEK	247
11. KÖNYVFEJEZET, SZAKTANULMÁNY	253
12. CSOPORTOS (MULTICENTRIKUS) KÖZLEMÉNYBEN KOLLABORÁCIÓS KÖZREMŰKÖDŐ	255
13. TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK	256

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

1,24,25(OH)3D3	1,24,25-trihidroxi D-vitamin
1 α ,25(OH)2D	totál 1 α ,25-dihidroxi D-vitamin
1 α ,25(OH)2D2	1 α ,25-dihidroxi ergokalciferol
1 α ,25(OH)2D3	1 α ,25-dihidroxi D3-vitamin, kalcitriol
24,25(OH)2D2	24,25-dihidroxi ergokalciferol
24,25(OH)2D3	24,25-dihidroxi kalciferol
25OHD	Totál 25-hidroxi vitamin D
25OHD2	25-hidroxi vitamin D2, 25-hidroxi ergokalciferol
25OHD3	25-hidroxi vitamin D3, 25-hidroxi kalciferol
7-DHC	7-dehidrokoleszterin
AACC	American Association of Clinical Chemistry
aBMD	területi csontsűrűség
ACR	American College of Rheumatology
ALR	acute respiratory tract infection
ALT	alanin aminotranszferáz
ALTM	all laboratory trimmed mean
ANOVA	egy-utas variancia analízis
APC	aktivált protein C
APS	analitikai teljesítmény-specifikáció
ARDS	acute respiratory distress syndrome
ARTI	akut légúti fertőzés
β -CTx	I. típusú kollagén C-terminális telopeptidje
bDMARD	biológiai betegségmódosító antireumatikus gyógyszer
BMD	csont ásványianyag sűrűség
BMI	testtömeg-index
BSAP	bone specific alkaline phosphatase
BTM	bone turnover markers
cART	combination antiretroviral therapy
C-BM	Committee for Bone Metabolism
CAP	College of American Pathologists
CaP	közösségben szerzett pneumonia
CASPAR	Pszoriaticus Arthritis Klasszifikációs Kritériumai
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
cDMARD	hagyományos betegségmódosító antireumatikus gyógyszer
CFR	case fatality rate
CHB	krónikus hepatitis B
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CK	kreatin kináz
CKD	krónikus vesebetegség
CKD-EPI	krónikus vesebetegség epidemiológiai kollaboráció által használt egyenlet
CLD	krónikus májbetegség
CLIA	kemilumineszcens immunoassay
CRP	C-reaktív protein
CV	coefficient of variation
CV _A	between-replicates coefficient of variation
CV _G	between-subject coefficient of variation
CV _I	within-subject coefficient of variation
CVD	cardiovascular disease
D-pyr	deoxipiridinolin
D2 vitamin	ergokalciferol

D3 vitamin	kolekalciferol
DAS28	disease activity score 28
DBSs	dry blood spots
DEN-2	dengue vírus-2
DEQAS	Vitamin D External Quality Assessment Scheme
DHT	dihidrotahiszterol
DR	distal radius
DXA	kettős energiájú röntgensugár-elnyelődés
E2	Ösztradiol
ECLIA	elektrokemilumineszcens immunoassay
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
eGFR	becsült glomeruláris filtrációs ráta
ELISA	enzim-kötésű immunoszorbens assay
ENSZ	Egyesült Nemzetek Szervezete
EQC	külső minőségellenőrzés
ES	Endocrine Society
EuBIVAS	Klinikai Kémia és Laboratóriumi Medicina Európai Egyesületének Európai Biológiai Variancia Tanulmányi munkacsoport
FAO	Élelmiszer- és Mezőgazdasági Szervezet
FDA	Food and Drug Administration
FEI	szabad ösztradiol-index
FGF23	fibroblaszt növekedési faktor 23
FN	femurnyak
FRAX	fracture risk assessment tool
FTI	szabad tesztoszteron-index
GWAS	genomszintű kapcsolódások elemzése
HIV-1	humán immunodeficiencia vírus 1
HPLC	nagyteljesítményű folyadék-kromatográfia
ID-LC-MS/MS	isotope dilution liquid chromatography tandem massspectometry
IDS	Immunodiagnosics Systems
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
IKEB	intézményi kutatásaitikai bizottság
IOF	International Osteoporosis Foundation
IoM	Institute of Medicine
ITT	intention-to-treat
JCTLM	Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine
KSHV	Kaposi szarkómával társult herpeszvírus
LC-MS/MS	folyadék-kromatográfia – tandem tömegspektrometria
LRP5	lipoprotein-receptorszerű protein 5
LRP6	lipoprotein-receptorszerű protein 6
LS	L1-L4 ágyéki gerincszakasz
LSC	least significant change
MDDCs	monocita-származású dendritikus sejtek
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
MERS	Middle-East respiratory syndrome
MHT	menopauzális hormonterápia
MU	measurement uncertainty
NIH	National Institutes of Health
NIST	National Institute of Standards and Technology
NTx	I. típusú kollagén N-terminális telopeptidje
OC	oszteokalcin
OPG	oszteoprotegerin
PASI	psoriasis area and severity index
PICP	I. típusú kollagén C-terminális propeptidje

PINP	I. típusú kollagén N- és C-terminális propeptidje
pQCT	perifériás kvantitatív komputertomográfia
PsA	arthritis psoriatica
PT/EQA	proficiency testing / external quality assessment
PTH	paratireoidea hormon
QA	quality assurance
QUS	csont-ultrahang
RANK	nukleáris faktor- α B aktivátor receptor
RANKL	nukleáris faktor- α B ligand receptor aktivátora
RCT	kontrollált randomizált tanulmány
RIA	radioimmunoassay
RMP	reference measurement procedure
RSV	respiratórikus szinciciális vírus
SD	standard deviation
SE	standard error
SHBG	szexhormon-kötő globulin
SHPT	másodlagos hiperparatireózis
SI	international system of units
SIR	szisztémás gyulladásos válasz
SLE	szisztémás lupus erythematosus
SLEDAI	SLE betegségaktivitási index
SLICC	Systemic Lupus International Collaborating Clinics
SNP	egyetlen nukleotidot érintő polimorfizmus
Sost	szklerosztint kódoló gén
SPF	sun protection factor
SPSS	statistical package for social sciences
SRM	standard reference materials
T	tesztoszteron
T2DM	2-es típus diabétesz mellitusz
TH	teljes csípő
TRAP	tartarát-rezisztens savi foszfátáz
ULN	upper limit of normal
UV	ultraibolya
vBMD	volumetriás BMD
VDBP	D-vitamin kötőfehérje
VDDR	D-vitamin-függő rachitisz
VDDR-1A	D-vitamin-függő rachitisz 1A típus
VDDR-1B	D-vitamin-függő rachitisz 1B típus
VDDR3	D-vitamin-függő rachitisz 3. típus
VDR	D-vitamin receptor
VDSCP	Vitamin D Standardization Certification Program
VDSP	Vitamin D Standardization Program
WG-BV	Working Group Biological Variation
WG-SBMA	Working Group on Standardisation of Bone Marker Assays
WHO	World Health Organization
WMA	Orvos Világszövetség

1. BEVEZETÉS

Az értekezés témájának bemutatása, labordiagnosztikai és klinikai vizsgálataim irodalmi előzményei

A csontszövet sejtjei – nevezetesen az osteoclastok és az osteoblastok - közötti kölcsönhatást nevezik általában csontforgalomnak (“bone turnover”). Ismeretes, hogy a macrophag sejtvonalból származó osteoclastok végzik a csontlebontást és a mesenchymális sejtvonalból származó osteoblastok felelősek a csontképzés (felépítés) folyamatáért, mely folyamatok ideális esetben összehangoltan zajlanak a felnőttkori csontszövetben az adott mechanikai és humorális környezeti hatásoknak megfelelően (1,2). Ha végletesen megbomlik e két sejtcsoport összehangolt működésével létrejött csontforgalmi egyensúly, kialakulnak a csontanyagcsere-betegségek, köztük a leggyakoribb oszteoporosis (3). Ezek diagnózisa, nyomonkövetése, súlyosságuknak és kezelésük hatékonyságának megítélése - különösen a kezdeti időben - komoly kihívást jelent a klinikus számára a kórállapot csendes, kevés tünettől járó természete miatt, és mivel a csontok morfológiai változásait mutató hagyományos radiológiai módszerek nem alkalmasak a csontanyagcsere változásainak korai kimutatására. Mivel a csontanyagcsere betegségei, köztük a leggyakoribb oszteoporosis az idősödő korosztályokban egyre gyakoribb és előrehaladott állapotukban a következményes morbiditás és mortalitás szintén meredeken növekszik, égetően szükségessé vált olyan diagnosztikus módszerek kifejlesztése és alkalmazása, amelyek a csontok aktuális állapotát már a korai károsodás állapotában tükrözik. Értekezésemben bemutatom az osteoblast- és osteoclast sejtcsoportok működését - nevezetesen a csontépítést és csontlebontást - tükröző biomarkereket. Az utóbbi két évtizedben megjelent nemzetközi és hazai irodalmi közlemények szerint van lehetőség a csontvesztés korai

felismerésére. Ideálisan egy célzott szűrési programban a csontforgalom biokémiai markereinek változásai együtt a csont-radiológiai leletekkel és a klinikai törési kockázatbecslő programmal lehetővé teszik az adott népességből az osteoporotikus (nem traumás) törésekre leginkább esélyes személyek kiválasztását és preventív kezelését. Bár a kettős energiájú röntgensugár-elnyelődésen (DXA) alapuló, csontdenzitometriával mért csontsűrűség (BMD) számít még jelenleg is az oszteoporosis-diagnosztika alapjának, tudjuk, hogy a csontdenzitás által tükrözött csonttömeg-csökkenés nem egyedül felelős a törési kockázat növekedéséért (4,5). Epidemiológiai vizsgálatok adatbázisai alapján a University of Sheffield (Egyesült Királyság) csontanyagcsere-munkacsoportja John A. Kanis vezetésével kifejlesztett egy számítógépes törési kockázatbecslő algoritmust 2008-ban (Fracture risk assessment tool - FRAX) (6), amelybe a femur BMD mellett 11 validált klinikai kockázati tényezőt vettek be. A FRAX algoritmus alkalmas egy egyénben a csípőtáji törés és az ún. jelentős osteoporotikus törések (klinikai csigolya-, alkar-, csípő-, felkartörés) 10 éves kockázatának meghatározására (7). Később javasolták a biokémiai csontanyagcsere-markerek vérszintjeinek integrálását a FRAX algoritmusba (8). Ez indokolt is lenne, miután igazolták, hogy a csonttömeg radiológiai módszerekkel mérhető (szignifikáns) változása a sejtszintű változások után csaknem egy évvel következik be (9). A markerek integrálása azonban több más módosítási javaslattal együtt még nem történt meg attól tartva, hogy a számos módosítás megszüntetné a FRAX módszer egyszerű alkalmazhatóságát. Mindazonáltal a turnover markerek változásának figyelembe vétele az oszteoporosis súlyosságának megítélésében, a kezelés javallatának felállításában és monitorizálásában az egyes betegek esetében a klinikus lehetősége és joga.

A diagnosztika praktikus alapját képező mineralizáción kívül – ami egy fizikokémiai folyamatnak tekinthető – a csontforgalom korai eseményeit és biológiai dinamikáját a sejtműködésben kell keresnünk (10). A csontképződés és lebomlás dinamikus biológiai folyamatait felnőtt egyénben legközvetlenebbül kettős tetraciklin jelzés előtt és után a

csípőcsontból vett két minta hisztomorfológiai vizsgálatával követhetjük nyomon (11,12). Bár a hisztomorfometria egyértelműen alapmódszer -“gold standard”- a csontváltozások dinamikájának vizsgálatában, jelentős korlátai is vannak: mintavételi hibák, a technika invazív jellege, költsége, és elérhetetlen volta a klinikai alapellátás számára. A képalkotó módszerek és a hisztomorfometria hátrányainak és korlátozott elérhetőségének kiváltására kézenfekvőnek látszik a csontforgalom biomarker-tesztjeinek szélesebb körű alkalmazása. További előnye a vér alapú biomarker szintek mérésének, hogy a csontanyagcserét befolyásoló bizonyos daganatok kiterjedését és reumatológiai betegségek aktivitását is tükrözik. Jelen munkámban foglalkozom a vér alapú, orvosi diagnosztikus laboratóriumban mérhető biokémiai csontforgalom-markerek meghatározásának labortechnikai kérdéseivel és korlátaival, pre-analitikai, analitikai és post-analitikai jellemzőivel, mivel ezek ismerete lehetővé teszi a mérési eredmények szakszerűbb értékelését. Továbbá ezen módszerek a klinikai gyakorlat számára hasznosnak bizonyultak az oszteoporosis diagnosztikán túl a renális osteodystrophia, bizonyos onkológiai és reumatológiai betegségek, valamint a Paget-kór vizsgálatában és monitorozásában is.

1.1. A csontforgalom markerei (Bone Turnover Markers – BTM)

A csont biomarkerek vizsgálata jelenleg döntően nagy kapacitású automatizált rendszerekkel történik. Ilyen markerek a kollagén bomlási termékek, melyek az osteoclast tevékenységet tükrözik, valamint az osteoblastok által termelt kollagén-, és nem-kollagén fehérjék (1. táblázat). Ezeknek a jelzőfehérjéknek koncentrációját jól lehet mérni a vérszérumban, ami a gyakorlat számára előnyös.

1. táblázat. A csontforgalom biokémiai markerei.

Csontképződés markerei	Csontlebontás markerei
Oszteokalcin (OC)	I. típusú kollagén C-terminális telopeptidje (β -CTx)
Csontspecifikus alkalikus foszfatáz (BSAP)	I. típusú kollagén N-terminális telopeptidje (NTx)
I. típusú kollagén C-terminális propeptidje (PICP)	Kollagén piridinolin keresztkötései
I. típusú kollagén N- és C-terminális propeptidje (PINP)	Kollagén deoxypyridinolin keresztkötései
	Tartarát-rezisztens savi foszfatáz (TRAP)

Vizeletmintából történő módszereket is kifejlesztettek néhány marker meghatározására, azonban pre-analitikai szempontok - pl. a vizeletgyűjtés nehézségei, szemben a vérvétel egyszerű voltával - mára a szérumminták általános használatát eredményezték (13). A leggyakrabban alkalmazott csontbontási és -építési markereket alább ismertetem.

1.1.1. A csontlebontás markerei

1.1.1.1. Az I. típusú kollagén C- és N-terminális telopeptidjei

A csontállomány leépülése (lebomlása, felszívódása) során az osteoclastokból származó tartarát-rezisztens savi foszfatáz (TRAP), valamint cathepsin-K szabadul fel – ez utóbbinak fontos tevékenysége a matrix kollagén lebontása. Az érett I. típusú kollagén hármas helix α 1-láncából szabadulnak fel a carboxy- végződésű telopeptid fragmentumok (β -CTx és NTx). A csontbontás mértékét jelző assay antitestje az α 1 C telopeptid-láncban felismeri a “Glu-Lys-Ala-His-Asp- β -Gly-Arg” szekvenciát, amelyet röviden crosslaps-nak neveznek, valamint a β -aszpartátsavat, együttes néven β -CTx-et (14). A β -CTx peptid-társa, az N-terminális polypeptid mérése csak vizeletmintából valósult meg, ezért a β -CTx szérummintából is elvégezhető

mérése automatizált mérőrendszerekben érhetően sokkal népszerűbb lett. Az általa végzett vizsgálatok gyorsan növekvő száma alapján is a csontbontás biomarkerei között egyértelműen vezető helyre került (15). A β -CTx eltávolítása a szervezetből, hasonlóan az NTx-hez, a vese által történik, emiatt klinikai alkalmazhatósága krónikus veseelégtelenség (CKD) esetében jelentősen korlátozott.

A csontforgalom-biomarkerek kifejlesztésének korai időszakában a jelöltek között szerepelt még a tartarát-rezisztens savi foszfatáz, a kollagén piridinolin- és deoxipiridinolin keresztkötései, a hidroxiprolin és csont szialoprotein mérése az osteoclast aktivitás mérésére (16). Mindezeket megelőzte azonban az I. kollagén C-terminális telopeptidjének (β -CTx), mint analitikumnak mérése, amely a felsoroltaknál sokkal érzékenyebb és fajlagosabb assay-rendszert eredményezett, ráadásul szérum-mintából.

1.1.2. A csontképzés biomarkerei

1.1.2.1. Az I. típusú kollagén N- és C-terminális propeptidjei

Az osteoblastok a csontépítés folyamatában I. típusú kollagént választanak ki prokollagén formájában, ami hármas helix formájában képződik, két α és egy β -láncból áll, N- és C-terminális propeptideket (PINP és PICP) tartalmaz. Ezeket a propeptideket a sejtközeli extracelluláris térbe ürítik és egy részük gyorsan a véráramba kerül (17). Az N- és C-terminális propeptidek ezáltal a csontképzés vérben keringő markereinek tekinthetők (18). A kiválasztott propeptidek kezdetben hármas (trimér) helix szerkezetűek, de a keringésbe jutva rövidesen monomér formára bomlanak szét. A trimér PINP a májon át ürül, míg a monomért a vese választja ki. A PINP meghatározási módszerek vagy a mono- és trimér formát együtt mérik

(totál PINP), vagy csak a trimér formát (intakt PINP) (19). A teljesen renális kiválasztódású monomér PINP krónikus vesebetegségben felgyülemlik a vérben (20,21).

1.1.2.2. Oszteokalcin

Az oszteokalcin (OC) a leggyakoribb nem-kollagén fehérje csontszövetben. Szerkezete 49 aminosavból épül fel és az érett csontképző sejtek – osteoblastok – képzik és választják ki. Felépítése alapján eredetileg csont gamma-karboxilglutaminsav-tartalmú fehérjének nevezték, mivel 3 glutaminsavat tartalmaz a 13, 17 és 20-as pozícióban és gamma-karboxiláció megy át K-vitamin-függő folyamatban (22). Megjegyzést érdemel, hogy a K-vitamin antagonistá (pl. warfarin) kezelésben részesülő páciensek oszteokalcin vérszintjei csökkentek. Az oszteokalcin újabban más élettani hatásai miatt került reflektorfénybe. Kísérletes vizsgálatok eredményei alapján szerepe lehet a férfi fertilitás szabályozásában, a szénhidrát-anyagcserében, valamint a központi idegrendszer és az izomszövet élettani működésében (23-25). Az oszteokalcint eredetileg a csontképzés mércéjének tekintették, szoros kapcsolata miatt csontképződés hisztomorfometriai paramétereivel. Azonban ezt a kizárólagos szerepét felül kellett vizsgálni, mivel kiderült, hogy termelődése az osteoclastos csontbontás során is fokozódik, így helyesebben a csontforgalom (építés és lebontás - turnover) mennyiségi jelzőjének tekinthető (19,26). Tekintettel arra, hogy az OC C-terminális 6-aminosav szekvenciája labilis, a vizsgálati minták gyűjtése és szállítása korábban speciális feltételeket igényelt és befolyásolta az analitikai biztonságot. Ma már ez a probléma megszűnt, mivel a továbbfejlesztett assay az OC molekula stabilabb N-MID fragmentumát méri (27,28). Másrészt viszont az oszteokalcin mérés szerepe jelentősen korlátozott a veseműködés beszűkülése esetén, mivel az OC főleg a veséken át ürül (29).

1.1.2.3. Csontspecifikus alkalikus foszfatáz

Egészséges nem terhes felnőttekben a keringő összes alkalikus foszfatáz csaknem fele a csontokból származik, az osteoblastok termelik, míg a fennmaradó hányad javát a hepatocyták képzik (30,31). A csontspecifikus alkalikus foszfatáz (Bone Specific Alkaline Phosphatase - BSAP) elsődlegesen bontja a mineralizációt gátló pirofoszfátot (32). Kereskedelmi forgalomban kapható BSAP meghatározási immunoassay, de a csont- és májeredetű AP között jelentős a szerkezeti átfedés, emiatt májbetegségben alkalmazása erősen korlátozott (19). A BSAP szintek jó pozitív korrelációt mutatnak a törési kockázattal krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegekben (33). Bár a Paget-kór az osteoclastok betegsége, kimutatták, hogy a BSAP mérés a betegség haladásának érzékeny monitorizálását teheti lehetővé (34).

Összefoglalva, a csontrezorpciós biomarkerekkel összehasonlítva a csontképzés rendelkezésre álló markerei – mint az osteoblastos csontépítő tevékenység tükrözői –, hasznosan alkalmazhatók a csontforgalom jellemzésére, különösen a nagy mintaforgalmú automatizált laboratóriumokban. Kiemelhetők a kínálatból a csontspecifikus alkalikus foszfatáz, az oszteokalcin, valamint a prokollagén I. típusú N-terminális propeptid (PINP) meghatározási módszerei. Bár az oszteokalcint az osteoblastok képezik, mégis a csontforgalom (turnover) kétarcú markerjének tekinthető inkább, mivel mind a csontképzést, mind pedig a lebontást tükrözi. A csontképzési markerek közül a PINP gyakoribb alkalmazása, gazdagabb irodalmi háttere miatt egyértelműen kiemelkedik (35).

1.1.3. Pre-analitikai és analitikai megfontolások a rutin laboratóriumban végzett csontforgalmi-marker-meghatározásokról

A csontforgalom biomarkerei figyelemreméltóan érzékenyek több pre-analitikai és analitikai tényezőre (36).

Technikai pre-analitikai kérdések a mintagyűjtést illetően főleg a vizeletminták esetében merülnek fel (13). A gyűjtés során a vizelet térfogatra való vonatkoztatás kényelmetlen, ehelyett vizelet kreatininre vonatkoztatnak, hogy a töménységgel járó eltéréseket kiküszöböljék. Következésképpen a vizeletvizsgálatokat felváltották a vérmintákból végzett meghatározások.

A legnagyobb, továbbra is fennálló kihívás azonban a vizsgálati leletek biológiai sajátosságokból következő változatossága. A leleteket felhasználó klinikusnak figyelembe kell venni, hogy a csontanyagcsere-markerek mérési eredményeit számos külső és endogén tényező befolyásolja.

A csontmarkerek normál vérszintjei rendszerint magasabbak gyermekekben, a csontképződés (formáció) időszakában, mint egészséges felnőttekben a csontszövet megújuló és a változó terhelési igényekhez alkalmazkodó átépülése alatt (16,37). Idősödő egyéneknél változatos képet kapunk. A mért értékek csökkenhetnek, de nőkben a menopausa után a csontforgalom fokozódása miatt emelkedést írtak le (16,38,39). Férfiakban is leírták a nőkhöz viszonyítva magasabb BTM vérszinteket (16,39). Etnikai összehasonlításban a kaukázusi egyedekben többnyire alacsonyabb szinteket írtak le, mint a kor és nem szerint illesztett más etnikumúakban (16,40). A csontmarker vérszintek várandósság és szoptatás alatt emelkednek, de elválasztás után néhány hónappal normalizálódnak (41,42). Betegségek, kóros állapotok feltűnően megemelik a BTM vérszinteket. Példa erre az immobilizáltak, vagy bármi okból ágyhoz kötöttek magas csontforgalmi-marker-szintjei (43). Jelentősen emelkedett vérszinteket

mutattak ki csonttörések után akár 6 hónapig terjedően (44-46). Számos betegségben jelentősen emelkednek a csontforgalom mutatói, például a primer hyperparathyreosis, a Paget kór, myeloma multiplex, valamint a metasztatikus prosztatata- és emlőrák esetében (47-53). A kóros vesefunkció is emelkedett marker-szinteket eredményez, különösen a monomér PINP, a β -CTx és az oszteokalcin értékek esetében, amelyek szervezetből történő ürítése a vesével történik (54).

Néhány endogén tényező jelentősen befolyásolhatja a BTM szinteket, melyeket szintén figyelembe kell venni a leletek értékelésekor. Ilyen tényező pl. a napszaki ritmus, a menstruációs ciklus, az évszaki váltakozások, a fizikai terhelés és az étrend.

A biomarker szintek, különösen a rezorpciós jelzőanyagok napszaki ritmust követnek, melyben a napi csúcserkékek kora reggel mérhető, a későbbiekben pedig alacsonyabb szintre állnak be (16,38).

A csontképzés biomarkerei a menstruációs ciklusban az ovulációt követően a luteális fázisban emelkednek magasabb szintre (55). A rezorpciós markerek viszont a ciklus follikuláris fázisában magasak (56). Mindkét irányú csontforgalom jelzőinek vérszintje a téli hónapokban a D-vitamin-ellátottságot tükrözi. Mivel ez romlik a téli hónapokban, a szervezet válasza ilyenkor magasabb marker-szintekben mutatkozik meg (57). A legújabb szakirodalmi közlések sem tudtak egybehangzó véleményre jutni abban a kérdésben, hogy a fizikai terhelés miként befolyásolja a BTM szinteket (58,59). A húsban és zselatinban gazdag étrend jellemzően megemeli a markerek vérszintjét (60). A laborértékek egységesebbé tétele érdekében – a közvetlen étrendi befolyásoló hatások csökkentésére – a mintavétel előtt egy éjszakai koplalást javasolhatunk. Az alacsony testtömegű, aktuálisan dohányzó személyek alap BTM-szintjei magasabbak a népességi átlagnál (61). Mivel a csontanyagcsere-markerek többsége más, nem vázrendszeri szervekben is jelen van, ahol I. típusú kollagént találunk, a szív- és érrendszeri

betegségek, szisztémás sclerosis meglétekor szintén emelkedett biomarker szinteket közöltek (62-64).

A csontforgalom biomarkerei jelentős analitikai variabilitást mutatnak. A csontmarkerek kimutatásának módszerei nem egységesek, ezért a különböző gyártóktól származó tesztek ugyanazon mintából jelentősen különböző eredményt adhatnak. A Laboratóriumi Medicina nemzetközi szervezetének (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine – IFCC) munkacsoportja együttműködésben az International Osteoporosis Foundation (IOF) társ-akciócsoportjával folyamatosan dolgozik a különböző assay-módszerek harmonizálása érdekében (65-67). Továbbá a külső minőségellenőrző (EQC) programokban való rendszeres részvétel segíthet a laboratóriumok eredményei közötti variációk minimalizálásában (15).

IFCC Scientific Committee for Bone Metablism (IFCC C-BM) célkitűzései

Az IFCC Munkacsoport (jelenlegi vezetője Etienne Cavalier professzor) beszámolt az általuk végzett munkáról a közelmúlt években és felvázolta a következő időszak tennivalóit az IFCC Handbook 2018-2020 kötetében (68).

Beszámoló a célul tűzött feladatokról:

- A klinikai alkalmazásra és kutatásra alkalmas két csontforgalmi-marker, a szérum β -CTx és a PINP meghatározások módszertani egységesítése, harmonizálása.

Jelenleg folyamatban lévő munkák:

- A rendelkezésre álló assay módszerek szakirodalmi háttérének és mai gyakorlati alkalmazásának áttekintése egy referenciaként használható új szérum β -CTx teszt létrehozása céljából, vagy alternatív, már meglévő tesztek egységesítése érdekében.

- A rendelkezésre álló assay módszerek szakirodalmi háttérének és jelenlegi gyakorlati alkalmazásának áttekintése egy referenciaként használható új szérum PINP teszt létrehozása céljából, vagy alternatív, már meglévő tesztek egységesítése érdekében.
- A szabályozó hatóságok számára azon adatok áttekintése és összegyűjtése, amelyek a módosított, referenciának szánt módszerek engedélyezéséhez szükségesek.
- Azon döntési, beavatkozási határok és potenciális célértékek meghatározása a szakirodalom alapján a szérum β -CTX és szérum PINP tesztekre, amelyek a posztmenopauzális oszteoporosis és/vagy egyéb okból keletkezett oszteoporosis kezelésében alkalmazhatók, a kezelés monitorizálása céljából.
- IOF-IFCC tanulmány végzése a referencia BTM tesztek törési kockázatjelző erejét vizsgáló közlések összegzésére.

A felsorolt célok összhangban vannak az IOF-IFCC Working Group 2011-ben megjelent állásfoglaló közleményével, amelyben a PINP-t és a β -CTX-et ajánlják a csontképzés és a rezorpció markereként klinikai vizsgálatokban, hogy javítsák a csont biomarkerek megismerését és elfogadásukat a napi klinikai gyakorlatban (66).

1.1.5. A csontforgalom biomarkereinek klinikai alkalmazhatósága

1.1.5.1. Az anti-osteoporotikumok terápiás hatékonyságának és a kezelés folyamatosságának (compliance) monitorizálása

Ismereteink legjava a csontmarkerek használhatóságáról a különböző új oszteoporosis-ellenes gyógyszerek klinikai vizsgálatainak eredményeiből származik (69-79). A terápia által előidézett BTM változások jellegzetességeit pontosan leírták és publikálták. Eszerint alkalmasak a terápia előidézte csont-ásványianyag-denzitás növekedés és a törési

kockázatcsökkenés előrejelzésére. Az antirezorptív hatású szerek gátolják a csontfelszívódást az osteoclastok korai apoptózisának előidézésével, mely a csontbontási markerek szintjének következményes gyors csökkenését eredményezi. Az antirezorptív szerek hatásmechanizmusából következik, hogy a terápiás hatékonyságuk arányosan tükröződik a rezorpciós markerek vérszintjének csökkenésével. A csont-felszívódás és -képződés sejtszintű biológiai folyamatai egymáshoz kapcsolódnak oly módon, hogy a csontbontás gátlása egyben a csontképzés fékezésével is jár és ez a releváns markerszintekben tükröződik. Ezekből következik, hogy a kezelésben részesülő páciensek marker-szintjeinek 3-6 havonkénti vizsgálata informálja a kezelőorvost a terápia hatékonyságáról, és a betegek terápiás adherenciájáról. A BTM használat jelentős előnyét mutatja, hogy a terápia DXA-monitorizálása esetén legalább 1 évnek kell eltelnie a csontsűrűség legkisebb szignifikáns változásának (Least Significant Change - LSC) megállapítására. Az osteoporosis leggyakrabban használt gyógyszerei jelentősen eltérő mértékben növelhetik a csontdenzitást hasonló törési kockázatcsökkentés esetén is, pl. a biszfoszfonátok jelentős BMD-növekedést okoznak, míg az ösztrogének és a raloxifen kismértékűt. Ráadásul összességében a BMD növekedése a törési kockázat-csökkenésnek csak egy töredékét szolgálja (67,69). A 2. táblázat foglalja össze a különböző hatásmechanizmusú anti-osteoporotikus terápiák hatását a BTM szintekre.

2. táblázat. Változások a csont biokémiai markerek szintjeiben különböző csonttrikulás elleni gyógyszerek mellett.

Csontmarker	Típus	Terápia	Célértékek	Utánkövetési gyakoriság
β -CTX	Reszorpciós marker	Anti-rezorptív	minimum 35% ↓	Kiinduláskor és 6 havonta
PINP	Formációs marker	Anti-rezorptív	minimum 40% ↓	Kiinduláskor és 6 havonta
		Anabolikus	minimum 40% ↑	Kiinduláskor és 6 havonta
Oszteokalcin	Csontforgalmi-marker	Anti-rezorptív	minimum 20% ↓	Kiinduláskor és 6 havonta

Az anti-rezorptív szerekkel történő kezelés, mint pl. az ösztrogének, szelektív ösztrogénreceptor-modulátorok (raloxifen), biszfoszfonátok (alendronát, rizedronát) és denoszumab a csontbontási- és csontépítési-markerek szintjét egyaránt csökkentik. A humán rekombináns PTH kezelés a csontképzési markerek vérszintjét növeli, melyet a felszívódási markerek szintemelkedése kísérel követ (75).

A csontforgalom-markerek kiindulási szintje és a terápia indítása utáni változások előrejelzik a várható BMD-változást. A BTM-szintek korai csökkenése biszfoszfonát és denoszumab kezelés korai időszakában korrelál a következő 2-3 év alatti BMD-növekedéssel (71-72).

Alendronát-kezelés hatására a gerinc és csípőtáj törési kockázatának jelentősebb csökkenését közölték a BTM-szintek (PINP, BSAP, β -CTx) korai markáns süllyedése esetén (71). A raloxifen-kezelés által okozott oszteokalcin szintváltozás jobban jelezte a törési kockázat csökkenését, mint a BMD változás (80,81). Hasonló összefüggést figyeltek meg a PINP és a zoledronát-kezelés között (82).

1.1.5.2. A csontvesztés és törési kockázat előrejelzése

Populációs vizsgálatok adataiból tudjuk, hogy az emelkedett marker szintek előrejelzik a fokozott csontvesztést és a nem-traumás csonttörések fokozott kockázatát függetlenül a hajlamosító betegségek, életkor és nemi hovatartozás hatásaitól (83,84). A népességi szintű epidemiológia vizsgálatok eredményeit azonban gyakran nem lehet közvetlenül az egyedi betegellátásban alkalmazni. Nincsenek prospektív randomizált klinikai vizsgálatok egy népegészségügyi szűrőprogram hatékonyságának és egészséggazdasági jogosultságának igazolására, amely csontanyagcsere-markereket alkalmazna a fokozott csontvesztésű és törési kockázatú egyének kiemelésére (85).

1.1.5.3. BTM alkalmazások a nephrologiában

A végstádiumú veseelégtelenség rendszerint renális oszteodisztrófiával társul. A renális oszteodisztrófia fő mutatói közé tartoznak a kalcitriol-hiány és az emelkedett parathormon (PTH) értékek másodlagos hyperparathyreosis miatt. A betegség jellemzője a fokozott csontanyagcsere a keringő csontforgalmi-markerek szintjének következményes emelkedésével. A csontmarkerek közül csak a TRAP és BSAP, nem ürül a vesén át, így ezek tükrözik a csontforgalom állapotát. A monomér PINP, az oszteokalcin és a β -CTX szintek jellemzően emelkednek, de az emelkedés nem a csont turnover fokozódása miatt jön létre. A PTH szintek közismerten kapcsolódnak a csontforgalommal (86). A gyakorlatban tehát egyedül a BSAP és a PTH tekinthető a renális osteodystrophia markerének megbízható csontanyagcsere-mércéjének.

1.1.5.4. BTM szintek onkológiai betegekben

A szolid tumorok, mint a prosztatata-, tüdő- vagy emlőrákok, illetve a myeloma multiplex gyakran csontáttétet adnak. A daganat típusától függően az áttét lehet oszteolitikus, vagy oszteoblasztikus. Ebből következik, hogy a rezorpciós markerek domináns emelkedése az oszteolitikus tumorra jellemző, míg a csontépítés markerei az oszteoblasztikus csontdaganatokra (87). Továbbá, a csontforgalmi-markerek tumor markerként is használhatók, amikor elsődleges csontdaganatból származnak. Az osteoid osteoma oszteokalcint választ ki (88). Az osteosarcoma a véráramba jutó BSAP-t termelhet (89).

1.1.5.5. Csontanyagcsere-markerek a reumatológiában

A legtöbb reumatológiai betegség patogenezise gyulladással jellemezhető, ezáltal fokozzák a csontlebontást és fékezik a csontépítést. Ezekben a betegségekben a csontbontás és -építés élettani fontosságú összekapcsolódása (coupling) gyakran megbomlik és ez a jelenség a csontmarkerek szintjeiben is tükröződik, amint azt rheumatoid arthritis, polymyalgia, arthritis psoriatica, spondylitis ankylopoetica és arthritis reactiva esetében leírták (90-92).

1.1.5.6. Alkalmazásuk a csont Paget-kórjában

A Paget-kór olyan csontanyagcsere-betegség, amelyet erősen fokozott turnover jellemez. Az osteoblast- és osteoclast-működés jelentős felgyorsulása következtében az érintett csontok tömege megnő, fájdalmasak és deformálódnak, jellegzetes klinikai tüneteket okozva. Jellemző lelet minden csontforgalmi-marker vérszintjének nagymértékű emelkedése (93). A PINP koncentrációk egybehangzó vizsgálati eredmények szerint jól korrelálnak a betegség aktivitásával és az antirezorptív kezelésre adott válasz mértékével, eszerint a csontforgalmi-markerek alkalmasak mind a Paget-kór diagnosztikájában, mind pedig a betegség folyamatának monitorizálásában (94).

A csontforgalom biokémiai markerei felnőttekben a csont homeosztázis állapotát tükrözik, azaz az osteoblast- és osteoclast-tevékenységet mind élettani, mind pedig kórélettani állapotban. Bár a marker-alapú tesztek érzékenyek számos exogén és endogén pre-analitikai hatásra, mégis kiválóan alkalmazhatók az oszteoporózis-ellenes terápia monitorizálására, hatékonyságuk és a betegek terápiához való adherenciájának ellenőrzésében. A csontsűrűség (BMD) DXA-módszerrel történő mérésének és legalább egy rezorpciós és egy csontképzési biokémiai marker használatának kombinálásával követni tudjuk az oszteoporosis elleni terápia hatékonyságát és

az alkalmazás folyamatosságát. Ezzel a megközelítéssel javíthatjuk a fokozottan csontvesztő osteoporotikus személyek korai azonosítását és a következményes nem-traumatikus törések megelőzését. Ezek a módszerek kiterjedten alkalmazhatók az osteoporosis, osteodystopia renalis, némely onkológiai betegség és reumatikus betegség okozta csontkárosodás felismerésében, kezelésében és gondozásában.

1.2. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-marker (BTM) tesztcsomagok leírása és teljesítőképessége

1.2.1. PINP tesztek

A PINP-t először a magzatvízből vonták ki és "fetális antigén 2"-nek nevezték, mielőtt a PINP $\alpha 1$ lánc homomérjeként azonosították (95). Az első PINP tesztcsomagok poliklonális ellenanyagot alkalmaztak, valamint enzim-kötésű immunoszorbens assay (ELISA) és radioimmunoassay (RIA) technikát (96-99). A PINP antitestek a PINP két molekuláris formáját ismerik fel ebben az ELISA-ban, de a ^{125}I -jelzésű RIA-ban csak a nagyobb molekulásúlyú változatot (100). Ezen assay módszerek alkalmazása során felismerték, hogy az oldékony kollagén hőstabilitása alacsony, és hogy a PINP magas molekulásúlyú változata az intakt α -láncnak megfelelő trimér állapot, míg az alacsony molekulásúlyú forma a monomér (101). A trimér formát mérő módszereket ezért intakt PINP-assay-nek nevezzük, a trimér és monomér formát együtt mérő eljárásokat a teljes PINP-assay kategóriába soroljuk.

Jelenleg a kereskedelmi forgalomban négy tesztcsomag kapható a szérum PINP mérésére. A 3. táblázat foglalja össze ezek alapvető jellemzőit, a 4. táblázat pedig analitikai teljesítőképességüket mutatja be.

3. táblázat. Kereskedelmi forgalomban lévő 4 tesztcsomag bemutatása a szérum I. típusú kollagén N-terminális propeptidjének (PINP) mérésére.

Gyártó	Módszer	Mit mér?	Mérési forma
Orion Diagnostica, Finnország	Radioimmunoassay	Intakt PINP	Manuális
Immunodiagnosics Systems (IDS), Egyesült Királyság	Kemilumineszcens immunoassay	Intakt PINP	Automata
Roche Diagnostics, Németország	Elektrokemilumineszcens immunoassay	Teljes PINP	Automata
Uscn, Life Science, Kína	Enzim-kötésű immunoszorbens assay	Teljes PINP	Manuális

Az Orion Diagnostica 1995-ben fejlesztette ki manuális RIA módszerét az intakt PINP mérésére. A validálást Tahtela és mtsai végezték 1997-ben (102). Az Orion Diagnostica UniQ™ PINP RIA (Espoo, Finnország) néven forgalmazott tesztjének használatát az Egyesült Államokban 2005-ben engedélyezte az FDA. Egy manuális, teljes PINP mérésére alkalmas ELISA eljárást Kínában az Uscn Life Science cég fejlesztett ki 1996-ban, melyet Orum és mtsai validáltak (97). Ennek a módszernek a méréstartománya, következésképpen a vele mért adatok egy nagyságrenddel alacsonyabbak, mint más, forgalomban lévő tesztekkel mért eredmények. Nem közöltek még összehasonlító tanulmányokat ezzel és a többi ismert PINP mérési egységcsomaggal, pedig kívánatos volna a különbségek elemzése, a teszt esetleges hibáinak megismerése, korrigálása érdekében, a PINP mérési adatok laboratóriumok közötti összehasonlíthatósága, módszertani egységesítése céljából. Ismereteim szerint releváns klinikai vizsgálatok eszköztárában sem szerepelt még ez a módszer.

Az intakt PINP automatizált kemilumineszcens immunoassay (CLIA) 2009-ben jelent meg a kereskedelemben – IDS általi fejlesztés az iSYS automatákra (IDS, Boldon UK). A tesztet 2010-ben Koivula és mtsai validálták (103). Az automatizált teljes PINP kemilumineszcens immunoassay fejlesztését a Roche Diagnostics (Mannheim, Németország) végezte, majd Garneró és mtsai validálták 2008-ban (104).

4. táblázat. Kereskedelmi forgalomban lévő négy PINP tesztsomag teljesítőképessége (97,102-104).

Gyártó	Mérési tartomány	Kimutatási határ	Intra-assay CV	Inter-assay CV
Orion Diagnostica, Finnország	5 – 250 $\mu\text{g/L}$	2,3 $\mu\text{g/L}$	2,3 – 3,5%	2,7 – 6,1%
iSYS (IDS), Egyesült Királyság	2 – 230 $\mu\text{g/L}$	2,0 $\mu\text{g/L}$	2,6 – 3,0%	4,2 – 5,3%
Roche Diagnostics, Németország	5 – 1200 $\mu\text{g/L}$	5,0 $\mu\text{g/L}$	1,4 – 2,3%	2,1 – 4,5%
Uscn, Life Science, Kína	0,78 – 6,2 $\mu\text{g/L}$	0,041 $\mu\text{g/L}$	2,9 – 4,9%	4,6 – 5,3%

1.2.2. β -CTx tesztek

Az összes β -CTx módszer a CrossLaps ellenanyagokat alkalmazza (Osteometer BioTech A/S, Dánia), ami egy 8 aminosavat tartalmazó (glu-lys-ala-his-asp-gly-gly-arg) szekvenciát ismer fel (EKAHD- β -GGR) a kollagén $\alpha 1$ lánc C-terminális telopeptid régiójában (105,106). A vizeletmintából történő mérés számos nehézséget és hibaforrást rejt: nagy napszaki változások, a vizeletmennyiség változásai miatt az eredmények egységnyi kreatininre való vetítésének szükségessége, a nagyon híg vizeletből történő mérés akadályai, a 24 órás vizeletgyűjtés nehézségei és egyéb pre-analitikai tényezők miatt a vizeletből történő mérés helyett a β -CTx vérből mérését részesítjük előnyben (107). A vérminták mérését EDTA-plazmából végezzük, annak jobb stabilitása miatt (107). Kora reggeli éhomi mintavétel kívánatos, hogy minimalizáljuk a napszaki vérszint-ingadozás hatásait (107).

Az első vérből végzett β -CTx teszt egy kompetitív poliklonális antitest ELISA volt (108). Ezután egy egylépcsős, két monoklonális ellenanyagot alkalmazó ELISA kifejlesztése következett (106), amelyet újralibráltak egy szintetikus kereszt kötésű polypeptid használatával, ami két EKAHD- β -GGR szekvencia kópiát tartalmazott (109). A manuális ELISA módszer CrossLaps[®] néven került kereskedelmi forgalomba (110). A CrossLaps[®]

ELISA FDA jóváhagyást nyert és jelenleg az IDS forgalmazza. Mind az IDS (Egyesült Királyság), mind a Roche Diagnostics (Németország) felhasználta az egy lépéses ELISA módszert a β -CTx automatizált tesztcsomagjának kifejlesztésére. Az 5. táblázat összefoglalja a vérből történő β -CTx meghatározás kereskedelmi forgalomban lévő tesztjeinek fontos jellemzőit.

5. táblázat. Kereskedelmi forgalomban lévő assay csomagok az I. típusú kollagén C-terminális polipeptidjének (β -CTx) vérből történő mérésére.

Gyártó	Módszer	Mit mér?	Technika
IDS, Egyesült Királyság	Kemilumineszcens immunoassay	β -CTx	Automata
Roche Diagnostics, Németország	Elektrokemilumineszcens immunoassay	β -CTx	Automata
IDS, Egyesült Királyság	Enzim-kötésű Immunoszorbens assay	β -CTx	Manuális

A Roche Elektrokemilumineszcens immunoassay (ECLIA) assay-csomagját Garneró és mtsai (111) értékelték 2001-ben, az IDS iSYS analizátorára alkalmazott CLIA szérumból β -CTx módszert Seres és mtsai 2010-ben (112). A három kereskedelmi forgalomban lévő módszer sajátosságait a 6. táblázat mutatja be.

6. táblázat. A két automatizált és egy manuális β -CTx-mérő módszer teljesítőképességének mutatói (106,109,110).

Gyártó	Mérési tartomány	Alsó kimutatási határ	Intra-assay CV	Inter-assay CV
iSYS, IDS, Egyesült Királyság	0,050-6,000 μ g/L	0,020 μ g/L	2,7-3,7%	2,5-5,2%
Roche Diagnostics, Németország	0,010-6,000 μ g/L	0,010 μ g/L	1,2-4,1%	<5,7%
CrossLaps®, IDS, Egyesült Királyság	0,020-3,380 μ g/mL	0,020 μ g/L	<2,5%	2,2-5,5%

1.3. OPG-RANK-RANKL-Cisztatin

Az oszteoprotegerin (OPG) és a nukleáris faktor- κ B ligand receptor aktivátora (RANKL) a tumor necrosis factor receptor szupercsalád két tagja és fontos szerepet töltenek be a csontfelszívódás szabályozásában (113,114). Az OPG oldékony álreceptor, az oszteoblasztok és más sejttípusok választják ki és vetélkedve köti a RANKL-ot. A RANKL elsődlegesen az oszteoblasztok által expresszálódik, receptora, a RANK pedig a pre-oszteoklasztokban és ezen sejtvonal más sejtjeiben. Amikor a RANKL kötődik a RANK-hoz, beindul az oszteoklasztogenezis és megkezdődik a csontfelszívódás. Ebből következik, hogy a csontrezorpciót kivédheti, ha az OPG kötődik a RANK-hoz (115-117).

A keringő OPG és RANKL szintekre vonatkozóan egyre több az adat egészséges férfiak esetében (118-131). Mindazonáltal általában elmondható, hogy az OPG/RANKL szerepét illetően nincs egyetértés. Továbbá a cisztatin C, az OPG és RANKL hatások közötti kapcsolatrendszer csak korlátozott számban vizsgálták egészségesekben és nem találtak szignifikáns összefüggést (126). In-vitro vizsgálatok azonban azt sugallják, hogy a cisztatin C egy cisztein proteináz gátló, amely fékezi az oszteoklasztogenezist azzal, hogy beavatkozik a pre-oszteoklaszt differenciálódás késői fázisának eseményeibe (132,133). Ráadásul, a cisztatin C előnye, hogy a nemtől, izomtömegtől és életkortól független – következésképpen a kreatininnél jobban teljesíthet, mint a veseműködés közvetett markere, amikor a csökkent protein-kiválasztás szerepét vizsgáljuk a kor-függő OPG-szint emelkedés lehetséges okaként (134).

1.4. Szklerosztin

A szklerosztin fehérje egy nem klasszikus csont morfogenetikus protein antagonista, melyet az oszteociták termelnek és befolyásolja az oszteoblasztok differenciálódását, aktivitását, csökkenti élettartamukat. A szklerosztinról kimutatták, hogy kötődik az alacsony denzitású lipoprotein-receptorszerű protein5 (LRP5)- és LRP6- receptorokhoz, ezáltal gátolja a Wnt szignalizációs útvonalat - a csontvelőben futó csatornácskákban eljutva a csontvelőbe – és fékezi az oszteoblaszt differenciálódást és a csontképzést úgy, hogy gátolja a frizzled/LRP5/6 receptorok transzmembrán jelzőrendszerét (135,136). A szklerosztint kódoló gén (Sost) mutációi a nagy csonttömeeggel járó betegséget okoznak (Buchem betegség, vagy szklerosztózis szindróma) – ebből következik, hogy a szklerosztin gátlása terápiás reményt nyújthat a csökkent csonttömeeggel járó betegségekben (137). Valóban, egy nem régen közölt I. fázisú tanulmány szerint statisztikailag jelentős növekedést mutattak ki az ágyéki gerinc és teljes csípő csont-ásványianyag denzitásában szklerosztin monoklonális antitest-kezelésben részesült egészséges egyéneknél - ezt követően a II. fázisú vizsgálatok is elkezdődtek (138,139).

Az egészséges embereknél észlelt szklerosztin-hatásokról egyre többet tudunk. Bár a legtöbb tanulmány pre- és posztmenopauzális nők bevonásával történt, két közleményben férfiak, egyben gyermekek szerepelnek (140-149). Májig csak egy tanulmányt végeztek idős férfi populáción, ezért döntöttünk úgy, hogy elemezzük egy hazai vizsgálati csoportban az 50 évnél idősebb férfiak szérumban szklerosztin szintjeit meghatározó tényezőket (145).

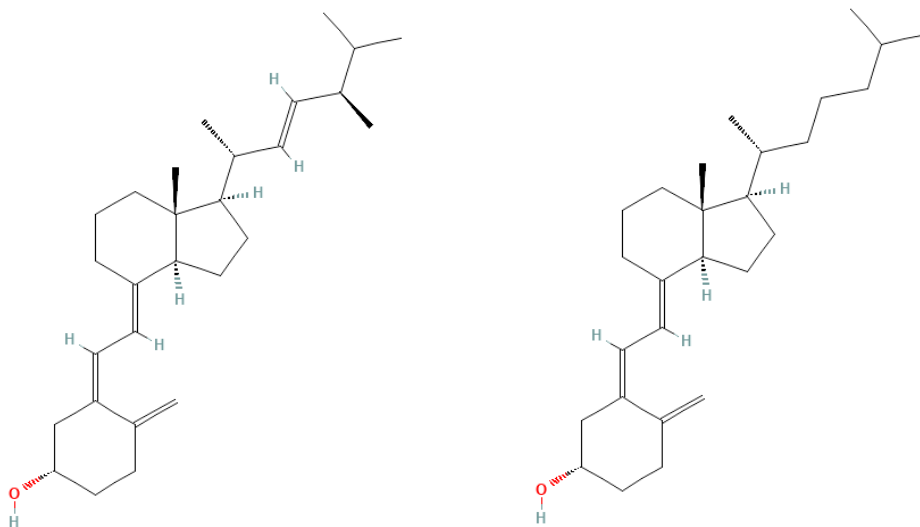
1.5. D-vitamin (150)

A D-vitamin a csont- és izomszövet fejlődéséhez és működésük fenntartásához szükséges hormon. A kalcium és foszfát homeosztázis megtartásában játszott fontos szerepe miatt jelentősége a csontanyagcserében is kulcsfontosságú (151). Ezen túl számos nem-vázrendszeri betegség keletkezését is kapcsolatba hozzák a D-vitamin-hiánnyal. Közéjük sorolunk több rákféleséget, szív-érrendszeri megbetegedéseket, a 2. típusú cukorbetegséget, az immunrendszer kóros működését és másokat (152,153). Genetikai, molekuláris és állatkísérletes vizsgálatok szerint a csökkent D-vitamin-hatás számos, vázrendszeren kívüli kóros következménnyel jár. Embereken végzett megfigyelések is azt sugallják, hogy a D-vitamin hiánya szinte minden betegségtípussal kapcsolatba hozható. Ezzel szemben a randomizált kontrollált tanulmányok és a Mendeli randomizációs elven végzett vizsgálatok eredményei változóak, ellentmondásosak. Szabályosan megtervezett alapkutatási és klinikai tanulmányok szükségesek, amelyben egységes kiindulási D-vitamin-szintek szerepelnek, valamint a D-vitamin-adagolás ellenőrzötten történik és megteremtik az ok-okozati összefüggés, valamint a dózis-függőség igazolásának feltételeit. Hasonlóan történhet a D-vitamin-hiány (endogén D-vitamin-szintek) és egyes betegségek megjelenése, tüneteinek közötti összefüggések vizsgálata a hiány mértéke és betegség-tünetek “dózis-függésének” kapcsolatáról (154,155).

1.5.1. A D-vitamin forrásai és képződése

A D-vitamin zsírolékony szekoszteroid, amely az emberi testben több lépcsőben metabolizálódik. Az utóbbi 40 évben szintézisét és lebomlását számosan, sokrétűen vizsgálták, ezalatt több, mint 50 anyagcsere-termékét azonosították (156-158). Azonban napjainkig csak néhányuk meghatározására tudtak megbízható módszert kidolgozni. A D-vitamin két fő formában jelenik meg: a D2 (ergokalciferol) és a D3 (kolekalciferol), köztük csak csekély szerkezeti különbség van (1. ábra).

1. ábra A D-vitamin két formája: ergokalciferol és kolekalciferol. A kémiai szerkezetek ábráinak forrása: PubChem: (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).



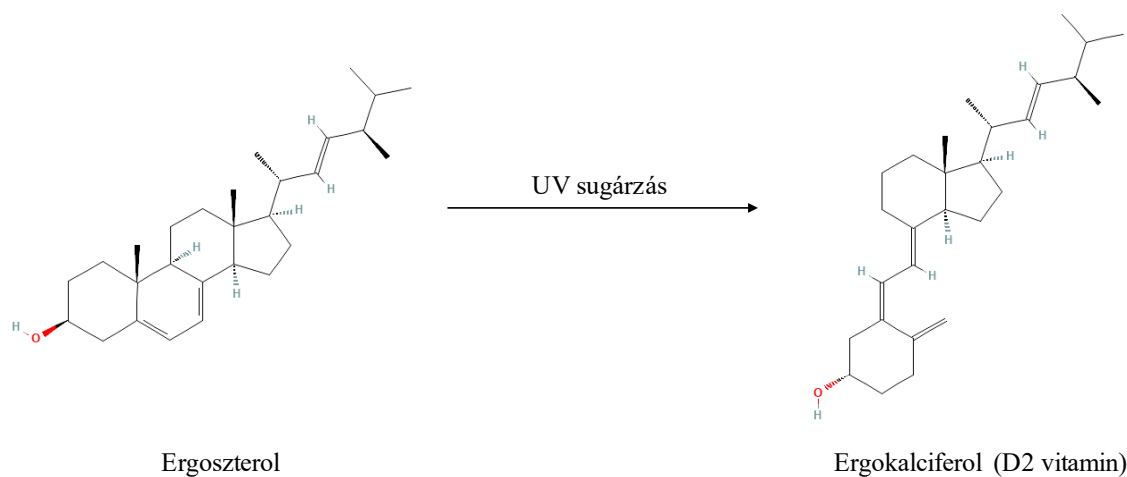
Ergokalciferol (D2 vitamin)

Kolekalciferol (D3 vitamin)

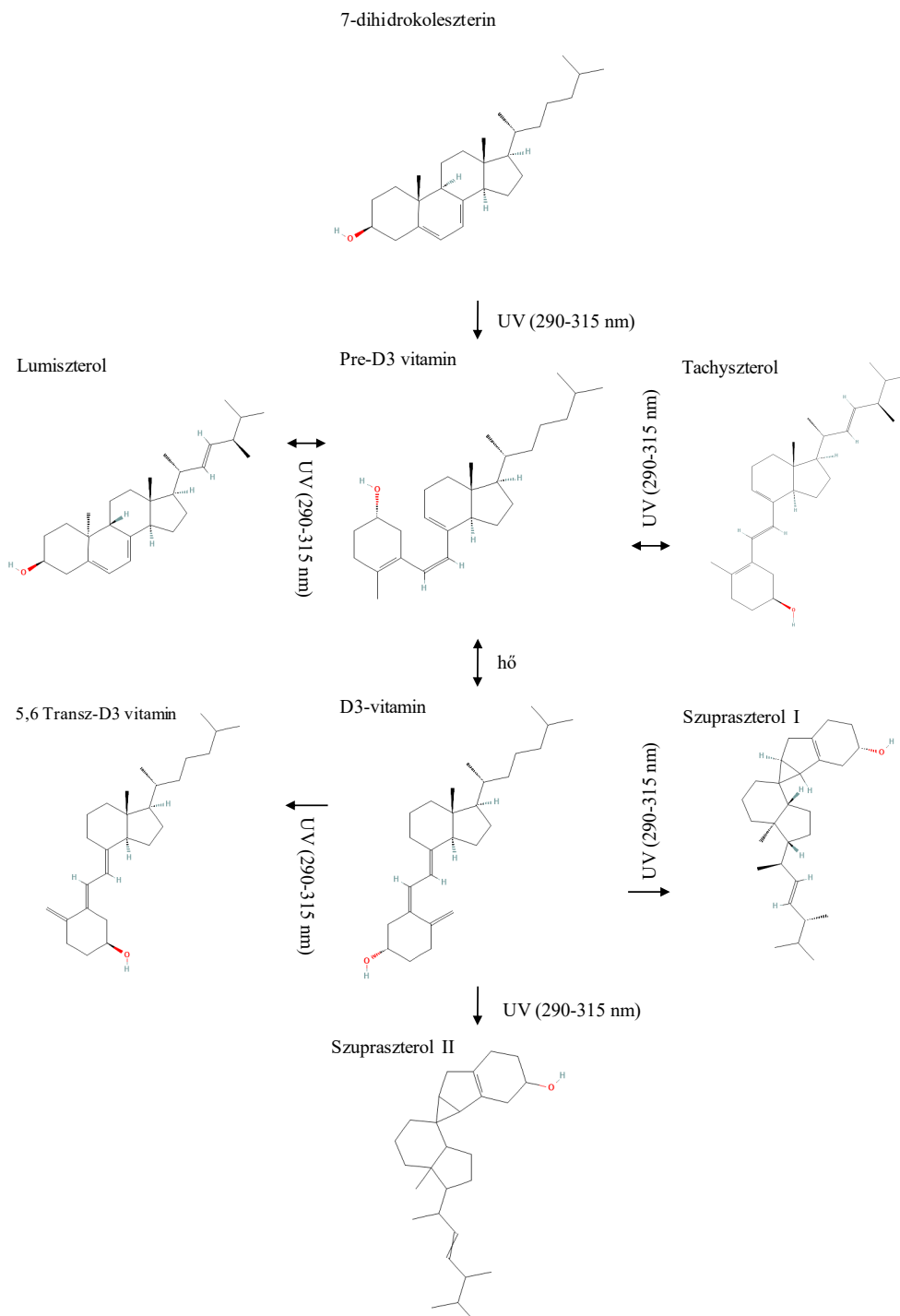
Emiatt a D2 és D3 molekulásúlya különbözik, az előbbié 396,65 g/mol, az utóbbié 384,64 g/mol (159). A D2 vitamin szerkezetbeli különbségei gyengítik a D-vitamin kötőfehérje (VDBP) iránti affinitását, következésképpen a véráramból gyorsabban távozik, korlátozódik a konverziója 25OHD-vitaminná (25-hidroxivitamin D), valamint a 24-hidroxiláz (CYP24A1)

hatására történő bomlása (160-162). Egy friss meta-analízis arra a következtetésre jutott, hogy a D3 erősebben növeli a szérumban a 25OHD szintjét, mint a D2-vitamin. Következésképpen pótlásuk szükség esetén a D3-vitamin előnyben részesítendő (163). A D3-vitamin 7-dehidrokoleszterinből (7-DHC) képződik a bőrben az UVB sugárzás hatására, míg a D2-vitamin növényi/gomba-eredetű ergoszterin besugárzása útján keletkezik (2. és 3. ábra) (164,165).

2. ábra D2 vitamin képződése ergoszterolból. A 290-315 nm hullámhossz-tartományú ultraibolya (UV) sugárzás leválasztja az ergoszterol B-gyűrűjét, ezzel létrejön az ergokalciferol. Tej és élesztő besugárzása a D2 vitamin előállításának kereskedelmi mértékű módszere ergoszterolból. A dihidrotahiszterol (DHT) a D2 vitamin szintetikus analógja. A kémiai szerkezetek ábráinak forrása: PubChem: (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).



3. ábra Amikor a bőrt a 290-315 nm hullámhossz-tartományba eső UV sugárzás éri, a 7-dihidrokoleszterin energiát nyel el belőle, a molekulában ennek következtében a kémiai kötések átrendeződése (bomlás és újrakötés) jön létre, melynek következménye a D-previtamin létrejötte. A bőrben a hő a D-previtamin gyors izomerizációját okozza, melynek eredménye a D-vitamin. A létrejött D-previtamin és maga a D-vitamin is tovább nyeli el az UV energiát. Tartós és erős UV sugárzásra a molekulák biológiailag hatástalan fotokémiai vegyületekké bomlanak. Tartós sugárhatás alatt egyensúlyi állapot jön létre már akkor, amikor a 7-dihidrokoleszterin 10-15%-a D3-previtaminná alakul át. Ez a jelenség biztosítja, hogy akár kifejezetten erős sugárhatásra sem képződik toxikus mennyiségű D-vitamin a szervezetben. (A kémiai szerkezetek ábráinak forrása: PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).



bhattoa.harjit.pal_23_22

Emberben a D-vitamin (D2 és/vagy D3) fő forrása bőrben a napfény általi képződés, a táplálékok és pótlás szintetikus készítményekkel. Az ételek többségében (kivéve az olajos halakat) kevés D-vitamin van, kivéve, ha D-vitamint adtak hozzá (fortifikálták) (7. táblázat).

7. táblázat A D2 és D3 vitamin forrásai (166). D-vitamin mennyiségi átszámítás: 1 NE = 25 ng.

Forrás	D-vitamin tartalom
Természetes források	
Tőkehal-máj-olaj	~100-400 NE D3 / teáskanál
Tojássárgája	~20 NE D2 vagy D3 / 1 tojássárgája
Makréla konzerv	~250 NE D3 / 100 gr
Lazac, friss tenyésztett	~150-250 NE D3 / 100 gm
Lazac, konzerv	~300-600 NE D3 / 100 gm
Szardínia, konzerv	~300 NE D3 / 100 gm
Tonhal, konzerv	~235 NE D3 / 100 gm
Gomba, friss	~100 NE D2 / 100 gm
Gomba, szárított	~1600 NE D2 / 100gm
Napfény/UVB sugárzás	változó D3 mennyiség képződik számos tényezőtől függően
D-vitaminnal dúsított élelmiszer	
Gabonapelyhek	~100 NE D3 / étkezési adag
Vaj	~56 NE D3 / 100 gm
Sajt - tej - joghurt	~100 NE D3 / 250 gm
Margarin	~400 NE D3 / 100 gm
Csecsemő tápszer formula	~100 NE D3 / 250 gm
Gyümölcslevek	~100 NE D3 / 250 gm
D-vitamin tartalmú készítmények (táplálék-kiegészítők)	
Multivitaminok	400-1000 NE / tableta vagy kapszula
D3 vitamin készítmények	400-50000 NE D3 / tableta vagy kapszula

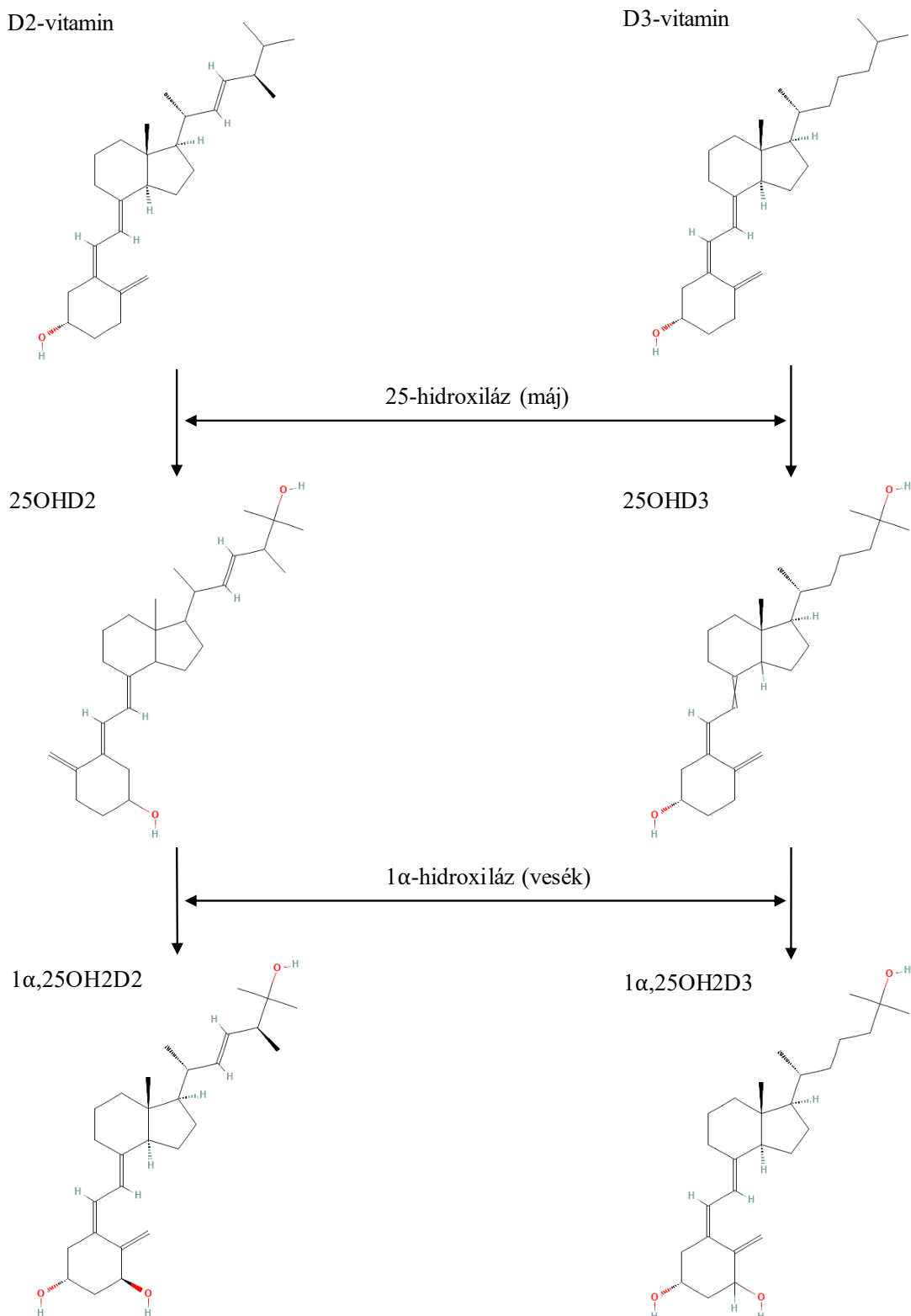
Ha az emberi bőrt a napfény UVB tartománybeli besugárzása éri (290-315 nm hullámhossz), ott a 7-DHC konverzióját idézi elő D-elővitaminná (pre-D). A pre-D ezután D3-vitaminná izomerizálódik egy nem-katalitikus, hőérzékeny biokémiai folyamattal (167). A D-vitamin-képződés változik az UV-sugárzás erősségétől, ami viszont függ az évszaktól (mérsékelt égövben), a földrajzi szélességtől és hosszúságtól (168). A bőr pigmentációja, fényvédők használata és az öltözék testfelszínt takaró hatása bizonyítottan befolyásolja a 7-DHC konverziójának mértékét D3-vitaminná (169-171). A bőr melanin-tartalma csökkenti az UVB sugárzás 7-DHC-konvertáló hatékonyságát, ezáltal korlátozza a D3-termelést. Ugyanígy hat a test nagy részének öltözékekkel való takarása, vagy fényvédők használata a bőrön. Nem ismert, hogy a bőr pigmentáltságának a mértéke milyen mértékben fokozza az elegendő D-vitamin termeléshez szükséges napfény mennyiségét. Elegendő D-vitamin-termelés érdekében a sötét bőrűek többlet napsugár-kitettsége mértékét a világos bőrűekéhez viszonyítva még nem sikerült meghatározni (172). Mások vitatják, hogy a bőrszín képezne a probléma lényegét. Bogh és mtsai elegáns tanulmányban mutatták ki, hogy a kiinduló D-vitamin- és teljes koleszterin-szintek fontosabb tényezők, mint a bőr pigmentációja (173,174).

1.5.2. A D-vitamin metabolizmusa

A bőrben képződött D-vitamin a véráramba diffundál, ahol a D-vitamin kötőfehérjéhez (VDBP) kötődése után a májba jut. A táplálékkal, pótlás útján a bélrendszerbe kerülő D-vitamin a vékonybélből kilomikronba ágyazódva a nyirokkeringésbe jut, majd onnan a vénás véráramba lép, ahol VDBP-hez és lipoproteinekhez kötődik, majd ebben a formában jut a májba. A D-vitamin alapformájában biológiailag inaktív – aktív hormonális formává átalakulásához hidroxiláción kell átmennie. Aktiválódása két hidroxilációs lépésben történik (4. ábra) (175).

Az **első lépés** főleg a májban történik, ahol a hidroxiláció a C25 pozícióban esik meg a citokróm p450 enzim CYP2R1 (más néven 25-hidroxiláz) által.

4. ábra A D-vitamin aktiválódás két lépcsője. (A kémiai szerkezetek ábráinak forrása: PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.)

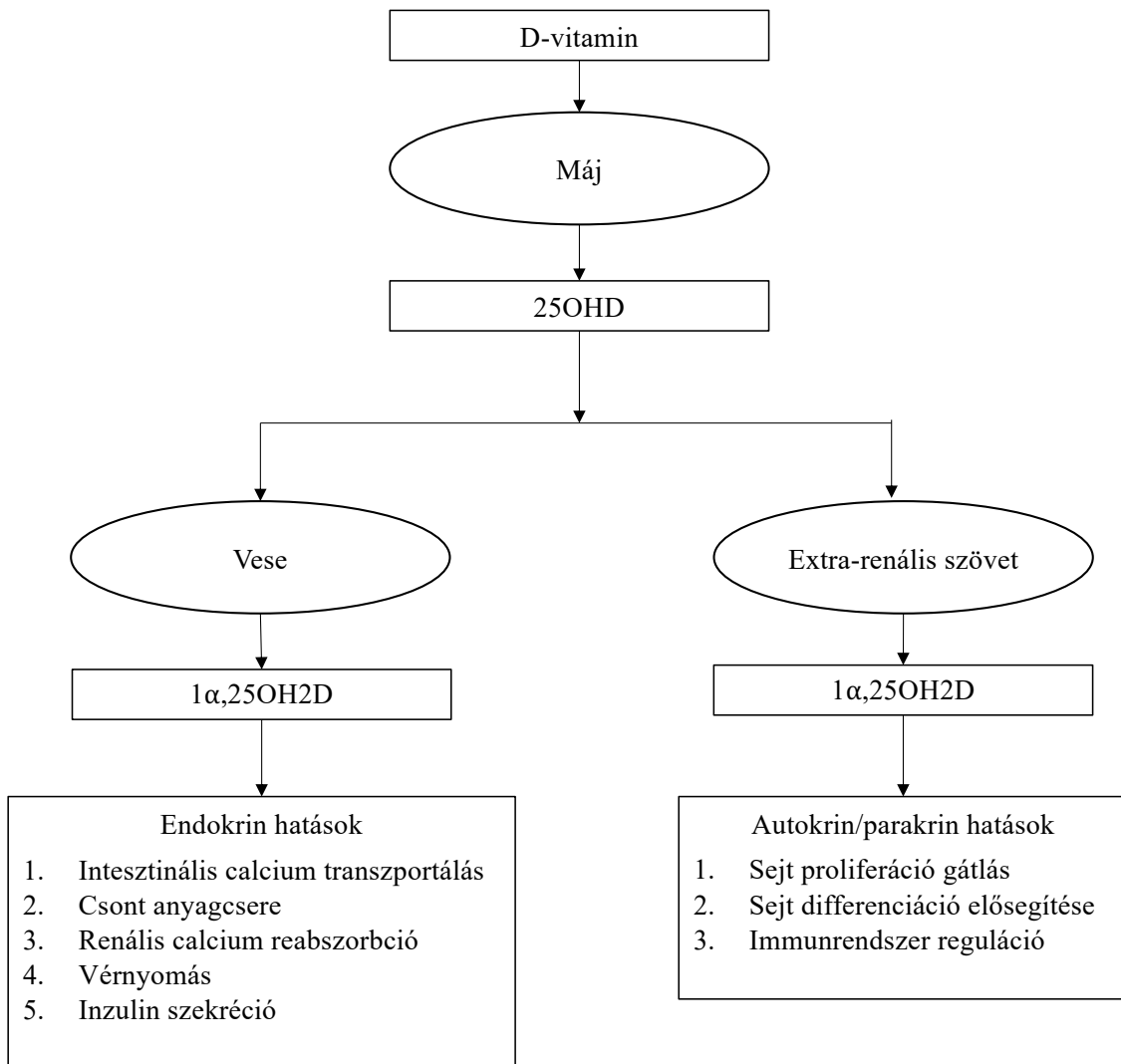


A folyamat eredménye a 25-hidroxivitamin D (25OHD). Más CYP enzim is képes 25-hidroxiláció végzésére, név szerint a CYP27A1, CYP3A4, CYP2D25, de a CYP2R1 a legfontosabb (176-178). Ezt a lépést alig szabályozza bármely feed-back mechanizmus a D-vitamin endokrin rendszeren belül, és úgy tűnik, hogy intenzitása elsősorban a D-vitamin-koncentrációtól függ (179). Ebből következik, hogy a 25OHD koncentráció a D-vitamin-felvétellel arányosan növekszik, vagyis a plazma 25OHD szintek jó tükröi a D-vitamin-ellátottságnak. A máj által termelt 25OHD visszatér a vérkeringésbe. Súlyos májelégtelenség befolyásolja, csökkenti a CYP2R1 enzim működését. Továbbá ezen enzimek hatásvesztő mutációi felelősek a D-vitamin-függő rachitisz (VDDR) 1B típusának (VDDR-1B) kialakulásáért (180). A D-vitamin aktiválódás **második lépése** az $1\alpha,25$ -dihidroxi D-vitamin [kalcitriol, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$] képződése. Élettani körülmények között ennek a reakciónak a színtere a vese, egy másik CYP450 enzim a CYP27B1, vagy 1α -hidroxiláz közreműködésével. Ez a második hidroxiláció a C1-helyzetű szénatomon történik. A kalcitriol VDBP-vel kötésbe lép a vérkeringésbe kerül. Ma már tudjuk, hogy az 1α -hidroxiláz sok más, extrarenális szövetben kifejeződik, köztük a bőrben, agyban és vastagbélben, és bizonyos sejtspecifikus funkciókban autokrin/parakrin közreműködőként szerepel (8. táblázat és 5. ábra) (160,181-185).

8. táblázat. Vesén kívüli szövetek és sejtek, amelyekben 1α -hidroxiláz (CYP27b1) expresszió történik.

Hámszövet	Placenta	Csont	Immunrendszer	Endokrin rendszer	Egyéb
Hám, hajfolliculus (keratinociták) Prosztata Colon epithelium Emlő epithelium Endometrium Cornea-hám Retina pigmenthám Corpus ciliare hám	Decidua Trophoblast	Osteoblast Osteoclast Osteocyta Chondrocyta	Makrofágok Monociták Dendritikus sejtek T-sejtek B-sejtek	Mellékpajzsmirigy Pancreas szigetecskék Pajzsmirigy Mellékvese-velő Here Petefészkek	Agy Máj Endotélium

5. ábra. A renális és extrarenális kalcitriol képződés endokrin, autokrin és parakrin funkciói.



A vese 1α -hidroxiláz aktivitását szorosan szabályozza az $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ önmagában, a PTH, a fibroblaszt növekedési faktor 23 (FGF23), valamint a szérum calcium és foszfát koncentráció. Normális feltételek között az FGF23 a vese proximális tubulusaira hat és szabályozza foszfát kiválasztást a szisztémás foszfát homeosztázis fenntartása céljából. Azonban az FGF23 befolyásolni képes a kalcitriol szintézisét is a proximális tubulus-sejtekben az 1α -hidroxiláz kifejeződésének elfojtásával és a 24 -hidroxiláz kifejeződésének fokozásával (181,186). A vesén kívüli 1α -hidroxiláz aktivitást nem ugyanazon faktorok szabályozzák, mint a vesében (181). A vese a keringő $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ fő forrása. Csak bizonyos granulomatózus

betegségekben, mint a sarcoidosis, képes az extrarenális szövet elegendő $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ termelésére, amely befolyásolni képes a keringő D-hormon-szinteket. Ez az állapot rendszerint hiperkalcémiával társul (187). Ezen enzim hatásvesztő mutációi felelősek a D-vitamin-függő rachitisz (VDDR) 1A [VDDR-1A] kialakulásáért (179,183,184,188).

1.5.3. Lebomlás

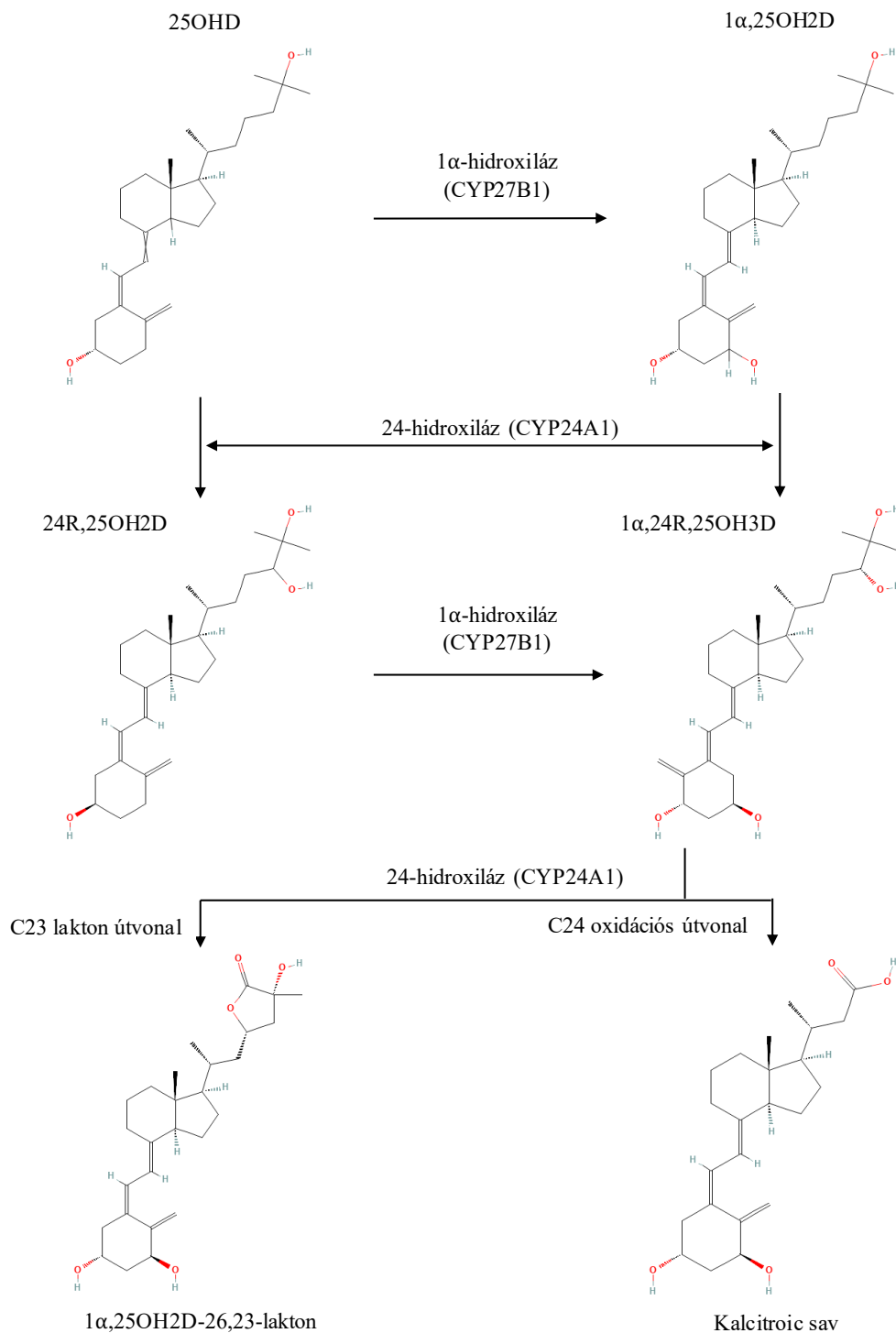
A kalcium- és csontanyagcsere élettanilag szükséges homeosztázisához szükséges calcitriol szintek szűk határokon belül tartása érdekében az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ és a 25OHD is további hidroxiláción megy át a vese CYP24A1 (24-hidroxiláz) közreműködésével, mely folyamat eredményeként $1,24,25$ -trihidroxi D-vitamin [$1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$], illetve $24\text{R},25$ -dihidroxi D-vitamin [$24,25(\text{OH})_2\text{D}$] keletkezik (6. ábra).

Eszerint a 24-hidroxiláz fő tevékenysége a D-vitamin inaktiválása, 2 anyagcsere-úton:

1. korlátozza az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mennyiségét a célszövetekben $1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$ metabolittá bontásával, végül calcitriol-savvá alakulásával (153).
2. $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ képzésével, miáltal csökkenti a 25OHD_3 rendelkezésre álló (méríthető) mennyiségét az 1-hidroxiláció számára (189).

A CYP24A1 enzim jelenlétét számos szövetben kimutatták, amelyekben a D-vitamin-receptor kifejeződik pl. a vese proximális és disztális tubulusaiban (190,191). A CYP24A1 gén erősen indukálható $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ által minden szövetben, ahol jelen van, ezáltal gátolja az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -intoxikáció kialakulását (192). Ennek a visszajelentő mechanizmusnak a fontosságát igazolta a CYP24A1 hatásvesztő mutációinak jelenléte hiperkalcémiás gyermekekben és felnőttekben (180,193). Egy másik enzim, a májban és a belekben található CYP3A4 szintén szerepet játszik a D-vitamin anyagcseréjében, lebontásában (194).

6. ábra. A D-vitamin lebomlási útvonalainak vázlatos ábrázolása: A CYP24A1 katalizálja a C24-oxidációs utat, ami az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ bomlásához vezet, végső soron korlátozva a kalcitriol mennyiségét a célszövetekben katabolizmusának gyorsításával. Ez az anyagcsere-útvonal 5 enzimatis lépésből áll, melyek végül a vízoldékony kalcitroic sav képződéséhez vezetnek, ami az epébe választódik ki. Ha az eredeti szubsztrátum 25OHD, a végtermék ismét a kalcitroic sav. A CYP24A1 a C23-oxidációs útvonalat is katalizálja, melynek során biológiailag aktív $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -26,23 lakton képződik az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -ből és 25OHD-26,23 lakton a 25OHD-ből. A C23-oxidációs útvonal termékeinek biológiai hatása nem tisztázott, azonban néhány kutató szerint az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ eredetű végtermék, az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -26,23 lakton D-vitamin receptor (VDR) antagonistaként hat. (A kémiai szerkezeti ábrákat a PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> adatbázisból vettem.)



Újabban leírták ennek a génnek hatásmenővelő mutációját, ami az érintettekben csökkent kalcium- és foszfátszinteket, valamint emelkedett PTH és alkalikus foszfát-értékeket idézett elő (195). Ez egy egyedi formája a D-vitamin- függő rachitisznek (3. típus, VDDR3), mivel nem kapcsolódik a D-vitamin szintézis zavarához, inkább D-vitamin metabolitok felgyorsult lebomlásának következménye. Igazolt tény ugyanis, hogy a CYP3A4 inaktíválja mind a 25OHD₃, mind pedig az 1,25(OH)₂D metabolitokat és ezzel a gyorsult hatástalanító effektussal D-vitaminhiányt idézhet elő (175,196). Ismeretes, hogy a CYP3A4 enzimet bizonyos gyógyszerek (pl. a rifampicin) indukálni képesek (197,198). Lehetséges tehát a CYP3A4 gén bizonyos gyógyszerek indukálta expressziójával fokozni a 25OHD és az 1,25(OH)₂D₃ lebontását (194). Eszerint a D-vitamin-hatás a szervezetben modulálható és ez alternatív kezelési stratégia része lehet a szérum D-vitamin-metabolit szintek csökkentésére a CYP24A1 hatásvesztő mutációját hordozó betegekben (199).

1.5.4. A D-vitamin metabolitok mérése

Napjainkra több, mint 50 D-vitamin metabolitot írtak le és kémiaiailag jellemeztek, közülük némelyiknek a biológiai aktivitását is vizsgálták (157). Mérési módszert azonban közülük csak ötre fejlesztettek ki (25OHD₂, 25OHD₃, 1 α ,25(OH)₂D, 24R,25(OH)₂D és C3-epi-25OHD). Ezek a metabolitok jelen vannak a vérszérumban, mérésüket ezen módszerekkel lehetővé tevő koncentrációban (200). Ezen metabolitok biológiai aktivitása jelentősen különbözik. Például az 1 α ,25OHD₂ kalcium-szabályozásban ötször hatékonyabb, mint a D-vitamin a bélből felszívódás a csontokból való mobilizálás tekintetében (201). A metabolitok biológiai aktivitását jelentősen meghatározza a VDR-kötődésük affinitása. Kísérletekben kimutatták, hogy az összes D-vitamin metabolit közül az 1 α ,25(OH)₂D mutatja a legerősebb VDR-

affinitást, a többi metabolit jelentősen gyengébb. Példaként, a 25OHD és a 24,25(OH)₂D mintegy 900x- és 5000x gyengébb VDR-affinitást mutat, mint az 1,25(OH)₂D (202).

1.5.4.1. Pre-analitikai megfontolások

A pre-analitika változékonyságnak következő 5 típusát, területét kell figyelembe venni:

- a mintavétel és kezelés,
- környezeti tényezők,
- az egyéntől függő tényezők (életkor, nem, etnikai besorolás és életmód),
- betegségek és terhesség,
- genetikai sajátosságok.

1.5.4.1.1. Mintavétel és –kezelés

Mintatípusok és mintavételi edények: Szérum, valamint heparin- és EDTA-plazma használható a D-vitamin és metabolitjainak mérésére (203). Közülük a szérumot részesítjük előnyben, mivel ez nem tartalmaz antikoagulánst, ellentétben a plazmával. Az antikoagulánsok (EDTA, heparin, citrát) befolyásolhatják a mérési eredményeket, különösen az immunoassay módszerek alkalmazásakor. Még a szérum esetében is néha számolnunk kell a mátrix befolyásoló hatásával pl. a nagyteljesítményű folyadék-kromatográfia (HPLC) és a folyadék-kromatográfia – tandem tömegspektrometria (LC-MS/MS) módszerek esetében, amikor szérum és/vagy gél alvadásaktivátort tartalmazó csöveket használunk (204-207). Azonban ezzel a zavaró tényezővel nem minden kereskedelmi forgalomban lévő assay-módszer, illetve mintagyűjtő cső esetében kell számolnunk (208). D-vitamin metabolitokat több más testfolyadékban és

szövetekben is kimutattak és mértek, mint az anyatej, vizelet, ondó, liquor cerebrospinalis, ízületi folyadék, haj és izombiopsziás minta. Tudni kell, hogy ezek a mátrixok külön-külön sajátos preanalitikai eljárásrend alkalmazásával analizálhatók, ezek egységesítése azonban még nem történt meg. Továbbá, a D-vitamin metabolitok analitikai módszereinek egységesítése, valamint külső minőségbiztosítási rendszerük (External Quality Assurance) létrehozása is várat magára (209). A nyál, mint vizsgálati mátrix számos tanulmány tárgya volt különböző elvi megközelítéssel, azonban a gyakorlati eredmények következetlenek maradtak. Legújabbban, az LC-MS/MS technológia fejlődése lehetővé tette a 25OHD mérését szárított vércsepp-mintákban (dry blood spots –DBSs) (210). A D-vitamin metabolitok mérése ezekben a mátrixokban kizárólag kutatási programokra szorítkozik, diagnosztikai célra még nem érettek (209).

A vizsgálati minták stabilitása: A D-vitamin metabolitok stabilitása klinikai mintákban kulcsfontosságú a megbízható mérési eredmények eléréséhez. A minta-stabilitás adatai epidemiológiai tanulmányokból származik, ahol a mintákat rendszerint nem a mintavétel napján vizsgálják. A tanulmányok többségében csak a 25OHD tárolási körülményeinek hatását vizsgálták a mérési eredményekre, a többi metabolit tárolásfüggő változásaival nem foglalkoztak, vagy csak elégtelenül (203,211-217). Ezek a vizsgálatok azt mutatták, hogy a 25OHD plazmában és szérumban is stabil szobahőn (24°C), 4°C-on, vagy fagyasztva egyaránt addig, amíg a kötőfehérjétől el nem választják. Egyes vizsgálatok szerint a 25OHD szérumban több napig tárolható szobahőmérsékleten számottevő koncentrációcsökkenés nélkül és akár 3 évig -20°C-on. Ráadásul semmi további tennivalót nem igényelnek a minták a laboratóriumba szállítás során. A tárolt mintákban ismételt fagyasztás-kiolvasztás hatására sem változik figyelemre méltó mértékben a 25OHD szintje (218). Figyelmet érdemel azonban, ha már előkezelték a mintákat és a D-vitamin levált a kötőfehérjéről. Ilyenkor a mintákat sötét csövekben kell tárolni a fény-expozíció megelőzésére és < -70°C-on (203,211,212,214). Egy

tanulmányban kimutatták, hogy az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ és a $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ metabolitok tárolás alatti stabilitása kisebb, a 25OHD -hez viszonyítva és jelentős szintcsökkenésüket mértek már 3 fagyasztás-kiolvasztási ciklus után (216). Megjegyzendő azonban, hogy ezekben a stabilitási tanulmányokban számos körülmény korlátozza a következtetések általánossá tételét (név szerint: a felhasznált minták csekély száma, a tárolási időtartamok változatossága és az instabilitás egységes meghatározásának hiánya).

1.5.4.1.2. Környezeti tényezők

Az évszakváltások hatása a 25OHD szintekre: Irodalmi adatok szerint a vizsgált népeiségek többségében a napfény sugárzás UVB spektrumának hatására képződik elsősorban a 25OHD , nem pedig étrendi bevitellel (219). Tehát a D-vitamin vérszintek közvetlenül függenek a napsugár UVB-spektrumától. Számos környezeti tényező befolyásolja az UVB-sugárzás hatékonyságát a bőrben zajló 7-DHC - D_3 -vitamin (kolekalciferol) konverzióra, mint a földrajzi szélesség, a tengerszint feletti magasság, az évszakok, és a helyi időjárási tényezők. Ezek a befolyásoló hatások küszöbérték alá szoríthatják az UVB sugárzás erősségét, amikor a konverzió meg sem indul, a küszöbérték felett pedig a sugárerősség arányában fokozódik az átalakulás. Nagyrészt ezek a hatások idézik elő a 25OHD szintek évszaki változásait, amelyet a vizsgált népeiség földrajzi lakóhelye is befolyásol (220,221). Általában az északi féltekén élőkben a legmagasabb 25OHD szinteket nyáron és ősszel, míg ugyanitt alacsonyabb szinteket télen és tavasszal mérték (222-225).

1.5.4.1.3. Egyéni tényezők

Az életkor, a test zsírtömege, az életmód rendszerint, de néha csak kismértékben befolyásolja a 25OHD szinteket (226).

Életkor: Ismert tény, hogy az életkor hatással van a kalcium- és D-vitamin anyagcserére. A kalcium felszívódás hatékonysága az öregedés folyamán csökken. A belek fokozódó kalciumfelszívó képessége a keringő $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ hatására a kor előrehaladtával gyengül, mintegy rezisztencia alakul ki. Az öregedő bőr kevesebb D-vitamint képes termelni a fiatalokéhoz képest. A VDR kifejeződése is csökken az életkorral. Amint várható volt, az öregedő vesék $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -termelő képessége is elmarad a fiatalokéhoz képest. A D-vitamin-termelés szubsztrát-kínálata is beszűkül a kor előrehaladtával (227-230). Végezetül az öregedő emberek fokozottan otthonülők, a lakáson kívüli aktivitásuk is egyre szegényesebb, emiatt a napfény-kitettségük is korfüggően csökken a fiatalabbakéhoz képest (231). Újabb vizsgálatok meglepően azt mutatták, hogy magának az életkornak csekély a 25OHD-szinteket csökkentő hatása (223,232). Ezen vizsgálatok gyengéje azonban, hogy csak 75 évesnél fiatalabbakat vontak be, ami magyarázhatja a 25OHD szintek és az idős életkor közötti összefüggés gyengeségét.

Testtömeg-index (BMI): Következétesen igazolták az összefüggést, mely szerint a növekvő BMI értékek alacsonyabb 25OHD koncentrációval társulnak. Számos tanulmány számolt be az elhízás (BMI nagyobb, mint 30 kg/m^2) és alacsony szérum 25OHD, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -és magas PTH-értékek közötti összefüggésről (233-236). A zsírszövetnek szerepe lehet az alacsony D-vitamin szintek előidézésében elhízott személyekben (237-239). Azonban az obezitás és az alacsony 25OHD- szintek összefüggésének minden részletét még nem tárták fel a vizsgálatok. Különböző mechanizmusokat javasoltak ennek az inverz kapcsolatnak a magyarázatára. Köztük szerepelnek magatartásbeli okok, miszerint ezek a személyek kevesebbet tartózkodnak

szabadban, ezért rövidebb idejű a napfény-kitettségük és az étrendjük kevés (hozzáadott) D-vitamint tartalmaz (240,241). Az elhízottakban megfigyelt D-hipovitaminózisnak irodalmi közlések szerinti további oka lehet még a bélből csökkent mértékű felszívódás, a hidroxiláció zavara a zsírszövetben, valamint a 25OHD felgyülemzése az adipózus szövetben. A D-vitamin zsíroldékony molekula, ez vezetett egy további feltételezéshez, miszerint a szervezet a D-vitamint a zsírszövetbe juttatva raktározza és innen nehezebb a biológiai hozzáférhetősége (239,243). Más vizsgálatokon alapuló feltételezés szerint a D-vitamin hiánya maga okozhat elhízást és még a súlycsökkenést is akadályozhatja (240,242). Annak ellenére, hogy az elhízás és D-vitamin elégtelenség közismerten társulnak, kevés kísérletes tanulmány vizsgálta a zsírszövetben zajló, D-vitamin anyagcserével kapcsolatos biológiai folyamatokat és ezek is ellentmondásos eredményekkel végződtek (243).

Nem: Egyes tanulmányok magasabb 25OHD vérszinteket írtak le férfiakban, mint nőkben függetlenül az életkor, évszak, és rassz hatásaitól (244-248). Ezt a jelenséget magyarázhatja, hogy a nők testtömege relatíve több zsírt tartalmaz, mint a férfiaké és zsíreloszlásukban a gluteális- femorális testtájék részesül előnyben, míg a férfiakban az abdominális tárolás típusos (249). Átlagosan a férfiak testtömege 10-15%-al kevesebb zsírt tartalmaz, mint a nőké, ezáltal kisebb a raktár, ahonnan lassabban mobilizálható a D-vitamin (250-252). A nemek közti különböző testzsír-hányad és -eloszlás magyarázhatja tehát a férfi és női 25OHD vérszintek különbözőségét. Ezek a nemi különbségek azonban nem tekinthetők általánosnak, mivel számos nagy tanulmányban a női vérszintek nem különböztek a férfiakétól, vagy akár magasabbak is voltak (232,253-261).

Életmód: A napszaktól, az expozíció időtartamától, évszaktól, földrajzi szélességtől és bőrpigmentációtól függően a rendszeres napozás (fedetlen karok, vagy lábak, nyak - napi 5-30 percig) elegendő endogén D3-vitamin képződését eredményezheti (261). A szabadidős tevékenység általában több napfénykitettséget is jelentenek (262-266), de az öltözködési

szokások, az öltözék jellege (a testtakarás mértéke, akár a szövet típusa) is befolyásolhatja az inszoláció mértékét, következményképpen a 25OHD-szinteket (267-269). A bőrvédő fényszűrő napozószerke 25OHD-szinteket csökkentő hatását újabb vizsgálatok tükrében általában már nem tartjuk veszélyes/kerülendő mértékűnek, bár a nagyon magas SPF számúakat még nem tanulmányozták eléggé (270).

Etnikai csoportok sajátosságai: Bár a legtöbb tanulmányt kaukázusi rasszba tartozó személyeken végezték, történtek már vizsgálatok, amelyek kimutatták, hogy a 25OHD vérszintek különböznek etnikai csoportok és bőrszín szerint. Ez logikusnak látszik, mivel a sötétebb bőrszín csökkenti az UV-sugárzás hatékonyságát és növeli a D-vitaminhiányos állapot kialakulásának kockázatát (169,271). A D-vitamin szintézise erősen függ a bőr melanin-koncentrációjától, mivel a melanin elnyeli az ultraibolya sugár energiáját, ezáltal csökkenti a 7-DHC konverzióját D3-provitaminná (272-275). Emiatt a sötétebb bőrszínű egyéneknél a D-vitamin képződése lassabban megy végbe, mint a világosabb bőrűekben. Ez a jelenség sokkal nyilvánvalóbb a magasabb földrajzi szélességi fokon, ahol a napsugárzás ereje és időtartama korlátozott. A rassz/etnikai hovatartozás által okozott D-vitamin-anyagcsere-sajátosságok további vizsgálatok és következtetések tárgyai lehetnek (276).

1.5.4.1.4. Betegségek és terhesség hatásai

Máj- és vesebetegségek hatásai: A máj és a vesék a legfontosabb szervek, amelyek részt vesznek a D-vitamin anyagcserében.

A máj az a szerv, amelyben D-vitamin 25-hidroxilációja zajlik és a VDBP mennyiségének zöme képződik (277-280). Májbetegségeknél a D-vitamin-szint csökkenése (insufficienciája) és elégtelensége (deficitje) 64% és 94% között váltakozik, ami sokkal magasabb prevalencia, mint amit az átlag népességben találtak. A szérumban 25OHD koncentrációja fordított arányban áll a májbetegség súlyosságával (281-283). A D-vitamin

elégtelenség magas prevalenciája ebben a betegcsoportban a májbetegség etiológiájától függetlenül fennáll (284). A máj szintetizáló tevékenységének zavara nem egyedüli felelős tényező, mivel D-vitamin hiány azokban is igen gyakori, akiknek nem-cirrotikus májbetegsége van (281). A nem-cirrotikus májbeteggekben a 25OHD szintek megemelkednek (“normalizálódnak”) orális, vagy parenterális D-vitamin-adás után, jelezve ezáltal, hogy náluk a 25-hidroxilációs képesség megtartott (285). Egy friss tanulmány igazolta, hogy májbeteggekben a 25-hidroxiláz aktivitás – bár alacsonyabb szinten, mint egészségesekben – viszonylag jól megtartott és nem csökkenti a 25OHD koncentrációt (286).

A krónikus májbetegségben (CLD) szenvedők alacsony D-vitamin szintjeit több ok és mechanizmus idézheti elő:

[1] csökkent napfény-kitétség,

[2] az étrendi D-vitamin elégtelen felszívódása,

[3] a VDBP és albumin csökkent endogén szintézise a májban – ez a funkció károsodik CLD-ben és májcirrózisban is,

[4] a D-vitamin csökkent májbeli hidroxilációja 25OHD metabolittá, és végül,

[5] a 25OHD felgyorsult katabolikus eltávolítása (287,288) Ugyanis, ha a katabolizmus fokozott, kevesebb 25OHD áll rendelkezésre az aktív hormon képződéséhez (287).

Az alacsony teljes 25OHD vérszintek úgy látszik, kifejtik biológiai hatásukat, ameddig a kötetlen D-vitamin szintje normális határokon belül marad. Mivel a VDBP-nek egyetlen szteránköti helye van és az összes keringő VDBP-nek csak 5%-a kötődik egy D-vitamin metabolithoz bármely időpontban (289), a májfunkciónak igen súlyosan károsodottnak kell lennie ahhoz, hogy az alacsony VDBP szinteknek jelentős szerepe lehessen a CLD-ben megjelenő 25OHD-hiányállapot előidézésében (290). Bár a totál 25OHD szintek csökkennek a CLD súlyosságának fokozódásával, a PTH szintek függetlenek maradnak a totál 25OHD

koncentrációktól (291). Végstádiumú májbetegéknél az alacsony össz 25OHD szintek ellenére is normális a szérum kalcium szint, szekunder hiperparatireózis nélkül (292).

A vesék nélkülözhetetlenek nemcsak a 25OHD konverziójához $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -vé, hanem a 25OHD reabszorpciójához is a vese-ultrafiltrátumból, hogy a keringésbe visszaforgatható legyen. Normális vesefunkció a kalcitriol endokrin hatásainak fenntartásában sem nélkülözhető. Ez a funkció önmagában hozzájárul a VDR megtartásához a célszövetekben, mivel védi a receptort a kötődés okozta leépüléstől (293). Krónikus vesebetegségben kevesebb $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ képződik. A CKD lefolyása során bekövetkező csökkent kalcitriol termelés létrejöttének részletes mechanizmusait más közlemény tárgyalja (294). Úgy tűnik, az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ hiány fő oka a 25OHD megzavart felvétele a vesék által (295). A csökkent veseműködés és a kalcitriol hiány vezet a hipokalcémiához és ezek a másodlagos hiperparatireózis (SHPT) létrejöttének kulcsfontosságú okai (295). Ez a kapcsolat sokkal nyilvánvalóbban megmutatkozik végstádiumú vesebetegéknél, akikben az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ alig kimutatható alacsony szinten van. CKD-ban a 25OHD szérum-szintek is alacsonyak. A D-vitamin hiány fő okainak és kockázati tényezőinek tárgyalása CKD-betegekben másutt található (295). A CKD-betegek 25OHD szintjei irodalmi leírások szerint a veseműködés romlásával kapcsolódóan csökkennek. Azonban nem minden tanulmány mutatta, hogy a CKD-betegek csökkent, vagy elégtelen ellátottságra utaló 25OHD vérszintjei alacsonyabbak lennének, mint az átlag népességé (296,297). CKD-betegekben a D-vitaminhiányos állapot kialakulása erős előrejelzője a vesebetegség felgyorsult romlásának és rövid távú mortalitásnak. Továbbgondolva, milyen beavatkozás lehetséges ebben a helyzetben: mivel a vese nem egyedüli helye a kalcitriol termelésnek, az elégséges 25OHD szintek fenntartása célnak tekinthető (298). Azonban a legjobb választható kezelés a CKD-betegek számára és a monitorozására legalkalmasabb biomarker továbbra is vita tárgya (299,300). A vesebetegség a D-vitamin lebomlását is megzavarja. A vesén belül az 1α -hidroxiláz és a 24-hidroxiláz

enzimeket az FGF23 és a PTH hormonálisan szabályozza. Az FGF23 felelős az 1α -hidroxiláz csökkent kifejeződéséért a vese tubulus-sejtjeiben, emellett beindítja a 24-hidroxiláz expresszióját, amely a D-vitamin lebontásáért felel.

A PTH növeli az 1α -hidroxiláz kifejeződését a vese tubulus-sejtjeiben (191,301). A CKD-betegekben jellemzően magas FGF23 és foszfor-szinteket találunk. A magas foszfátszintek korrelálnak az alacsony $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ értékekkel, de nem világos, hogy ez a viszony közvetlen, az FGF23 által aktivált kölcsönhatás, vagy más tényezők is befolyásolják (191). Ráadásul ezekben a betegekben előforduló más anyagcsere-rendellenességek, mint a cukorbetegség, metabolikus acidózis, urémia is csökkenthetik a CYP27B1 kifejeződését (302-304). A végeredmény pedig a csökkent $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ termelés. A $24\text{R},25(\text{OH})_2\text{D}$ vérszint szintén alacsonyabb náluk, mint egészségesekben (305). CKD-betegekben az FGF23 és PTH nettó hatása a D-vitamin lebomlására még mindig vita tárgya. A PTH mérés alapján döntenek el, hogy a CKD beteg kapjon-e kalcitriolt vagy sem.

Szisztémás gyulladásos válasz (SIR): Mivel a D-vitamint gyakran kapcsolják akut és krónikus gyulladásos betegségekhez, fontos tudni, hogy a 25OHD negatív akut fázis reaktantként viselkedhet (306). Ezt világosan igazolta Waldron és mtsai tanulmánya (306), amelyben a 25OHD koncentrációk csökkenését mutatták ki elektív ortopéd sebészeti műtét után, amelyet CRP emelkedéssel járó szisztémás gyulladás követett.

Terhesség: Érdekes figyelmet szentelni a terhességre, mivel számos tanulmány igazolt alacsony 25OHD szinteket várandós nőkben. Egy új meta-analízis eredménye szerint a terhes nők 54%-ának 50 nmol/L alatti a 25OHD -vitamin vérszintje (307). Számos tanulmány eredményeiből következtethető, hogy a várandósok csökkent D-vitamin szintjei a pre-eklampszia, gesztációs diabétesz és más terhességi kórforma emelkedett kockázatával járnak (308-311). Azonban ezekben, és más hasonló tanulmányokban az alacsony terhességi 25OHD szintek és a várandósságuk alatti kóros gesztációs szövődmények kapcsolatáról közölt

vizsgálati eredmények ellentmondásosak (312-313). Az ellentmondásos eredmények nemcsak a vizsgálat felépítésével kapcsolatos módszertani problémákból erednek, hanem a 25OHD mérésének módszerével is kapcsolatosak. Ismereteink szerint várandós állapotban a VDBP vérszint emelkedik, és amikor a 25OHD mérése immunoassay módszerrel történik, a vérszinteket a várt érték alá mérjük. Ennek oka, hogy a 25OHD csak részlegesen válik el a kötőfehérjétől. Másrészt, a HPLC, vagy az LC-MS/MS módszer esetén a 25OHD elválása a kötőfehérjétől teljesebb, mert a mintaelőkészítés során erős hatású kémiai oldatokat használunk (315-317). Ezek az analitikai problémák jelentős variabilitást okozhatnak a vérszintek mérési eredményeiben és a tanulmányok meta-analízise is hibás következtetéshez vezethet, különösen bizonyos immunoassay típusok, és nem szabványos mérőmódszerek használata után.

1.5.4.1.5 Genetikai tényezők

A gének és a környezet kölcsönhatásai befolyásolhatják különböző D-vitaminhoz köthető rendellenességeket és ez felkeltette számos kutató érdeklődését (318-319). Kiderült például, hogy D-vitamin anyagcserében szereplő gének sajátos változásainak jelenléte D-hipovitaminózishoz vezet. Ezért ezen sajátos géntípusok jelenléte esetén az érintetteknek személyre szabott tanácsokat kell adni a D-vitamin-ellátottságuk optimalizálása érdekében. Ikreken- és családtagokon végzett vizsgálatok során kimutatták, hogy a keringő D-vitamin koncentrációját részben genetikai tényezők határozzák meg (320,321). Igazolták azt is, hogy a D-vitamin anyagcseréjében, lebomlásában, vagy éppen receptorkötődésében szerepet játszó gének variánsai és szerkezeti, vagy működési rendellenességei is befolyásolhatják a D-vitamin szinteket (322). Azonban a 25OHD plazmaszintjeinek genetikai meghatározóit még nem tárták fel teljesen. Továbbá az epigenetikai tényezők, mint a DNS metilációs mintázat változásai és hatásuk a D-vitamin szintekre ma már számos tanulmány tárgyát képezik (322). A

génkapcsolati vizsgálatok, a kandidáns gének jelenlétének tesztelése a D-vitamin anyagcsere folyamatának egyes fázisaiban, valamint a genomszintű kapcsolódások elemzése (GWAS) találtak már a D-vitamin ellátottsággal összefüggő genetikai variánsokat.

Egyetlen nukleotid polimorfizmusok: A kandidáns gén és GWAS tanulmányok igazolták, hogy egyes egyetlen nukleotidot érintő polimorfizmusok (SNP) beavatkoznak a D-vitamin anyagcsere útvonalába (pl. a *CYP2R1*, *CYP27B1*, *CYP24A1*, *DHCR7*, a *VDR* és a *GC*) és befolyásolják a D-vitamin szinteket (322). Röviden megemlítem, hogy a VDBP-nek két gyakori SNP-je van (rs7041 és rs4588), melyek három VDP izotípus kódolásáért felelősek (Gc1f, Gc1s és Gc2). Ezen az izotípusok 25OHD-kötőaffinitási állandói különbözők. Ebből következik, hogy a különböző SNP-változattal élő személyek teljes 25OHD koncentrációja különbözik, ugyanakkor a szabad 25OHD szintjeik azonosak lehetnek. Ezeknek a polimorfizmusoknak az eloszlása különböző etnikai régiókban/csoportok között releváns tanulmányok adatai szerint eltérő és ez befolyásolhatja a totál 25OHD vérszintek értékelését, összehasonlítását különböző populációkban (323). Az SNP-változatok jelenléte vizsgálati elemzések szerint csak mintegy 5%-át teszi ki a keringő 25OHD szintek variabilitásának, és ez a hozzájárulás eltörpül a környezeti tényezők okozta sokkal jelentősebb hatás mellett (183,324,325). Tehát az SNP-jelenlét nem tűnik jelentősnek klinikai szempontból a mindennapi gyakorlatban, mivel a D-vitamin metabolitok mérésének laboratóriumi módszerfüggő varianciája 10% körüli.

1.5.5. A 25OHD vérszint mérése

1.5.5.1. Klinikai érvényesség

A 25OHD vérszintek mérését két okból végezzük:

- [1] A D-vitamin ellátottság mértékének meghatározására, és
- [2] Hiányállapot miatti pótlás hatékonyságának ellenőrzésére.

Mint korábban szó volt róla, a D-vitamin két különböző formában létezik, ezért a kezelés megfelelő ellenőrzésére mindkét forma pontos mérésére alkalmas módszereket kell alkalmazni. Tény, hogy a 25OHD pontos mérése a D-vitamin ellátottság megítélésére fontos célja volt minden klinikai laboratóriumnak, amelyek a D-vitamin metabolitok mérését vállalták. A 25OHD a választandó metabolit, amely alkalmas D-vitamin ellátottság megítélésére több okból is. A 25OHD koncentrációja legmagasabb, 25-200 nmol/L tartományba esik, ami 1000-szerese az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -nek, amely az 50-150 pmol/L tartományban található. A 25OHD mennyiségének zöme a szisztémás keringésben tartózkodik, és csak egy csekély hányada található a mérési módszerek számára nehezen elérhető helyeken, pl. a zsírszövetben (326). Általánosan elfogadott elv, hogy a D-vitamin megfelelő szintjei szükségesek a D-vitamin elégtelen felvételének következtében kialakuló rachitisz és oszteomalácia kivédésére. Mindkettőt a 25OHD alacsony vérszintjei jellemzik (159). Számos klinikai tanulmány mutatott ki összefüggést a 25OHD szintek és számos élettani/klinikai esemény között, mint amilyen a csontok mineralizációja, a törési kockázat, némely rákok, a cukorbetegség és szív-érrendszeri kóros események. Randomizált kontrollált klinikai tanulmányok és meta-analízisek pozitív dózis-válasz összefüggést igazoltak a D-vitamin adás és a törésmegelőzés között, amely hatás részben az elesés kockázatának csökkenése következtében jött létre. (327,328).

A 25OHD felezési ideje viszonylag hosszú (2-3 hét) az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -hez viszonyítva, amelynek szintje 4-6 óra alatt feleződik, ezért az előbbi szérumszintje keveset ingadozik rövid időperiódusok alatt (192,329).

A D-vitamint 25OHD-vé átalakító hidroxiláz enzimek az első fokú reakciókinetika szabályai szerint viselkednek *in vivo*. Ez azt jelenti, hogy a termelési rátájuk a D-vitamin szintektől függ, emiatt a 25OHD a D-vitamin ellátottság legjobb mutatója (330). További érvelés a 25OHD mellett, hogy ez összegezve mutatja a D-vitamin bevitt, bélből felszívódott hányadát és a bőrben termelődött mennyiséget (331). A 25OHD szérumszintjei viszonylag stabilak, és nem befolyásolja azokat az étrend (pl. kalcium bevitel), az életmód (vagyis ülő életforma, vagy rendszeres fizikai gyakorlatok), míg az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ szintjeire ez utóbbiak mind hatással vannak (326,329). A 25OHD szérumszintjei alapján meg tudjuk mondani, hogy elegendő-e a 25OHD az extrarenális szöveteknek ahhoz, hogy $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ -t termeljenek autokrin, vagy parakrin akcióikhoz. Újabb adatok feltárták, hogy több ilyen szövet tartalmaz CYP27B1-et, amely felelős a 25OHD - $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ konverzióért. A CYP27B1 szabályozása ezekben az extrarenális szövetekben általában különbözik a vesében zajló folyamatoktól és erősebben szubsztrátfüggő lehet. Ez a lelet vezetett a koncepcióhoz, miszerint a megfelelő 25OHD-vérszintek fenntartása szükséges ahhoz, hogy a D-vitamin elvégezhesse számos élettani működés szabályozását a klasszikus csont-ásványianyagcsere hatásokon túl. Az $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ mérése nem ad ilyen információt, mivel ennek extrarenális termelése nem járul jelentősen hozzá az szisztémás terheléshez (202,332).

1.5.5.2. Mérési módszerek

A 25OHD különböző módszerekkel mérhető, közöttük a leggyakrabban alkalmazott immunoassay, a protein-kötő assay, HPLC-UV, vagy az LC-MS/MS (209, 330,333-335).

1.5.5.3 A 25OHD mérési eljárások analitikai variabilitása és módszertani egységesítése

A szérum teljes 25OHD szintje [a 25OHD₂ és 25OHD₃ összege] minősíti a D-vitamin ellátottságot a fentebb leírtak szerint. A klinikai szakmai útmutatókban különböző mérési határértékekhez köti a *deficiens (elégtelen)*, az *insufficiens (hiányos)* és *kielégítő* ellátottságot, jelentősen ellentmondásos légkört teremtve ebben a témakörben (336,337). A legjelentősebb gátló tényező a klinikai és táplálkozás-egészségtani irányelvek megfogalmazásában a 25OHD mérési eredmények jelentős variabilitása eltérő mérési módszer alkalmazásakor különböző klinikai kutatási programokban (338). A módszerek egységesítésének (standardizációjának) hiánya a hibák fő oka. Lehetetlenné teszi az összegyűjtött publikált kutatási eredmények alapján releváns határértékek kijelölését megegyezéssel alapon (339). Előrelépés történt azonban ezen a téren, amikor létrejött 2010-ben a “D-vitamin egységesítési program” (Vitamin D Standardization Program, VDSP) az Egyesült Államok Nemzeti Egészségügyi Hatóságának (National Institutes of Health – NIH) intézetei, a National Institute of Standards and Technology (NIST), a Centers for Disease Control and Prevention (CDC), a Genti Egyetem (Belgium), a Klinikai Kémia Amerikai Társasága (AACC), az IFCC, Ausztrália, az Amerikai Egyesült Államok, az Egyesült Királyság, Írország, Kanada, a Koreai Köztársaság, Mexikó és Németország nemzeti egészségügyi és élelmiszerellenőrzési hatóságainak együttműködésével (340). A közösen kidolgozott referencia mérési módszer (Reference Measurement Procedure - RMP) leíró alapidokumentuma elérhető (341,342). A NIST által elsőként kifejlesztett RMP az

ID-LC-MS/MS technológián alapul a 25OHD2 és 25OHD3 mérésére emberi vészerumban (342). Ezt a módszert, mint RMP-t elismeri a Laboratóriumi Medicina Kimutathatósági Közös Bizottsága (Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine). Később Stepman és mtsai (Genti Egyetem, Belgium) is kifejlesztettek egy ID-LC-MS/MS módszert a 25OHD2 és 25OHD3 meghatározására, amelyet szintén elfogadott RMP-nek a JCTLM (343). Végül a CDC is létrehozott egy ID-LC-MS/MS eljárást, amelyet szintén elismert a JCTLM, mint RMP-t a 25OHD mérésére (344). Jelenleg egyedül ez a három módszer rendelkezik a JCTLM szakmai szervezet RMP-ként elismerő támogatásával a 25OHD2 és 25OHD3 meghatározására. Így vált lehetővé ennek a két D-metabolitnak módszertanilag egységesített mérése. Mivel az egységes mérési módszertan nem nélkülözhető a kritikus határértékek, vágóérték nemzetközi érvényű meghatározásához az *elégtelen*, *hiányos* és *kielégítő* ellátottság között, a US Centers for Disease Control (CDC) elindított egy nemzetközi D-vitamin mérés módszeregységesítő és tanúsítvány programot (Vitamin D Standardization Certification Program – VDSCP) (340). Ennek a programnak köszönhetően rövid időn belül látványosan megemelkedett a sztenderdizált 25OHD mérések száma. A VDSCP a programot támogató intézetek munkájának minőségét jelentősen javította és lehetővé tette, hogy a 25OHD mérések egységesítése a hitelességet növelje – egyben a kialakult VDSCP alapelvek gerincét képezhetik jövőbeli módszerfejlesztési folyamatoknak (345,346).

Ennek a referencia mérési rendszernek alkotóelemei:

- [1] az általánosan hivatkozható “aranymérce” RMP-k,
- [2] a NIST egységesített referencia anyagok meghatározása (Standard Reference Materials – SRM),
- [3] a VDSCP (a CDC által kifejlesztve, bevezetve és végrehajtva),
- [4] a pontosság-orientált teljesítmény mérése külső minőségellenőrzési rendszerben (PT/EQA) (az Amerikai Patológus Kollégium - College of American Pathologists - CAP) és a D-vitamin

külső minőségellenőrzési rendszer (Vitamin D External Quality Assessment Scheme - DEQAS) általi végrehajtással (342,347).

[5] a korábban végzett tanulmányok mérési adatainak retrospektív egységesítése,

[6] laboratóriumi munkateljesítmény-útmutató összeállítása mind az RMP-k által irányított referencia-laboratóriumok, mind pedig a VDSP által kifejlesztett rutin laboratóriumok számára (347).

A VDSP elfogadta a 25OHD mérésekre alkalmazta a Stockl és mtsai által különböző típusú laboratóriumokra és assay-típusokra kifejlesztett teljesítmény-mutatókat (347). Ezek a mutatók megszabják az RMP-k számára, hogy a teljes CV és az átlagos hiba mértéke egyenlő, vagy kevesebb kell legyen, mint 5% illetve 1,7%. Rutin klinikai laboratóriumokban a teljes CV és az átlag hiba nincs ilyen szigorúan maximálva, de elvárható, hogy ne haladja meg a 10%-ot, illetve az 5%-ot.

Mindazonáltal, mind a mai napig számos immunoassay alkalmazásakor találkozunk a 25OHD mérések különböző minőségi problémáival. Ezen meghatározásokban a páciens egészségi állapotával, vagy az analitikumot tartalmazó mátrix tulajdonságaival kapcsolatos nem várt eltéréseket láthatunk, pl. várandós nők mintáiban, sürgősségi osztály betegeiben, hemodialízis program résztvevőiben, csontritkulásos betegekben, vagy májelégtelenségben szenvedők vizsgálati mintáiban. Az ilyen páciensek szérummintái másként viselkednek immunoassay, mint LC-MS/MS mérési rendszerben (315,348-352). Ennek a különbségnek egyik oka a mérés D-vitamin kötőfehérje (DBP)-függősége az immunoassay közegben, de lehetnek máig még ismeretlen egyéb okok is. A 25OHD3 és 25OHD2 szintek immunoassay módszerekkel történő mérésekor szintén adódnak nehézségek (351,353,354). Míg az LC-MS/MS módszerek szét tudják választani a 25OHD3 és 25OHD2 molekulákat, immunoassay esetében a 25OHD3 és 25OHD2 iránt különböző affinitású ellenanyagokat alkalmazunk, emiatt gyakran felül-, vagy alulmérjük a 25OHD szinteket attól függően.

Ráadásul némelyik immunoassay fajta használatakor a cél-analitikumon túl keresztreakciót tapasztalhatunk más D-vitamin metabolittal, mint pl. a 24,25(OH)₂D (355-356). Másrészt viszont az LC-MS/MS módszerek nem mindig tartalmazzák a 25OHD epimérjének leválasztási lépését. Ennek következtében tévesen magas 25OHD értékeket kaphatunk, különösen kisgyermek vizsgálatokor (356-358). A legtöbb immunoassay azonban nem mutat keresztreakciót az epimérrel. A felsorolt körülmények, beleértve a 25OHD₃ és a 25OHD₂ iránti eltérő affinitást, a keresztreakciót a 24,25(OH)₂D-vel, a mátrix-, vagy páciens-függő biológiai változatosságot, megnehezítik a jelenleg forgalomban lévő immunoassay reagensek használatának egységesítését és velük pontos mérések végzését.

1.5.5.4 Az “IFCC Committee on Bone Metabolism” ajánlásai (150)

1. Preanalitikai ajánlások:

- A 25OHD igen stabil analitikum, mérhető a szérumban és a plazmában is.
- Nincs bizonyíték arra, hogy más preanalitikai tényezőt figyelembe kellene venni vérvételnél. Ha mégis ilyen felmerülne, számításba kellene venni hatásukat az eredmények értékelésekor.

2. Analitikai ajánlások:

- Valamennyi klinikai és kutatólaboratóriumot ösztönözni kell, hogy részt vegyenek egy pontossági szempontú külső minőségellenőrző programban (pl. a CAP, vagy DEQAS). Ezek szolgáltatói rendszeresen végezzenek keresztellenőrzéseket az adott laboratóriumokban annak biztosítására, hogy a QA minták mérési eredményeihez hasonlóan a klinikai minták mérési adatai is a reális értéket tükrözzék az eltérő assay rendszerekben is.

- A reagensek gyártóit, valamint a kutató és referencia laboratóriumokat ösztönözni kell részvételre a D-vitamin mérés módszeregységesítő és tanúsítvány programjában (VDSCP).
 - A páciens- és terhességfüggő sajátos változások befolyásolják a vizsgálati szérum összetételét és ezáltal a mérési eredményeket, ezért ösztönözni kell a gyártókat az immunoassay minőség javítására. Csak a pontosan jellemzett és egységesített LC-MS/MS módszerek képesek jelenleg a 25OHD mérésére minden szérummintában, azok bármilyen állapotában.
 - Publikált tanulmányokban a totál 25OHD szinteket körültekintően kell értékelni és az alkalmazott módszer egységesítésének állapotát is figyelembe kell venni. Meta-analízisekbe csak azokat a tanulmányokat szabad beválasztani, amelyek egységesített módszereket alkalmaztak és azokat, amelyeknél az egységesítés visszamenőleg megtörtént a VDSP módszerek szerint.
3. Poszt-analitikai ajánlások:
- A totál 25(OH) értékeket SI egységekben kell közölni (nmol/L) a tömeg egység (ng/mL) helyett.

1.5.6. D-vitamin és a mikrobiális fertőzések csökkentésének mechanizmusai

A D-vitamin hatások többségét a calcitriolnak tulajdoníthatjuk. A calcitriol a sejmagba jut és a nukleáris D-vitamin receptorhoz kötődik, ami egy DNS-hoz kötött fehérje, közvetlen kapcsolatban a célgénnek közelében lévő, kromatin-aktív komplexeket vonzó szabályozó szekvenciákkal, amelyek a transzkripciós folyamat termékeinek genetikai és epigenetikai módosításában vesznek részt (185). A calcitriol ismert funkciója a szérum kalcium-

koncentráció szabályozásának segítése, amit a paratireoidea-hormonnal visszacsatolási kapcsolatban végez (166).

Számos összefoglaló közlemény foglalkozik a D-vitamin vírusfertőzések kockázatát csökkentő hatásaival (359-367). A D-vitamin több mechanizmus segítségével csökkenti a mikrobiális fertőzés és következményes halálozás kockázatát. Egy nem régi áttekintő közlés a D-vitamin náthaellenes hatását három csoportba sorolt mechanizmusokkal magyarázza: fizikai barrier erősítésével, természetes sejtes immunitással és adaptív immunitással (366). A D-vitamin segíti fenntartani a sejtek tartós, a hézagos (gap), és tapadásos kapcsolatait (pl. az E-cadherin segítségével) (368). Számos közlemény tárgyalja, miként zavarják meg a vírusok a sejtkapcsolatok integritását, ezáltal növelve a vírusok és egyéb fertőző kórozők testszövetekbe hatolási lehetőségét (369-371).

A D-vitamin fokozza a veleszületett sejtes immunitást részben antimikrobiális peptidek, köztük a humán cathelicidin, LL-37 (372,373), valamint a defenzinek (374) képződésének 1,25 dihidroxivitamin D általi beindításával. A cathelicidinek közvetlen antimikrobiális hatást mutatnak számos mikroba, köztük a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok, burokban lévő [csomagolt] és nem burkolt [csomagolatlan] vírusok és gombák ellen (375). Ezek a gazdaszervezetből származó peptidek inaktiválják patogéneket és hatástalanítani képesek az endotoxinokat (376). Egér modellben az LL-37 csökkentette az influenzavírus replikációját (377). Egy másik kísérletes tanulmányban az 1,25(OH)₂D más mechanizmussal csökkentette a rotavírus replikáció sebességét in vitro és in vivo (378). Egy klinikai vizsgálatban napi 4000 IE D-vitamin fékezte a dengue vírusfertőzés folyamatát (379).

A D-vitamin fokozza a sejtes immunitást is, részben a veleszületett immunrendszerben támadt citokin-vihar csillapításával. A veleszületett immunrendszer mind pro-inflammatorikus, mind anti-inflammatorikus citokineket termel válaszul vírusos és bakteriális fertőzésekre, amint azt COVID-19 fertőzött betegekben megfigyelték (380). A D-vitamin csökkenteni képes a

gyulladásfokozó Th1 citokinek, mint a tumor necrosis factor és az interferon kifejeződését (381). D-vitamin adása csökkentette a gyulladásfokozó citokinek képződését és növelte a gyulladásellenes citokinek expresszióját a makrofágok által (367).

A D-vitamin az adaptív immunitás modulátora (366,382); a 25OHD3 vitamin csökkenti az 1. típusú T-helper (Th1) sejtek által közvetített válaszreakciókat, elsődlegesen a gyulladásos citokin IL-2 és interferon gamma (INF γ) termelésének elnyomásával (383). Továbbá az 1,25(OH)2D3 fokozza a citokintermelést 2. típusú T-helper sejtek (Th2) által, ami fokozza a Th1 sejtek közvetett elnyomását – kiegészítve számos más sejttípus ezirányú közös akcióját (384). Mindezekén túl az 1,25(OH)2D3 támogatja a T-szabályozó sejtek aktiválódását, ezáltal a gyulladásos folyamatok ellen hat (385). A szérumban 25OHD vérszintek az életkor előrehaladtával csökkennek (386), ez a figyelemre méltó jelenség összefüggésre utalhat, mivel a COVID-19 fertőzöttek halálozási rátája is növekszik az életkorral (387). A jelenség okai között lehet, hogy az idősek egyre rövidebb időt töltenek a szabadban, napfényben és a bőr csökkenő 7-dehidrokoleszterin-szintje (388). Továbbá, egyes gyógyszerek csökkentik a szérumban 25OHD koncentrációját a pregnane-X receptor aktiválásával (389). Ilyen gyógyszerek az antiepileptikumok, rák kemoterápiás szerek, antibiotikumok, gyulladásellenes készítmények, hipertónia gyógyszerek, anti-retrovirális szerek, terápiás endokrin vegyületek és némely fitoterápiás készítmény. A gyógyszereszedés, jellemzően egyre több készítmény egyidejű szedése mind gyakoribbá válik az életkor növekedésével.

A D-vitamin készítmények szedése szintén fokozza az antioxidáns védelmet nyújtó fehérjék (glutathion reductáz és glutamát-cisztein ligáz módosító alegység) génjeinek kifejeződését (390). A fokozott glutathion termelés csökkentheti az igazoltan antimikrobiális hatású aszkorbinsav (C-vitamin) hasznosulását (391,392) és a COVID-19 megelőzésére és kezelésére is ajánlott az aszkorbinsav (C-vitamin) (393) használata.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. A D-vitaminhiányos állapot gyakoriságának, évszaki változásainak és csontanyagcsere-paraméterekkel való kapcsolatának vizsgálata menopauza utáni nőkben és 50 évesnél idősebb férfiakban.
2. A szérum szklerosztin, oszteoprotegerin és a nukleáris $\alpha\beta$ -faktor ligand receptor-aktivátor (RANKL) vérszintek vizsgálata és kapcsolatuk elemzése az életkorral, cisztatin C szintekkel és a csontanyagcserével 50 évnél idősebb férfiakban.
3. A hormonszintek és a csontforgalmi-marker-változások elemzése nőkben várandósság és laktáció alatt.
4. A jelenleg forgalomban lévő PINP és β -CTx vértesztekkel nemzetközi együttműködésben végzett tanulmányok eredményeinek összehasonlítása és érvelés harmonizációjuk mellett.
5. A transzdermális ösztrogén bevitel csontanyagcsere-hatásainak vizsgálata posztmenopauzális szisztémás lupus erythematosus (SLE)-betegekben.
6. A D-hipovitaminózis prevalenciájának meghatározása és a csontanyagcsere jellemző folyamatainak elemzése 2. típusú cukorbetegségben és arthritis psoriatica-betegekben.
7. A 25-hidroxitamin D meghatározások standardizációja.
8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció elemzése.
9. A diéta, földrajzi szélesség és 25-hidroxitamin D koncentrációk kapcsolatának meghatározása Közép-Kelet Európában.
10. Bizonyítékok bemutatása a D-vitamin adás hatékonyságáról a COVID-19 fertőzések és halálozás kockázatának csökkentésében.

3. VIZSGÁLATI SZEMÉLYEK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány

3.1.1. Posztmenopauzális nők tanulmánya (394)

Debrecenben (47° szélességi és 21° hosszúsági GPS koordináták) élő posztmenopauzális nőket hívtunk meg a tanulmányba. Összesen 319 személy írta alá felvilágosítás után a részvételbe beleegyező nyilatkozatot (a tanulmányt a helyi intézményi kutatásetikai bizottság engedélyezte), megfeleltek a besorolási feltételeknek és híján voltak a kizáró feltételeknek. A résztvevők toborzását a 2002. január és december között végeztük.

A Debreceni Regionális Osteoporózis Centrum (alapítása 1992-ben) a Debreceni Egyetem Klinikai Központjában működik, rendelkezik az axiális csontsűrűség-mérésre alkalmas denzitométerrel, szakképzett orvos és asszisztens személyzettel és a tanulmány évében összesen 6760 páciens vizsgálatát végezte, az esetek mintegy harmadában kizárólag posztmenopauzális osteoporózis szűrése céljából.

Azokat a személyeket hívtuk részvételre, akik első vizsgálatra, kizárólag szűrésre érkeztek Centrumunkba. Beutalásuk csak posztmenopauzális állapotuk miatt történt a küldő intézményekből, a tanulmány szervezése során nem kértünk válogatást, emiatt természetesnek láttuk, hogy egy véletlenszerű népességi mintából gyűltek össze a résztvevők.

Besorolási szempontok a következők voltak: posztmenopauzális nő, járóképes, otthonában élő debreceni lakos, aki kizárólag osteoporózis szűrés céljából érkezett Centrumunkba – első csontsűrűség-mérésre – és egészségesnek vallták magukat.

Kizáró körülmények: ismert, meglévő csontanyagcsere-betegség, súlyos máj, vagy vesebetegség, csontanyagcserét befolyásoló gyógyszerek szedése (köztük kalcium, D-vitamin-pótlás) és előzményi oszteoporotikus törés.

Részletes anamnézis-felvételt és alap laboratóriumi vizsgálatokat végeztünk, melynek kóros értékei kizárást eredményeztek. Minden résztvevőnek normális szérum kalcium- és foszfor-értékei voltak. Felkészített nővér kérdezte a pácienseket hitelesített kérdőívvel a napi kalcium-felvétel megállapítására.

Kettős energiájú röntgensugár-elnyelődésen alapuló (DXA) vizsgálatot végeztünk LUNAR Prodigy (GE Lunar Corp., Madison, Wisc., USA) csont denzitométerrel. A csontsűrűséget (BMD) az ágyéki gerincen (LS) az L2-L4 csigolyákon és a femurnyakon (FN) mértük. Az alkalmazott technika variációs koefficiense (CV) 0,8% volt a naponta végzett anatómiai gerincfantom-mérések alapján.

A BMD mérési értékeket T-score-ban is megadtuk, ami a fiatal személyek maximális csúcs-csonttömegétől való eltérés mértéke szórási (SD) egységekben. A T-score értékét német népességi adatbázis adataihoz viszonyítva a denzitométer vezérlő számítógépe adja meg. A leletek T-score alapján történő minősítését (normális, oszteopénia v. oszteoporózis) a WHO osztályozás szerint végeztük (395).

Éhomi vérmintákat vettünk laboratóriumi vizsgálatokra. A szérum 25OHD és intakt PTH mérését radioimmunoassay ill. immunoradiometriás assay módszerekkel végeztük (Diasorin Inc., Stillwater, Minn., USA). A szérum OC és β -CTx elektrokemilumineszcens immunoassay módszerrel mértük (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország). Az inter-assay CV <13% volt a 25OHD mérésnél, <11% a PTH-nál, <5% az OC méréskor és <7% a β -CTx assay esetében. A D-hipovitaminóvizist <50 nmol/L értékek esetén mondtuk ki Lips (396) ajánlása alapján. A napsütéses órák számát a Magyar Meteorológiai Szolgálattól kaptuk meg (397).

A mérési adatok statisztikai értékelésekor átlag, medián, terjedelem és szórás (SD) értékeket adtam meg az adathalmaz jellegétől függően. A Kolmogorov-Smirnov tesztet használtuk az eloszlás normalitásának vizsgálatára. A Mann-Whitney U-teszt szolgált két mérési csoport adatainak összehasonlítására. Az egy-utas variancia analízist (ANOVA) használtuk a csoport-összehasonlításra. A változók közti korrelációt regressziós analízissel teszteltük. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag jelentősnek. A számításokat a Statistical Package for Social Sciences (SPSS) statisztikai program 9,0 verziójával (SPSS Inc., Ill., USA) végeztük.

3.1.2 A HunMen tanulmány (398)

Debrecenben élő férfiakat hívtunk a tanulmányba 2009. szeptember és 2010. szeptember között. Ez idő alatt 229 önkéntest soroltunk be véletlenszerű kiválasztással. A tanulmányt az egyetemünkön működő regionális hatáskörű Intézményi Kutatásetikai Bizottság engedélyezte az emberek részvételével végzett kutatások etikai alapdokumentuma, a Helsinki Nyilatkozat követelményei alapján. Az engedély kiadásának alapja a tanulmányterv és a lebonyolítási menetrend dokumentumának megfelelése volt, amely magába foglalta a potenciális résztvevők önkéntes, felvilágosítás után aláírandó beleegyező nyilatkozatának szövegét, valamint a beválasztási és kizárási kritériumokat. Ez utóbbiaknak nem megfelelő személyek ($n=23$) adatai nem szerepeltek a végső statisztikai elemzésekben.

A résztvevők toborzásához háziiorvosi rendelőkben plakátokon közzétett ismertető felhívást alkalmaztunk. Beválasztás feltétele/célja volt a járóképes, otthonában élő 50 évnél idősebb, egészségesnek tekinthető férfi. Kizáró körülmény volt ismert fennálló csontanyagcsere-rendellenesség, máj-, vagy vesebetegség (Laboratóriumi leletek: $\geq 2x$

felülmúlt felső referenciahatár (upper limit of normal, ULN) a teljes bilirubin, aszpartát aminotranszferáz, alanin aminotranszferáz, gamma-glutamil transzpeptidáz, alkalikus foszfatáz, laktát dehidrogenáz, kolieszteráz, urea, kreatinin, és húgysav értékekben), valamint a csontanyagcserét befolyásoló gyógyszerek használata (kivéve a kalcium- és D-vitamin-pótlást).

Részletes egészségügyi anamnézist vettünk fel, majd vérvételt végeztünk éjszakai koplalás után. Az összes résztvevő szérumának teljes kalcium- és foszforszintje normál referenciahatárokon belül volt. Klinikai tanulmányokban jártas képzett szakdolgozók által validált kérdőívekre felvett válaszok alapján értékeltük az étrendi kalciumfelvétel mennyiségét (399), a törési kockázatot a FRAX program segítségével számítottuk ki (400).

A FRAX programot a páciensek prospektív törési kockázatának megállapítására fejlesztették ki. A program egyes személyek klinikai törés-kockázati tényezőinek és combnyak-BMD mérési adatának integrálásával számolja ki a kockázat mértékét. A FRAX modell elkészítése során, különböző földrajzi régiókban végrehajtott népességi kohorsz vizsgálatok csonttrikulási és -törési adatait vették figyelembe, valamint az adott régiókban, országokban az általános mortalitási adatokat. A vizsgált régiók a világ jelentős részét képviselték, mint Európa, Észak-Amerika, Ázsia és Ausztrália. A FRAX program jelenlegi formájában internetes kereső oldalakon elérhető és számos országra specifikus adatok alapján az adott országban érvényes előrejelzést képes generálni. A FRAX algoritmus 10 igen/nem válasz és két számadat (életkor, combnyak-BMD érték) megadásával kiszámolja a 10 éves csípőtörési és a szintén 10 éves összes fontosabb töréstípus (klinikai csigolya-, alkar, csípő és felkar) összesített %-os kockázatát.

A kettős energiájú röntgensugár-elnyelődésen (DXA) alapuló csontsűrűség (BMD)-mérést LUNAR Prodigy (GE-Lunar Corp., Madison WI, USA) készülékkel végeztük az L1-L4 ágyéki gerincszakaszon (Lumbar Spine, LS) és a combnyakon (Femur Neck, FN).

A plazma 25OHD méréseket nagynyomású folyadék-kromatográfiás Jasco HPLC rendszerrel (Jasco, Tokyo, Japan) és Bio-Rad reagens egységcsomagokkal (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) végeztük. A szérum PTH, OC, β -CTx és PINP méréseket elektro-kemilumineszcens immunoassay technikával (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország) hajtottuk végre. A 25OHD mérések inter-assay CV értéke $<3,5\%$ volt, a 25OHD2 alsó detektálási határa 13,1 nmol/L, a felső határ 606 nmol/L; a 25OHD3 alsó kimutatási határértéke 16,5 nmol/L, a felső detektálási határ 624 nmol/L koncentráció volt. A PTH inter-assay CV $<7\%$, az alsó detektálási határ 0,127 pmol/L, felső határ 530 pmol/L volt; az OC mérés CV értéke $<4\%$, kimutatási határértéke 0,5 $\mu\text{g/L}$, mérési felső határ 300 $\mu\text{g/L}$; a β -CTx CV-je $<7\%$, alsó mérési limit 0,010 $\mu\text{g/L}$, felső határ 6 $\mu\text{g/L}$; a PINP CV-je $<6\%$, alsó mérési határ 5 $\mu\text{g/L}$, felső határ 1200 $\mu\text{g/L}$ volt.

A tanulmány időtartama alatti napsugaras órák számát Debrecen környékére az Országos Meteorológiai Szolgálat adta meg (397).

Statisztikai adatainak a mérési adathalmazok jellegének megfelelően középértéket, a mért adatok határértékeit, és a szórást (SD) adják meg. Az adatok eloszlásának normalitását a Kolmogorov-Smirnov teszttel ellenőriztük. A vizsgált paraméterek értékeinek eloszlásától függően a Mann-Whitney U tesztet, vagy a kétmintás t-próbát használtuk két csoport összehasonlításakor. Csoport-összehasonlításakor az egy-utas variancia-analízist (ANOVA) alkalmaztuk. A változók közötti korrelációt regressziós analízissel vizsgáltuk. A $p<0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Minden statisztikai elemzést a PASW statisztikai csomag 18,0 verziójával végeztük (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3.2. A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány

3.2.1. Szklerosztin tanulmány (401)

A HunMen tanulmányban (398) gyűjtött éhomi szérummintákat (n=194) használtuk a szklerosztin mérésekre.

A szérum szklerosztint egy enzim-kötésű immunoszorbens assay használatával mértük (Biomedica Medizinprodukte GmbH + Co KG, Wien, Austria). Ez a reagenskészlet poliklonális kecske antihumán szklerosztin ellenanyagot használ elfogó antitestként és biotin-jelölésű egér monoklonális ellenanyagot a detektálásra.

A plazma cisztatin C mérését partikulum részecske-erősítésű nefelometriás immunoassay módszerrel (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg, Németország) hajtottuk végre. A módszer inter-assay CV-je <4% volt, alsó detektálási limitje 0,05 mg/L, a felső mérési határ 7,58 mg/L.

Szérum kreatininszintet 2. generációs (kompenzált) Creatinine Jaffe módszerrel mértünk a COBAS c111 rendszer alkalmazásával (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország). A vesebetegek 4-változós módosított diétájára (MDRD) alkalmazott egyenletet használtuk a becsült glomeruláris filtrációs ráta (e-GFR) kiszámolására (402).

A Kolmogorov-Smirnov tesztet alkalmaztuk a mérési adatok eloszlásának vizsgálatára. A nem-normál eloszlást mutató adatokat logaritmikus transzformációval normalizáltuk. A korrelációt Pearson korrelációs elemzéssel teszteltük. További kapcsolatokat lineáris regressziós elemzéssel vizsgáltunk. A módosító hatásokat többváltozós variancia analízissel elemeztük. A $p < 0,05$ értéket tekintettük a statisztikailag szignifikánsnak. Az elemzéseket az SPSS Statistics csomag 19,0 verziójával végeztük (IBM Corps., Armonk, NY, USA).

3.2.2. Az OPG és RANKL tanulmány (403)

A HunMen keresztmetszeti obszervációs tanulmány résztvevőitől vett 194 éhomi szérumminta vizsgálatát végeztük el (398).

A szérum teljes OPG és sRANKL szintek mérését enzim immunoassay alkalmazásával végeztük (Biomedica Medizinprodukte GmbH, Bécs, Ausztria). Az OPG assay az analitikum monomér, dimér és ligand-kötésű formáit együtt méri monoklonális egér anti-OPG elfogó antitesttel, és biotin-jelzésű poliklonális kecske-ellenanyaggal, mint mérő antitesttel. Az sRANKL assay a szolubilis, komplexet nem képző humán RANKL mérésére szolgál és humán rekombináns OPG-t használ a cél-analitikum elfogására és biotin-jelzésű kecske-antitestet a mérésre. A szérum ösztadiol (E2), tesztoszteron (T), szexhormon-kötő globulin (SHBG) szinteket elektrokemilumineszcens immunoassay módszerrel (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország) mértük. Az OPG-mérési módszer inter-assay variációs koefficiense <8%, az alsó és felső mérési határa 0,14 pmol/L, illetve 30 pmol/L. Az sRANKL CV-je <6%, alsó és felső mérési határa 0,02 pmol/L, illetve 2 pmol/L; az E2 mérés CV-je <7%, mérési tartománya 0,18 nmol/L és 15,78 nmol/L közötti; a T-mérés CV-je <9%, mérési tartománya 0,087 nmol/L és 52 nmol/L közé esett; az SHBG mérés CV-je <6%, mérési tartománya 0,350 nmol/L és 200 nmol/L közötti volt.

A szabad ösztadiol-index (FEI) és a szabad tesztoszteron-index (FTI) számítása az összes 17β -ösztadiol és az SHBG koncentráció hányadosából, illetve az összes tesztoszteron és az SHBG koncentráció hányadosából történt. Kiszámoltuk még az eGFR értékét a krónikus vesebetegség epidemiológiai kollaboráció (CKD-EPI) által használt kreatinin-cisztatin C egyenlettel (404,405). A Kolmogorov-Smirnov teszttel vizsgáltuk a mérési adatok eloszlását. A paraméterek többsége nem-normál eloszlásúnak bizonyult, ezek elemzéséhez a Mann-Whitney U-tesztjét használtuk. A korrelációs elemzésekhez a Spearman rho-tesztet

alkalmaztuk. Az összefüggések tesztelését lineáris regressziós módszerrel vizsgáltuk, a nem-normál eloszlású adatok esetében logaritmikus transzformáció után. Továbbá az életkor befolyásoló hatásának csökkentésére a medián életkor alapján képeztünk két alcsoportot. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Az összes statisztikai elemzést az SPSS Statistics programcsomag 19,0 verziójával végeztük (IBM Corps., Armonk, NY, USA).

3.3. A terhességi és laktációs tanulmány (42)

Első kiviselt terhességük és szülésük utáni 12 hónapig tartó időszakban vizsgáltunk 20 egészséges nőt. A toborzás azok közül történt, akik még nem voltak várandósok, de 3 hónapon belül terhességet terveztek. A besoroltak terminusban szültek és csecsemőjük szoptatását legalább 12 hónapig tervezték. A feltételeknek megfelelő első 20 nő került a tanulmányba. A vizsgálati időszak tervezett időpontjaiban csont ásványianyag-denzitás (BMD) mérése és mintavétel történt laboratóriumi vizsgálatokra (406). A tanulmány kizárási kritériumai voltak az előzményi infertilitás, jelen terhességben magasvérnyomás, gesztációs diabétesz, koraszülés, ikerterhesség, előzményi endokrin-, máj-, vese-, szívbetegség, valamint csontanyagcserét befolyásoló gyógyszerek szedése, kivéve a vitamin készítményeket.

A laktációs időszaknak becsléssel azt tekintettük, amelyben az anyatej adta a csecsemő energiaszükségletének kétharmadát. A jelentkezőket kikérdeztük múltbani, vagy jelen betegségeikről, gyógyszereszedésről, kávéfogyasztásról, dohányzásról és egy étrendi kérdőívvel meghatároztuk napi kalcium-bevitelüket. Reggeli vér- és vizeletmintákat gyűjtöttünk laboratóriumi vizsgálatra (i) a fogamzás előtti 3 hónapon belül (alap- minta- B), (ii) a gesztáció 22. és 24. hete között (G), szülés után 6 napon belül (PP), hat hónappal utána (PP6), és 12 hónappal szülés után (PP12).

A vizsgálati tervet helyi intézményi kutatásetikai bizottság (IKEB) elfogadta. Az önkéntesek felvilágosítás után a részvételi beleegyező nyilatkozatot aláírták.

Vérmintákat vettünk a szérumban 25OHD mérésére, melyet az Incstar Corp. USA ¹²⁵I RIA reagenscsomagjával mértünk (intra-assay CV: <10%, inter-assay CV: <12%; a PTH-t CoTube PTH IRMA módszerrel (Bio-Rad Diagnostics Group, USA), intra-assay CV: <7%, inter-assay CV: <13%; a BSAP-t a Metra Biosystems Inc., USA -9 ALKPHASE-B módszerével (intra-assay CV: <7%, inter-assay CV: 9%); az oszteokalcint (OC) ¹²⁵I-osteocalcin RIA kittel (Institute of Isotopes, Hungary) – (intra-assay CV: <2%, inter-assay CV: <6%); a PICP-t a finn Orion cég ¹²⁵I-RIA kitjével (intra-assay CV: <6%, inter-assay CV: <8%), a szérumban kalciumot, foszfátot és kreatinint akkor szokványos módszerekkel mértük. Vizeletből deoxipiridinolin (D- pyr) keresztkötéseket határoztunk meg a Metra Biosystems Inc., USA módszerével (intra-assay CV:<5%, inter-assay CV:<9%), valamint kalcium szinteket. A reagens egységcsomagokkal megadott normál referenciatartományokat alkalmaztuk az egyes analitikumokra.

Leíró statisztikai adatokat számoltunk (átlag, szórás, első és harmadik tercilis és értéktartomány) a folyamatos változókra. Variancia analízist végeztünk a vizsgálati időtartamának különböző pontjain kapott mérési adatokkal. A $p<0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Az elemzéseket a PC-SAS (Statistical Analysis System) for Windows programcsomag 6,12 verzióját alkalmaztuk.

3.4. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata

(407,408)

Az IFCC-BM bizottság által szervezett multicentrikus tanulmányhoz négy oszteoporózis centrumban (Athén, Görögország; Koppenhága, Dánia; Liége, Belgium és Sheffield, Egyesült Királyság) gyűjtött, 796 személytől vett szérumszám- és EDTA-plazma mintákat használtunk. A mintákat duplikátumban elemeztük a rendelkezésre álló rutin klinikai laboratóriumi módszerekkel a gyártók használati utasításai szerint. (409)

A PINP mérési egységcsomagokat gyártó cégek (IDS, Roche és Orion Diagnostica) reagenseket és kalibrátorokat bocsájtottak a résztvevő laboratóriumok számára. Az összes reagens ugyanazon LOT-ból származott és ugyanazon kalibrátor használata mellett történtek a mérések (a RIA kivételével). A Roche reagens alkalmazása mindegyik laboratóriumban a cobas e411 analízátorral történt. Az összes laboratóriumnak megfelelő előzetes gyakorlata volt ezekkel a módszerekkel, kivéve az Orion Diagnostica RIA-t, amelyet csak a belga és dán laboratóriumban használtak.

A PINP szérumszám- és plazmamintákban mért értékeinek, valamint a különböző módszerekkel kapott eredmények egyezőségének, illetve a eltérések okainak vizsgálatára a következő statisztikai módszereket használtuk: a Passing-Bablok regresszió, a Bland-Altman plot, a V- alakú modell szerinti értékelés, a konkordancia korrelációs koefficiens számítása, valamint egy generalizált lineáris statisztikai modell alkalmazása.

3.5. A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány (410)

Posztmenopauzális SLE-beteg nőket (életkor-tartomány 42-70 év, medián 55 év; n=32) soroltunk véletlenszerűen a kezelt, illetve a placebo-csoportba. A kezelt páciensek véletlen kiválasztással napi 50 µg 17β-ösztradiolt kibocsájtó transzdermális tapaszt (Dermestril, Rottapharm, Olaszország, hazai forgalmazó a CSC Pharmaceuticals), a placebo-csoport a gyártó által készített hatóanyag nélküli tapaszt kapott. A résztvevők és a tanulmányt végrehajtó személyzet sem ismerte a résztvevők csoport-beosztását. Az aktív és placebo tapasztakat a gyártó randomizált blokkokban, bennük növekvő sorszámokkal bocsátotta rendelkezésünkre, kiosztásuk a résztvevőknek a számok sorrendjében történt. A számokkal jelzett tapaszt placebo- vagy aktív besorolását zárt borítékban kaptuk, melyeket csak a toborzás, adatfelvétel és laboratóriumi vizsgálatok befejezése után bontottunk fel.

Az aktív tapasztok 4 mg hatóanyagot tartalmaztak és naponta 50 µg-ot juttattak a keringésbe. A tapaszt hetente 2x, hétfőn és csütörtökön cserélték.

A tapaszton kívül mindkét csoport tagjai napi 5mg orális medroxiprogesztéron-acetátot kaptak (Provera, Pharmacia & Upjohn, Mich., USA), 500 mg kalcium karbonátot és 400 NE D3-vitamint.

Beválasztási kritérium volt az SLE diagnózis (az American College of Rheumatology – ACR SLE kritériumai szerint) (411); több, mint 3 éve fennálló menopauza, vagy az FSH>40 NE/L és E2<75 pmol/L, mint endokrin kritériumok; a BMD T-score<1,0 az L1-L4 csigolyákon, vagy a bal combnyakon; az életkor 70 év; a csontanyagcsere, vagy kalcium-háztartás zavarának hiánya. Kizárási kritérium volt a tromboembólia fokozott kockázata (aktivált protein C [APC] – rezisztencia; az V. faktor Leiden mutációja; protein C, protein S, antitrombin III hiányosságai; lupusz antikoaguláns jelenléte; anti-kardiolipin és anti-β2-glikoprotein antitestek; alacsony plazminogén szint; protrombin polimorfizmus); súlyos

vesebettség (glutamil oxálecetsav-transzamináz, glutamil piruvát transzamináz, vagy a teljes alkalikus foszfatáz értékeknek a normál felső határt 2,5-szeresen meghaladó értéke); lupus nephritis jelenléte (eGFR \leq 40 ml/min); hysterectomia; ismeretlen eredetű hüvelyi vérzés; ösztrogén-függő betegség (emlőrák, méhtest-rák); hipertónia, előzményi mélyvénás trombózis, tüdőembólia és miokardiális, vagy agyi tromboembólia.

Az alapértékeket 0 hónapban vettük fel, ezt követően 3 (M3), 6 (M6), 9 (M9) és 12 hónap (M12) időpontban. Csontsűrűség (BMD) méréseket végeztünk kettős energiájú röntgensugár elnyelésen alapuló Hologic QDR4500A típusú denzitométerrel (Waltham, Mass., USA) a Debreceni Regionális Osteoporosis Centrumban a tanulmány "0", "M6" és "M12" időpontjaiban. A mérési módszer variációs koefficiense (CV) vizsgáló helyünkön 0,8% volt anatómiai fantommérésekből számítva, melyeket heti 3 alkalommal végeztünk a tanulmány időtartama alatt. Mérési helyek az L1-L4 ágyéki gerinc (LS), a bal femurnyak (FN) és a teljes csípő (TH) - (tkp a teljes proximális femur) voltak.

A reggel 9 órai vétellel nyert vérmintákból szérum OC, a β -CTx és a 17β -ösztradiolt a tanulmány indulásakor ("0" időpont), majd M3, M6, M9 és az M12 vizitek időpontjában mértük. Az összes paraméter mérésére elektrokemilumineszcens immunoassay módszert alkalmaztunk (Roche Diagnostics, Mannheim, Németország).

A tanulmány végzésére jóváhagyást az illetékes IKEB-től kaptunk. Minden résztvevő aláírta a felvilágosítást követő beleegyező nyilatkozatot.

A résztvevők SLE betegségi jellemzői adatait a gondozó intézet járóbeteg-rendelői és fekvőbeteg dokumentumaiból nyertük az egyéni anonimitás megtartásának szabályai szerint. Ezek az adatok: a betegség kezdetének időpontja és ebből számított időtartama, citosztatikus kezelésük fajtája és időtartama (pl. metotrexát, ciklofoszfamid, azathioprin), napi kortikoszteroid adag prednizolon egyenértékben (mg), a kumulatív teljes szteroid mennyiség (gramm), az SLE betegségaktivitási index (SLEDAI) (412), valamint a Systemic Lupus

International Collaborating Clinics / ACR károsodási index (SLICC) (413) kalkulált értéke. A Debreceni Regionális Immunológiai Centrum 3 havonkénti rendszeres rutin, vagy rendkívüli ellenőrző vizsgálatainak dokumentumai szolgáltak forrásul tanulmányunk résztvevőinek betegség-történetéről, benne a betegség-aktivitásról és komplikációkról.

Ezekon a viziteken általános fizikai vizsgálat, vese- és májfunkciós laboratóriumi tesztek, a kalcium homeosztázis vizsgálata, APC rezisztencia vizsgálata, (auto)immun laborvizsgálatok (lupus antikoaguláns, antikardiolipin, anti-b2-glikoprotein ellenanyagok, CH50 aktivitás; C3, C4 és anti-DNA antitest szintek) történtek. A tanulmány időszaka alatt a SLEDAI pontszám 2-nél nagyobb növekedését a betegség aktiválódásaként értékeltük, ami az adott résztvevő kizárását vonta maga után. Szabványos nőgyógyászati kismencedei vizsgálatot és endometrium ultrasonográfiát végeztünk induláskor és az M6, majd M12 vizit során. Emlővizsgálat, mammográfia a "0" és M12-es vizitkor történt.

Leíró statisztikai számítást végeztünk (átlag, szórás, mérési értéktartomány) a folyamatos változókon. A vizsgált paramétereket egymással hasonlítottuk egy adott csoporton belül és két csoport adatai között. Variancia analízist végeztünk az ismételt mérési csoportban a mérési értékek változásának jellemzésére az idő függvényében. A független minták t-tesztjét alkalmaztuk a csoportok közötti összehasonlításra. A $p < 0,05$ értéket tekintettük a statisztikailag szignifikánsnak. A statisztikai elemzéseket a SPSS programcsomag, Windows alkalmazás 2,5 verziójával végeztük (SPSS, Ill., USA). Minden résztvevő mérési adatainak elemzését elvégeztük intention-to-treat alapon és külön a valóban kezelést kapott (on-treatment) személyeken is.

3.6. Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör-beteg (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya

3.6.1. A férfi T2DM tanulmány (414)

A Debreceni Egyetem Egészségtudományi Centrum 1.sz. Belgyógyászati Klinikája Diabétesz Szakrendelésén gondozott, rendszeresen visszatérő 50 évnél idősebb férfiakat hívtunk meg a tanulmányba, akiket korábban nem vizsgáltak csontritkulás, vagy egyéb vázrendszeri betegség gyanújával. A toborzás 2009. szeptember és 2010. szeptemberig tartott. A résztvevők tanulmányba besorolását, valamint az összes vele kapcsolatos tevékenységet felvilágosítás utáni beleegyező nyilatkozat aláírása után végeztük. A Debreceni Egyetem Egészségtudományi Centrumának Kutatásetikai Bizottsága engedélyezte a tanulmánytervet és annak végrehajtását.

Képzett tanulmányi nővér töltötte ki a napi kalciumfelvétel validált kérdőívét (394) és az országra szabott FRAX- számítási listát (400). A vérmintákat éjszakai koplalás után reggel vettük a 25OHD, PTH, OC, β -CTx és PINP mérésére. A BMD DXA alapuló denzitométerrel mértük (GE Lunar Corp., Madison WI, USA). A mérések helye az LS és az FN volt.

A plazma 25OHD analízist nagynyomású folyadék-kromatográfiával (HPLC) JASCO HPLC system készülékkal (JASCO Tokyo, Japán) és Bio-Rad reagens kitekkel (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) végeztük. A szérum PTH, OC, β -CTx és PINP méréseket elektrolumineszcens immunoassay módszerrel hajtottuk végre (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország). D-hipovitaminózisnak a 25OHD szintek <75 nmol/L koncentrációit tekintettük Dawson-Hughes javaslata szerint (415).

A 2-es típusú diabeteszes férfiak mérési adatait kor és nem szerint illesztett egészséges férfiakéhoz hasonlítottuk, akik az általunk folytatott HunMen tanulmány (398) résztvevői is voltak.

Az adatok leíró statisztikai elemzését alkalmas módszerekkel végeztük, köztük az átlag, mért értéktartomány (range), szórás (SD) szerepel. Az adatok eloszlását, a normalitást a Kolmogorov-Smirnov teszttel minősítettük. A paraméterek eloszlásától függően a páros t-próbát, vagy a Wilcoxon előjeles rang-tesztet használtuk kor és nem szerint illesztett párokon és a Mann-Whitney U-tesztet, vagy a kétmintás t-tesztet az inzulinkezelt és nem inzulinkezelt 2-es típusú cukorbetegek összehasonlítására. A McNemar próbát alkalmaztuk az adatok páronkénti elemzésére; egyéb esetekben a chi-négyzet teszttel hasonlítottuk össze a kategórikus változókat. A $p < 0,05$ értéket tekintettem statisztikailag szignifikánsnak. Az összes elemzést az SPSS Statistics program 19,0 verziójával végeztük (IBM Corps., Armonk, NY, USA).

3.6.2. A férfi PsA tanulmány (416)

A Debreceni Egyetem Orvosi Fakultás Reumatológiai Tanszék járóbeteg-gondozójában pszoriaticus bőrtüneteket és egyidejű ízületi gyulladáson elváltozásokat mutató pácienseket hívtunk meg felmérésre a tanulmányba történő besoroláshoz. Toborzásuk 2009. július és 2014. július hónap között folyt. A tanulmányban valamennyi tevékenység a felvilágosítás utáni beleegyező nyilatkozat páciens általi aláírása után történt. A tanulmányt a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Központjának Intézményi Kutatásetikai Bizottsága engedélyezte a vizsgálati terv és egyéb dokumentumok megismerése után.

Éjszakai koplalás utáni reggelen történt vérvétel 25OHD, PTH, OC, β -CTx és PINP mérésére. A DXA LUNAR Prodigy denzitométerrel mértük az ásványianyag-sűrűséget (GE-Lunar Corp., Madison, WI, USA). A BMD-t az LS és FN területeken mértük. Egészséges, illesztett kontrollszemélyektől ugyanazon évszakban vettünk vérmintákat a szezontól függő változatosság elkerülésére.

Plazma 25OHD méréseket HPLC-vel végeztük (Jasco HPLC system, Tokyo, Japán) és Bio-Rad reagens egységcsomagokkal végeztük (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). A szérum PTH, OC, β -CTx és PINP méréseket elektrokemilumineszcens immunoassay-vel végeztük (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország). Dawson-Hughes (415) javaslata szerint a 75 nmol/L alatti 25OHD értéket tekintettük D hipovitaminózisnak.

A betegség súlyosságát a PsA csoportban a DAS28 aktivitási mutatóval és a “psoriasis area and severity index” - PASI - segítségével értékeltük (417,418).

Az ízületi gyulladással járó pikkelysömörös férfiak mérési adatait kor, nem és évszak szerinti illesztéssel egészséges önkéntesek adataihoz hasonlítottuk. A kontrollszemélyek többségét a HunMen kohorszból (398) hívtuk meg. Ők azonban, lévén 50 év feletti, csak a tanulmánybeli személyek egy részéhez társulhattak kontrollként (n=35). A fiatalabbakhoz korban és nem szerint illesztett kontroll-párt a PsA betegek kísérői, családtagjai közül választottunk, akik egészségesnek tekinthetők, járóképesek, otthonukban éltek, nem estek a kizárási kritériumok hatálya alá. Kizárási kritérium volt meglévő csontanyagcsere-betegség, kóros máj- vagy veseműködés. Laboratóriumi értékeket tekintve a teljes bilirubin, aszpartát aminotranszferáz, alanin aminotranszferáz, gamma-glutamil transzpeptidáz, alkalikus foszfatáz, laktát dehidrogenáz, kolonoszteráz, urea, kreatinin és húgysav értéke az egészséges referenciatartomány felső határértékénél több mint 2x magasabb. A csontanyagcserét befolyásoló gyógyszerek szedése is kizárási ok volt, kivéve a kalcium és D-vitamin-pótlást.

Leíró statisztikai elemzést végeztünk a feltételek megléte esetén: középpérték, átlag, mérési eredmények tartománya (range) és a szórás (SD). Az eloszlás normalitásának tesztelését a Kolmogorov-Szmirnov próbával végeztük. A paraméterek eloszlásától függően a páros t-próbát, vagy a Wilcoxon előjeles rang-tesztet a kor- és nem szerint illesztett párokon. A kategórikus változók összehasonlítására a χ^2 tesztet alkalmaztuk. A korrelációs elemzésekhez

a Spearman-féle rang-korrelációt alkalmaztuk, a q -értéket meghatároztuk. Az elemzéseket az SPSS Statistics program 22,0 verziójával végeztük (IBM Corps., Armonk, NY, USA).

3.6.3. A PsA-pQCT tanulmány (419)

A Debreceni Egyetem Orvosi Fakultás Reumatológiai Tanszék Immunológiai járóbeteg-gondozójának beteganyagából 118 páciens soroltunk be a tanulmányba 2017. szeptember és 2018. június között. Mindnyájukat PsA-val diagnosztizálták a Pszoriatikus Arthritisz Klasszifikációs Kritériumai (CASPAR) szerint (420). Az ízületi gyulladással társult pikkelysömörös betegek adatait hasonlítottuk össze nem és kor szerint illesztett önkéntes személyekével. A kontrollcsoport önkéntes személyekből állt, akiket az ellátó intézet személyzetéből, valamint a PsA betegekkel együtt az ellenőrző vizsgálatokra érkező rokonai, kísérői közül toboroztunk. Az összes résztvevőt tájékoztattuk szóban és írásban a tanulmány céljáról és az elvégzendő vizsgálatokról, valamint jogaikról, ezt követően írott tájékoztató nyilatkozatban aláírásukkal fejezték ki részvételi szándékukat, beleegyezésüket. A kontrollcsoportba egészségesnek tekinthető, otthonukban élő személyek kerültek. Kizáró kritérium volt az ismert, meglévő csontanyagcsere-betegség, reumatológiai kór állapot, bármely rosszindulatú daganat, máj-, vagy vesebetegség (alábbi laborleletek felső normál referenciahatárt 2-szeresen meghaladó értéke: alkalikus foszfatáz, gamma-glutamil transzpeptidáz, alanin aminotranszferáz, aszpartát aminotranszferáz, totál bilirubin, laktát dehidrogenáz, urea, kreatinin, húgysav és kolinszteráz). Az összes résztvevő magyar állampolgár volt, személyazonosságukat dokumentumaikkal igazolva. A tanulmányt az embereken végzett kutatási vizsgálatok etikai normáit leíró Helsinki nyilatkozat útmutatásai

szerint folytattuk, a vizsgálatok részletes dokumentumait az illetékes IKEB hagyta jóvá és engedélyezte.

Minden páciens fizikai vizsgálata és a betegség súlyosságának meghatározása megtörtént. Ez utóbbit a betegek perifériás (végtagi) érintettsége esetén a DAS28 pontszámmal határoztuk meg, a gerincfolyamatok dominanciája esetén a BASDAI használatával, valamint megállapítottuk a PASI számértékét (417,418,421).

Éjszakai koplalás utáni reggelen történt vérvétel OC, 25OHD, PTH, β -CTx és PINP mérésére. A szérum OC, β -CTx, PINP és PTH mérése elektrokemilumineszcens immunoassay-vel történt (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország). A szérum 25OHD szinteket automata Liaison DiaSorin totál 25OHD CLIA módszerrel végeztünk (DiaSorin inc., Stillwater, MN, USA). D-hipovitaminózisnak a 75 nmol/L alatti 25OHD szinteket tekintettük Dawson és mtsai ajánlása szerint (415). Vörösvérsejt-süllyedést a Westergren módszerrel mértük (422) a DAS28 pontértékeléshez. A DXA vizsgálatokat LUNAR Prodigy denzitométerrel (GE-Lunar Corp., Madison, WI, USA) végeztük az LS és a bal FN területen a területi csontsűrűség (aBMD) meghatározásához.

Egy-szeletes perifériás kvantitatív komputertomográfia (pQCT) vizsgálatokat végeztünk a bal kar ultradisztális rádiuszán Stratec XCT készülékkel (Stratec Medizintechnik GmbH, Pforzheim, Németország) Juhász és mtsai szerint (423). A distalis radius 4%-os metszete túlnyomóan trabekuláris csontállományt tartalmaz. A perifériás kvantitatív CT elkülönítve képes mérni a kortikális és trabekuláris csont volumetrikus ásványianyag-sűrűségét és az összes-, a trabekuláris- és kérgi csontsűrűséget külön adja meg mg/cm³ dimenzióban. Alkalmazásunkban a készülékkel kapott kép felbontása 0,59 mm voxel volt. A képek elemzését az XCT 6.00 programmal végeztük (Stratec Medizintechnik GmbH, Pforzheim, Németország) az orsócsontra alkalmazott maszk-készlettel és 269 mg/cm³ denzitási küszöbvel a trabekuláris

csont elkülönítésére. A csonttörési kockázatot képzett nővér által felvett adatokkal on-line elérhető ország-specifikus FRAX-programmal számoltuk ki (400).

Leíró statisztikai adatokat adtunk meg (medián és tartomány). Az adatok eloszlását normalitásra a Kolmogorov-Smirnov próbával vizsgáltuk. Wilcoxon előjeles rang-teszttel hasonlítottuk a kor és nem szerint illesztett párokat. A Spearman ρ -értéket korrelációs analízissel számoltuk. Az egyváltozós és a többváltozós regressziós analízist alkalmaztuk a paraméterek közötti korreláció és független asszociációk vizsgálatára.

A regressziós analízisek során a DEXA módszerrel mért BMD, a pQCT és FRAX-értékek voltak a függő változók, a többiek pedig a független változók.

β standardizált lineáris koefficienseket határoztunk meg, amelyek lineáris korrelációt mutattak. A B regressziós koefficiens (95% konfidencia-intervallummal), amely független kapcsolatot jelzett a dependens és independens változók között a változások következtében. A $p < 0,05$ jelezte a statisztikai szignifikanciát. Az összes elemzést az SPSS Statistics program 25,0 verziójával végeztük (IBM Corps., Armonk, NY, USA).

3.7. A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya HunMen kohorsz mintain (424)

A DEQAS rendszer a D-vitamin mérések nemzetközi EQA módszere több, mint ezer laboratórium részvételével, és kiterjed az összes kereskedelmi forgalomban elérhető jelenleg használt 25OHD mérési eljárásra (425). Évente 4 DEQAS mérési kör történik, amelyben 5-5 környezeti hőmérsékletű mintát küldenek a résztvevőknek meghatározásra. Az eredményeket online küldjük vissza megadott határidőre, ezek megtalálhatók a DEQAS honlapján. A központi értékelés eredményeként megkapjuk az összes 25OHD mérési eredmény csonkolt

átlagát: “All Laboratory Trimmed Mean - ALTM”, valamint az általunk beküldött 5 minta eredményének %-os eltérését ettől. A csonkolás az összes mérési eredmény felső és alsó 5%-ának (összesen 10%-nak) eltávolítását jelenti az átlagszámítás előtt. Az ALTM a megmaradó adatok számtani átlaga.

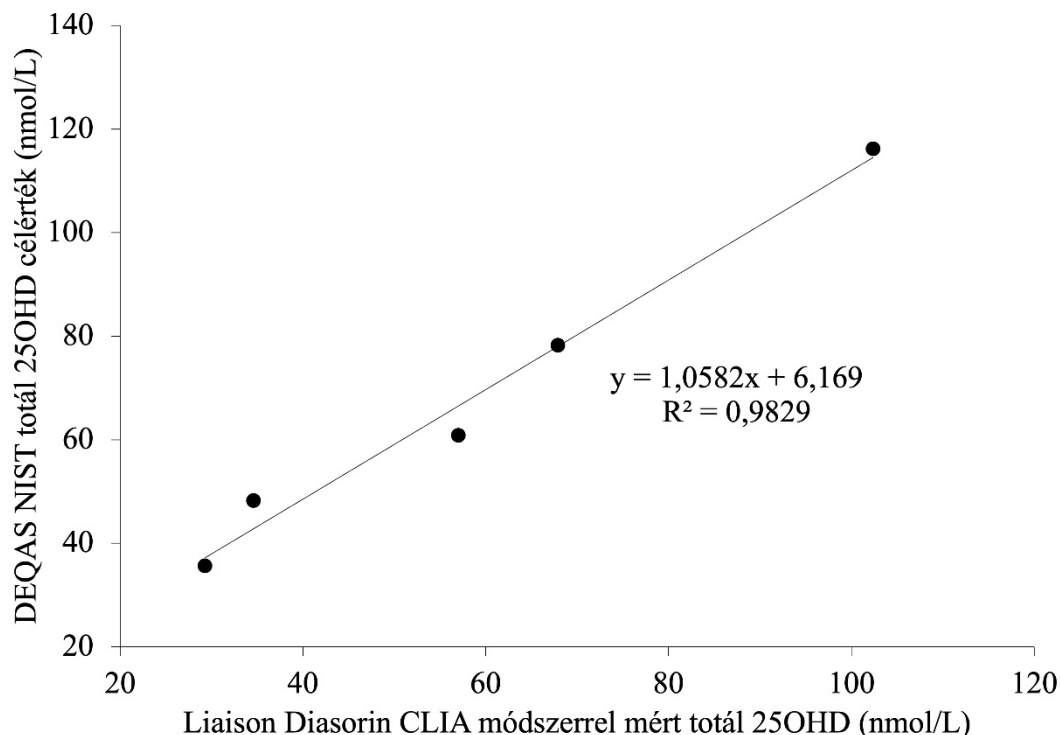
Beszámolók szerint ALTM nagyon hasonló a National Institute of Standards and Technology (NIST) célértékhez, amelyet minden minta esetében mérünk a NIST RMP leírás szerint (426). A DEQAS 2013. április óta közli a tesztminták NIST RMP mérési értékeit is (342), lehetővé téve a résztvevők számára, hogy ellenőrizni tudják méréseik pontosságát a NIST célértékekhez képest is. Ezáltal a célérték helyettesítheti a referencia-módszerrel kapott mérési eredményt. Továbbá a totál 25OHD (25OHD3+25OHD2) értékén túl a DEQAS átviheti a NIST mérési adatokat további egyedi metabolitok, mint pl. a 25OHD3, 25OHD2 és a 3-epi-25OHD mérési adatainak korrigálására.

Ebben a tanulmányban újra analizáltuk a HunMen kohorsz vérmintáit az automata DiaSorin totál 25OHD CLIA módszerrel (DiaSorin Inc., Stillwater, MN, USA) (398). A HunMen kohorsz 2009-2010-beli mintáit eredetileg HPLC-vel analizáltuk a Jasco HPLC rendszer készülékén (Jasco, Tokyo, Japán) és BioRad reagenscsomaggal (BioRad Laboratories, Hercules, CA, USA). Rutin diagnosztikai laboratóriumunkban, a 25OHD meghatározásra érkező egyre nagyobb mintaszám miatt 2014. júniusban átálltunk az automatizált Liaison DiaSorin CLIA rendszer használatára.

Laboratóriumunk részt vesz a DEQAS nemzetközi minőségellenőrző programban és a HunMen minták újra-mérése, 2015 októberében a DEQAS tesztmintáinak mérésével egyidőben történt a Liaison DiaSorin automata készülékkel, azonos analitikai feltételekkel (pl. ugyanazon LOT számú reagensekkel) és ez biztosította a reanalízis eredmények megfelelőségét.

Végül a HunMen csoport 25OHD mintáinak mérési adatait lineáris regressziós egyenlettel korrigáltuk, amelyet a Liaison készülékkel mért 25OHD értékek és az 5 DEQAS tesztminta DEQAS NIST totál célértékek kapcsolatának elemzésével kaptunk (7. ábra).

7. ábra. Szérum totál (össz) 25-hidroxi D-vitamin koncentrációk a DEQAS rendszerben 2015 októberben analizált 481-485 számú mintákban. A Liaison Diasorin CLIA módszerrel kapott értékek és DEQAS NIST 'totál' célértékek viszonya a linear fit regressziós elemzésben.



3.8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya (427)

Az Európai biológiai variancia tanulmány (European Biological Variation Study – EuBIVAS) részletei egy korábbi publikációban kerültek ismertetésre (428). Röviden, a hat résztvevő európai laboratórium földrajzi szélesség/hosszúság szerinti elhelyezkedése: Milánó (Olaszország, 45,47° É - 9,19°K), Pádova (Olaszország, 45,41° É – 11,87° K), Bergen (Norvégia, 60,39° É – 5,33° K), Madrid (Spanyolország, 40,42° É – 3,70° Ny), Assen (Hollandia, 52,99° É

– 6,6° K) és Isztambul (Törökország, 41,01° É – 28,97° K). A tanulmány kezdetéig 105 személyt toboroztak. Közülük három nem került be a végleges létszámba, mert az első mintavételkor a besorolási/kizárási feltételek valamelyike nem engedte, öt személy pedig később visszavonta részvételi beleegyezését.

A résztvevő, mintákat adó egészséges személyek végleges létszáma így 97 lett. Néhány további kizárás a viziteken vett minták laboratóriumi leletei miatt történt, két férfit a γ -glutamil transferáz és az alanin aminotranszferáz (ALT) értékek ismételten negatív irányú jelentős változása miatt, ami szubklinikai vírusfertőzésre utalt. További két férfi kizárása emelkedett kreatin kináz (CK) és ALT leletek miatt történt, másik férfit többször emelkedett ALT eredmények, májműködési zavar miatt zártak ki, végül ismét egy férfit 3 viziten emelkedett ALT, három vérvételkor magas C-reaktív protein (CRP) és egy alkalommal magas CK mérési lelet miatt (428). A kizárások után végül 91 egészséges személy maradt a tanulmányban (38 férfi és 53 nő, 21-69 év közötti életkorral).

A résztvevőkről besorolási kérdőívet töltöttek ki életmódjukról és egészségi állapotukról. Ez utóbbit meghatározott rutin laboratóriumi teszttel is vizsgálták a viziteken vett vérmintákban. Egy résztvevő-jelöltet D-vitamin-pótlás miatt zártak ki. Minden laboratórium betartotta a tanulmányterv preanalikai előírásait. Éhomi vénás vérvétel történt hetente 10 héten át, 2015. április-június között, megadott napokon (keddtől péntekig), a heti vizitek napján, azonos időpontban (08.00-22.00h), lehetőleg ugyanazon személy által, tovább csökkentve a minták változékonyságát. Ugyanazon személytől vett számos mintából végzett vizsgálatok nagy statisztikai erővel magas minőségű adatokat eredményeznek az összetevőkről, a biológai variancia szűk konfidencia-intervallumaival (429). Összesen 77 személy vett részt mind a 10 vérvételen, 10 személy 9-szer, 2 személy 8-szor, kettő pedig 7 alkalommal. Az összes laboratórium a levett K-EDTA-plazma mintákat szárazjéggel fagyasztva Olaszországba, a milánói San Raffaele Kórházba küldte. Itt -80°C-on fagyasztva tárolták, majd szárazjéggel

csomagolva Belgiumba, Liège-be továbbították a Centre Hospitalier Universitaire (CHU) laboratóriumába, ahol a minták 25OHD koncentrációját egyszerre határozták meg 2020. májusában. Bár nincs adatunk a 25OHD 5 éves stabilitásáról -80°C -on tárolt mintákban, különböző, preanalitikai vizsgálatok azt mutatták, hogy ez a mérendő analitikum kifejezetten stabil, még szélsőséges környezeti feltételek között is (212,430).

A tanulmányt a San Raffaele Kórház (Milano, Olaszország) Intézeti Etikai Bizottsága engedélyezte, mivel az Orvos Világszövetség (WMA) Helsinkai Nyilatkozatának (módosítva 2013.) elveivel és a Kórház etikai szabályaival összhangban lévőknek ítélte (Protokoll WG-BV project #001, 50/INT 2014). Ezen kívül minden résztvevő laboratórium hasonló alapon engedélyt kapott intézményi kutatásetikai bizottságától (WG-BV project #001, Madrid: PI-1993. April 2015; Assen 2014-26; Pádua: 4352/AO/15; Isztambul: 2015-317 pontos variancia-analízissel történt (CV-ANOVA) minden páciensre vonatkozóan; Bergen: 2014/1988).

Az adatok elemzése a korábban közöltek szerint történt (431,432). Röviden, a CV₁ meghatározása egyszem, valamint a férfiakra és nőkre külön. A Klinikai Kémia és Laboratóriumi Medicina Európai Egyesületének Európai Biológiai Variancia Tanulmányi (EuBIVAS) munkacsoportjának ajánlása alapján a kívüleső adatok azonosítása és eltávolítása CV-transzformált adatokon történt a mérési CV (CV_A; replika-egyedek között) homogenitásának becslésével (mérésével), a Bartlett-teszt alkalmazásával és a CV₁ homogenitás-becslését a Cochran próbával végeztük (428). A CV értékeket a természetes logaritmussal transzformált (log-transzformált) adatokból számoltuk.

Megvizsgáltuk, hogy volt-e általános változási tendencia a vérszintekben a tanulmány időtartama alatt, vagy állandó állapotban maradtak a koncentrációk. Ennek során elvégeztük a 180 kettős mérés középérték regressziós elemzését minden vérvételre vonatkozóan (1,2...10.) (a gyűjtött vérminták átlag-koncentrációja) szemben az egyes vérvételi időpont mintáival (1-

10). A vizsgálati személyeket állandó állapotúnak tekintettük, ha a regressziós vonal 95%-os konfidencia-határai a zéró értéket közrezárták.

BV adatértékek megállapítása a kivülesők kizárása után és a 10 vérvételt, valamint külön az első öt (április-májusi) és utolsó öt (május-júniusi) vérvétel adatainak trend-elemzését követően történt.

A 25OHD mérések átlagértékeit, CV_I és CV_G adatait a férfi és női alcsoportok között szignifikánsan különbözőnek tekintettük, ha a hozzájuk tartozó 95%-os CI intervallumok nem voltak átfedésben. Az adatelemzések Microsoft Excel 2010 (Microsoft, Redmond, WA, USA) és IBM SPSS (Chicago, IL, USA) programcsomagokkal történtek.

A 25OHD méréseket Fujirebio reagensekkel Lumipulse G1200 készülékkel végeztük (Fujirebio, Tokyo, Japán). Ez a módszer a 25OHD mérés reagensomagjai között egyedüli abban, hogy nem a kompetitív immunosssay alapokra épült, hanem szendvics-rendszerű (433). Teljesítmény-jellemzői meghaladják a VDSP elfogadási határértékeit (347), a résztvevők egyedi ismeretlen mintákra közölt eredmények elfogadási rátája 68% volt 2019-ben, a CDC VDSCP minősítési leírása szerint (434). Minden mérés a gyártók útmutatásai szerint történt az Egyetemi Kórházközpont, Liége klinikai kémiai laboratóriumában. A készülék kalibrációs görbéjének validálása után a reagens gyártójának belső minőségellenőrzési mintájának két koncentráció szintjén végeztek mérést, minden futam kezdetén és végén. A résztvevők mintáit duplikáltan mérték egy ugyanazon napon és futamban.

3.9. Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról (435)

Az étrend és 25OHD ellátottság feltételezett kapcsolatának vizsgálatára étrendi kínálati- és 25OHD koncentráció-adatokat szereztünk be Közel-Kelet és Európa régiókból. Az étrendi kínálat magába foglalta a kalóriefelvételt (Kcal/személy/nap), az állati zsír, tojás, tengeri hal, hús (marha, birka, sertés, szárnyas baromfi), valamint belsejégek és tejtermékek mennyiségi tételeit az ENSZ Élelmiszer- és Mezőgazdasági Szervezetének (FAO) adattárából a vizsgálatra történő vérvétel évéből (436). Ezek az adatok azonban nem minden évben álltak rendelkezésre, így a 2013. év után vett mintákat a 2013. év adataival elemeztük, mivel ez volt az utolsó év, amelyből étrendi adatokat kaptunk. Ezek az adatok a népességi átlagos felvételt képviselik. Általában a nevezett forrásból származó ételfogyasztási mennyiségek 70%-a tekinthető valódi fogyasztásnak, 30% megromlik, vagy változatlanul hulladékba kerül (437). Egyébként a FAO élelmiszer-fogyasztási adatait számos tanulmány használta az étrend és egyes betegségek kockázata közötti összefüggések vizsgálatában, kezdve Armstrong és Doll közleményével az étrend és különböző rákbetegségek kapcsolatáról (438).

A szérumban 25OHD koncentrációk adatait többnyire a National Library of Medicine honlapjának (pubmed.gov) adatbázisából nyertük a „25-hydroxyvitamin D” és „vitamin D” kereső szóösszetétel és országnevek kombinációjával. Az így kapott adatokat jelen tanulmányban akkor használtuk fel, ha azok egészségesnek tekintett népességből, nem várandós felnőtt személyektől származtak. További válogatási szempont volt, hogy megkülönböztessük a nyári és a téli évszaktól származó mérési adatokat, mivel tudjuk, hogy az UVB sugárhatás nyáron a D-vitamin fő forrása, míg télen az étrend.

További adatokat kaptunk a 25OHD vérszintekről egy 19 európai országban folytatott klinikai vizsgálat publikált anyagából, amelyben posztmenopauzában lévő csonttrikulázós nők

bazedoxifen kezelésének eredményeit közölték (439). A tanulmányba besorolás 2001. december és 2003. szeptember között történt. A 25OHD koncentrációt a Covance Central Laboratory mérte DiaSorin 25OHD reagensekkel. A mérések intra-assay variációs koefficiense 8,2-11% közötti volt. A résztvevők oszteoporózisukon kívül általában egészséges idős női népséget képviseltek az adott országban. A szerzők kiemelték, hogy a 25OHD koncentrációk közvetlen szignifikáns korrelációt mutattak a földrajzi szélességi fokkal és az adott ország fejenkénti össz hazai termékének értékével (per capita GDP).

Nem történt adatmódosítás a 25OHD mérésére használt módszer szerint, bár tanulmány korai időszakában az eredmények jelentős ingadozást mutattak az alkalmazott assay-tól függően (440,441). Azonban a BioSource reagensekkel kapott adatokat kizártuk, mert ez a módszer a többiekénél sokkal magasabb értékeket adott.

Az UVB sugárdózisok egy olyan közleményből származnak, amely az UVB sugárdózis és a pancreas carcinoma incidenciájának kapcsolatát elemzi országonként (442). Az effektív UVB sugárexpozíció számolásának forrása a NASA adatbázisa volt, amely az atmoszféra külső határán mért napsugárzás mérésén alapult a szoláris dél időpontjában minden résztvevő ország tanulmányi centruma felett a téli napforduló napján. Nem történt a felszíni sugárzás további korrekciója az aeroszol-, vagy ózonszűrő, valamint a tengerszint feletti magasság tekintetében. Így ezeket az UV-adatokat lényegében a földrajzi szélesség határozza meg az átlagos felhőtakartság figyelembevételével (0,004-gyel szorzott adatok).

A lineáris regressziós analízist SigmaStat 4,0 (Systat Software, San Jose, CA, USA) programcsomaggal végeztük.

3.10. A COVID-19 járvány és D-vitamin tanulmány (443)

A COVID-19, egyéb légúti fertőzések, valamint az influenza és a D-vitamin ellátottság feltételezett kapcsolatának vizsgálatára a pubmed.gov és a scholar.google.com publikációs adatbázisokból kerestünk releváns közleményeket az “influenza”, “CoVs”, “COVID-19”, “pneumonia”, “innate and adaptive immune response”, “vitamin D”, “25-hydroxyvitamin D”, “parathyroid hormone”, “epidemiology” keresőszavak kombinációival. A közleményekből a szerzők, a folyóirat scientometriás rangja, a közlemények jellege (saját kutatás, vagy referáló) és a rájuk adott hivatkozások alapján empirikusan válogattunk. Kövekeztetéseik összevetésével alakítottuk ki saját véleményünket narratív áttekintő közleményünkben.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány

4.1.1 Posztmenopauzális nők tanulmánya (394)

Keresztmetszeti tanulmányunkban résztvevő nők jellemző adatait az 9. táblázat mutatja. A D-hipovitaminózis prevalenciája 56,7% volt. Normális, oszteopéniás és oszteoporotikus *T*-score értéket a lumbális gerincen rendre 44,4, 34,5 és 50,8%-ban találtunk, az FN régióban rendre 21,9, 39,5 és 38,6%-ban. Az átlagos étrendi kalciumbevitel alacsonyabb volt, mint a javasolt mennyiség (444) a vizsgált posztmenopauzális nők között.

9. táblázat. Jellemző páciens-adatok.

	Összes vizsgálati személy (n=319)	Szérum 25-hidroxi D-vitaminszintek	
		≤ 50 nmol/L (n=181) (56,7%)	>50nmol/L (n=138)
Életkor, év (átlag, range)	64,9 (41–91)	67,3 (41–91)	61,6 (43–84)
Magasság, cm (átlag ± SD)	156,6±6,4	156±6,2	157,4±6,6
Testtömeg, kg (átlag ± SD)	62,5±11,1	62,5±11,4	62,6±10,8
Testtömeg-index (átlag ± SD)	25,5±4,2	25,6±4,4	25,3±4,1
25OHD, nmol/L (átlag, range)	48,4 (12,5–135)	33,1 (12,5–50)	68,5 (51,4–135)
PTH, pmol/L (átlag, range)	4,1 (1,2–23,6)	4,3 (1,4–23,6)	3,9 (1,2–12,7)
OC, µg/L (átlag, range)	24,7 (6–118,5)	25,5 (10,1–118,5)	23,7 (6–55,7)
β-CTX, µg/L (átlag, range)	0,394 (0,010–1,721)	0,387 (0,010–1,721)	0,402 (0,022–1,290)
Étrendi kalciumbevitel, mg/nap (átlag, range)	654 (110–1267)	608 (110–1267)	714 (155–1205)
LS BMD, g/cm ² (átlag±SD)	0,906±0,169	0,895±0,164	0,922±0,175
FN BMD, g/cm ² (átlag±SD)	0,769±0,127	0,744±0,125	0,802±0,123

A normál és alacsony 25OHD szintűek összehasonlításakor szignifikáns különbséget találtunk az életkor (61,6 vs. 67,3 év; $p<0,001$), a PTH szintek (3,9 vs. 4,3 pmol/L, $p<0,05$), a FN BMD (0,802 vs. 0,744 g/cm², $p<0,001$); és a kalcium bevitel (714 vs. 608 mg/nap, $p<0,001$) területén.

Szignifikáns korreláció volt a 25OHD és életkor ($r=0,387$; $p<0,001$) között, a napsütéses órák átlaga 25OHD meghatározások előtti 3 hónapban és a étrendi kalciumbevitel ($r=0,288$; $p<0,001$) között, a PTH és β -CTx-szintek ($r=0,117$; $p<0,05$) között; az LS BMD és életkor ($r=0,317$; $p<0,001$), testtömeg-index (BMI) ($r=0,230$; $p<0,001$), 25OHD ($r=0,111$; $p<0,05$) és étrendi kalcium ($r=0,176$; $p<0,005$) között; FN BMD és életkor ($r=-0,583$; $p<0,001$), testtömeg index ($r=0,362$; $p<0,001$), 25OHD ($r=0,322$; $p<0,001$) és étrendi kalcium-fogyasztás ($r=0,325$; $p<0,001$) között.

Az LS T-score adatai alapján szignifikáns különbség volt a normális és oszteoporotikus alcsoport étrendi kalcium bevitel között (711 vs. 620 mg/nap; $p<0,05$). A FN T-score alapján szignifikáns különbséget találtunk ($p<0,001$) a normális és oszteoporotikus alcsoportok között a 25OHD szintek (56,4 vs. 37,6 nmol/L) és a napi étrendi kalciumbevitel között (781 vs. 519 mg/nap).

A D-hipovitaminózis prevalenciája tavasszal, nyáron, ősszel és télen rendre 71%, 46,3%, 49,4% és 56,7% volt.

A 10. táblázat mutatja az átlag és terjedelem értékek az LS és FN BMD-re; a 25OHD, PTH, OC, β -CTx, étrendi kalciumbevitel medián és terjedelem értékeit, valamint a napi napsütéses órák számát évszakonként. Statisztikailag jelentős különbség volt a tavaszi és nyári, valamint őszi FN BMD értékekben ($p<0,05$); a PTH szintek tavaszi értékei és nyáron, ősszel mért szintek között ($p<0,05$); OC esetében is a tavaszi szintek és nyári - őszi értékek között ($p<0,05$); az étrendi kalciumbevitel tavaszi és nyári mennyisége között ($p<0,01$).

10. táblázat Átlag és range értékek.

	Tavaszi (n=100)	Nyár (n=80)	Ősz (n=79)	Tél (n=60)
LS BMD, g/cm ²	0,893 (0,504–1,495)	0,923 (0,394–1,394)	0,921 (0,589–1,259)	0,887 (0,437–1,187)
FN BMD, g/cm ²	0,741 (0,424–1,094) ^a	0,785 (0,431–1,188)	0,795 (0,471–1,304)	0,762 (0,488–1,026)
25OHD, nmol/L	42,3 (12,5–100) ^b	50,2 (12,5–103)	53,4 (12,5–135)	49,4 (13,4–102,5)
PTH, pmol/L	4,7 (1,7–21,2) ^c	3,5 (1,2–9,2)	3,7 (1,3–23,6)	4,6 (2,1–14,4) ^d
OC, µg/L	26,6 (6,6–118,5)	26 (7,2–52,5)	21,9 (6–50,3) ^e	23,6 (8,1–47,9)
β-CTx, µg/L	0,397 (0,012–1,721)	0,398 (0,020–1,290)	0,389 (0,018–0,932)	0,390 (0,010–1,216)
Kalcium bevitel, mg/day	618 (150–1205) ^f	672 (200–1241)	700 (148–1267)	629 (110–1090)
Napsütéses óra/nap (közéérték, tartomány)	7,6 (0–12,7) ^g	9,5 (0–14,7)	3 (0–11)	0,3 (0–9,3)

^a $p < 0,05$ tavasz, nyár-ősz között; ^b $p < 0,05$ tavasz és nyár-ősz között; ^c $p < 0,05$ tavasz és nyár-ősz között; ^d $p < 0,05$ tél és nyár-ősz között; ^e $p < 0,05$ ősz és tavasz-nyár között; ^f $p < 0,05$ tavasz és ősz között; ^g $p < 0,05$ tavasz és a többi évszak között.

A többi változóval kontrollálva a 25OHD szintek szignifikánsan viszonyultak az életkor, az átlagos napi napsütéses órák számával, a 25OHD mérésre történt vérvétel előtt 3 hónappal és az étrendi kalcium felvétellel ($r^2=0,0190$; $p < 0,001$). Az FN BMD szignifikáns független meghatározói voltak az életkor, a testtömeg index, 25OHD vitaminszint, valamint az étrendi kalcium felvétel ($r^2=0,435$; $p < 0,001$). Az életkor és BMD voltak csak szignifikáns független meghatározói a LS BMD-nek ($r^2=0,148$, $p < 0,001$).

4.1.2. A HunMen tanulmány (398)

Ebben a keresztmetszeti tanulmányunkban résztvevő személyek jellemző adatait a 11. táblázat tartalmazza. A D-hipovitaminózis prevalenciája 52,9% volt. A normális, oszteopéniás és oszteoporotikus T-score értékek az LS mérési helyen a következők voltak: 64,4%, 27,8% és 7,7%. Az átlagos étrendi kalcium felvétel alacsonyabb volt az ajánlott mennyiségnél (444).

11. táblázat Résztvevő személyek jellemzői.

	Összes személy (n=206)	Plazma 25-hidroxi-D-vitamin szintek	
		<75 nmol/L (52,9%, n=109)	≥75 nmol/L
Életkor, év (átlag, range)	60,2 (51–81)	60,6 (51–81)	59,8 (51–74)
BMI, kg/m ² (átlag, range)	29,1 (17,3–41,7)	29 (18–41,7)	29,3 (17,3–40,5)
FRAX, % (major oszteoporotikus törések) (átlag, range)	3,77 (1,7–16,0)	4 (1,8–16)*	3,4 (1,7–11)
FRAX, % (csípőtörés) (átlag, range)	0,76 (0–9,4)	0,89 (0–9,4)*	0,58 (0–5)
PTH, pmol/L (átlag, range)	4,3 (1–12)	4,2 (1–12)	4 (1,6–10,2)
25OHD, nmol/L (átlag, range)	72,8 (11–185)	48,6 (11–74)	100 (75–185)
OC, µg/L (átlag, range)	14,6 (4,5–34,6)	14,3 (4,5–34,6)	14,9 (5,1–33,3)
β-CTx, µg/L (átlag, range)	0,22 (0,01–0,77)	0,20 (0,01–0,60)	0,25 (0,03–0,77)
PINP, µg/L (átlag, range)	38,2 (8,2–98,6)	36,6 (10,5–98,6)	40,1 (8,2–82,4)
Napi étrendi kalciumbevitel, mg/nap (átlag, range)	674 (122–1624)	684 (122–1624)	617 (209–1269)
LS BMD, gm/cm ² (átlag ±SD)	1,172 ± 0,183	1,188 ± 0,203	1,160 ± 0,158
FN BMD, gm/cm ² (átlag ±SD)	0,971 ± 0,137	0,969 ± 0,147	0,973 ± 0,125

* $p < 0,05$ (a normál és alacsony 25OHD szintek különbsége)

A normál és alacsony 25OHD szintű résztvevők között a csípőtörések 10 éves kockázatában (0,58% vs. 0,89%; $p<0,05$) és a fő oszteoporotikus törésekében (3,4% vs. 4,0%; $p<0,05$) találtunk szignifikáns különbséget az ország-specifikus FRAX algoritmus alapján (11. táblázat). Nem volt azonban szignifikáns összefüggés a 25OHD és a BMD között a többváltozós variancia-elemzésben azután sem, hogy kor, BMI, PTH és a napi kalcium felvétel adataihoz illesztettük.

Szignifikáns korrelációt mutattunk ki a 25OHD koncentráció és a napi napsütéses órák száma ($r=0,242$; $p=0,001$), valamint a csípőtörés FRAX algoritmussal számított %-os valószínűsége ($r=-0,166$; $p=0,017$) és a major oszteoporotikus törések %-os valószínűsége között: ($r=0,175$; $p=0,012$).

A 12. táblázat a résztvevők kormegoszlását és vizsgálati adatait mutatja évszakok szerint. Összehasonlításban szignifikáns különbséget találtunk ($p<0,01$) a naponta regisztrált napsütéses órák számában az évszakok között (kivéve az őszt és a télt között); a PTH szintekben az őszt és a többi évszakok között; a 25OHD szintekben a nyárt és a többi évszak között; a napi étrendi kalciumbevitelben a télt és a tavaszt és nyárt között; a FRAX szerinti jelentős oszteoporotikus törések %-ában az őszt tavaszt, valamint a nyárt között, továbbá télt és tavaszt, nyárt között; ezen túl a csípőtörés FRAX %-ában az őszt és a többi évszak között. A plazma 25OHD szintek legmagasabbak nyáron voltak (átlag (range), 83,0 (17 – 185) nmol/L), következett a tavasz: 67 (1-164) nmol/L, az őszt: 62,7 (16-144) nmol/L és a tél: 58,3 (12- 113) nmol/L.

12. táblázat. A résztvevők jellemzői különböző évszakokban.

	Tavaszi (n=59)	Nyár (n=96)	Ősz (n=24)	Tél (n=30)
Életkor, év (átlag, range)	59,9 (51–73)	60,6 (51–81)	60,6 (51–77)	59,4 (51–71)
BMI, kg/m ² (átlag, range)	28,2 (18,3–38,5)	29,8 (17,3–40,5)	28,8 (20,6–38,4)	29,1 (18,0–41,7)
FRAX (major osteoporotic fracture), % (átlag, range)	3,6 (1,8–7,8)	3,2 (1,7–7,2)	5,1 (1,8–16,0)*	2,0 (1,9–8,2)**
FRAX csípőtörés), % (átlag, range)	0,6 (0–2,9)	0,6 (0–4,3)	1,7 (0,1–9,4)***	0,9 (0–4,3)
PTH, pmol/L (átlag, range)	4,5 (1–12)	4,3 (1,7–10,0)	3,4 (1,7–7,0)****	4,4 (2,1–10,2)
25-OH-D, nmol/L (átlag, range)	67,1 (11–164)	83 (17–185)*****	62,7 (16–144)	58,3 (12–113)
25OHD vitaminszint <75 nmol/L, % (n)	64,4% (n = 38)	39,6% (n = 38)	61,9% (n = 13)	66,7% (n = 20)
OC, µg/L (átlag, range)	15,1 (5,7–33,3)	14,2 (4,5–33,0)	15,6 (7,5–31,4)	14,0 (5,4–34,6)
β-CTx, µg/L (átlag, range)	0,200 (0,010–0,510)	0,240 (0,030–0,770)	0,200 (0,040–0,450)	0,200 (0,010–0,570)
PINP, µg/L (átlag, range)	35,1 (14,9–78,3)	39,6 (10,5–98,6)	41,1 (13,1–82,4)	37,1 (8,2–74,1)
Napi étrendi kalciumbevitel, mg/nap (átlag, range)	651 (122–1168)	658 (297–1290)	674 (209–1624)	778 (299–1269)*****
LS BMD, gm/cm ² (átlag ±SD)	1,199 ± 0,170	1,172 ± 0,189	1,117 ± 0,206	1,163 ± 0,169
FN BMD, gm/cm ² (átlag ±SD)	0,993 ± 0,139	0,972 ± 0,127	0,949 ± 0,156	0,937 ± 0,143
Napsütés, óra/nap (átlag, range)	5 (0–12)	9,6 (0–15)	3,1 (0–11)	1,1 (0–9)

* $p < 0,01$ (ősz és tavasz, és nyár); ** $p < 0,01$ (tél, és tavasz és nyár között); *** $p < 0,01$ (ősz és a többi évszak között); **** $p < 0,01$ (ősz és a többi évszak között); ***** $p < 0,01$ (nyár és a többi évszak között); ***** $p < 0,01$ (tél és tavasz és nyár között)

A $\leq -2,5$ T-score kategóriájú személyek kis száma miatt őket statisztikai elemzés céljából az osteopéniás csoporttal összevontuk egy “alacsony BMD”-jű alcsoportba.

A 13. táblázat a FN és LS T-score szerint adjuk meg a páciensek jellemzőit. Az FN T-score alapján szignifikáns különbség volt a normál és alacsony BMD-jű alcsoportok között az átlag életkor (59,2 vs. 61,4 év; $p=0.012$), BMI (30,2 vs. 27,8 kg/m²; $p<0,001$), FRAX index (major osteoporotikus törések) (2,9% vs. 4,8%; $p<0,001$), FRAX (csípőtörés) index (0,3% vs. 1,3%; $p<0,001$), és LS BMD (1,296 vs. 1,093 g/cm²; $p<0,001$). A normál LS T-score értékű személyeket hasonlítva az alacsony BMD-értékűekhez (T-score $\leq -1,0$), szignifikáns különbség volt az átlag BMI (29,6 vs. 28,3 kg/m²; $p=0,027$), a FRAX (főbb osteoporotikus törések) index (3,4% vs. 4,5%; $p<0,001$), a FRAX (csípőtörés) index (0,5% vs. 1,2%; $p<0,001$), OC (13,6 vs. 16,6 $\mu\text{g/L}$; $p<0,001$), β -CTx (0,202 vs. 0,256 $\mu\text{g/L}$; $p=0,006$), PINP (35,8 vs. 42,7 $\mu\text{g/L}$; $p=0,004$), és az LS BMD (1,018 vs. 0,885 g/cm²; $p<0,001$).

Az étrendi kalcium bevitellel és a PTH-val illetve, a FRAX (major osteoporotikus törések)-szám, a FRAX (csípőtörés)-szám összefüggött az életkorral, az FN BMD-vel és a 25OHD szintekkel ($r^2=0,486$, $p<0,001$; $r^2=0,471$, $p<0,001$).

13. táblázat. A résztvevők egyedi sajátosságai a femurnyak BMD T score-ok és az L1-L4 BMD T-score-ok szerint.

	Femurnyak T-score		Lumbális gerinc T-score	
	Normal (55%)	Osteopenia/ osteoporosis (45%)	Normal (64.6%)	Osteopenia/ osteoporosis (35.4%)
Életkor, év (átlag, range)	59,2 (51–77) ^a	61,4 (51–81) ^a	60,5 (51–81)	59,6 (51–76)
BMI, kg/m ² (átlag, range)	30,2 (18,3–41,7) ^b	27,8 (17,3–40,5) ^b	29,6 (18,0–41,7) ^l	28,3 (17,3–40,5) ^l
FRAX, % (major osztéoporotikus törések) (átlag, range)	2,9 (1,7–11,0) ^c	4,9 (2,5–16,0) ^c	3,4 (1,7–11,0) ^d	4,5 (1,9–16,0) ^d
FRAX, % (csípőtörés) (átlag, range)	0,3 (0–7,5) ^e	1,3 (0,3–9,4) ^e	0,5 (0–7,5) ^f	1,2 (0,1–9,4) ^f
PTH, pmol/L (átlag, range)	4,0 (1–10,2) ^m	4,5 (2,1–12,0) ^m	4,2 (1,0–12,0)	4,4 (1,7–10,2)
25OHD, nmol/L (átlag, range)	72,9 (11–185)	72,6 (13–164)	72,9 (11–185)	72,7 (16–151)
OC, µg/L (átlag, range)	14,1 (4,5–33,3)	15,3 (6,3–34,6)	13,6 (4,5–33,3) ^g	16,6 (4,9–34,6) ^g
β-CTx, µg/L (átlag, range)	0,220 (0,010–0,770)	0,230 (0,020–0,700)	0,200 (0,010–0,770) ⁿ	0,260 (0,020–0,700) ⁿ
PINP, µg/L (átlag, range)	36,5 (8,2–98,6)	40,3 (17,2–81,3)	35,8 (8,2–82,4) ^o	42,7 (14,7–98,6) ^o
Napi étrendi kalciumbevitel, mg/nap (átlag, range)	684 (260–1624)	662 (122–1290)	670 (122–1624)	681 (244–1270)
LS BMD, gm/cm ² (átlag ±SD)	1,237 ± 0,180 ^h	1,093 ± 0,155 ^h	1,273 ± 0,141 ⁱ	0,988 ± 0,076 ⁱ
FN BMD, gm/cm ² (átlag ±SD)	1,065 ± 0,099 ^j	0,854 ± 0,072 ^j	1,017 ± 0,127 ^k	0,885 ± 0,110 ^k

^a*p* = 0,012; ^{b,c,d,e,f,g,h,i,j,k}*p* < 0,001; ^l*p* = 0,027; ^m*p* = 0,046; ⁿ*p* = 0,006; ^o*p* = 0,004.

4.2. A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány

4.2.1. A szklerosztin tanulmány (401)

A szérumszklerosztin szintek statisztikailag szignifikáns korrelációt mutattak az életkorral ($r=0,211$; $p=0,003$), a cisztatin C-vel ($r=0,246$; $p=0,001$), az LS BMD-vel ($r=0,169$; $p=0,019$), és az FN BMD-vel ($r=0,147$; $p=0,041$). Nem találtunk szignifikáns korrelációt a szérumszklerosztin és a PTH, a testtömeg-index (BMI), a csontforgalmi-markerek, valamint 25OHD szintek között (14. táblázat). Többváltozós lineáris regressziós analízist végeztünk, hogy meghatározzuk a szérumszklerosztin, mint független változók szintek statisztikailag jelentős előjelzőit. Hasonló befolyásoló változóval kétszer végzendő korrigálás elkerülése érdekében az LS és FN BMD-t külön-külön alkalmaztuk kovariánsként két különböző modellben. Elsőben és az életkor, cisztatin C és az FN BMD, mint független változók bevonásával, az életkor (standardizált regressziós koefficiens (β)=0,167; $p=0,029$), és a cisztatin C (standardizált regressziós koefficiens (β)=0,187; $p=0,013$) bizonyultak a szérumszklerosztin szintek statisztikailag szignifikáns előjelzőinek. A második modellben az életkor, a cisztatin C és az LS BMD szerepelt független változóként, és csak a cisztatin C (standardizált regressziós koefficiens (β)=0,200; $p=0,008$) bizonyult a szérumszklerosztin szintek szignifikáns prediktorának.

14. táblázat. A szérumszklerosztin szintek és a vizsgált paraméterek közötti korrelációs koefficiensek (p -értékekkel).

Paraméterek	Összes férfi (n = 194)	Középkorúak (≤ 59 évesek, n = 98)	Idősödők (>59 évesek, n = 96)
Életkor	0,211 (0,003)	0,047 (0,648)	0,259 (0,011)
BMI	0,043 (0,485)	0,066 (0,286)	0,096 (0,121)
PTH	-0,008 (0,908)	0,094 (0,359)	-0,112 (0,288)
25OHD	-0,088 (0,225)	-0,048 (0,641)	-0,128 (0,215)
OC	-0,066 (0,369)	-0,080 (0,437)	-0,029 (0,780)
β -CTx	-0,005 (0,940)	0,054 (0,833)	-0,071 (0,501)
PINP	-0,115 (0,110)	-0,113 (0,267)	-0,101 (0,327)
Cisztatin C	0,246 (0,001)	-0,103 (0,327)	0,522 ($<0,001$)
Kreatinin	0,172 (0,022)	-0,067 (0,522)	0,387 ($<0,001$)
eGFR	-0,162 (0,033)	0,067 (0,522)	-0,396 ($<0,001$)
LS BMD	0,169 (0,019)	0,160 (0,540)	0,150 (0,145)
FN BMD	0,147 (0,041)	0,145 (0,153)	0,170 (0,098)

A szérumszklerosztin szintekkel az egész csoportban szignifikáns korrelációt mutatott a plazma cisztatin C ($r=0,246$; $p=0,001$), szérumszklerosztin ($r=0,172$; $p=0,022$) és az eGFR ($r=-0,162$; $p<0,001$). Bár ez nem volt igaz a középkorú férfiak esetében, ahol szignifikáns korrelációt nem találtunk, idősek alcsoportjában a plazma cisztatin C ($r=0,552$; $p<0,001$), a szérumszklerosztin ($r=0,387$; $p<0,001$) és eGFR ($r=-0,396$; $p<0,001$) még erősebben korreláltak a szérumszklerosztin szintekkel. A korrelációs koefficiens (r) nagysága és a szignifikancia (p) szintje a legerősebb összefüggést mutatta a plazma cisztatin C-vel. Megjegyzem itt, hogy az MDRD tanulmány képlete az eGFR számolására magába foglalja az életkort, így a kor és a GFR nem független változók, emiatt a kimenetel inkább képviselheti az életkort, mint magát a vesefunkciót. Ebből következik, hogy a cisztatin-C szint érzékenyebb jelzője lehet GFR-nek,

mint a szérumban a kreatinin koncentráció, és ezt nem befolyásolja az életkor, étrend és a tápláltsági állapot.

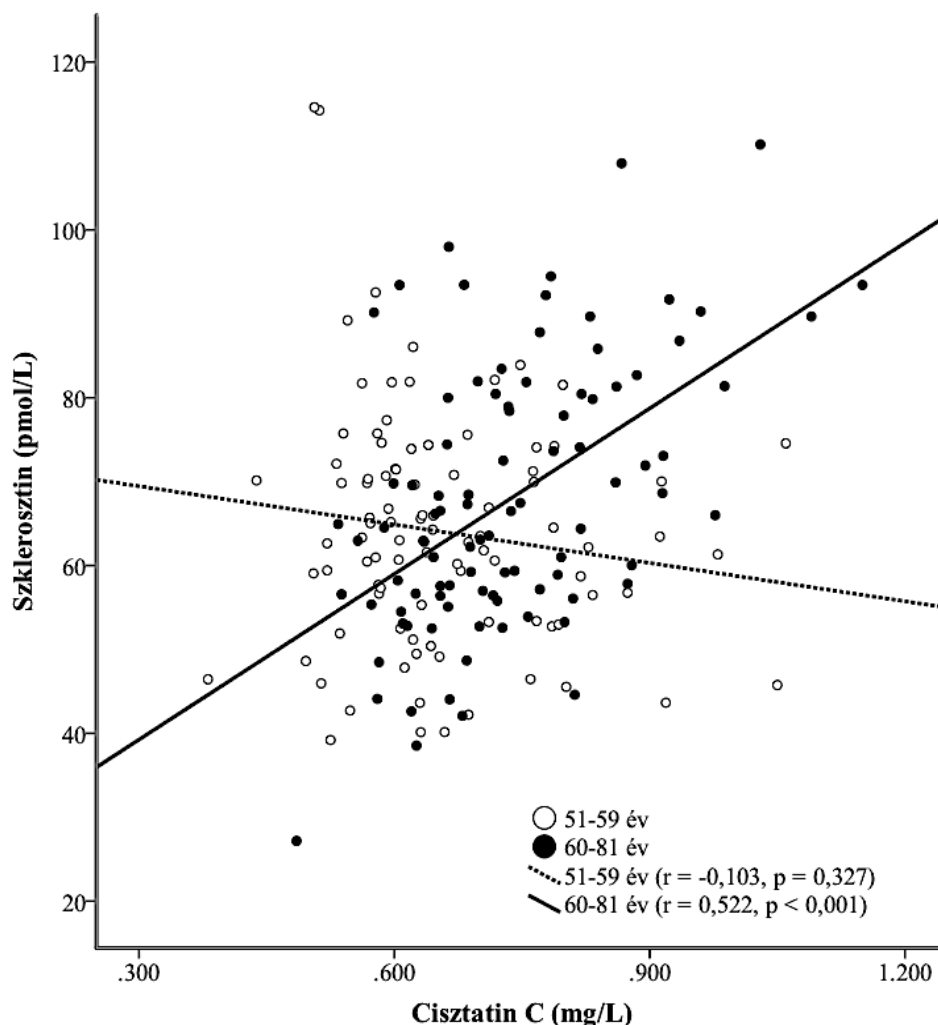
Az életkor zavaró hatásának csökkentésére a medián 59 éves kort vettük két alcsoport elválasztójának. A tanulmány résztvevői férfiak voltak, az egész csoportot középkorú (≤ 59 év, $n=98$) és idősebb alcsoportra (>59 év, $n=96$) osztottuk. A középkorúakhoz viszonyítva az idősebbeknek szignifikánsan magasabb szérumban a szklerosztin ($67,8$ vs. $63,5$ pmol/L; $p=0,047$) és plazma cisztatin C ($0,736$ vs. $0,657$ mg/L; $p<0,001$) szintjei voltak (15. táblázat). A középkorú férfiak szklerosztin szintje nem mutatott korrelációt semelyik vizsgált paraméterrel (kor, cisztatin C, BMI, LS BMD, FN BMD, PTH, 25OHD, OC, β -CTx, PINP). Az idősebb férfiakban viszont a szérumban a szklerosztin szintek szignifikáns korrelációt mutattak az életkorról ($r=0,259$; $p=0,011$) és a cisztatin C-vel ($r=0,522$; $p=0,001$) (8. ábra). A cisztatin C és az életkor bevitele független változóként a regressziós modellbe azt mutatta, hogy a cisztatin C volt az egyedüli szignifikáns prediktora a szérumban a szklerosztin szinteknek (standardizált regressziós koefficiens (β)= $0,487$; $p<0,001$).

15. táblázat. Résztvevő személyek jellemzői.

	Összes férfi (n=194)	Középkorúak (≤59 évesek, n=98)	Idősödők (>59 évesek, n=96)
Életkor (év (átlag, range))	60,4 (51–81)	55,6 (51–59) ^a	65,4 (60–81) ^a
BMI, kg/m ² (átlag, range)	29,2 (17,3–41,7)	28,9 (18–38,5)	29,5 (17,3–41,7)
Szklerosztin, pmol/L (átlag, range)	65,6 (27,2–114,6)	63,5 (39,2–114,6) ^b	67,8 (27,2–110,2) ^b
PTH, pmol/L (átlag, range)	4,2 (1–10,2)	4,2 (1–10,2)	4,3 (1,6–8,3)
25OHD, nmol/L (átlag, range)	73,1 (11–185)	72,1 (11–137)	74,0 (14–185)
OC, µg/L (átlag, range)	14,6 (5–35)	15,2 (5–33)	14,0 (6–35)
β-CTx, µg/L (átlag, range)	0,220 (0,010–0,770)	0,240 (0,010–0,770)	0,200 (0,040–0,700)
PINP, µg/L (átlag, range)	38,3 (10,5–98,6)	39,2 (10,5–98,6)	37,3 (13,1–81,3)
Cisztatin C, mg/L (átlag, range)	0,697 (0,381–1,150)	0,657 (0,381–1,060) ^c	0,736 (0,485–1,150) ^c
Kreatinin, µmol/L (átlag, range)	78 (46–109)	77 (46–109)	79 (52–105)
eGFR, mL/min/1.73 m ² (átlag, range)	91 (60–165)	94 (60–165) ^d	87 (62–140) ^d
LS BMD, gm/cm ² (átlag ± SD)	1,172 ± 0,185	1,148 ± 0,167	1,197 ± 0,199
FN BMD, gm/cm ² (átlag ± SD)	0,970 ± 0,137	0,980 ± 0,131	0,960 ± 0,142

^{a,c} $p < 0,001$, ^b $p = 0,047$, ^d $p = 0,017$, középkorú és idősödő férfiak között.

8. ábra. Pont-diagram Szérum szklerosztin szintek a cisztatin C-vel szemben, középkorú és idősödő egészséges férfiakban.



A már említett korrelációkon túl, az egész csoporton belül a plazma cisztatin C korrelált a kreatininnel ($r=0,526$; $p<0,001$), az eGFR értékkel ($r=-0,501$; $p<0,0001$), PINP ($r=0,170$; $p=0,020$), és az oszteokalcinnal ($r=0,162$; $p=0,028$); középkorú férfiakban a plazma cisztatin C korrelált a kreatininnel ($r=0,457$; $p<0,001$), az eGFR értékkel ($r=0,455$; $p<0,001$), a PINP-vel ($r=0,412$; $p<0,001$), oszteokalcinnal ($r=0,471$; $p<0,001$) és a β -CTx szintekkel ($r=0,253$; $p=0,016$); idősödő férfiakban a plazma cisztatin C korrelált a kreatininnel ($r=0,567$; $p<0,001$) és az eGFR értékkel ($r=-0,583$; $p<0,001$).

Férfiakban az LS BMD normál T-score ($> -1,0$) esetén ($n=125$) a szérum szklerosztin szintek szignifikánsan magasabbak voltak, hasonlítva az alacsony LS BMD ($n=69$) T-score

($\leq -1,0$) értéket mutató társaikhoz ($n=69$) (67,5 vs. 62,2 pmol/L; $p=0,027$). Nem volt különbség a szklerosztin-szintekben, ha az FN BMD normál T-score ($>-1,0$) értékű férfiakat az alacsony ($\leq -1,0$) FN BMD T-score értékűekhez hasonlítottuk ($n=85$) (66,8 vs. 64,1 pmol/L; $p=0,181$).

A normál FN BMD értékű férfiak körében az idősödő alcsoportbeliek szérumszintjei magasabbak voltak, mint a középkorú alcsoportbelié (70,4 vs. 63,9 pmol/L; $p=0,019$). Az alacsony FN BMD értékű férfiak közül az idősödőkben magasabb, de statisztikailag nem szignifikáns szérumszklerosztin szinteket mértünk a középkorúakhoz viszonyítva (65,1 vs. 62,9 pmol/L; $p=0,540$).

A normál LS BMD-jű személyek körében nem volt szignifikáns különbség a szérumszklerosztin szintekben idősödő és középkorú személyek között (70 vs. 64,8 pmol/L; $p=0,071$). Hasonlóan az alacsony LS BMD-jű személyekben mértekhez, nem volt szignifikáns különbség a szérumszklerosztin szintekben idősödők és középkorúak alcsoportja között (63,1 vs. 61,5 pmol/L; $p=0,575$).

4.2.2. Az OPG és RANKL tanulmány (403)

A HunMen tanulmányban önkéntesekből 229 véletlenszerűen beválogatott személy vett részt. A beválasztási és kizárási kritériumoknak nem megfelelő személyek ($n=23$) adatai nem szerepelnek a végső statisztikai elemzésben. A HunMen tanulmány tervében eredetileg nem szerepeltek az OPG és RANKL mérések és elemzésük, így a másodlagos tervben 206 résztvevőtől csak 194 minta mérése vált lehetővé. A mintákat adók személyes és laboratóriumi adatait a 16. táblázat mutatja.

16. táblázat. A vizsgált férfiak személyes, laboratóriumi és BMD mérési adatai.

	Összes férfi (n=194)	Középkorúak (≤59 évesek, n=98)	Idősödők (>59 évesek, n=96)
Életkor, évek (átlag, range)	60,4 (51–81)	55,6 (51–59) ^a	65,4 (60–81) ^a
BMI, kg/m ² (átlag, range)	29,2 (17,3–41,7)	28,9 (18–38,5)	29,5 (17,3–41,7)
Osteoprotegerin, pmol/L (átlag, range)	5,0 (2,2–10,1)	4,6 (2,2–7,7) ^b	5,4 (3,0–10,1) ^b
sRANKL, pmol/L (átlag, range) (≥0,020 pmol/L kimutatási határ)	0,197 (0,020–0,875) (n = 120)	0,226 (0,026–0,875) ^c (n = 61)	0,167 (0,020–0,795) ^c (n = 59)
sRANKL/osteoprotegerin hányados (átlag, range)	0,043 (0,003–0,256) (n = 120)	0,053 (0,006–0,256) ^d (n = 61)	0,033 (0,003–0,176) ^d (n = 59)
Össz 17β-ösztadiol, nmol/L (átlag, range)	0,09 (0,02–0,19)	0,09 (0,03–0,19)	0,08 (0,02–0,15)
Össz tesztoszteron, nmol/L (átlag, range)	12,8 (0,3–41,7)	13,1 (2,7–41,7)	12,4 (0,3–32,1)
Szexhormon kötőglobulin, nmol/L (átlag, range)	40,8 (12,3–196,2)	40,7 (12,7–196,2)	40,9 (12,3–115,5)
Szabad ösztadiol index (átlag, range)	0,003 (0–0,009)	0,003 (0,001–0,007)	0,002 (0–0,009)
Szabad tesztoszteron Index (átlag, range)	0,340 (0,005–0,743)	0,354 (0,081–0,704) ^e	0,325 (0,005–0,743) ^e
PTH, pmol/L (átlag, range)	4,2 (1–10,2)	4,2 (1–10,2)	4,3 (1,6–8,3)
25OHD, nmol/L (átlag, range)	73,1 (11–185)	72,1 (11–137)	74,0 (14–185)
OC, µg/L (átlag, range)	14,6 (5–35)	15,2 (5–33)	14,0 (6–35)
β-CTx, µg/L (átlag, range)	0,220 (0,010–0,770)	0,240 (0,010–0,770)	0,200 (0,040–0,700)
PINP, µg/L (átlag, range)	38,3 (10,5–98,6)	39,2 (10,5–98,6)	37,3 (13,1–81,3)
Cisztatin C, mg/L (átlag, range)	0,697 (0,381–1,150)	0,657 (0,381–1,060) ^f	0,736 (0,485–1,150) ^f
L1-L4 BMD, gm/cm ² (átlag ± SD)	1,172 ± 0,185	1,148 ± 0,167	1,197 ± 0,199
FN BMD, gm/cm ² (átlag ± SD)	0,970 ± 0,137	0,980 ± 0,131	0,960 ± 0,142

^{a,b,f}p<0,001, ^cp=0,048, ^dp=0,007 és ^ep=0,49 a középkorú és az idősödő férfiak között.

bhattoa.harjit.pal_23_22

Az OPG szignifikánsan korrelált az életkorral, a cisztatin C-vel, össz 17 β -ösztradiollal (E2) és Szabad tesztoszteron Indexszel (FTI) (17. táblázat).

17. táblázat. Spearman féle korrelációs analízis szérum oszteoprotegerin és a többi vizsgálat paraméter között.

	Összes férfi (n=194)		Középkorúak (≤ 59 évesek, n=98)		Idősödők (> 59 évesek, n=96)	
	ρ	p	ρ	p	ρ	p
Életkor	0,359	<0,001	0,165	0,105	0,050	0,631
Testtömeg-index	0,031	0,672	0,057	0,580	-0,036	0,725
sRANKL	-0,034	0,713	0,019	0,885	-0,038	0,774
sRANKL/oszteoprotegerin hányados	-0,234	0,010	-0,204	0,116	-0,199	0,131
Össz 17 β -ösztadiol	0,160	0,028	0,164	0,110	0,211	0,043
Össz tesztoszteron	-0,025	0,729	0,106	0,302	-0,064	0,540
SHBG	0,070	0,342	0,199	0,052	0,060	0,568
Szabad ösztadiol index (FEI)	-0,072	0,323	-0,084	0,414	0,048	0,648
Szabad tesztoszteron index (FTI)	-0,230	0,001	-0,142	0,167	-0,169	0,106
PTH	-0,076	0,300	-0,172	0,093	-0,009	0,930
25OHD vitamin	-0,123	0,091	-0,115	0,085	-0,030	0,774
Oszteokalcin	-0,102	0,161	-0,037	0,717	-0,040	0,706
β -CTx	-0,100	0,171	-0,095	0,358	-0,053	0,611
PINP	-0,043	0,553	-0,006	0,951	-0,044	0,667
L1-L4 BMD	0,026	0,716	-0,041	0,689	0,010	0,923
FN BMD	-0,074	0,307	-0,071	0,485	-0,001	0,995
Cisztatin C	0,298	<0,001	0,022	0,832	0,322	0,002
Kreatinin	0,038	0,618	-0,085	0,415	0,132	0,239
MDRD-eGFR	-0,071	0,351	0,083	0,428	-0,142	0,207
Cisztatin C-eGFR	-0,343	<0,001	-0,031	0,766	-0,335	0,001
Cisztatin C és kreatinin-eGFR	-0,231	0,003	0,023	0,834	-0,262	0,020

Továbbá, a Spearman rang-korrelációs teszttel a cisztatin C korrelált az életkorral ($\rho=0,487$; $p<0,001$), a kreatininnel ($\rho=0,487$; $p<0,001$), az MDRD eGFR értékkel ($\rho=-0,524$;

$p < 0,001$), az ösztradiollal ($\rho = 0,222$; $p = 0,003$), a PINP-vel ($\rho = 0,151$; $p = 0,040$), és az OPG-vel ($\rho = 0,298$; $p < 0,001$). Bár az OPG nem korrelált a szérumban a kreatininnel, vagy az MDRD eGFR-értékkel, azonban a szignifikáns korrelációt mutatott a cisztatin C-eGFR értékekkel, a cisztatin C-vel és a kreatinin-eGFR értékekkel.

Többváltozós lineáris regressziós analízist végeztünk a szérumban az OPG szintek prediktorainak keresésére. Ha az életkort, a cisztatin C-t, FTI-t és E2-szintet vontuk be az analízisbe, a modell az életkort, a cisztatin C-t, az FTI-t és az E2 szintet mind kiadta, mint a szérumban az OPG szintek szignifikáns prediktorait (18. táblázat).

18. táblázat. Az oszteoprotegerin prediktorai többváltozós regressziós analízis szerint.

	Oszteoprotegerin	
	β	p
Életkor	0,232	0,002
Össz 17 β -ösztadiol	0,166	0,021
Szabad tesztoszteron index	-0,178	0,012
Cisztatin C	0,182	0,015

Az életkor zavaró hatásának csökkentésére a résztvevők teljes csoportjából két alcsoportot képeztünk a medián 59 éves életkor, mint választóvonal segítségével. Az egyik a középkorúak alcsoportja (≤ 59 éves, $n = 98$) és egy másik az idősödők (> 59 éves, $n = 96$). A középkorúakhoz viszonyítva az idősödők OPG szintje szignifikánsan magasabb, a RANKL szintje és RANKL/OPG hányadosa viszont szignifikánsan alacsonyabb volt (16. táblázat). A középkorú személyekben a szérumban az OPG és sRANKL szintek nem mutattak szignifikáns korrelációt, hasonlóan a többi vizsgált paraméterhez (17. táblázat). Az idősödő férfiak csoportjában szignifikáns korrelációt mutattunk ki a szérumban az OPG és cisztatin C szintek között. Közöttük a cisztatin C és E2 bevonásával készült regressziós modell szerint csak a cisztatin C

bizonyult a szérum OPG szintek szignifikáns prediktorának (standard regressziós koefficiens (β)=0,0345; p =0,002).

Nem volt szignifikáns különbség a méréshatár alatti (<0,02 pmol/L, n= 74) sRANKL koncentrációjú és a detektálható (\geq 0,02 pmol/L, n=120) sRANKL szintű személyek között a vizsgált paraméterekben, kivéve az LS BMD (1,190 vs. 1,143 g/cm²; p =0,043) és az FN BMD (0,984 vs. 0,949 g/cm²; p =0,049) értékeket. Vagyis az LS és FN BMD szignifikánsan alacsonyabb volt azokban, akiknek sRANKL szintje nem detektálható.

Nem volt különbség az OPG, sRANKL, és sRANKL/OPG hányados tekintetében, ha az elegendő (25OHD \geq 75 nmol/L) és az elégtelen (25OHD <75 nmol/L) D-vitamin ellátottságú egyéneket hasonlítottuk össze.

4.3. A terhességi és laktációs tanulmány (42)

A résztvevők jellemző adatait a 19. táblázat mutatja. A kiindulási átlagos napi kalciumbevitel hasonló volt a javasolt mennyiséghez (444).

19. táblázat. Résztvevő személyek jellemzői.

	n=20
Életkor (év; átlag, range)	24,1 (20–36)
Kiindulási BMI (kg/m ² ; átlag \pm SD)	27,1 (\pm 2,9)
Napi kalcium bevitel (induláskor) (mg; átlag, range)	1290 (810–1530)
Menarché életkor (év; átlag range)	13 (11–15)
Súlygyarapodás terhességben (kg; átlag \pm SD)	13 (\pm 3,2)
Újszülött súlya (gramm; átlag \pm SD)	3337 (\pm 380)
Laktációs amenorrhoea tartama (hónap; átlag, range)	13 (7–18)
A laktáció időtartama (hónap; átlag, range)	9,1 (7–12)

A biokémiai változókat vizitek között hasonlítottuk össze (20. táblázat, 21. táblázat). Nem volt szignifikáns különbség a vizelet kalcium/kreatinin hányados, a szérum kalcium, foszfát és 25OHD értékei között a tanulmány vizitjei szerint. A PTH szintek szignifikánsan növekedtek kiindulástól a szülés utáni (PP) 12. hónapig ($p < 0,05$). Ez történt az OC szintekkel a kiindulás és a szülés között ($p < 0,01$), a kiindulás és a PP6 vizit között ($p < 0,01$), a G vizit és a szülés között ($p < 0,05$), a G és PP6 között ($p < 0,001$), a PP6 és PP12 vizitek között ($p < 0,05$). Szignifikáns különbség volt a BSAP szintekben a kiindulás és a szülés között ($p < 0,001$), a kiindulás és PP6 ($p < 0,005$), a G vizit és szülés ($p < 0,001$), a G és PP6 ($p < 0,01$), a szülés és PP6 ($p < 0,005$) és a szülés és PP12 vizit között ($p < 0,001$). Hasonlóan a PICP értékek különböztek a kiindulás és szülés ($p < 0,01$), a kiindulás és PP6 ($p < 0,01$), a G vizit és a szülés ($p < 0,05$), a G és PP6 ($p < 0,05$), a szülés és PP12 ($p < 0,05$) vizitek között. A D-pyr értékek jelentős különbsége a G és szülés ($p < 0,05$), valamint a szülés és PP6 között ($p < 0,05$) igazolódott (9. ábra).

20. táblázat. Laboratóriumi alapértékek a követési vizitek szerint.

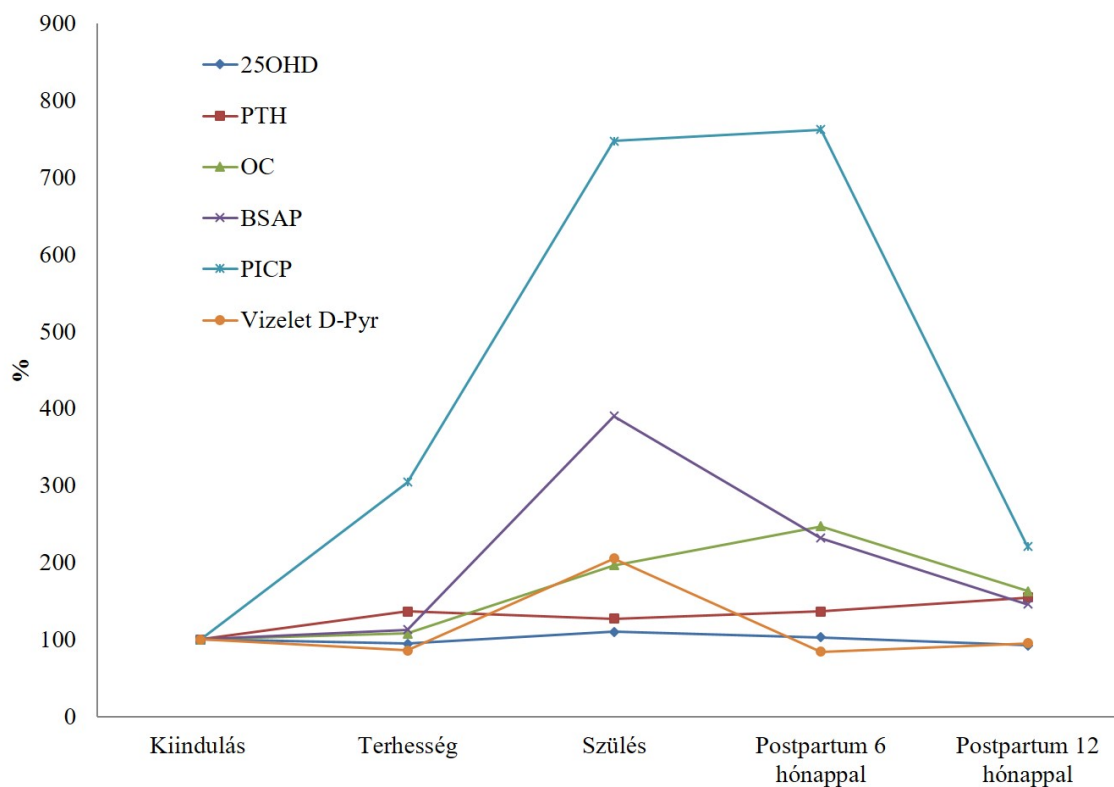
Laboratóriumi eredmények (átlag \pm SD)	Kiindulás	Terhesség	Szülés	Postpartum 6 hónap	Postpartum 12 hónap
Kalcium (mmol/L; n = 20)	2,30 \pm 0,08	2,30 \pm 0,10	2,40 \pm 0,12	2,42 \pm 0,11	2,32 \pm 0,10
Foszfát (mmol/L; n = 20)	1,20 \pm 0,08	1,20 \pm 0,07	1,21 \pm 0,13	1,30 \pm 0,11	1,32 \pm 0,27
Vizelet kalcium/kreatinin (mmol/mmol; n = 20)	0,23 \pm 0,12	0,22 \pm 0,11	0,24 \pm 0,20	0,21 \pm 0,15	0,29 \pm 0,13

21. táblázat. Hormonok és csontforgalmi biokémiai markerek szintje a követési vizitek szerint.

Laboratóriumi eredmények (átlag (1–3 kvartilis))	Kiindulás	Terhesség	Szülés	Postpartum 6 hónap	Postpartum 12 hónap
25OHD (nmol/L; n = 11)	72 (55–87)	62 (52–79)	80 (60–97)	75 (57–87)	67 (50–86)
PTH (pmol/L; n = 11)	2,2 (1,6–2,7)	3,0 (2,2–2,8)	2,8 (2,3–3,1)	3,0 (2–3,6)	3,4 (2,7–4)
OC (µg/L; n = 8)	9,1 (4,6–11,2)	9,8 (6–10,7)	17,9 (14,3–12,2)	22,3 (18,7–23,6)	14,82 (11,7–19,6)
BSAP (U/L; n = 9)	6,3 (6–6,6)	7,1 (4,8–8,4)	24,6 (15,8–26,2)	14,6 (11,3–19,2)	9,2 (8,5–9,4)
PICP (µg/L; n = 5)	227,3 (175,5–289,8)	692,4 (617,4–964,1)	1699,5 (1033,2–1778,7)	1733 (964,1–1986,9)	502,2 (326,3–675,6)
Vizelet D-pyr (nmol/mmol kreatinin; n = 4)	10,0 (7,2–12,4)	8,6 (6,5–10,8)	20,5 (12,3–24)	8,4 (5–11,4)	9,5 (8,2–10,4)

25OHD: 25-hidroxi-D vitamin; PTH: paratireoid hormon; OC: oszteokalcin; BSAP: csontspecifikus alkalikus foszfatáz; PICP: I-es típusú prokollagén karboxipeptidek; D-pyr: deoxipiridinolin keresztkötések.

9. ábra. Biokémiai változók szintjének változása a kiinduló 100%-hoz képest a vizitek idővonala szerint.



4.4. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata

(407,408)

Az IFCC Committee for Bone Metabolism (C-BM) multicentrikus tanulmányt szervezett a PINP méréséről szérumban és EDTA-plazmás mintában, négy európai laboratórium részvételével (409). A PINP mérését szérumban és EDTA-plazmában három kereskedelmi forgalmú reagenscsomaggal végezték 796 oszteoporikus páciensből (eGFR >30 mL/min/1,73 m²) vett mintákból. Mindegyik reagens-együttes hasonló eredményt adott mindkét matrixban, ebből következtethető, hogy mindkettő elfogadható és bármelyik matrixból nyert adat felcserélhető a másikból kapott lelettel meghatározások során (409). Az automatizált PINP mérés (Roche Cobas és IDS iSYS módszerekkel) hasonló eredményeket adott (lásd 22. táblázat) (409). A Bland-Altman pontdiagram és a V-alakú modell alkalmazásával a szérumból és plazmából nyert eredmények 87,4%-ban és 86,1%-ban a V-modell határai közé estek. A két módszerrel nyert eredmények közötti medián különbség nem szignifikáns 0,25 µg/L volt (409). Ezzel ellentétben az Orion RIA és a két automata rendszer mérési adatai között szignifikáns, arányos hibát állapítottunk meg (409). A Passing-Bablok regressziós egyenlet a Roche Elecsys és az Orion RIA között: Elecsys = 1,22 x Orion - 0,0 szérumban és Elecsys = 1,24X Orion RIA - 0,2 plazmában. A Bland-Altman diagram szignifikáns arányos hibát mutatott és a V-alakú modell határain belülre csak az eredmények 61,1%-a és 60,3% -a esett. A Passing-Bablok regresszióval kapott egyenlet az IDS iSYS és Orion RIA szembeállításakor iSYS = 1,35x Orion RIA - 3,2 szérumban és iSYS = 1,45 x Orion RIA - 3,7 plazmában. A Bland-Altman diagram szignifikáns proporcionális hibát mutatott és a V-alakú modellben az eredményeknek csak 57,4%-a (szérum) és 49,1%-a (plazma) esett a határokon belülre. Mások vizsgálati eredményei ezekkel a kereskedelmi regensekkel, lényegében a saját bemutatott adatainkkal összhangban vannak (103,445).

22. táblázat. A Passing-Bablok regressziós egyenletek a Roche assay és az IDS iSYS assay használatakor PINP mérésre.

Személyek	Regressziós egyenlet	Merekség 95% CI	Metszéspont 95% CI
Oszteoporotikus páciensek (409)	Cobas = 0,91 iSYS + 2,6	0,90; 0,92	2,2; 3,1
Egészséges véradók (21)	Elecsys = 0,94 iSYS – 3,6	0,80; 1,15	–18,4; 3,6
Oszteoporotikus, egyébként egészséges személyek (446)	iSYS = 1,05 Cobas – 1,4	1,04; 1,06	–1,9; –0,8
Reumatoid arthritisz, egyébként egészséges páciensek (447)	iSYS = 0,98 Elecsys – 1,42	0,94; 1,03	–2,86; 0,08
Hemodialízises betegek (21)	Elecsys = 5,74 iSYS – 95,6	4,56; 8,57	–240,9; –31,9
CKD-betegek (448)	iSYS = 0,74 Cobas + 3,7	0,67; 0,81	1,2; 5,8
Ágyhoz kötött idősek betegek (21)	Elecsys = 1,57 iSYS – 12,0	1,43; 1,73	–19,0; –5,7

4.5. A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány (410)

A Debreceni Regionális Immunológiai Centrum mintegy 600 gondozott betegéből 70 nőt választottunk ki gondozási dokumentumaik alapján. A vizsgálati terv besorolási és kizárási kritériumai alapján 70 személyt hívtunk meg résztvevőnek tanulmányunkba. Közülük 43 írásos beleegyezését adta és részt vett a szűrésben, végül 32 személyt soroltunk be. Betegségük jellegében és demográfiai adataikban nem volt különbség a vizsgálatra meghívott és a hozzájárulást adó személyek között. A résztvevőket véletlenszerűen soroltuk ösztradiol kezelési (n=15) és placebo (n=17) csoportba.

Az ösztradiol- és placebo-kezelés csoport között kiinduláskor nem volt szignifikáns különbség életkoruk (56,8 vs. 53,1 év); testtömeg-indexük (28,7 vs. 27,4 kg/m²); a menopauza időtartama besoroláskor (12,7 vs. 12,1 év); a betegség időtartama (19,5 vs. 14,8 év); a SLEDAI (2,5 vs. 2,5); a SLICC (3,5 vs. 3,2); a napi kortikoszteroid adag (4,7 vs. 7,2 mg); kumulatív kortikoszteroid adag (46,8 vs. 52,6 g); 17β-ösztradiol (50,0 vs. 49,9 pmol/L); FN és LS BMD,

β -CTx és OC szintek tekintetében. Korai menopauza diagnózisát (ciklofoszfamid-okozta petefészkek-elégtelenség miatt) mindkét csoportban 4-4 személy esetében dokumentálták.

A különböző vizetek során mért átlag lumbális gerinc, femurnyak és teljes csípő BMD értékek a 23. táblázat, valamint az átlag OC és β -CTx értékek a 24. táblázat mutatja.

On-treatment és intention-to-treat (ITT) elemzést is végeztünk. A két elemzésből a baseline, M3, M6, M9 és M12 viziteken az on-treatment elemzés résztvevőinek száma a vizitek sorrendjében az ösztradiol csoportban 15, 11, 11, 8, 7, a placebo-csoportban 17, 16, 16, 15, 14 volt, az ITT analízisben a baseline, M3, M6, M9 viziteken a résztvevők száma 15, az M12 viziten 14 volt, a placebo csoportban 17 személy volt az első négy viziten, és 16 személy az M12 viziten.

Az FN, LS és teljes csípő BMD értékek százalékos különbségei a vizitek és a két csoport között a 10. ábrán szerepelnek. Az OC és β -CTx-szintek százalékos változásai a vizitek és a két csoport között a 11. ábrán láthatóak.

23. táblázat. Átlag (\pm SD) L₁-L₄ lumbális gerinc, bal combnyak és teljes csípő BMD (\pm SD) értékek a vizitek sorrendjében az ösztradiol-kezelt és a placebo-csoportokban on-treatment és intention-to-treat elemzéssel.

Statistikai módszer, régió	Kezelési Csoport	Meghatározások ideje		
		Kiindulás	6. hónap	12. hónap
		BMD (gm/cm ²) \pm SD	BMD (gm/cm ²) \pm SD	BMD (gm/cm ²) \pm SD
<i>On-treatment</i>				
L ₁ -L ₄	Ösztradiol	0,835 \pm 0,131	0,847 \pm 0,149 ^a	0,825 \pm 0,135
	Placebo	0,782 \pm 0,128	0,762 \pm 0,121 ^a	0,769 \pm 0,136
Femur nyak	Ösztradiol	0,688 \pm 0,119	0,678 \pm 0,134	0,652 \pm 0,147
	Placebo	0,666 \pm 0,127	0,667 \pm 0,126	0,677 \pm 0,121
Teljes csípő	Ösztradiol	0,823 \pm 0,126	0,809 \pm 0,148	0,813 \pm 0,150
	Placebo	0,803 \pm 0,177	0,798 \pm 0,188	0,827 \pm 0,175
<i>Intention-to-treat</i>				
L ₁ -L ₄	Ösztradiol	0,835 \pm 0,132	0,855 \pm 0,140 ^b	0,849 \pm 0,138 ^c
	Placebo	0,782 \pm 0,128	0,774 \pm 0,126 ^b	0,767 \pm 0,137 ^c
Femur nyak	Ösztradiol	0,688 \pm 0,119	0,689 \pm 0,116	0,685 \pm 0,118
	Placebo	0,666 \pm 0,127	0,665 \pm 0,122	0,659 \pm 0,122
Teljes csípő	Ösztradiol	0,823 \pm 0,126	0,823 \pm 0,128	0,823 \pm 0,123
	Placebo	0,803 \pm 0,178	0,799 \pm 0,182	0,794 \pm 0,188

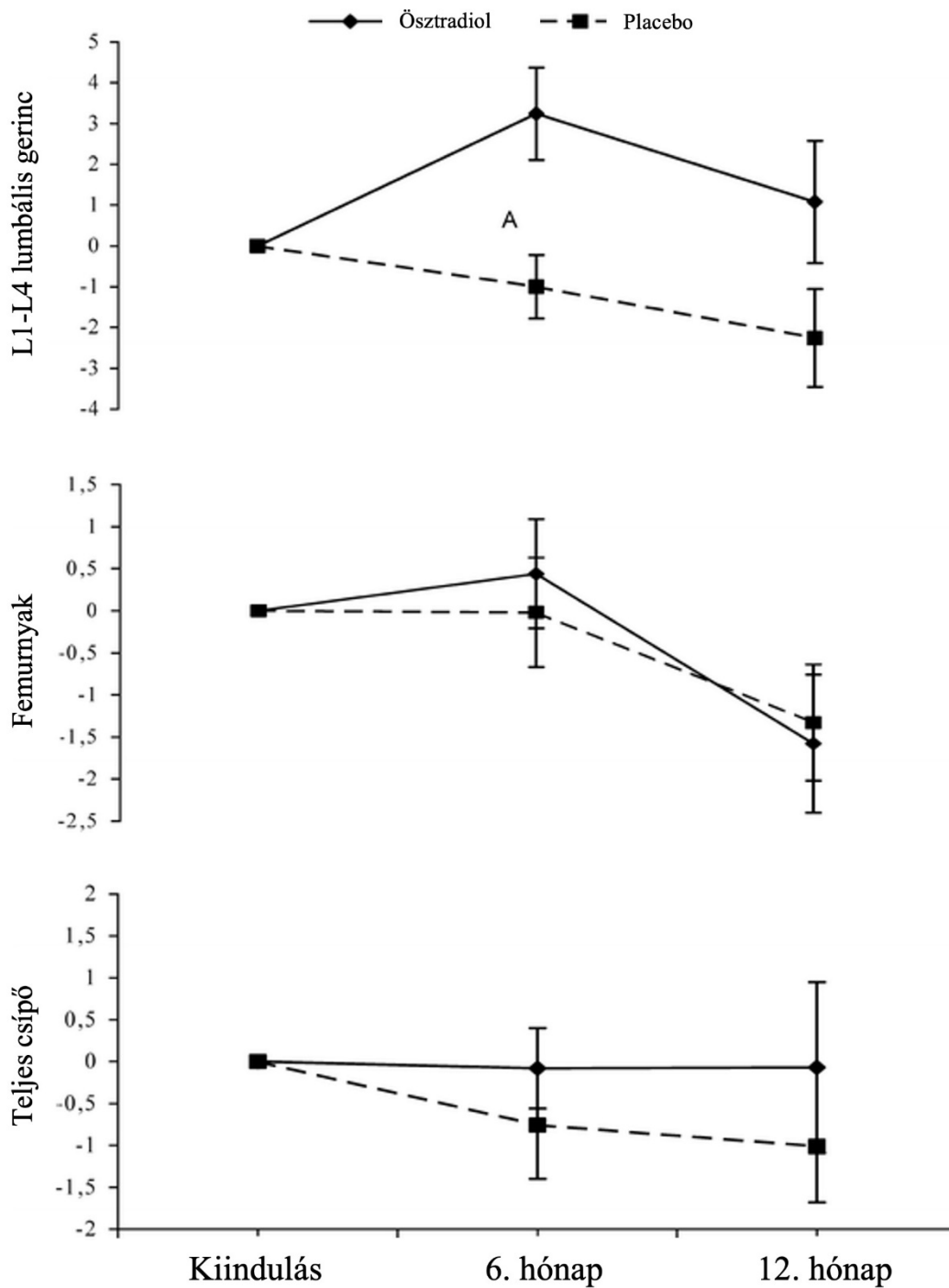
^a $p < 0,005$, ^b $p < 0,01$, ^c $p = 0,01$

24. táblázat. Átlag (1. és 3. kvartilis) szérumban OC és β -CTx értékek a különböző viziteken az ösztadiol kezelt és a placebo csoportban az on-treatment és az intention-to-treat elemzések szerinti alcsoportokban.

Statisztikai módszer, Csont biokémiai marker	Kezelési csoport	Meghatározások ideje (átlag, 1. és 3. kvartilis)				
		Kiindulás	3. hónap	6. hónap	9. hónap	12. hónap
<i>On-treatment</i>						
Oszteocalcin ($\mu\text{g/L}$)	Ösztadiol	25,32 (13,40–30,9)	19,21 (13,3–26,51)	23,89 (14,6–34,10)	25,9 (14,17–34,41)	18,82 (12,94–27,9)
	Placebo	19,62 (11,6–23,7)	17,51 (9,77–21,21)	19,63 (12,15–25,37)	19,70 (12,56–20,95)	22,47 (14,15–25,35)
β -CTx ($\mu\text{g/L}$)	Ösztadiol	0,670 (0,220–0,720) ^{a,b,c,d}	0,270 (0,140–0,460) ^a	0,380 (0,150–0,570) ^b	0,370 (0,130–0,570) ^c	0,330 (0,180–0,540) ^d
	Placebo	0,500 (0,230–0,670) ^e	0,310 (0,160–0,390) ^e	0,380 (0,180–0,520)	0,390 (0,100–0,600)	0,460 (0,270–0,640)
<i>Intention-to-treat</i>						
Oszteocalcin ($\mu\text{g/L}$)	Ösztadiol	25,32 (13,55–30,25)	19,05 (13,45–26,0)	22,48 (14,68–29,56)	22,04 (14,18–26,35)	21,60 (14,57–26,58)
	Placebo	19,62 (11,70–22,60)	16,67 (9,31–17,73)	18,67 (12,09–22,03)	18,46 (12,56–20,90)	20,31 (14,08–25,17)
β -CTx ($\mu\text{g/L}$)	Ösztadiol	0,670 (0,360–0,820) ^{f,g,h,i}	0,330 (0,150–0,490) ^f	0,410 (0,160–0,600) ^g	0,390 (0,140–0,580) ^h	0,420 (0,190–0,600) ⁱ
	Placebo	0,500 (0,270–0,670) ^j	0,290 (0,150–0,320) ^j	0,360 (0,180–0,510)	0,350 (0,100–0,580)	0,390 (0,210–0,540)

^{a,b,c,d,e,f,g,h,i,j} $p < 0,05$

10. ábra. A BMD százalékos változásai (átlag \pm SEM) az ösztradiol és a placebo csoportokban a LS, bal FN és teljes csípő mérőhelyeken kiinduláskor, a 6. és 12. havi vizit alkalmával (on-treatment elemzéssel). A 6 hónapos viziten az LS BMD szignifikáns különbséget ($p < 0,005$) mutatott az ösztradiol és placebo csoportok között.

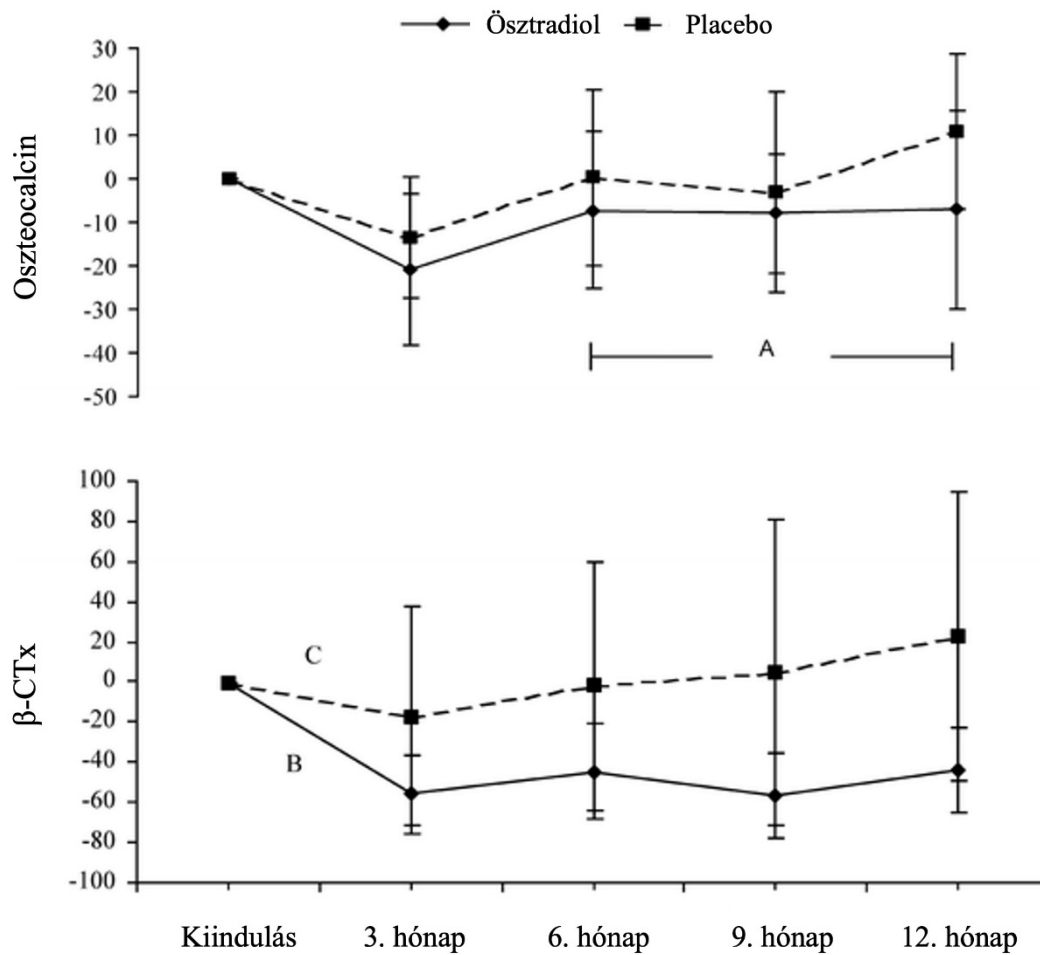


11. ábra. Szérum OC és β -CTx százalékos változások (átlag \pm SEM) az ösztradiol- és placebo-csoportban kiinduláskor, a 3, 6, 9, és 12 hónapos viziteken (on-treatment analízis).

A. Az OC százalékos változása az ösztrogén-csoportban a 6 és 12 hónapos viziteken különbözött a placebo-csoportétól ($p < 0,05$).

B. Az ösztrogén-csoportban a β -CTx százalékos változása különbözött a placebo-csoportétól a kiindulás és az következő vizitek között ($p < 0,05$).

C. A β -CTx százalékos változása az ösztrogén-csoportban különbözött a placebo-csoportétól a kiindulás és a 3 hónapos vizit között ($p < 0,05$).



Az *on-treatment* és *intention-to-treat* statisztikai elemzés tárgyalása alább következik.

On-treatment analízis

Csoportok közötti elemzés

Szignifikáns különbséget találtunk az ösztradiol-kezelt és a placebo csoportok között az LS BMD százalékos változásában a kiindulási és a 6 hónapos vizit összehasonlításakor (103,6 vs. 98,99 %; $p < 0,005$).

Szignifikáns különbség volt az ösztradiol és a placebo csoport között az OC szintek százalékos változásában a 6 hónapos és 12 hónapos viziteken (-5,14 vs. 24,95; $p < 0,05$).

Szignifikáns különbség volt az ösztradiol- és placebo-csoport között a szérum C4 szintekben az M3 vizit időpontjában (0,26 vs. 0,19 g/L; $p < 0,05$) és az M6 viziten (0,26 vs. 0,19 g/L; $p < 0,05$).

Szignifikáns különbség volt az ösztradiol- és a placebo-csoport között a szérum anti-dsDNS antitest szintekben az M6 viziten (12,0 vs. 35,9 µg/mL; $p < 0,05$).

Statisztikailag jelentős különbséget találtunk az ösztradiol- és placebo-csoportok között a szérum IgM anti-β2-glikoprotein antitest-szintekben az M9 viziten (8,9 vs. 2,0 U/mL; $p < 0,05$) és az M12 viziten (12,0 vs. 4,4 U/mL; $p < 0,05$).

Szignifikáns különbség volt ($p < 0,001$) az ösztradiol- és placebo-csoportok között a szérum 17β-ösztradiol szintekben minden viziten (kivéve a kiindulási értékeket), (M3: 119,4 vs. 50,1 pmol/L; M6: 121,1 vs. 49,5 pmol/L; M9: 120,2 vs. 50,6 pmol/L; M12: 120,9 vs. 50,4 pmol/L).

Csoporton belüli elemzés**Ösztradiol csoport**

Statisztikailag jelentős különbség volt: a szérumban β -CTX szintekben a kiindulás (kezelés előtti) és M3 vizit között ($0,67$ vs. $0,27$ $\mu\text{g/L}$; $p < 0,05$), a kiindulás és az M6 vizit között ($0,67$ vs. $0,38$; $p < 0,05$), a kiindulás és M9 között ($0,67$ vs. $0,47$; $p < 0,05$) és az indulási és az M12 vizit között ($0,67$ vs. $0,33$ $\mu\text{g/L}$; $p < 0,05$); a szérumban teljes komplement aktivitásában az M3 és M9 vizit között ($65,9$ vs. $46,5$ CH50/mL; $p < 0,05$), és az M3 és M12 vizitek között ($65,9$ vs. $47,8$ CH50/mL; $p < 0,05$). További különbséget találtunk a szérumban anti-dsDNA antitest szintekben a kiindulási és M12 vizitek között ($18,9$ vs. $8,9$ $\mu\text{g/mL}$; $p < 0,05$); a szérumban IgG anti- β 2-glikoprotein antitest szintekben a baseline és M6 vizit között ($10,9$ vs. $4,1$ SGU; $p < 0,05$); a baseline és M9 között ($10,9$ vs. $6,0$ SGU; $p < 0,05$), valamint a baseline és az M12 között ($10,9$ vs. $6,3$; $p < 0,05$). A SLEDAI pontszámok szintén különböztek a kiindulás és az M3 között ($2,7$ vs. $0,9$; $p < 0,05$); a szérumban 17β -ösztadiol szintek is a baseline és a többi következő vizit között ($p < 0,001$).

Placebo-csoport

Statisztikailag jelentős különbség volt a szérumban β -CTX szintekben az alapérték és az M3 vizit eredményei között ($0,50$ vs. $3,1$ $\mu\text{g/L}$; $p < 0,05$); a szérumban C3 szintekben az M3 és M9 vizitek között ($1,3$ g/L vs. $0,99$ g/L; $p < 0,005$); a szérumban IgG anti- β 2-glikoprotein antitest szintekben a kiindulási és M6 vizit ($10,9$ vs. $3,4$ SGU; $p < 0,001$); a szérumban IgM anti- β 2-glikoprotein antitest szintekben az alapértékek és M9 vizit szintjei között ($8,1$ vs. $2,0$ U/mL; $p < 0,001$); a SLEDAI pontok tekintetében a kiinduló és az M9 vizit között ($2,5$ vs. $0,8$; $p < 0,005$).

Intention-to treat elemzés

Csoportok közötti analízis

Szignifikáns különbséget kaptunk az ösztradiol- és a placebo-csoport között az LS BMD százalékos változásában a baseline és M6 vizit (102,38 vs. 99,05%; $p<0,01$) és az M12 között (101,63 vs. 97,93%; $p=0,001$).

Szignifikáns különbség volt az ösztradiol- és placebo-csoport között a szérum anti-dsDNS ellenanyag szintekben az M6 viziten (16,1 vs. 34,6 $\mu\text{g/mL}$; $p<0,05$).

Jelentős különbség volt ($p<0,001$) az ösztradiol- és placebo-csoport között a szérum 17β - ösztradiol szintekben a kiindulási értéken túl minden vizit időpontjában (M3: 101,1 vs. 49,8 pmol/L; M6: 102,3 vs. 49,3 pmol/L; M9: 90,9 vs. 49,6 pmol/L; M12: 90,9 vs. 48,2 pmol/L).

Csoporton belüli elemzés

Ösztradiol csoport

Jelentős különbséget találtunk a szérum β -CTX szintekben a kiinduláshoz képest az M3 időpontban (0,670 vs. 0,330 $\mu\text{g/L}$; $p<0,05$), kiindulás és M6 vizit között (0,670 vs. 0,410 $\mu\text{g/L}$; $p<0,05$), kiindulás és M9 között (0,670 vs. 0,390 $\mu\text{g/L}$; $p<0,05$), kiindulás és M12 között (0,670 vs. 0,420 $\mu\text{g/L}$; $p<0,05$). Jelentős különbség volt a szérum IgG anti- β 2-glikoprotein antitest szintekben a kiindulás és M6 között (10,9 vs. 6,0 SGU; $p<0,05$), kiindulás és M9 között (10,9 vs. 6,2; $p<0,05$) és a kiinduló érték és M12 között (10,9 vs. 7,3 SGU; $p<0,05$); a SLEDAI

pontok az alapvonal és M3 között (2,7 vs. 0,9; $p<0,05$); a szérumban a 17 β -ösztadiol szintek a kiindulási érték után minden viziten magasabbak voltak ($p<0,001$).

Placebo csoport

Szignifikáns különbség volt a szérumban a β -CTX-szintekben a kiindulás és az M3 között (0,500 vs. 0,290 $\mu\text{g/L}$; $p<0,05$); a szérumban a IgG anti- β 2-glikoprotein antitest szintekben a kiindulási és az M6 vizit között (10,1 vs. 3,8 SGU; $p<0,05$), a baseline és M9 között (10,1 vs. 2,9 SGU; $p<0,05$) és az alapérték és az M12 között (10,1 vs. 3,7 SGU; $p<0,05$); a SLEDAI pontokban a kiindulás és az M3 vizit között (2,5 vs. 1,5; $p<0,05$).

A tanulmányból egy résztvevő esett ki az M3, hárman az M9 vizitkor pechételő vérzés és emlíőrzékenység miatt. A problémák beavatkozás nélkül megoldódtak a hormonkezelés megszüntetésekor. Egy páciens az ösztadiol csoportból esett ki mélyvénás trombózis miatt az M3 vizit alkalmával. Antifoszfolipid antitest vizsgálata negatív volt és más hajlamosító rendellenesség sem derült ki. További két résztvevő hagyta abba a kezelést a tapasz okozta allergiás bőrreakció miatt. Egy páciens a placebo-csoportból az M9 vizit után stroke miatt zártunk ki, a viziten vett vérmintából emelkedett anti-kardiolipin és anti- β 2-glikoprotein antitest titert mutattunk ki. Egy haláleset történt a placebo-csoportban a baseline vizit után, előjelek nélküli akut szívinfarktus miatt. Egy páciens elvesztettünk a követésből mindkét csoportban az M12 vizit előtt.

A résztvevők egyikének sem történt csonttörése, nem volt mammográfiás, illetve nőgyógyászati vizsgálat során rendellenessége. A kezeléseket betartása a résztvevők által maximális volt, a kiadott tapaszok egyike sem veszett el a tanulmány időtartama alatt.

4.6. Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör-betegek (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya

4.6.1. A férfi T2DM tanulmány (414)

A 2-es típusú cukorbeteg (n=68) életkora (átlag, range) 61,4 (51-78) év, köztük a D-hipovitaminózis (25-OH D-vitamin <75 nmol/L) prevalenciája 59% volt. A csontsűrűséget tekintve, a normál, oszteopéniás és oszteoporotikus T-score gyakorisága a lumbális gerincen 79,4, 17,6 és 2,9% volt, a combnyakon 62,5, 35,7 és 1,8% volt. Mivel a $T \leq -2,5$ (oszteoporotikus) kategóriájú páciensek száma kevés volt a statisztikai elemzéshez, vizsgálati adataikat összevontuk az oszteopéniásokéval és létrehoztuk a csökkent csontdenzitásúak alcsoportját. A csökkent BMD (T-score <-1,0) prevalenciája a FN és LS szkeletális mérőhelyeken 37,5, illetve 20,5% volt. A csípőtörés FRAX szerinti valószínűsége (átlag, range) 0,7 (1-7) volt, a jelentős oszteoporotikus töréseké 3,2 (0-8,5) %. Egyváltozós variancia-analízissel az FN BMD (0,974 vs. 0,915 g/cm²; p=0,008), az LS BMD (1,221 vs. 1,068 g/cm²; p<0,001) szignifikánsan magasabb volt a 2-es típusú cukorbetegben, mint a korban illesztett egészséges személyekben. Az egészséges kontrollokhoz képest a 25OHD vitamin szintek (79,8 vs. 67,7 nmol/L; p<0,001), az OC szintek (15,7 vs. 13,3 µg/L; p=0,004), a β-CTx koncentrációk (0,240 vs. 0,190 µg/L; p=0,004) és a PTH (4,4 vs. 3,9 pmol/L; p=0,030) szignifikánsan alacsonyabbak voltak a T2DM csoportban nem volt különbség.

Szignifikáns kapcsolatot találtunk a D-hipovitaminózis és a 2-es típusú cukorbetegség között, a D-hipovitaminózisos személyek esélye 2,311 (95% CI 1,147-4,656)x nagyobb volt T2DM betegségre, mint a kontrolloké.

bhattoa.harjit.pal_23_22

Az inzulint nem használó T2DM betegek BMI-értéke (29,2 vs. 31,5 kg/m²), valamint a FN BMD-je ((0,941 vs. 1,009 g/cm²) szignifikánsan alacsonyabbak voltak és inzulinkezeltekéhez képest, azonban az oszteokalcin szintek (15,8 vs. 10,5 µg/L) magasabbak és a betegség időtartama hosszabb (13,5 vs. 8,9 év) volt az inzulinkezelt csoportban. Nem volt különbség a két csoport között FRAX szerinti 10 éves törési kockázatban (25. táblázat).

25. táblázat A T2DM tanulmány résztvevőinek jellemző adatai.

	2-es típusú cukorbeteg férfiak (n=68)	egészséges férfiak (n=68)	p érték
Életkor, év (átlag, range)	61,4 (51–78)	61,4 (51–78)	1,000
BMI, kg/m ² (átlag, range)	30,3 (22,5–41,7)	28,7 (17,3–40,5)	0,019
FRAX (major osteoporotikus törés), % (átlag, range)	3,2 (0–8,5)	3,5 (1,4–11)	0,110
FRAX (csípőtáji törés), % (átlag, range)	0,7 (0–2,8)	0,9 (0,1–5,0)	0,128
LS BMD, g/cm ² (átlag ± SD)	1,221 ± 0,162	1,068 ± 0,137	<0,001
FN BMD, g/cm ² (átlag ± SD)	0,974 ± 0,139	0,915 ± 0,099	0,008
Korábbi kistraumas törés (n, %)	6 (8,8)	6 (8,8)	1,000
Szülői csípőtörés (n, %)	1 (1,5)	3 (4,4)	0,625
Jelenleg dohányzó (n, %)	16 (23,5)	17 (25)	1,000
Glukokortikoid használat (n)	0	0	–
Reumatoid artritisz (n)	0	0	–
Másodlagos oszteoporózis (n)	0	0	–
Alkohol, 3, vagy több egység/nap (n)	0	0	–
PTH, pmol/L (átlag, range)	3,9 (0,5–16,6)	4,4 (1,9–10,2)	0,030
25OHD, nmol/L (átlag, range)	67,7 (11–164)	79,8 (17–151)	<0,001
25OHD szint <75 nmol/L (% , n)	59 % (n = 40)	41 % (n = 28)	<0,001
OC, µg/L (átlag, range)	13,3 (5–59)	15,7 (5–31)	0,004
β-CTx, µg/L (átlag, range)	0,190 (0,010–0,780)	0,240 (0,030–0,700)	0,004
PINP, µg/L (átlag, range)	33,7 (8,2–74,1)	40,7 (14,8–98,6)	0,079
Kalcium bevitel, mg/ nap (átlag, range)	662 (122–1269)	648 (297–1270)	0,741

26. táblázat. 2-es típusú cukorbeteg (T2DM) személyek tanulmányi jellemzői.

	T2DM beteg férfiak (n=68)		p érték
	Inzulint nem használók (n=33)	Inzulin-kezeltek (n=35)	
Életkor, év (átlag, range)	60,9 (51–78)	61,9 (51–74)	0,479
BMI, kg/m ² (átlag, range)	31,5 (25–39,7)	29,2 (22,5–41,7)	0,014
FRAX (major osteoporotikus törés), % (átlag, range)	3,1 (1,5–8,5)	3,3 (0–7,2)	0,370
FRAX (csípőtáji törés), % (átlag , range)	0,5 (0–2,6)	0,8 (0–2,8)	0,093
LS BMD, g/cm ² (átlag ± SD)	1,221 ± 0,140	1,220 ± 0,183	0,969
FN BMD, g/cm ² (átlag ± SD)	1,009 ± 0,127	0,941 ± 0,144	0,043
Korábbi kistraumas törés (n, %)	4 (12,1)	2 (5,7)	0,421
Szülői csípőtörés (n, %)	0	1 (2,9)	1,000
Jelenleg dohányzó (n, %)	7 (21,2)	9 (25,7)	0,778
Glukokortikoid használat (n)	0	0	–
Reumatoid artritisz (n)	0	0	–
Másodlagos oszteoporózis (n)	0	0	–
Alkohol, 3, vagy több egység/nap (n)	0	0	–
PTH, pmol/L (átlag , range)	3,4 (0,5–8,3)	4,4 (1,7–16,6)	0,100
25OHD, nmol/L (átlag , range)	72,9 (14–164)	62,9 (11–123)	0,247
25OHD szint <75 nmol/L (% , n)	58 (n = 18)	65 (n = 22)	0,583
OC, µg/L (átlag , range)	10,5 (5–25)	15,8 (6–59)	0,007
β-CTx, µg/L (átlag , range)	0,170 (0,020–0,770)	0,210 (0,010–0,780)	0,105
PINP, µg/L (átlag , range)	30,6 (8,2–63,9)	37 (16,8–74,1)	0,274
Kalcium bevitel, mg/day (átlag , range)	663 (209–1121)	661 (122–1,269)	0,973
Diabétesz fennállásának ideje, év (átlag, range)	8,9 (1–29)	13,5 (1–41)	0,013
HbA1c, % (átlag, range)	6,9 (5,3–8,8)	7,3 (5,7–9,9)	0,141
Glükóz, mmol/L	9,2 (5–18)	9,8 (4,5–18,3)	0,631
Fruktózamin, µmol/L	263,7 (215–342)	300,4 (247–405)	0,003

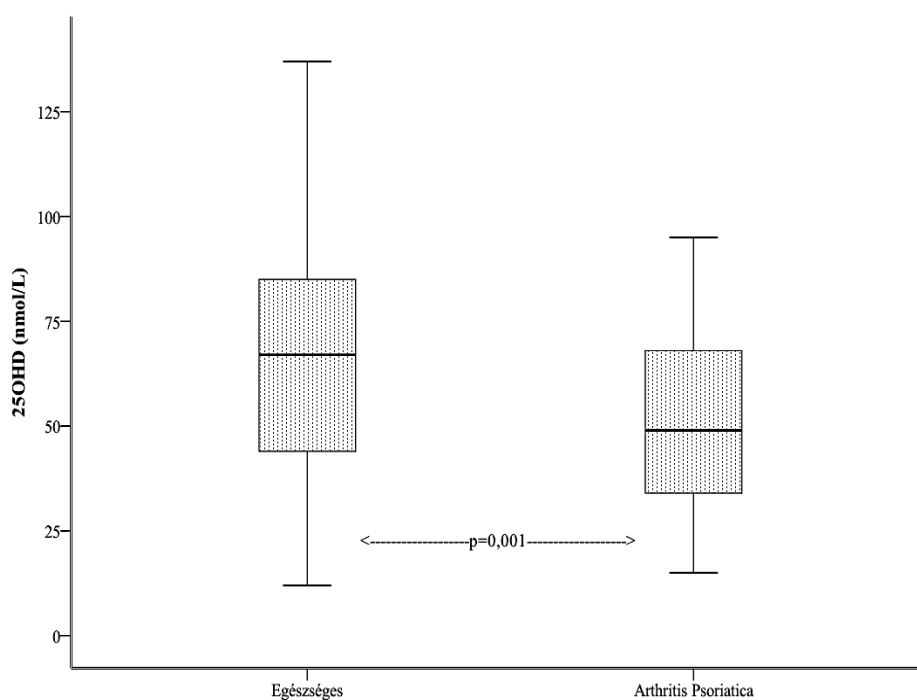
4.6.2. A férfi PsA tanulmány (416)

A CASPAR diagnosztikus kritériumokkal azonosított 53 férfi arthritis psoriatica-beteg szerepel ebben a keresztmetszeti, vizsgálók számára vak, kor- és nem szerint illesztett kontrollokkal végzett eset-kontroll tanulmányban (420). A résztvevők toborzása során nem talákoztunk elutasítással. Az életkor-átlag és range mindkét csoportban 54,7 (31-84) év volt. A D-hipovitaminózis ($25\text{OHD} < 75 \text{ nmol/L}$) 81 és 57% volt a PsA és a kontroll-csoportban. Bár nem volt kizárási feltétel, a résztvevők egyike sem használt kalcium- és D-vitamin-pótlást.

A psoriasis betegség időtartama 10,8 (0-50,9) év volt. Egy kisebb betegcsoportban ($n=12$, 22,6%) a psoriasis diagnózisát csak az arthritis diagnózisa után állították fel (átlag 3 hónapon belül).

Egészséges kontrollokhoz képest a PsA betegek 25OHD szintje jelentősen alacsonyabb volt (67,2 vs. 51,9 nmol/L; $p=0,001$) (12. ábra), az OC magasabb (13,6 vs. 18,2 $\mu\text{g/L}$; $p=0,003$), és a $\beta\text{-CTx}$ is magasabb volt (0,200 vs. 0,280 $\mu\text{g/L}$; $p=0,008$) a PsA csoportban.

12.ábra. Box and whiskers plot a 25OHD szintekre PsA-beteg férfiakban és kor és nem szerint illesztett kontrollokban.



Nem volt szignifikáns különbség az LS és FN BMD értékekben a két csoportban (27. táblázat).

27. táblázat. A résztvevők jellemző adatai.

	PsA-beteg férfiak (n=53)	Egészséges kontrollok (n=53)	p érték
Életkor, év (átlag, range)	54,7 (31–84)	54,7 (31–84)	1,000
25OHD, nmol/L (átlag, range)	51,9 (15–95)	67,2 (12–137)	0,001
25OHD szint <75 nmol/L (% , n)	81 % (n = 43)	57 % (n = 30)	0,006
25OHD szint <50 nmol/L (% , n)	51 % (n = 27)	28 % (n = 15)	0,028
LS BMD, gm/cm ² (átlag ± SD)	1,221 ± 0,185	1,261 ± 0,170	0,316
FN BMD, gm/cm ² (átlag ± SD)	0,972 ± 0,130	1,032 ± 0,122	0,202
Össz calcium, mmol/L (átlag, range)	2,4 (2,2–2,6)	2,3 (2,1–2,6)	0,048
Foszfát, mmol/L (átlag, range)	0,9 (0,5–1,2)	1,0 (0,6–1,4)	0,014
PTH, pmol/L (átlag, range)	4,4 (1,8–9,0)	3,7 (1,6–6,5)	0,064
OC, µg/L (átlag, range)	18,2 (6–35)	13,6 (5–33)	0,003
β-CTx, µg/L (átlag, range)	0,280 (0,060–0,690)	0,200 (0,010–0,710)	0,008
PINP, µg/L (átlag, range)	44,5 (14–91)	34,1 (8,2–82,4)	0,059
Psoriasis fennállásának ideje, év (átlag, range)	10,8 (0–50,9)	–	
PASI (átlag, range)	5,1 (0–26,1)	–	
DAS28 (átlag, range)	2,17 (0,26–5,64)	–	

Az életkor zavaró hatásának csökkentésére a medián 55 évnél kettéosztottuk a résztvevőket és kettő korcsoportot: ≤ 55 éves (n=27) és >55 éves (n=28) képeztünk. A PsA- és a kontroll-csoport összehasonlításakor a D-vitamin szintek jelentősen alacsonyabbak voltak a ≤ 55 éves PsA csoportban (49,1 vs. 67 nmol/L; $p=0,015$) és a > 55 éves PsA csoportban is (54,8 vs. 67,3 nmol/L; $p=0,015$).

Összefüggést mutattunk ki a D-hipovitaminózis és a PsA között; a PsA páciensek jelentősen esélyesebbek voltak D-hipovitaminózisra esélyhányadosuk 3,297 (95% CI 1,372 – 9,922) volt.

Bár a DAS28 pontszám nem korrelált a 25OHD szintekkel ($r=0,107$, $p=0,610$), a pikkelysömör kiterjedését jelző PASI pontszám negatív korrelációt mutatott a D-vitamin koncentrációval ($r=-0,440$, $p=0,001$).

4.6.3. A PsA-pQCT tanulmány (419)

A CASPAR diagnosztikus kritériumoknak megfelelő pszoriaticus arthritiszese betegeket ($n=118$) soroltunk be ebbe a keresztmetszeti, eset-kontroll, vizsgálók számára álcázott, kor és nem szerinti kontrollcsoporttal készült tanulmányba (419). A páciensek medián életkora 54 év (range: 25-85) volt, 67:51 nő-férfi megoszlással. A pszoriaticus ízületi gyulladás időtartama 16 év (range: 1-72) és 9 év (range: 0-39) volt. A páciensek kisebb hányadában ($n=14$, 12%) a psoriasis diagnózisát az ízületi gyulladás kórisméje után állították fel (átlagosan 5 éven belül). A kontrollokhoz viszonyítva mind az aBMD, mind pedig a volumetriás BMD (vBMD) értékei szignifikánsan rosszabbak voltak a PsA-betegekben: az L1-L4 aBMD (1,274 vs. 1,170 g/cm²; $p<0,001$), FN aBMD (1,016 vs. 0,952 g/cm², $p=0,001$), a disztális radius (DR) teljes volumetriás BMD (367,0 vs. 284,3 mg/cm³; $p<0,001$), DR trabekuláris vBMD (207,0 vs. 190,0 mg/cm³; $p=0,002$), DR kortikális vBMD (537,0 vs. 365,9 mg/cm³; $p<0,001$).

A többi vizsgált paraméter tekintetében is hasonló képet kaptunk: a 25OHD szintek alacsonyabbak, jelentősebb csonttörések és a csípőtörések bekövetkeztének 10 éves valószínűsége magasabb, a csontforgalmi-markerek közül a β -CTx és PINP szintek jelentősen magasabbak voltak a PsA-betegekben a kontrollokhoz képest. A tanulmány résztvevőinek

elemzett klinikai, denzitometriás és laboratóriumi leleteit a szignifikancia-szintekkel a 38. táblázat tartalmazza.

A PsA-betegek normális, alacsony, és oszteoporotikus BMD értékeit a szeptetális mérési helyek szerint a 29. táblázat mutatja. Az arealis és a vBMD értékek között statisztikailag szignifikáns korrelációt találtunk, adataikat a 30. táblázat mutatja.

A csonttörés klinikai kockázati tényezői és a FN BMD értékek a FRAX 10 éves törési kockázatbecslő program kérdőíve szerint PsA betegekben (n=100), 40 és 90 éves kor között, a 31. táblázaton láthatók. Az intervenciós határként jelölt 10 éves törési kockázatot - fontosabb oszteoporotikus törésre $\geq 20\%$, csípőtörésre $\geq 3\%$ - beteganyagunkban 1 (1%), ill. 8 (8%) páciens érte el. Egy páciens mindkét kategóriában elérte a kritikus határt.

A teljes betegszámból 53 (44,9%) hagyományos szintetikus (metotrexát, leflunomid, hydroxychloroquine vagy sulphosalazine), 62 (52,5%) pedig biológiai (infiximab, adalimumab, etanercept, rituximab, abatacept, tocilizumab, certolizumab, vagy ustekinumab) betegségmódosító (hagyományos betegségmódosító antireumatikus gyógyszer (cDMARD), biológiai betegségmódosító antireumatikus gyógyszer (bDMARD)) kezelést kapott, monoterápiában, vagy kombinációban. Három PsA-beteg (2,5%) egyik kezelésből sem kapott, mivel malignus daganatos betegségük volt (prostata-, illetve emlőcarcinoma, melanoma malignum).

A PsA-betegek csoportjában egyváltozós variancia-analízis számos összefüggést fedett fel: az alacsonyabb FN aBMD-értékű személyek idősebbek voltak, a psoriasis és arthritis fennállásának időtartama hosszabb volt, a magasabb FN aBMD-szintűek BMI értéke magasabb volt ($p < 0,05$).

28. táblázat. A PsA beteg és kontrollszemélyek jellemző adatai.

Paraméterek	PsA betegek (n=118)	Kontroll személyek (n=118)	p érték
Életkor, év (medián, range)	54 (25–85)	54 (25–85)	1,000
Nő, férfi aránya	67:51	67:51	1,000
DAS28, % (medián, range) (n = 110)	2,37 (0,49–5,85)	–	–
BASDAI, % (medián, range) (n = 8)	1,42 (0,02–3,08)	–	–
PASI, % (medián, range)	1,65 (0–29,40)	–	–
Artritisz fennállásának ideje, év (medián, range)	9 (0–39)	–	–
Psoriasis fennállásának ideje, év (medián, range)	16 (1–72)	–	–
FRAX Major, % (medián, range) (n = 100)	3,7 (0,7–32)	2,6 (0–17,5)	0,003
FRAX Csípőtáji, % (medián, range) (n = 100)	0,4 (0–16)	0,05 (0–6,1)	0,002
FRAX Major $\geq 20\%$ (n, %)	1 (1%)	0 (0%)	–
FRAX Csípőtáji $\geq 3\%$ (n, %)	8 (8%)	4 (4%)	–
L1-L4 arealis BMD, g/cm ² (medián, range)	1,170 (0,793–1,184)	1,274 (0,920–1,760)	<0,001
Femur nyak arealis BMD, g/cm ² (medián, range)	0,952 (0,607–1,292) (n= 117*)	1,016 (0,760–1,550)	0,001
Disztális radius (DR) teljes volumetriás BMD, mg/cm ³ (medián, range)	284,3 (138,9–470,3)	367,0 (287,0–412,0)	<0,001
disztális radius (DR) trabekuláris volumetriás BMD, mg/cm ³ (medián, range)	190,0 (63,0–351,5)	207,0 (145,0–255,0)	0,002
disztális radius (DR) kortikális volumetriás BMD, mg/cm ³ (medián, range)	365,9 (175,8–686,5)	537,0 (411,0–537,0)	<0,001
Kalcium, mmol/L (medián, range)	2,4 (2,2–2,7)	2,3 (2,1–2,7)	<0,001
Foszfát, mmol/L (medián, range)	0,96 (0,6–1,6)	1,10 (0,6–1,51)	<0,001
OC, µg/L (medián, range)	17,7 (5–77)	17,9 (8,6–33)	0,186
β-CTx, µg/L (medián, range)	0,255 (0,040–1,090)	0,200 (0,100–0,510)	<0,001
PINP, µg/L (medián, range)	46,2 (11,0–253,7)	35,0 (8,2–72,5)	<0,001
PTH, pmol/L (medián, range)	4,52 (1,43–11,69)	3,78 (1,6–9,6)	<0,001
25OHD, nmol/L (medián, range)	47,5 (10–120)	64 (10–137)	<0,001
25OHD szint < 75 nmol/L (% , n)	79% (n = 93)	58% (n = 68)	–
25OHD szint < 50 nmol/L (% , n)	49% (n = 58)	28% (n = 33)	–

*FN BMD mérés nem történt egy betegben, mivel kétoldali teljes csípőprotézise volt.

A nők L1-L4 aBMD értéke jelentősen alacsonyabb volt a férfiakénál ($p < 0,05$); az alacsonyabb DR teljes vBMD érték idősebb életkorral és hosszabb menopauza-időtartammal társult ($p < 0,05$); az idősebb betegekben és a nőkben alacsonyabb DR trabekuláris vBMD értéket mértünk és a magasabb DR trabekuláris vBMD értékű nők fertilis periódusa hosszabb volt ($p < 0,05$); az alacsonyabb DR kortikális vBMD-szintűek idősebbek voltak ($p < 0,05$).

29. táblázat. A combnyak és lumbális gerinc aBMD és a disztális rádus (DR) vBMD mérések T-score szerinti kategóriái PsA-betegekben.

Mérési terület	Normál (n,%)	csökkent ásványianyag-csontsűrűség (n,%)	oszteoporózis (n,%)
Femur nyak (n=117)	77 (66%)	35 (30%)	5 (4%)
L1-L4 lumbális gerinc	82 (70%)	32 (27%)	4 (3%)
Disztális rádus (teljes)	14 (12%)	66 (56%)	38 (32%)

Normál: T-score $\geq 0,99$; csökkent ásványianyag-csontsűrűség: T-score $-1,00$ és $-2,49$ között; oszteoporózis :T-score: $\leq -2,50$

30. táblázat. Az arealis és volumetrikus csont ásványianyag-sűrűség (aBMD, vBMD) korrelációs elemzése.

Arealis				Volumetrikus disztális rádus			
	Mérési Terület		Femur nyak	L1-L4	Totál	Trabekuláris	Kortikális
Arealis	Femur nyak	Spearman's ρ	1,000	0,526	0,496	0,374	0,422
		p érték	-	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	L1-L4	Spearman's ρ	0,526		0,488	0,343	0,421
		p érték	<0,001		<0,001	<0,001	<0,001
Volumetrikus disztális rádus	Disztális rádus (teljes)	Spearman's ρ	0,496	0,488		0,601	0,842
		p érték	<0,001	<0,001		<0,001	<0,001
	Trabekuláris	Spearman's ρ	0,374	0,343	0,601		0,377
		p érték	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
	Kortikális	Spearman's ρ	0,422	0,421	0,842	0,377	
		p érték	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

31. táblázat. A páciensek törési kockázatprofilja a FRAX program szerint.

Rizikó tényező	40 és 90 éves kor közötti PsA betegek (n=100)
Életkor, év (medián, range)	57 (40–85)
Nő, Férfi aránya	42:58
Testtömeg (kg) (medián, range)	83 (48–125)
Testmagasság (cm) (medián, range)	164,5 (150–188)
Korábbi kistraumas törés (n, %)	22 (22%)
Szülői csípőtörés (n, %)	4 (4%)
Jelenleg dohányzó (n, %)	10 (10%)
Glukokortikoid használat (n)	20 (20%)
Reumatoid artritisz (n)	0 (0%)
Másodlagos oszteoporózis (n)	16 (16%)
Alkohol, 3, vagy több egység/nap (n)	0 (0%)
Femur nyak arealis BMD, g/cm ² (medián, range) (n=99)	0,934 (0,607–1,251)
FRAX Major, % (medián, range) (n = 100)	3,75 (0,7–32)
FRAX Csípőtáji, % (medián, range) (n = 100)	0,4 (0–16)
FRAX Major ≥20% (n, %)	1 (1%)
FRAX Csípőtáji ≥3% (n, %)	8 (8%)

A FRAX 10 éves törési kockázat %-os értéke a jelentős oszteoporotikus törésekre vonatkozóan magasabb volt azokban, akiknek betegsége súlyosabb volt a DAS28 pontszám szerint, akik pszoriázisa és arthritise hosszabban fennállt, menopauza-időtartamuk hosszabb volt és azokban, akik konvencionális (cDMARD) kezelést kaptak és D-vitamin ellátottságuk elégtelen volt, azaz 25OHD szintjük <75 nmol/L vagy <50 nmol/L volt ($p<0,05$) (32. táblázat).

32. táblázat. A PsA-betegek adatainak egyváltozós variancia analízise, alcsoportok összehasonlítása.

Függő változó	Független változó	Egyváltozós variancia analízis		
		B (95% CI)	β	p érték
Femur nyak arealis BMD	Életkor	-0,003 (-0,005 - -0,001)	-0,307	0,001
	Psoriasis fennállásának ideje	-0,002 (-0,005-0,000)	-0,211	<0,001
	Testtömeg index	0,004 (0,000-0,009)	0,180	0,050
	Artritisz fennállásának ideje	-0,005 (-0,008 - -0,002)	-0,286	0,002
L1-L4 arealis BMD	Nem (nő vs. férfi)	-0,068 (-0,139 - -0,001)	-1,174	0,049
Disztális rádiusz teljes volumetrikus BMD	Életkor	-1,563 (-2,397 - -0,729)	-0,326	<0,001
	Menopausa fennállásának ideje	-2,213 (-4,070 - -0,356)	-0,352	0,021
Disztális rádiusz trabekuláris volumetrikus BMD	Életkor	-0,836 (-1,491 - -0,181)	-0,228	0,031
	Nem (nő vs. férfi)	-24,338 (-41,172 - -7,505)	-0,257	0,005
	Fertilitás ideje	2482 (0,124-4,480)	0,315	0,040
Disztális rádiusz kortikális volumetrikus BMD	Életkor	-2,116 (-3,376 - -0,857)	-0,295	0,001
FRAX, major osteoporotikus Törés	DAS28	1,351 (0,379-2,323)	0,277	0,007
	Psoriasis fennállásának ideje	0,085 (0,001-0,170)	0,198	0,048
	Artritisz fennállásának ideje	0,165 (0,045-0,286)	0,265	0,008
	Menopausa fennállásának ideje	0,348 (0,142-0,554)	0,470	0,001
	cDMARD vs bDMARD	-2,890 (-5,049 - -0,731)	-0,259	0,009
FRAX, csípőtáji törés	Psoriasis fennállásának ideje	0,054 (0,008-0,100)	0,230	0,021
	Artritisz fennállásának ideje	0,080 (0,013-0,146)	0,233	0,020
	Menopausa fennállásának ideje	0,178 (0,051-0,305)	0,405	0,007
	cDMARD vs bDMARD	-1,664 (-2,841 - -0,487)	-0,273	0,006
	< 75 nmol/L vs ≥75 nmol/L 25OHD	-1,800 (-3,317 - -0,284)	-0,232	0,020
	< 50 nmol/L vs ≥50 nmol/L 25OHD	-1,405 (-2,598 - -0,213)	-0,230	0,021

A többváltozós lineáris regressziós analízis kimutatta, hogy az életkor független jelzője volt mind az arealis, mind pedig a volumetrikus BMD-nek. Továbbá a BMI és az arthritis betegség időtartama szintén megjósolta a FN aBMD-t, valamint a női nem független előjelzője

volt a DR vBMD-nek. A DAS28 szignifikáns előrejelzője volt a FRAX által meghatározott major osteoporotikus töréseknek, valamint a konvencionális DMARD szignifikáns előrejelzője volt a FRAX által meghatározott csípőtáji töréseknek (33. táblázat).

33. táblázat. Csont ásványianyag sűrűség és FRAX által meghatározott 10 éves törési esély többváltozós lineáris regressziós analízise.

Függő változó	Független változó	Többváltozós variancia analízis		
		B (95% CI)	β	p érték
Femur nyak arealis BMD	Életkor	-0,004 (-0,006 - -0,002)	-0,334	<0,001
	Testtömeg index	0,006 (0,002-0,011)	0,266	0,003
	Artritisz fennállásának ideje	-0,003 (-0,006-0,000)	-0,184	0,039
Disztális rádiusz teljes volumetrikus BMD	Életkor	-1,563 (-2,397 - -0,729)	-0,326	<0,001
Disztális rádiusz trabekuláris volumetrikus BMD	Életkor	-0,905 (-1,538 - -0,272)	-0,247	0,005
	Nem (Nő vs. férfi)	-25,947 (-42,333 - -9,560)	-0,274	0,002
Disztális rádiusz kortikális volumetrikus BMD	Életkor	-2,116 (-3,376 - -0,857)	-0,295	0,001
FRAX, major osteoporotikus törés	DAS28	1,351 (0,379-2,323)	0,277	0,007
FRAX, csípőtáji törés	cDMARD vs. bDMARD	-1,139 (-2,270 - -0,009)	-0,187	0,048

A D-hipovitaminózis (25OHD < 75 nmol/L) gyakorisága a PsA betegekben 79%, a kontrollcsoportban 58% volt. A PsA-betegek esélye D-hipovitaminózisra 2,7 x magasabb volt (95 % CI 1,54-4,85, $p<0,001$).

4.7. A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya HunMen kohorsz mintáin (424)

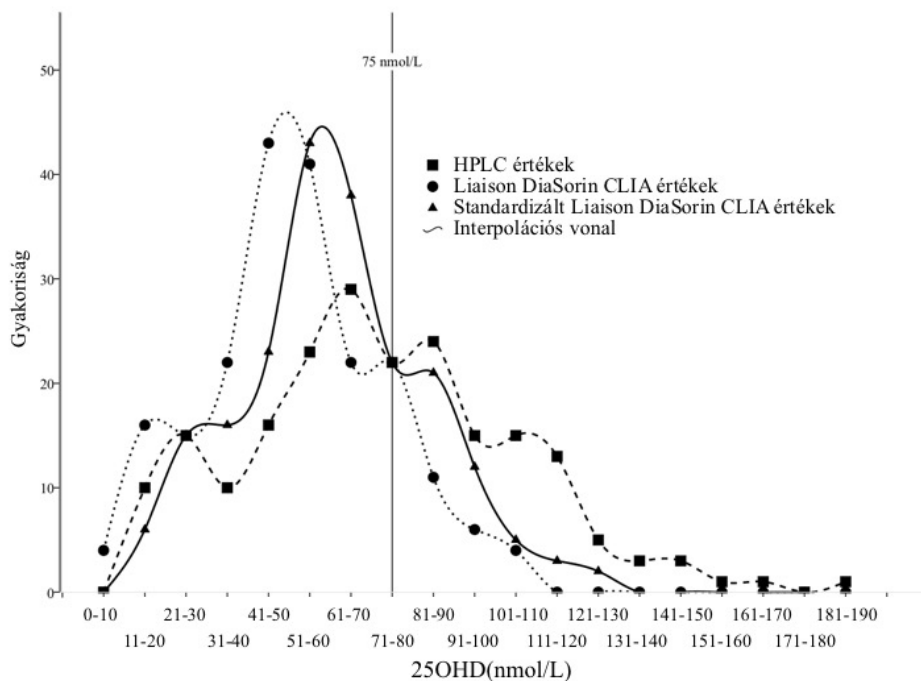
A HunMen mind a 206 mintájának totál 25OHD mérési eredményét újraértékeltek a Liaison DiaSorin CLIA platformon. Laboratóriumunkban mért értékek, a DEQAS NIST totál célérték és saját módszerünk átlag értékei a DEQAS 481-485. sz. mintáira a 34. táblázaton láthatók. A lineáris regressziós egyenlet a 7. ábrán látható.

34. táblázat. A HunMen tanulmánybeli 25OHD értékek standardizációjához használt DEQAS adatok leírása.

DEQAS mintaazonosító (2015. októberi ciklus)	Saját 25OHD adataink (Liaison DiaSorin totál) (nmol/L)	NIST 'total' 25OHD (célérték) (nmol/L)	25OHD módszer átlag (Liaison DiaSorin totál) (nmol/L)
481	57,0	60,8	63,0
482	29,3	35,6	32,7
483	102,4	116,2	110,9
484	67,9	78,2	72,5
485	34,6	48,2	38,3

Az átlag totál 25OHD érték feltűnően változott, azaz az eredeti HPLC módszerrel mért 73 nmol/L-ről a Liaison DiaSorin CLIA platformon mért 53 nmol/L-re, majd a NIST totál célérték hiba-standardizációjával 62 nmol/L lett (13. ábra). Következésképpen az eredetileg közölt, HPLC-vel mért adatok szerinti D-hipovitaminózis (<75 nmol/L) gyakorisága jelentősen, 53-ról 72%-ra emelkedett a standardizációt követő DiaSorin módszerrel mért adatok szerint (35. táblázat).

13. ábra. A HunMen résztvevők totál 25OHD vitamin értékei különböző mérési módszerekkel.



35. táblázat. Az External Quality Assessment Scheme (DEQAS) National Institute for Standard and Technology (NIST) ‘totál’ célértékkel történt hibakorrekció hatása a HunMen résztvevők 25OHD vitamin szintjeire.

	Teljes év (n = 206)	Tavaszi (n = 59)	Nyár (n = 96)	Ősz (n = 21)	Tél (n = 30)
Nagynyomású folyadékkromatográfias 25OHD értékek, nmol/L (átlag, range)	73 (11–185)	67 (11–164)	83 (17–185)*	63 (16–144)	58 (12–113)
Liaison DiaSorin kemilumineszcens immunoassay (CLIA) 25OHD értékek, nmol/L (átlag, range)	53 (8–110)	43 (8–110)	62 (16–104)*	53 (11–109)	40 (8–75)
DEQAS NIST célérték standardizált 25OHD értékek, nmol/L (átlag, range)	62 (15–123)	52 (15–123)	72 (23–116)*	62 (18–122)	48 (15–86)
Nagynyomású folyadékkromatográfias 25OHD értékek <75 nmol/L, %	53% (n = 109)	64% (n = 38)	40% (n = 38)	62% (n = 13)	66% (n = 20)
Liaison DiaSorin kemilumineszcens immunoassay (CLIA) 25OHD értékek <75 nmol/L, %	84% (n = 173)	95% (n = 56)	73% (n = 70)	86% (n = 18)	97% (n = 29)
DEQAS NIST célérték standardizált 25OHD értékek <75 nmol/L, %	72% (n = 148)	86% (n = 51)	57% (n = 55)	71% (n = 15)	90% (n = 27)

* $p < 0,01$ nyár és a többi évszak között

Amint korábban szó volt róla a HPLC-vel mért értékeknél, az évszakok értékeinek összehasonlításakor szignifikáns különbség ($p < 0,01$) volt a nyári és a többi évszakban mért értékek között, és ez a lelet nem változott a DiaSorin és a standardizált 25OHD koncentrációk esetében sem.

Továbbá, a standardizáció után a HunMen értékek egybehangzók voltak a Magyarországról mások által közölt adatokkal (449).

4.8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya (427)

25OHD meghatározások analitikai teljesítmény-specifikációja (APS) az EuBIVAS, EFLM Modell 2 alapján

A résztvevők medián száma centrumonként 15 (range 12-19) volt. A résztvevők általában fizikailag aktívak voltak, kb. 3% rendszeresen dohányzott (részletes demográfiai jellemzőik leírása korábbi publikációkban található) (428,450). Medián testtömeg-indexük (BMI) 22,5 kg/m² (range 17,6-32,5) volt és egyiküknek sem volt vesekárosodása.

Átlag 25OHD koncentrációjuk 19,0 (95% CI: 18,6-19,4) ng/mL, az átlag CV_A, amelynek megállapítása kettőzött vizsgálattal történt, 1,7% (95% CI: 1,6-1,8). A koncentrációk különbségét a férfiak (alacsonyabb koncentrációk) és a nők között a 95%-os CI tartományok átfedésének hiányával azonosítottuk, így különböző CV_G értékeket számoltunk a férfiak és nők számára. Nem találtunk szignifikáns különbséget a férfiak és nők CV_I értékei között (36. táblázat).

36. táblázat. A 25OHD vizsgálatok variációs koefficiense (CV_A), a személyen belüli (CV_I) és a személyek közötti (CV_G) biológiai variáció becslés 95%-s konfidencia-intervallumokkal (CI)

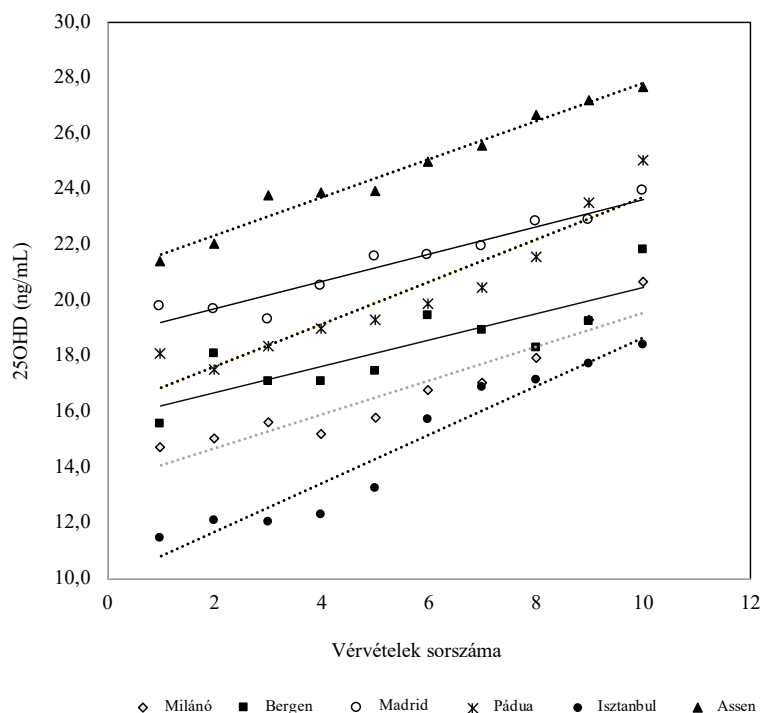
Adatállomány	Alcsoportok	alanyok (n)	Eredmények (n)	minta/alany	replikátumok [*]	Átlag érték, ng/mL (95% CI)	CV_A (%)	CV_I (%)	CV_G (%)	Figyelmen kívül hagyott eredmények, n (%)
	Eredeti adat	90	1696	9,52	1,96	19,0 (18,6–19,4)	1,7 (1,6–1,8)	17,8		1 alany, mert D vitamin szedett Pádua, Olaszországban
Összes (10) mintagyűjtés eredményei	Összes adat	46	813	8,93	1,96	22,5 (21,9–23,0)	1,5 (1,4–1,6)	6,3(5,9–6,8)		875 (51,8%)
	Férfiak	14	242	8,71	1,97	20,5 (19,7–20,8)		6,2(5,4–7,2)	18,6(14,1–32,2)	
	Nők	32	571	9,03	1,95	23,4 (22,7–24,2)		6,4(5,8–7,0)	36,2(28,6–49,2)	
Első 5 mintagyűjtés eredményei (1.–5.)	Összes adat	79	744	4,75	1,97	18,1 (17,5–18,7)	1,9 (1,8–2,1)	6,6(6,1–7,2)		114 (13,3%)
	Férfiak	33	309	4,70	1,99	15,6 (15,0–16,3)		5,8(5,1–6,7)	37,1(28,9–49,5)	
	Nők	46	435	4,78	1,96	19,9 (19,0–20,8)		7,1(6,5–8,0)	51,1(41,3–66,3)	
Második 5 mintagyűjtés eredményei (6.–10.)	Összes adat	81	729	4,53	1,97	21,5 (20,9–22,1)	1,5 (1,4–1,7)	6,2(5,7–6,7)		109 (13,0%)
	Férfiak	33	289	4,39	1,99	19,4 (18,8–20,0)		6,7(5,9–7,8)	25,0(20,1–35,1)	
	Nők	48	440	4,63	1,96	22,8 (22,0–23,7)		5,8(5,2–6,4)	39,2(33,4–52,1)	

* Megfelel a replikátumok számának: Ha egy személytől 10 mintánk van 2 replikátummal, ez 20-as számnak felel meg. Ha 19 számunk van, akkor 1 replikátum nincs közöttük és ebben az esetben a replikátumok átlaga $19/10 = 1,9$.

Lineáris regresszióval vizsgáltuk külön mindegyik vérvételből mért koncentrációk átlagát az elvégzett vérvételek számával szemben. Ez a regresszió mutatta, hogy a résztvevő 25OHD szintje nincs állandó szinten, mivel a regressziós vonal 95%-os CI zónája a zérót nem foglalja magába. A 14. ábra mutatja, hogy a résztvevők földrajzi tartózkodási helyétől függetlenül a 25OHD koncentrációk lineáris növekedési tendenciát mutattak a mintavétel időpontjának a 2015. év európai tavaszra eső időszakában. Emiatt ez az adatcsoport nem tekinthető homogénnek a Cochrane teszt alapján (451), pedig ez előfeltétele a CV_I és a CV_G becslésének. Az adatok homogenitását csak az adatok több mint 50%-ának eltávolításával lehetett elérni, következésképpen CV_I 17,8%-ról (teljes populáció, eredeti adatok) 6,3%-ra (95% CI: 5,9-6,8) (41 személy; 39. táblázat). A teljes, 10 mintát tartalmazó együttes két alcsoportra osztása, vagyis 1-től az 5. mintáig az első szett, a második pedig a 6-10.

mintavételig, nem oldja meg a homogenitás hiányából adódó problémát, mivel kívülesők detektálását eredményezi az adatok kb. 13%-ában. A CV_1 5,8%-tól 7,1%-ig változott a nemnek és a vérévételi al csoport-besorolásnak megfelelően (39. táblázat). A CV_G 25,0% és 39,2% között oszlott meg. Ezek az adatok világosan megmutatták, hogy a hagyományos BV felfogás, amelyben a mérendő analit egy homeosztatisz beállási pont körül (CV_1) változik, a homeosztatisz nyugvópontok (CV_G) közötti különbségek miatt nem alkalmazható a 25OHD-re.

14. ábra. A D-vitamin átlagértékek (Y) és a vérévételek sorszáma (X) x/y pontdiagramja országoként. A lineáris regressziós egyenlet és a Pearson korrelációs koefficiens (r) értékei földrajzi helyek szerint: Milánó (Olaszo.): $Y \text{ (ng/mL)} = 0,61x \text{ (0,44-0,79)} + 13,5 \text{ (12,4-14,5)}$, $r = 0,943$; Bergen (Norvégia): $Y \text{ (ng/mL)} = 0,47x \text{ (0,22-0,72)} + 15,7 \text{ (14,2-17,3)}$, $r = 0,840$; Madrid (Spanyolo.): $Y \text{ (ng/mL)} = 0,50x \text{ (0,38-0,61)} + 18,7 \text{ (18,0-19,4)}$, $r = 0,964$; Pádúa (Olaszo.): $Y \text{ (ng/mL)} = 0,76x \text{ (0,54-0,98)} + 16,1 \text{ (14,8-17,5)}$, $r = 0,944$; Isztambul (Töröko.): $Y \text{ (ng/mL)} = 0,87x \text{ (0,68-1,06)} + 9,9 \text{ (8,8-11,1)}$, $r = 0,967$; Assen (Hollandia): $Y \text{ (ng/mL)} = 0,68x \text{ (0,59-0,78)} + 21,0 \text{ (20,4-21,5)}$, $r = 0,986$.



A 25OHD APS értékek a mérési bizonytalanság (MU) hatása szerint a sorozat-eredmények változására, EFLM modell 1 alapján.

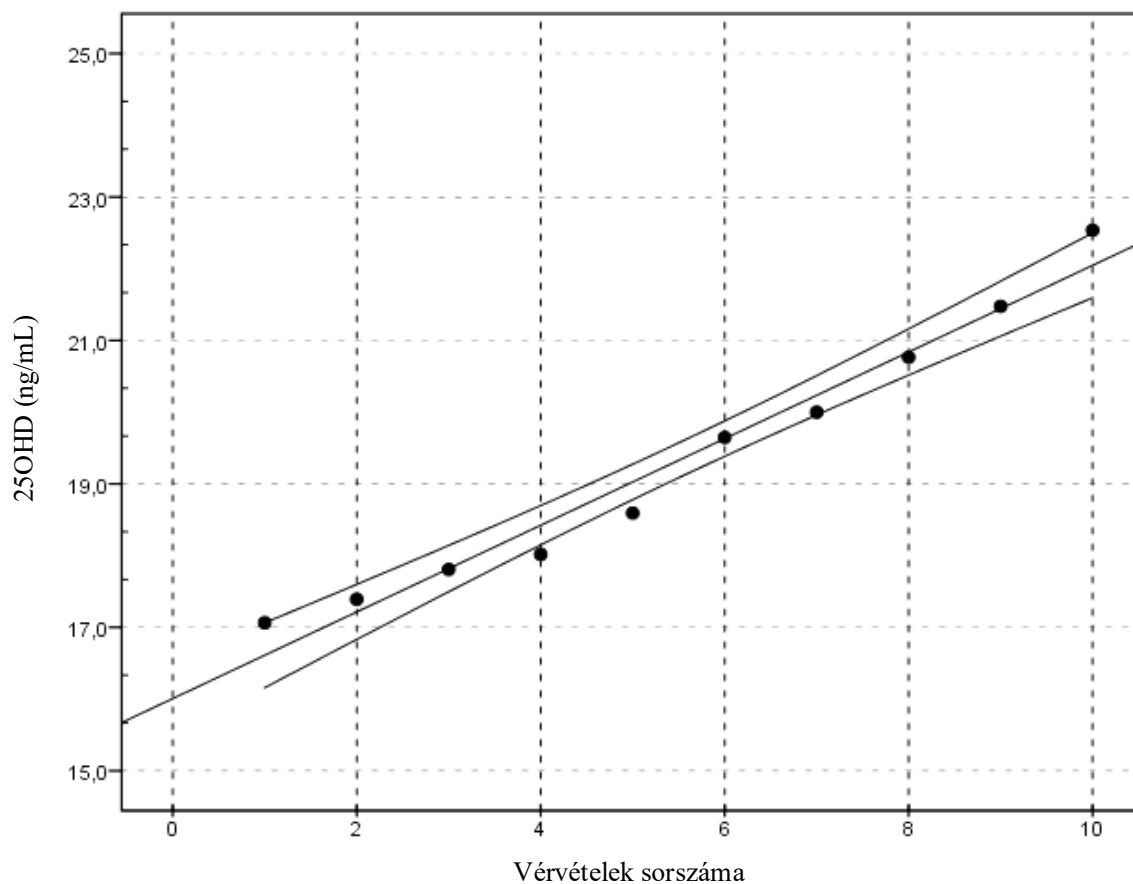
A 14. ábra mutatja, hogy bár a 25OHD koncentrációk a csoportban különböztek a földrajzi hely szerint (vagyis a regressziós egyenes metszéspontjai különböztek), és bár a 25OHD

koncentrációk kissé eltérő mértékben növekedtek (vagyis az egyenesek meredeksége eltért egymástól), az adatok mégis megjelenítik az “élettani” variációt ezekben az európai földrajzi helyeken 2015 tavaszán. Eszerint az egész adategyüttes további elemzésre alkalmas lehetne olyan stratégiával, amely megfelelhet az APS-ből származtatott EFLM I modell megközelítésének, és amely a vizsgálati teljesítőképesség klinikai kimenetelre gyakorolt hatásának becslésére szolgálna. A 15. ábra mutatja a 180 mintavételi átlagos koncentrációk és a tanulmányi hetek regressziós egyenesét. Átlagos különbség az egymás utáni mintavételek eredményei között 2,8% volt. Egy vizsgálati módszer, amely képes lenne szignifikáns különbséget tenni a 25OHD koncentrációk heti élettani változásai között megmutatná a teljesítmény-jellemzőket, pl. a mérési bizonytalanságot (MU), az alábbi számítás szerint:

$$\text{Változás (\%)} = 21/2 \times \text{MU (\%)} \times Z,$$

ahol Z a Z-score-nak felel meg, azaz a kívánt valószínűségnek megfelelő SD-k száma. Ebben az esetben a variabilitás növekszik, így a statisztikai megközelítés egyoldalú kell legyen és 95%-os valószínűségre vonatkozzon, Z értéke 1,645. Eszerint $2,8 = 21/2 \times \text{MU (\%)} \times 1,645$ és a módszer APS-száma szignifikáns ($p < 0,05$) élettani változás kimutatására az $\text{MU} < 1,2\%$.

15. ábra. A D-vitamin átlagértékek (Y) és a vérételek sorszámának (X) x/y pontdiagramja. A lineáris regressziós egyenlet 95%-os CI értékekkel: $Y \text{ (ng/mL)} = 0,604 \times (0,52-0,70) + 16,0 \text{ (15,5-16,5)}$; a Pearson korrelációs koefficiens (r) értéke = 0,985.



Ennek az APS-nek elérése fontos lenne az RMP használatához. Azonban klinikai szempontból nem szükséges, hogy kimutassuk a hétről hétre bekövetkező variációt. Figyelemre méltó, hogy a D-vitamin adása és a 25OHD szintek mérése/monitorozása között legalább 3 hónapnak kell eltelnie (153). A regressziós vizsgálat azt mutatja, hogy a 25OHD koncentrációk élettani variációja a vizsgált személyekben 10 hét alatt 31,6% volt. A korábban bemutatott egyenlet szerint $31,6\% = 2^{1/2} \times \text{MU} (\%) \times 1,645$, egy módszer, amely el tudja különíteni az élettani változást a D-vitamin-pótlással előidézett hatástól $p < 0,05$ szinten, <13,6%-os MU értékkel kell rendelkezzen. Ha klinikailag szükségesnek ítéljük, hogy még biztosabbak legyünk a növekedést illetően, pl. $p < 0,01$ szinten, az ide illő Z-score 2,326, így az APS az MU számára 9,6% és formula a következő lesz: $31,6\% = 2^{1/2} \times \text{MU} (\%) \times 2,326$.

4.9. Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról (435)

A bevásztási feltételek és a rendelkezésre álló információk kutatásának eredménye 15 ország kiválasztását eredményezte, kilencet a Közel-Keletről és hatot Európából (37. táblázat). Izrael, Olaszország és Katar esetében számos népességi csoportból származó adatokat mindegyik esetében átlagoltuk és az országos 25OHD koncentrációkat a csoportlétszám, mint súlyozó figyelembevételével számoltuk ki. Az étrendi pótlás adatai (energia/fő/nap) a 38. táblázaton láthatók.

További adatokat posztmenopauzális nők étrendi összetételéről 19 országból az oszteoporózis bazedoxifen kezelését tesztelő nemzetközi klinikai vizsgálat közleményéből vettük (439) és a 39. táblázat ismerteti. A helyszínek földrajzi szélessége, a résztvevők száma és a 25OHD koncentrációk nincsenek feltüntetve a lapkiadót illető jogi korlátozás miatt, de az adatok egy része a 37. táblázatban látható (439). A 44. táblázaton feltüntetett értékek esetében a résztvevők száma 5 és 456 közötti volt, medián 45, télen és nyáron is. Az adatagyűttest nem befolyásolta a 37. táblázaton felismerhető három probléma, azaz a résztvevők száma hasonló, a 25OHD meghatározás módszere azonos, és a D-vitamin-pótlás mennyisége csekély volt.

bhattoa.harjit.pal_23_22

37. táblázat. A tanulmányban használt 25OHD vitamin (25OHD) koncentráció- adatok Közel-Kelet és Európa 15 vizsgálati helyéről, 13 országból.

Ország (város), Földrajzi szélesség	Életkor (év)	N	Év	Módszer	25OHD (nmol/L), Nyár *	25OHD (nmol/L), Tél *	Ref.
Bahrein, 43°	átlag 35	250 M 250 F	2010 2011	ELISA	27 ± 15 M 18 ± 15 F	41 ± 32 M 26 ± 24 F	[452]
Németország, 47°–49°	18–79	694 M nyár 748 M tél 770 F nyár 841 F tél	2008 2011	LIAISON, Roche	62 (59–65) M 59 (56–62) F	31 (29–34) M 35 (33–38) F	[253]
Irán (Babol), 36,5°	M 20–80 F 30–50	120 M 576 F	2010.szept.– 2012.szept.	ELISA, lyophilized competitive protein binding	59 ± 29 M 52 ± 56 F	46 ± 58 M 48 ± 52 F	[453]
Irán (Ny. Azerbajdzsán), 37,5°	5–60	273 M 268 F	2015	ELISA, confirmed with HPLC	62 ± 5 M 50 ± 7 F	32 ± 4 M 30 ± 4 F	[454]
Izrael, 31°	összes	295,556 zsidó	2009	LIAISON, DiaSorin	64 ± 24 M 50 ± 24 F	43 ± 24 M 41 ± 24 F	[455]
	összes	59,203 arab	2009	LIAISON, DiaSorin	57 ± 22 M 38 ± 20 F	36 ± 22 M 24 ± 24 F	
Olaszország, 41,4°	49–74	1820 Nyár 1885 tél 78% F	2014	LIAISON, DiaSorin	55 ± 21 M 72 ± 21 F	50 ± 20 M 50 ± 20 F	[456]
Jordánia, 30,6°	18–45	23 M	?	Radioimmune, DiaSorin	44 ± 5 M	35 ± 4 M	[268]
	18–45	124 F		Radioimmune, DiaSorin	29 ± 5 F	25 ± 4 F	
Libanon, 33,8°	30–50	74 M 318 F	2009–2010	Chemiluminescent, DiaSorin	51 ± 20 M + F	34 ± 20 M + F	[457]
Portugália (Porto), 41,2°	18–67	103 M 95 F	2015. júl/aug. 2016. ápr.	Elecsys, Cobas, Roche	70 ± 22 M 66 ± 22 F	43 ± 16 M 41 ± 16 F	[458]
Katar, 23,4°	18–80	503 M 702 F	2012.dec. 2014.febr.	LIAISON, DiaSorin	42 ± 10 M + F	43 ± 10 M + F	[459]
Románia, 45,9°	átlag 50	1429 M 6569 F	2012–2016	Liaison XL, DiaSorin	66 ± 19 M 59 ± 16 F	38 ± 14 M 33 ± 13 F	[460]
Szaúd Arábia, 23,9°	19+	659 F	2009	HPLC, Chromsystems, Germany	37 ± 2 F (±SE)		[461]
	19+	897 F	2009	HPLC, Chromsystems, Germany		34 ± 1 F (±SE)	
Svédország (Gothenburg), 57,7°	28–54	325 M 215 F	2009.okt. 2010.szept.	?	81 ± 27 M + F	48 ± 20 M + F	[462]
Svájc, 47,1°	8–92	300 M 476 F	2011.szept. 2012.márc.	Immuno- diagnosticsystems, IDS	54 ± 20 M + F	42 ± 19 M + F	[463]
Szíria, 34,8°	18–62	184 M 188 F	2011.ápr. 2013.márc.	Elecsys 2010, Roche	37 ± 19 M 20 ± 14 F	23 ± 15 M 18 ± 9–23 F	[464]
Törökország (Ankara), 39,0°	21–52	53 M 65 F	2008.aug. és 2009.febr.	HPLC, AB Sciex, Foster City, CA, USA	72 ± 20 M 70 ± 30 F	38 ± 16 M 34 ± 17 F	[465]

* átlag, szórás; a zárójelben lévő számok 95%-os konfidencia-intervallumok; F. nő, M: férfi

38. táblázat. Étrendi energia-bevitel tápanyagok szerint 12 közép-keleti és európai országban az Egyesült Nemzetek Mezőgazdasági és Élelmezési Szervezete (FAO) adatai alapján.

Ország (város)	Földrajzi szélesség (°É)	Energia (kcal/fő/nap) bevétel forrása:				
		állati zsír	tojás	tengeri hal	hús	tej
Szaúd-Arábia	23,9°	60	17	11	217	131
Jordánia	30,6°	23	29	7	140	115
Izrael	31,0°	16	37	20	418	250
Libanon	33,8°	16	22	17	242	160
Irán	36,5°	20	21	10	143	74
	37,5°	50	30	10	133	66
Törökország	39,0°	15	33	8	138	309
Portugália	41,2°	187	34	63	396	252
Olaszország	41,4°	84	52	42	374	272
Románia	45,9°	68	50	8	217	431
Svájc	47,1°	78	40	22	556	400
Németország	50,5°	153	48	30	365	337
Svédország (Gothenburg)	57,7°	51	49	43	357	402
Svédország (Stockholm)	60,0°	47	43	47	344	428

39. táblázat. Az étrendi energiafelvétel megoszlása állati eredetű élelmiszerekből 2002-ben 19 európai országból egy osteoporosis terápiás tanulmány női résztvevőiben (439).

Ország	Energia (kcal/fő/nap) forrása:				
	állati zsír	tojás	tengeri hal	hús	tej
Görögország	70	36	23	323	379
Spanyolország	41	59	63	502	248
Olaszország	90	46	31	409	291
Bulgária	51	42	8	234	239
Horvátország	66	37	23	177	271
Románia	67	52	6	254	393
Magyarország	285	66	5	419	214
Franciaország	85	60	56	559	393
Szlovákia	210	47	12	245	153
Németország	147	48	32	355	249
Belgium	250	46	34	309	394
Lengyelország	117	46	24	369	250
Hollandia	92	74	39	440	433
Litvánia	86	50	77	269	279
Dánia	199	66	48	381	276
Oroszországi Föderáció	37	52	29	240	239
Észtország	13	43	9	295	426
Norvégia	126	38	82	371	351
Finnország	24	34	43	495	434

Lineáris regressziós elemzés adatai a 25OHD koncentrációkról a földrajzi szélesség, az UVB sugárdózis és az étrendi összetevők függvényében 15 országban Közel-Keletről és Európából a 40. táblán szerepelnek. A 19 európai országban vizsgált posztmenopauzális nők adatainak ugyanilyen elemzéséből kapott eredményét a 41. táblázat mutatja. Az UVB-dózisra és a különböző étrendi elemekre vonatkozó kereszt-korrelációs koefficiensek a két adatsorra a 42. és 43. táblázaton láthatók. A 15 országot magába foglaló tanulmányban az étrendi tényezők erős korrelációt mutattak a földrajzi szélességgel, míg a 19 ország adataiban nem. Így a 15-

bhattoa.harjit.pal_23_22

országbeli tanulmányban nehéz elválasztani az UVB és a diéta hatásait. A 19 országbeli regressziós eredmények azt sugallják, hogy a tengeri hal a legfontosabb étrendi összetevő, amely a 25OHD szinteket befolyásolja európai posztmenopauzális nőkben, de az állati zsír is hozzájáruló tényező.

40. táblázat. Regressziós elemzés eredménye a 25OHD-re 15 közel-keleti és európai ország adataival a földrajzi szélesség, UVB dózis és az étrendi összetevőkre vonatkozóan.

Tényező*	25OHD, Férfiak (R, β, p)	25OHD, Nők (R, β, p)
Nyár		
Földrajzi szélesség	0,61; 0,80; 0,03	0,84; 1,45; <0,001
UVB	0,56; -3,0; 0,06	0,76; -5,2; 0,002
Tojás, tej	0,57; 0,044; 0,053	0,69; 0,087; 0,007
Tej	0,57; 0,047; 0,053	0,68; 0,093; 0,007
Tojás	0,50; 0,46; 0,12	0,60; 0,93; 0,02
Tengeri hal	0,42; 0,25; 0,17	0,67; 0,67; 0,009
Hús	NS	0,33; 0,045; 0,25
Állati zsír	NS	NS
Tél		
Földrajzi szélesség	0,36; 0,28; 0,25	0,62; 0,68; 0,02
UVB	0,51; -1,7; 0,09	0,37; -1,6; 0,20
Tojás, tej	0,55; 0,026; 0,07	NS
Tej	0,54; 0,027; 0,07	NS
Tojás	0,60; 0,36; 0,04	NS
Tengeri hal	0,64; 0,23; 0,03	0,54; 0,34; 0,047
Hús	0,59; 0,027; 0,04	NS
Állati zsír	NS	NS

*csak 12 országból szerepelnek az étrendi adatok; illesztett $r^2 < 0,01$; β , meredekség

41. táblázat. Regressziós elemzés eredménye a 25OHD-re 19 európai országban posztmenopauzális nők tanulmányából (439) érendi összetevőkre önállóan vagy a földrajzi szélességgel és UVB dózis kombinációjával.

Tényező	25OHD Nyár (R, β, p)	25OHD Tél * (R, β, p)
Állati zsír, tengeri hal, hús	0,74; 0,032; <0,001	0,46; 0,027; 0,09
Állati zsír, tengeri hal, tojás, hús	0,73; 0,030; <0,001	0,44; 0,025; 0,10
Állati zsír, tengeri hal	0,65; 0,049; 0,003	0,48; 0,05; 0,07
Állati zsír, tojás, tengeri hal	0,65; 0,046; 0,03	0,46; 0,048; 0,08
Tengeri hal	0,54; 0,14; 0,02	0,63; 0,21; 0,01
Állati zsír	0,51; 0,039; 0,03	0,32; 0,040; 0,25
Földrajzi szélesség	0,51; 0,45; 0,02	0,78; 0,90; <0,001
Hús	0,50; 0,030; 0,03	NS
UVB dózis	0,47; -2,7; 0,04	0,56; -3,9; 0,03

*csak 15 országból szerepelnek az érendi adatok; illesztett $r^2 < 0,01$; β , meredekség

42. táblázat. Az érendi összetevők és UVB sugárzás kereszt-korrelációja a földrajzi szélességgel a 15-ország tanulmányban.

Tényező	Földrajzi szélesség (R, β, p)	Földrajzi szélesség (Portugália nélkül) (R, β, p)
Tej, tojás	0,80; 0,058; <0,001	0,80; 0,058; 0,001
UVB	0,89; -3,6; <0,001	0,89; -3,6; <0,001
Tej	0,79; 0,062; <0,001	0,79; 0,062; 0,001
Tojás	0,75; 0,67; 0,002	0,75; 0,67; 0,003
Tengeri hal	0,57; 0,33; 0,03	0,73; 0,53; 0,005
Hús	0,43; 0,034; 0,12	0,44; 0,20; 0,13
Állati zsír	0,30; 0,093; 0,29	0,42; 0,12; 0,15

Illesztett $r^2 < 0,01$; β , meredekség

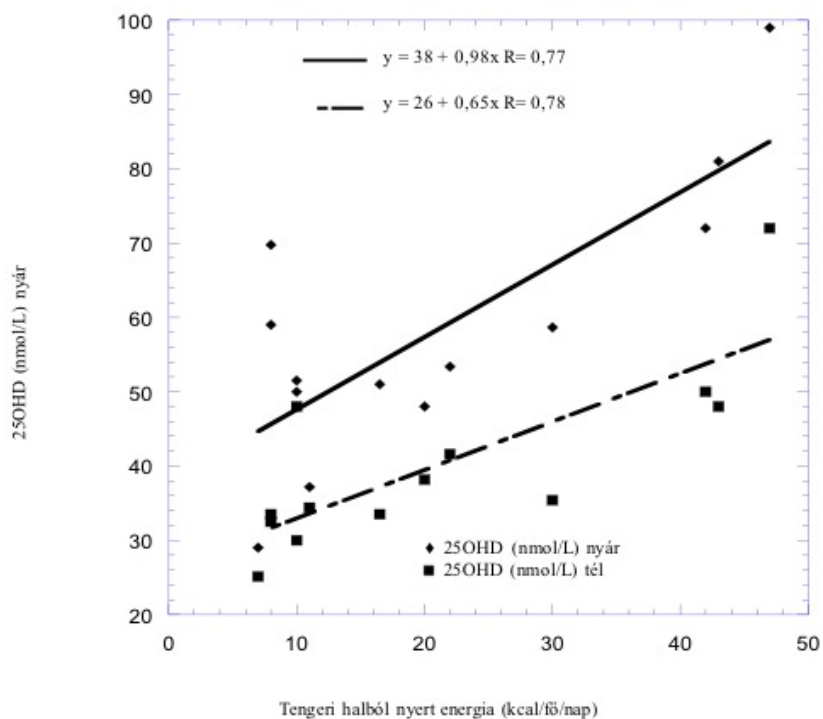
43. táblázat. Az étrendi összetevők és az UVB faktor kereszt-korrelációja a földrajzi szélességgel a 19-ország tanulmányban.

Tényező	Földrajzi szélesség (R, β, p)
UVB	0,78; -5,2; <0,001
Tej	0,47; 0,023; 0,27
Tengeri hal	0,32; 0,098; 0,18
Tojás	NS
Hús	NS
Állati zsír	NS

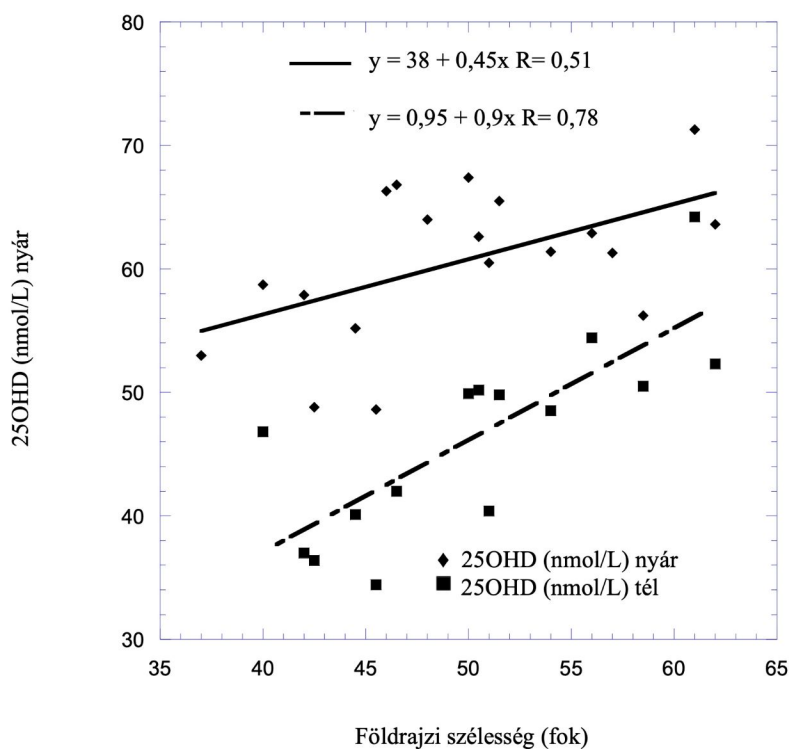
Illesztett $r^2 < 0,05$; β , meredekség

A 16., 17., 18., és 19. ábra a 25OHD szinteket mutatja a tengeri halból nyert energiával, földrajzi szélességgel, ill. a hal+zsír+hús étrendi összetevőkkel szemben pont-diagramon.

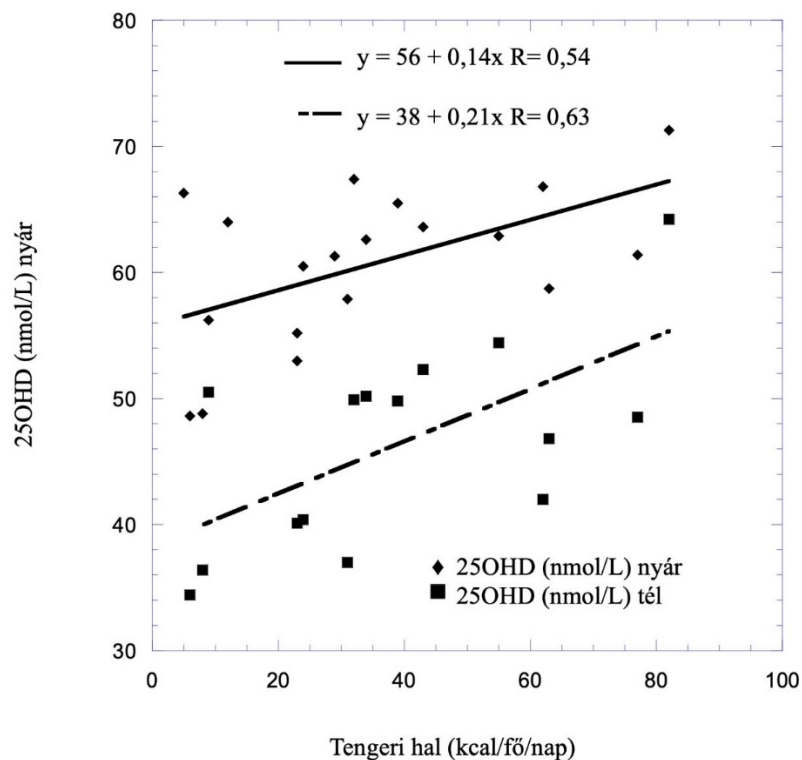
16. ábra. Nők szérum 25OHD koncentrációi pontdiagramon 11 országból a tengeri halból származó energia mennyiségével szemben (Portugália nélkül, lásd 41. táblázat).



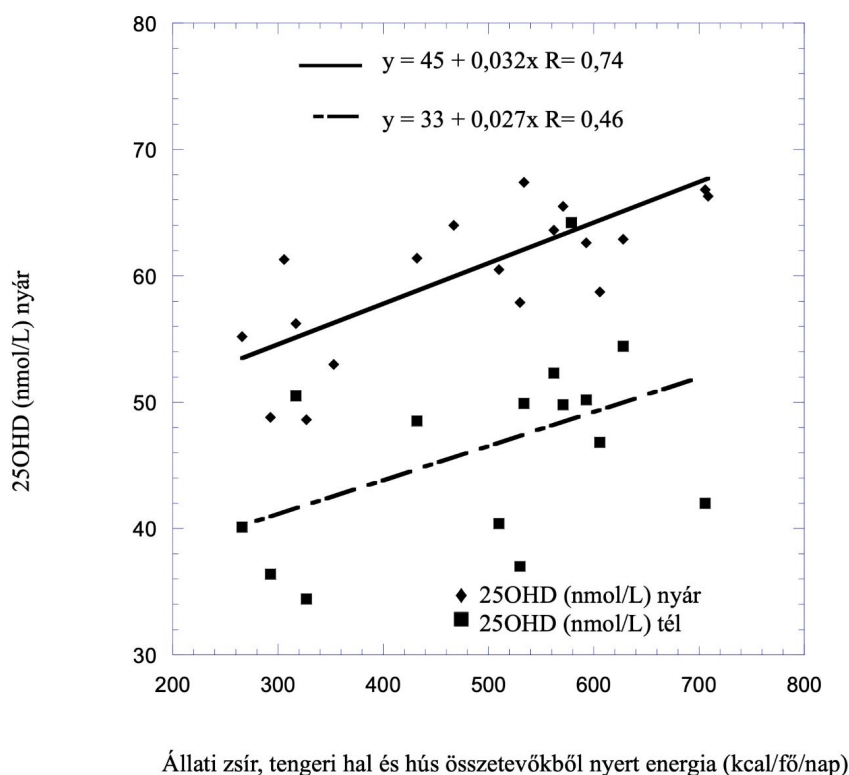
17. ábra. Posztmenopauzális nők szérumban 25OHD koncentrációi pontdiagrammon a földrajzi szélességgel szemben a 19 európai országban folyt klinikai vizsgálat adataiból (439).



18. ábra. A 25OHD koncentrációk pontdiagramja a tengeri halból nyert energia mennyiségével szemben posztmenopauzális nők klinikai vizsgálatának adataiból Európában (439).



19. ábra. Szérum 25OHD koncentrációk pontdiagramja az állati zsír, tengeri hal és hús összetevőkből nyert energia mennyiséggel szemben posztmenopauzális nők klinikai vizsgálatának adataiból Európában (439).



4.10. A COVID-19 járvány és D-vitamin tanulmány (443)

A COVID-19-re vonatkozó klinikai és epidemiológiai eredmények

A hipotézis kifejlesztésének első lépcsője: adatok gyűjtése a vizsgálni kívánt betegség epidemiológiai és klinikai kapcsolatáról a 25OHD koncentrációkkal. Napjaink szakirodalmából tudjuk, hogy a COVID-19 a pro-inflammatorikus citokinek fokozott termelésével (466), emelkedett C-reaktív protein-szinttel (380), fokozott pneumonia- (466), szepszis- (467), akut respiratorikus distressz-szindróma (467) és szívelégtelenség- kockázattal (467) társul. A

fatalitási ráta (Case Fatality Rate, CFR) Kínában 6-10% volt a szív-érbetegek, idült légúti betegek, cukorbetegség és hipertóniások körében (387). COVID-19 a nagy légszennyezésű kínai (468) és észak-olaszországi (469) régiókat sújtotta legkeményebben. A D-vitamin lehetséges szerepét a betegség epidemiológiai jellemzőinek befolyásolásában, különös tekintettel a COVID-19-hez társuló halálozás vonatkozásában a 44. táblázat ismerteti. A D-vitamin legtöbb jótékony hatását mutató 44. táblázat adatai megfigyeléses vizsgálatokból származnak, amelyek a betegség incidenciáját vizsgálták a 25OHD koncentrációkkal összefüggésben. A D-vitamin- és placebo-kezelésben részesülő személyek egészség-végpontú eredményeinek összehasonlítását végző RCT-eket előnyben részesítik az oki összefüggések keresésekor. Azonban a legtöbb D-vitamin RCT nem tudta igazolni, hogy a D-vitamin adása csökkentette volna a betegség kockázatát (470,471). A megfigyeléses tanulmányok és RCT-k közötti megegyezés hiányát számos tényező okozhatja. Köztük biztosan szerepel a tanulmányok besorolt résztvevőinek viszonylag magas 25OHD koncentrációja, alacsony D-vitamin adagok, valamint a kiindulási és elért 25OHD koncentrációk mérésének hiánya. Korábbi tanulmányok javasolták, hogy a tápanyagnak minősülő készítményeket, mint a D-vitamint vizsgáló RCT-eket ellátottsági állapotra kell építeni, mint pl. a 25OHD koncentrációk. Résztvevőként hiányos ellátottságú személyeket kell toborozni és elegendő mennyiséget kell adni nekik, hogy elérjék a koncentrációt, amely a jó egészséggel társul. Továbbá kofaktorokat is kell kapniuk a cél eléréséhez, mint a C-vitamin, omega-3 zsírsavak és magnézium (472,473). Két közelmúltban befejezett RCT közleményében leírták, hogy a másodlagos elemzés a rák (474) és diabetes mellitus (475) szignifikánsan csökkent incidenciáját mutatta.

44. táblázat. Hogyan viszonyul a D-vitamin egyes betegségek incidenciájához és fatalitási rátájához klinikai és epidemiológiai tanulmányokban.

Jellemzők	Viszony a 25OHD-hez	Irodalom
Klinikai		
Pneumonia súlyos esetei	inverz korreláció a CaP-hoz	[476,477]
Pro-inflammatorikus citokinek, pl. IL-6 fokozott termelése	inverz korreláció	[478,479]
Emelkedett CRP	inverz korreláció	[480,481]
Szepszis fokozott kockázata	inverz korreláció	[482,483]
ARDS kockázat	inverz korreláció	[484,485]
Szívélgtelenség kockázata	inverz korreláció	[486,487]
Diabetes mellitus kockázata	inverz korreláció	[475,488]
Epidemiológiai		
Kezdetre 2019. dec. Kína, északi középszélességi fokú országokban terjed	alacsony 25OHD télen	[489,490]
Férfi incidenciája magasabb, sokkal nagyobb CFR, mint nőkben	dohányzás csökkenti a 25OHD-t	[491]
CFR növekszik a korrallal	krónikus betegségek rátája nő a korrallal, D-vitaminnak szerepe van a krónikus betegség-kockázat csökkentésében	[492]
Magasabb CFR diabetesben	diabetikusok 25OHD szintje alacsonyabb lehet	[493]
Magasabb CFR diabetesben	alacsonyabb 25OHD szintek nagyobb incidenciával járhatnak	[494]
Hipertóniában magasabb CFR	alacsonyabb 25OHD szintek emelkedett incidenciával társulhatnak	[495]
Magasabb CFR CVD-ben	Alacsonyabb 25OHD magasabb incidenciával és halálozással társul	[496]
Magasabb CFR idült obstruktív tüdőbetegségben (COPD)	COPD betegekben a 25OHD szintek inverz korrelációt mutatnak a kockázattal, súlyossággal és kiújulással	[497]
Magasabb rátát találtak fokozott légszennyezésű régiókban	a 25OHD koncentrációval társul	[498]

ARDS: acute respiratory distress syndrome; CaP: közösségben szerzett pneumonia; CFR: case-fatality-rate, fatalitási ráta; IL-6: interleukin 6; CVD: cardiovascular disease; COPD: idült obstruktív tüdőbetegség; CRP: C-reaktív protein

A 45. táblázat felsorol néhány klinikai leletet arról, hogy a D-vitamin adás miként csökkenthetne COVID-19 fertőzés okozta hatásokat más betegségek kezelése során.

45. táblázat Hogyan viszonyul a D-vitamin-pótlás egyes betegségek a kezelésének klinikai és epidemiológiai leleteihez.

Klinikai jellemzők	D-vitamin-pótló tanulmányok eredményei	Irodalom
CaP kezelés D-vitaminnal	Nem eredményezett teljes megoldást. Alap 25OHD 62,5 nmol/L volt. A kezelt ágon 100 nmol/L-t értek el	[499]
Pro-inflammatorikus citokinek, pl. IL6 fokozott termelése	Csökkent IL-6 koncentráció	[361]
Emelkedett CRP	Csökkenti a CRP-t cukorbetegekben	[500]
Szepszis fokozott kockázata	Nem csökkent a mortalitás felnőtt szeptikus betegekben D-vitamin-pótlásra. Legtöbb tanulmányba <50 nmol/L 25OHD szintű beteget vontak be, 250-600 ezer NE adaggal	[501]
ARDS kockázata	D-vitamin hiány hozzájárul az ARDS kialakulásához	[485,502]

A CFR korral járó folyamatos növekedését a krónikus megbetegedések időskori növekvő aránya okozhatja. Például a diabetes mellitus globális prevalenciája a 20 éven aluliak közötti kb. 1%-ról 45 éves korra mintegy 10%-ra, 65 évesekben 19%-ra emelkedett, majd 95 éves korig 14%-ra csökkent (503). Az invázív tüdőrák incidenciaráta nőknél az Egyesült Államok-beli 2015-i statisztika szerint a 30-34 éves korosztályban 1,1/100 000 volt, az 50-54 évesek körében 51,0/100 000 lett, majd a 65-79-es korcsoportban 2041/100 000-re emelkedett és tovább nőtt a 75-79 évesek között 347,3/100 000-re (504). Számos tanulmányban beszámolnak róla, hogy idült betegségben szenvedők 25OHD koncentrációja alacsonyabb, mint egészségesekben. Egy olaszországi vizsgálat szerint férfi COPD-betegek átlagos 25OHD szintje 40 (95% CI, 32,5-45) nmol/L, míg a nőbetegeké 32,5 (95% CI, 27,5-37,5) nmol/L volt (505). Egy Dél-Koreából közölt vizsgálat szerint közösségben szerzett pneumonia (CaP) betegekben az átlagos 25OHD koncentráció kórházi felvételnél 35 nmol/L volt (506). Iránban egy tanulmány eredménye szerint a hipertóniások 25OHD szintje alacsonyabb, mint az egészséges kontrollszemélyeké; férfiakban 32,5 vs. 52,5 nmol/L, nőkben 32,5 vs. 50 nmol/L

(507). Az immunválasz idősődéssel járó csökkenését befolyásolja a korral csökkenő aktív D-vitamin metabolit (1,25(OH)₂D, vagy kalcitriol)- képződés. A paratireoid hormon koncentráció az életkorral növekszik (508,509).

Sok vírusinfekció évszaki ingadozása a 25OHD szintek változásaival társul a téli alacsony UVB sugáradagok miatt a mérsékelt égövben és az esős évszak miatt a trópusokon, példa erre a respiratórikus szinciciális vírus (RSV) fertőzés (510,511). Hasonló a helyzet az influenza (512,513) és a SARS-CoV (514) esetében is. A MERS azonban egy csúcsot mutatott az április-júniusi negyedévben (515), valószínűleg a tömeges mekkai zarándoklat (haddzs) miatt, és mert a 25OHD koncentrációk évszaki váltakozása a Közel-Keleten csekély mértékű (435). Trópusokon az évszaki változás az esős időszakokban mérhető alacsony UVB-dózissal kapcsolatos pl. az influenza esetében (516).

Jelentős mennyiségű közvetett bizonyíték származik egyéb burokba zárt (enveloped) vírusok hatásainak vizsgálatából. A 46. táblázat különböző tanulmányok leleteit mutatja.

Egyik út, amelyen át a CoV-k károsítják a tüdő hámsejtjeit és gyorsítják a pneumonia kifejlődését, a Th1-típusú citokinek fokozott termelése, amely része a vírusfertőzésre adott veleszületett immunválasznak, és amely a citokin-viharnak nevezett állapothoz vezet. Laboratóriumi sejtvizsgálatok adataiból közölték, hogy az interferon- γ felelős a SARS-CoV- okozta betegség késői fázisában kialakuló tüdőkárosodásért (527). A CoV fertőzés okozta pro-inflammatórikus citokin-vihar okozta a betegség legsúlyosabb eseteit (528). Azonban a COVID-19 fertőzés elindította a Th2 citokinek fokozott szekrécióját is (pl. az interleukin 4 és 10), amely gátolja a gyulladáshoz vezető folyamatot és ebben különbözik a SARS-CoV fertőzéstől (380).

46. táblázat. Vizsgálati leletek a D-vitamin hatások és a burokba zárt vírusok okozta fertőzések kapcsolatáról.

Vírus	D-vitamin hatás	Irodalom
Dengue	A D-vitamin hatásmechanizmusát tárgyalja	[517]
Dengue	Inverz kapcsolat a 25OHD koncentrációk és a betegség előrehaladottsági állapota között	[518]
Dengue	D-vitamin pótló tanulmány 1000 és 4000 NE/nap adaggal. 4000 NE /nap erősebb rezisztenciát eredményezett a DENV-2 fertőzés ellen. A 4000 NE pótlást kapottakból vett MDDC (sejtek) az mRNA csökkent TLR3-expresszióját mutatták	[379]
Hepatitis C	A CYP24A1 gén által kódolt 1,25-hidroxi-D ₃ -vitamin-24-hidroxiláz kulcsfontosságú enzim, amely neutralizálja az 1,25(OH) ₂ D-t. Ez a tanulmány mutatta ki, hogy a CYP24A1 alléljai különböző hatással vannak a krónikus hepatitis C fertőzés kockázatára	[519]
CHB	A 25OHD szintek alacsonyabbak voltak a CHB-betegekben, mint az egészséges kontrollokban és inverz kapcsolatban voltak a HBV vírusterhelés mértékével	[520]
KSHV	A kathelicidin szignifikánsan csökkentette a KSHV súlyosságát a vírus burkának megrepesztésével	[521]
HIV-1	D-vitamin-pótlást alkalmazó 29 klinikai vizsgálat áttekintésekor a gyulladás csökkenését figyelték meg. Hétfőből 3 tanulmányban a CD4+ T-sejtszám növekedett, de a vírusterhelésre kifejtett hatás következtelen volt, mivel a páciensek többsége cART kezelést kapott	[522]
H9N2 influenza	A tüdő hámsejteken végzett tanulmányban a H9N2 fertőzés előtt után végzett kalcitriol kezelés csökkentette az influenza M gén, az IL-6, és IFN-β expresszióját az A549 sejtekben, de nem változtatta a vírus replikációt.	[523]
RSV	Laboratóriumi tanulmány, azonosította a D-vitamin hatásmechanizmusát az RSV-kockázat csökkentésében	[524]
RSV	Kimutatták, hogy a humán kathelicidin LL-37 hatékony antivirális hatást mutat az RSV ellen in vitro és megelőzte a vírus-kozta sejthalált hámsejtenyészetben	[378]
RSV	Kimutatták, hogy a D-vitamin receptor T-allélja alacsonyabb prevalenciájú afrikai népességben és párhuzamot mutat az RSV-hez társult súlyos ALRI kisebb incidenciájával afrikai gyermekekben	[525]
Rotavirus diarrhoea	Vizsgálatukban <20 ng/mL 25OHD koncentráció eseteiben a rotavírus-diarrhoea esélyhányadosa 6,3 (95% CI, 3,6-10,9) volt	[526]

ALR: Heveny légúti fertőzés (acute respiratory tract infection); cART: combination Antiretroviral Therapy; CHB: krónikus hepatitis B; DEN-2: dengue vírus-2; HIV-1: Humán immunodeficiencia vírus 1; KSHV: Kaposi szarkómával társult herpeszvírus; MDDCs: monocita-származású dendritikus sejtek; RSV: respiratórikus szinciciális vírus.

5. MEGBESZÉLÉS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

5.1. Posztmenopauzális nők és a HunMen tanulmány

5.1.1. Posztmenopauzális nők tanulmány (394)

Vizsgálatunk minden résztvevője kaukázusi rasszbeli, ami jellemző a magyar népesség többségére. Emiatt a résztvevők a lakosság egészének mintájaként tekinthetők.

Más európai országokban végzett hasonló méretű vizsgálatokhoz hasonlítva, saját adataink a D-hipovitaminózis magasabb prevalenciáját mutatták (529-533). A különbség még nagyobb volt a tavaszi mintákban. Ezt a különbséget csak részben látszik magyarázni az a tény, hogy a vizsgálat időszakában általánosan használt határértékeknel magasabb, 50 nmol/L koncentrációt tekintettük választóvonalnak, de valószínűleg a különbségek másik fő forrása a vizsgálóhelyeken használt 25OHD mérőmódszerek különbözősége.

A D-vitamin ellátottság elégtelenségének több oka van, nevezetesen az elégtelen felvétel, gyenge napsugár-hatás, a D-vitamin anyagcserét befolyásoló kóros állapotok, vagy gyógyszerek (534). Saját vizsgálatunk résztvevői közül kizártuk azokat, akikben D-vitamin anyagcsere másodlagos zavarát állapítottuk meg. Tudjuk viszont, hogy az alacsony kalciumbevitel növeli a PTH- termelést (535), következményesen a szérum 1,25-dihidroxi D-vitamin vérszinteket, melynek eredménye a 25OHD fokozott lebomlása, csökkenő szintekkel, súlyosbítva a D-vitamin hiányt. Összefüggést találtunk az étrendi kalciumfelvétel és a 25OHD szintek között.

Ahogy várható volt, a szérum PTH szintek a 25OHD-vel ellentétes évszaki változást mutattak, magasabb koncentrációt tavasszal és alacsonyab nyáron. Mások hasonló kapcsolatot közöltek (536,537).

A legmagasabb napfényes óraszámot nyáron, a legalacsonyabbat télen jegyeztük fel, míg a 25OHD szintek tetőzése őszi, a mélypontja tavaszra esett. Tehát a szérumban 25OHD szint a vérvételt megelőző évszak napsugárzásának időtartamától függ. Fontos megjegyezni, hogy a 25OHD vérszintek évszaki változásával azonos irányban változtak a FN BMD értékek is. BMD adatainkból nehéz volt erős következtetést levonni azok évszaki változására, mivel a tanulmány résztvevőitől az év különböző évszakaiban vettünk mintát, ismerve, hogy a BMD változások személyenként lassan jönnek létre. Abban az esetben lehetne a BMD évszaki változásait pontosan meghatározni és a variációt csökkenteni, ha ugyanazon személyektől vennénk mintát ismételt minden évszakban, lehetőleg annak meghatározott időpontjában (pl. a végén).

A szérumban PTH emelkedése fokozza a csontforgalmat, ami rendszerint fokozott kortikális csontvesztést okoz (538). Mi szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a PTH és a β -CTx szintek között, de a BMD nem korrelált velük.

Egy németországi vizsgálat (57) a csont turnover mutatók évszaki változását igazolta. Mi anyagunkban csak az OC szintek esetében tudtuk igazolni a szezonálisitást. Többek között igazolták, hogy a D-vitamin-hiányos személyekben a szérumban PTH, valamint a csontlebontás- és képzés markereinek szintnövekedése következetesen együtt jár a fokozott csontforgalommal (remodeling) és csontvesztéssel (533,539,540).

Mi azt találtuk, hogy az FN csökkent csontsűrűsége kapcsolatban van a 25OHD szintekkel és az étrendi kalcium bevitellel, de nem tudtuk összefüggést igazolni a PTH- és a csontforgalom biokémiai markereivel. Keresztmetszeti vizsgálatokban pozitív összefüggést figyeltek meg a szérumban 25OHD szintek és a csípő BMD között (541,542,543); saját adataink megerősítik ezt a leletet.

Tanulmányunk keresztmetszeti felépítésű, ennek ismert korlátaival. Tekintettel az osteoporózis bizonytalan jósló erejű klinikai kockázati tényezőire, azt feltételeztük, hogy általunk az életkori szélsőértékek csökkenésével, csontbetegségek és D-vitamin-pótlás

kizárásával létrehozott vizsgálati csoport a hazai népességet elfogadható közelítéssel képviseli. Bár tudtuk, hogy a napfényes órák száma szerint összességében a szérum 25OHD szintje változik, egyénenként nem mértük a napsugár-expozíciót.

Legfontosabb megállapításunk, hogy a D-hipovitaminózis prevalenciája Magyarországon magas (tavasszal még inkább) a közösségben élő posztmenopauzális nők körében, valamint, hogy az alacsony 25OHD szintek és a kevés kalcium-felvétel kapcsolatban van a combnyak alacsony ásványianyag-sűrűségével. Ismeretes, hogy a combnyak csökkent BMD értéke erőteljes jelzőerőt képvisel az oszteoporotikus törések fokozott kockázatának meghatározásában. Ebből következik, hogy megállapításaink forrásanyagként szolgálhatnak a hazai és más európai, hozzánk hasonló társadalmi-gazdasági adottságú országok egészségpolitikai döntéshozói számára. Adatainkból is feltételezhető, hogy a D-vitamin és kalciumpótlás, különösen télen hasznos és költséghatékony hozzájárulás lehet az oszteoporózis és vele kapcsolatos csonttörések megelőzéséhez.

5.1.2. A HunMen tanulmány (398)

A D-hipovitaminózis prevalenciája férfi kohorszunkban alacsonyabb, mint amit korábban magyar posztmenopauzális nőkről közöltük (394). Mások által férfiakról közölt európai tanulmányok adataihoz képest (47. táblázat) saját anyagunkban a 25 OHD szintek magasabbak, viszont az Egyesült Államokból származó közleményekben található szinteknél alacsonyabbak. Bár a különbségek egyik oka lehet az Egyesült Államokban a tápanyagok általános D-vitamin pótlása (543), nem zárható ki, hogy a vizsgálati módszerek különbözősége is hatással volt a vérszintek mérési eredményeire (338).

47. táblázat Tanulmányok a férfiak 25OHD vérszintjeiről.

Szerzők	Közlés éve	Helyszín	Életkor, év (átlag vagy range)	átlag 25OHD (nmol/L)
Sherman és mtsai. [547]	1990	USA	57	89
Van der Wielen és mtsai. [546]	1995	Európa	71–76	59 ^a
Dawson-Hughes és mtsai. [548]	1997	USA	71	82
Jacques és mtsai. [549]	1997	USA	74	74
Chapuy és mtsai. [529]	1997	Franciaország	52	62
Woitge és mtsai. [57]	1998	Németország	65	52
Lamberg-Allardt és mtsai. [550]	2001	Finnország	37	45
Looker és mtsai. [551]	2002	USA	40–80+	68,7–70,6 ^a
				69,5–78,8 ^b
Kudlacek és mtsai. [552]	2003	Ausztria	40–60	55,7
			60+	40,2
Szulc P és mtsai. [553]	2003	Franciaország	58	70
Maggio és mtsai. [554]	2005	Olaszország	20–85+	60
Bolland és mtsai. [248]	2006	Új Zeland	40–88	85
Saqib és mtsai. [555]	2006	USA	45–95	109
Hannan és mtsai. [556]	2008	USA	30–79	62,5–93,5
Aroujo és mtsai. [557]	2009	USA	30–79	82,5 ^c
McBeth és mtsai. [558]	2010	Európa	40–79	62,5
Bhattoa és mtsai. [397]	2013	Magyarország	51–81	72,8

^aTél, ^bNyár, ^cA vizsgált népességi alcsoport átlaga

Amint korábban közöltük (394), mi a vizsgált férfiakban is megállapítottunk évszaki váltakozást a D-vitamin szintekben az általunk vizsgált népességi mintában. Ezek a változások követték a naponkénti napsütéses órák számát évszakonként.

Egy másik reprezentatív magyar férfi népességi csoport tagjait (n=431) a multicentrikus European Male Aging Study (EMAS) résztvevőiként vizsgálták Szegeden, a résztvevő 8 centrum egyikében. Ebben a tanulmányban a csontrendszer állapotát a sarokcsont kvantitatív ultrahang (qUH) vizsgálatával mérték fel, és az eredő UH-paraméterek összefüggést mutattak a korral és életmódbeli tényezőkkel (544). Bár az átlagos 25OHD értékek az egész EMAS kohorszban alacsonyabbak voltak, mint az általunk vizsgált csoportban, az EMAS magyar résztvevőinek D-vitamin ellátottságát nem részletezték (545). Hozzáteszem, hogy egy másik nemzetközi vizsgálat, a SENECA (546) magyar résztvevőinek (n=19) 25OHD szintjei is alatta maradtak a mi mérési adatainknak. A D-vitamin szintek és a csontegészség összefüggéseit magyar férfi népességben korábban még nem elemezték részletesebben, mint a mi jelen anyagunkban.

Megfigyelésünk, miszerint a D-vitamin ellátottság nem korrelál a LS és FN csontsűrűségével (BMD), ellentétes a saját korábbi, magyar posztmenopauzális tanulmányunk megállapításával (394), ahol a D-vitamin szintek jól korreláltak a combnyak (FN) denzitással. Ez az ellentmondás azonban nem példa nélküli a szakirodalomban, Kudlacek és mtsai (552), valamint Hannan és mtsai (556) sem találtak összefüggést a csontsűrűség és a D-vitamin szintek között férfi népességi mintáikban.

Jelen tanulmányunk egyik megállapítása, hogy a FRAX érték, és nem a BMD társul a D-vitamin vérszintekkel. A FRAX érték integrálja a klinikai törési kockázati tényezőket és a combnyak BMD értéket, ezáltal összesített, komplex mutatója lett a törési kockázatnak. Az alacsony D-vitamin szintek közlemények által elfogadottan egybeesnek a törési kockázattal és vizsgálataik megerősítették, hogy a FRAX értékkel is korrelálnak.

Statisztikailag jelentős inverz korrelációt találtunk az FN csontdenzitása és az OC, PINP szintek, valamint az LS csontdenzitása és az OC, β -CTx és PINP között is. Korábban közölt vizsgálatokból ismert, hogy csontállomány vesztese, és a csontbontás, valamint csontépítés markerei között fordított korreláció van (558,559,560).

Nem ismerünk korábbi adatokat a magyar férfiak étrendi kalcium felvételéről, saját tanulmányunk férfi résztvevőinek kalcium bevétele magasabb volt, mint az általunk közölt két magyar posztmenopauzális népességi mintában (394,561).

A tanulmány korlátját jelenti, hogy nincs forgalomban lévő, kellően részletes országos népességi regiszter és nehézséggel lehetett csak hozzáférni helyi regiszter-adatokhoz. Emiatt saját toborzási módszert alakítottunk ki, amely hibaforrást is jelenthet. Ezt úgy ellensúlyoztuk, hogy az összes potenciális önkéntes résztvevőt azonos beválasztási/kizárási kritériumok szerint vizsgáltuk sorban és csak azokat választottuk be, akiknek klinikai és labor-adatai nem akadtak fenn a kritériumok szűrőjén. Minden résztvevő kaukázusi rasszbeli volt, mint a magyar lakosság többsége. A tanulmány 2009. szeptember és 2010. szeptember között folyt, a besorolások többsége tavasszal és nyáron történt. Bár nem volt különbség a résztvevők kor- és BMI értékei között a besorolás évszakjai szerint, de a besorolt személyek szezon szerinti számbeli megoszlása különbözött, ennek hatása lehetett leleteink statisztikai értékelésének adataira, tekintve a vizsgált paraméterek szezon-függőségére. Bár leleteink megerősítik a prospektív tanulmányokban kapott adatokat a D-vitamin szintek évszaki változásairól, tanulmányunk keresztmetszeti jellege ebben a tekintetben korlátokat is rejt. A résztvevők fizikai gyakorlati tevékenységéről nem jegyeztünk fel adatokat, emiatt nem tudtuk ezt a jelentős módosító tényezőt figyelembe venni a leleteink elemzésekor. Továbbá a vizsgálati személyek alacsony száma miatt kényszerültünk kevesebb klinikailag jelentős közepes-alacsony mérési adat használatára, mind az elsődleges hatás (D-vitamin-szint), mind a kimenet (BMD) vonatkozásában.

Bár a számított abszolút törési kockázat nem tekinthető súlyos fokúnak, vizsgálati csoportunkban elsőként mutattunk ki szignifikáns különbséget a törési kockázat mértékében a FRAX kockázatszámító programmal egészséges, alacsony és normális D-vitamin szintű személyek között. Mivel egyre több FRAX adatot közölnek számos országból, ezáltal lehetővé vált a törési kockázatnak nem csak életkor és nem szerint, hanem külön országonkénti meghatározása.

A D-hipovitaminózis gyakori előfordulása és kapcsolata a fokozott törési kockázattal, valamint a D-vitamin-pótlás ismert kedvező hatása az egyének általános egészségi állapotára nyilvánvalóan indokolja az optimális D-vitamin ellátottság új laboratóriumi küszöbértékének általános használatát (562).

Egy 2010-ben közölt hazai közlemény szerint az Országos Egészségbiztosító Pénztár (jelenleg: NEAK) kiadási tételei között a csípőtáji törések kezelési költsége kategóriájában a legmagasabb volt (13 milliárd Ft, kb. 48 millió EUR) (563), meglepetésre meghaladta a stroke és a szív-érrendszeri betegségek kezelési tételeit. Ezeknek tetemes költségeknek háttérében további, törésekkel kapcsolatos társadalmi-gazdasági problémák is fellelhetők. Ilyen megvilágosításban adataink gyakorlati hasznosítása jelentős költség- és egészségnyereséggel járhat. Más kutatók adatait megerősítettük, hogy a csontok egészségi állapota hatékonyan becsülhető, sőt mérhető a szabad elérésű web-alapú országspecifikus FRAX kalkulátor és BMD-mérés segítségével. Munkánkkal továbbfejlesztettük a magas törési kockázatú személyek kiszűrésének módszerét napi szinten hozzáférhető laboratóriumi vizsgálatok tesztelésével és integrálásuk javaslatával a törések kockázatbecslő algoritmusába.

5.2. A szklerosztin, OPG és RANKL tanulmány

5.2.1. A szklerosztin tanulmány (401)

Ez az első klinikai tanulmány, amelyben szklerosztin szinteket mértek szisztematikusan kiválasztott, 50 évesnél idősebb férfiak reprezentatív csoportjában. Bár egy korábbi tanulmány vizsgálta már férfi népességi mintában, a résztvevők kiválasztása nem megszabott besorolási és kizárási feltételek alapján történt (145).

Eredményeink szerint a szérumszklerosztin-szintek az életkorral emelkednek egészséges, 50 évnél idősebb férfiakban. Azt is megállapítottuk, hogy férfiakban normális FN és/vagy LS mérési T-score esetén idősebb férfiakban magasabbak a szklerosztin szintek, mint a középkorúakban. Mödder és mtsai (145) közleményükben szintén különbséget találtak a középkorú és idős férfiak összehasonlításakor, és azt következtették, hogy a jelenséget az idősök korfüggően emelkedő szklerosztin-termelése okozhatja. Bár a mi vizsgálataink is erősítik ezt az összefüggést, a jelenség tisztázása további vizsgálatot igényel.

Mödder és mtsai (145) nem tudták kizárni a csökkent protein-clearance szerepét, mint a korral összefüggő szklerosztin-emelkedés okát, mi pedig azt találtuk, hogy a cisztatin C erős prediktora a szérumszklerosztin szinteknek idős korban. Cejka és mtsai (564) pedig arra a következtetésre jutottak, hogy szklerosztint 22 kDa molekulatömege miatt a vese választja ki, és veseelégtelenségben koncentrációja megemelkedik a vérben. Ebből következtetve valószínűnek látszik, hogy a veseműködés növekvő életkorral bekövetkező hanyatlása fontos tényező lehet az idős férfiak emelkedett szérumszklerosztin-szintjeinek létrejöttében. Mienk az első szklerosztin-szinteket vizsgáló tanulmány, amelyben cisztatin C meghatározások is

történtek a veseműködés vizsgálatára. A kreatininhez viszonyítva a cisztatin C előnye, hogy független a nem, az izomtömeg és az életkor hatásaitól.

Tudván, hogy a szklerosztint csaknem kizárólag az oszteociták képezik, és hatásos gátlói a csontépítésnek, a BMD és a szklerosztin szintek között inverz kapcsolat feltételezhető (135). Leleteink, összhangban legalább két másik közléssel, az ellenkezőjét sugallják, vagyis a magasabb BMD emelkedett szklerosztin szintekkel társul (145,146).

A jelenség oka nem ismert, Cejka és mtsai (564) szerint a nagyobb csonttömeg több oszteocitát tartalmaz, ezért magasabb a szklerosztin-szint.

A Mödder és mtsai (145) által közölt szórásdiagram értékelése alapján valószínűleg tekinthető a mi szklerosztin-értékeink magasabb szintje. A különbség oka lehet a két tanulmány résztvevőinek eltérő beválasztási feltételrendszere (145,401). A különbségek további okai lehetnek a csonttömeget befolyásoló környezeti és genetikai tényezők, melyek egyúttal a szklerosztin szintekre is hatással vannak.

Nem gyűjtöttünk ugyan adatokat a résztvevők fizikai aktivitásáról, de feltételezhető, hogy az idős férfiak kevésbé aktívak, mint a középkorúak. A gyengébb fizikai tevékenység szintén hozzájárulhat az emelkedett szklerosztin-szintek kialakulásához (565).

A HunMen study leleteinek érvényességét részben korlátozza, hogy a szklerosztin szintek vizsgálata nem volt benne az eredeti tanulmánytervben és a 206 résztvevőtől csak 194 vérmintában mértünk szklerosztint (398). A viszonylag kis mintaszám miatti megfontolásból összevontan, egy csoportban kellett elemeznünk az oszteopéniás és oszteoporotikus személyek adatait, mint “csökkent csonttömegűekét”, vagyis leleteinket nem vonatkoztathattuk külön a két csoportra. A kis mintaszám miatt a korösszetétel szerint egyébként egységes csoportok leletei közötti kapcsolat érvényes statisztikai elemzése sem volt lehetséges.

Összefoglalva, ez az első tanulmány, amely 50 évnél idősebb, célszerűen kiválasztott egészséges férfi népességi mintában validált immunoassay módszerrel vizsgálta a szérum

szklerosztin koncentrációt a veseműködés egyidejű felméréseivel cisztatin C-szint meghatározás által. Leleteink alapján szükségesnek látjuk további vizsgálatok folytatását az életkorral növekvő szklerosztin-szint emelkedés mechanizmusának pontosabb feltárására.

5.2.2. Az OPG és RANKL tanulmány (403)

Vizsgálati eredményeink igazolták, hogy a szérum OPG szintek növekszenek, a sRANKL/OPG hányados pedig csökken az életkor növekedésével egészséges, 50 évnél idősebb férfiakban. Az OPG szintek és életkor kapcsolatáról bemutatott megállapításaink összhangban vannak több más szerzőével (119-121,122,124,126-131).

Az 48. összefoglaló táblázaton látható, hogy a különböző befolyásoló tényezők kapcsolatában egyedüli az OPG és életkor közötti pozitív korreláció, amelyre vonatkozóan napjainkig a különböző tanulmányok szerzői egyetértésre jutottak. Közülük egyetlen kivétel Oh és mtsai (125) közlése, akik nem találtak szignifikáns kapcsolatot a két paraméter között. Ennek oka az alacsonyabb résztvevő-szám (n=80) és alacsonyabb életkor-maximum (70 év) lehet.

48. táblázat. Irodalmi adatok a szérumban oszteoprotegerin és más paraméterek közötti statisztikai kapcsolatokról.

Szerzők	Életkor	BMD	T	E ₂	FEI	FTI	PTH	25-OH-D	Kreatinin	Bone markers
Szulc és mtsai. [119]	$r = 0,41$	n.s.	n.s.	n.s.	^a $r = 0,18$	^a $r = 0,31$	$r = -0,23$	n.s.	n.s.	^b $r = -0,20$ $p < 0,01$
	$p = 0,0001$				$p < 0,02$	$p = 0,0001$	$p < 0,01$			
Khosla és mtsai. [120]	$r = 0,39$	^c $r = -0,17$	$r = -0,16$	n.s.	^d n.s.	^c $r = -0,27$	-	-	-	^f $r = 0,16$ $p < 0,05$
	$p < 0,001$	$p < 0,05$	$p < 0,05$			$p < 0,001$				^g $r = 0,26$ $p < 0,001$
Khosla és mtsai. [121]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	^h n.s.
Kudlacek és mtsai. [122]	ⁱ $p < 0,05$	n.s.	$r = 0,1$ $p < 0,05$	-	-	-	$r = -0,17$ $p < 0,0001$	n.s.	-	-
Trofimov és mtsai. [124]	$r = 0,42$ $p < 0,001$	n.s.	n.s.	n.s.	-	-	-	-	-	-
Oh és mtsai. [125]	n.s.	^j $r = -0,259$ $p = 0,020$	n.s.	$r = -0,319$ $p = 0,004$	-	-	-	-	-	^k $r = -0,25$ $p = 0,024$
Indridason és mtsai. [126]	ⁱ $p < 0,05$	^l $r = -0,13$ $p \leq 0,05$	-	-	ⁿ $r = 0,15$	^o $r = 0,09$ $p \leq 0,001$	n.s.	n.s.	p.	^q $r = -0,09$ $p \leq 0,05$
		^m $r = -0,11$ $p \leq 0,05$			$p \leq 0,05$					
Mazziotti és mtsai. [127]	$r = 0,37$ $p = 0,002$	-	-	-	-	-	-	-	^r $r = 0,46$ $p \leq 0,05$	^r $r = 0,47$ $p \leq 0,05$
Stern és mtsai. [128]	$r = 0,552$ $p < 0,001$	ⁱ $p < 0,05$	-	-	-	-	-	-	-	-
Samelson és mtsai. [129]	^v $p < 0,05$	^v n.s.	-	-	-	-	-	-	^w $p < 0,05$	-
Jorgensen és mtsai. [130]	$r = 0,52$ $p < 0,001$	^y $p = 0,001$	-	-	-	-	-	-	-	-
Szulc és mtsai. [131]	-	^y $r = -0,28$	-	-	-	-	-	-	-	^z $r = -0,10$ $p < 0,05$
		$p < 0,001$								^{aa} $r = 0,25$ $p < 0,001$
										^{ab} $r = 0,14$ $p < 0,05$
Kulcsar-Jakab és mtsai. (403)	$r = 0,359$ $p < 0,001$	n.s.	n.s.	$r = 0,16$ $p = 0,028$	n.s.	$r = -0,23$ $p = 0,001$	n.s.	n.s.	^{ac} n.s.	n.s.

^aÉletkor és testsúly szerint illesztett adat >40 éves személyekben, ^b vizelet totál deoxipiridinolin (DPD) érték kor szerint illesztve a 40 évnél idősebbekben, ^cközép-orsócsonti mérőhely ≥ 50 éves életkorban, ^d $r = -0,18$ ($p < 0,05$) biológiailag elérhető E₂ szint 50 éves, vagy idősebbekben, n.s. = nem szignifikáns.

48. táblázat. *folytatása*

^e $r=-0,27$ ($p<0,001$) biológiailag elérhető tesztoszteron szint 50 éves, vagy idősebbekben, ^fvizelet NTx, ^gVizelet szabad DPD, ^h vizelet NTx és DPD, ⁱstatisztikailag szignifikáns pozitív korreláció, (de az r értéket nem közlik), ^jlumbális gerinc, ^kOC, ^lteljes test, ^mcsípőtáj, ⁿszámított szabad szexhormon-szintek, ^pnem szignifikáns cisztatin C-re, ^q β -CTx, ^rférfi-női csoportban (65 és 84 év közötti életkor, $n=52$), ^sszérum β -CTx férfi-női csoportban (65 és 84 év közötti életkor, $n=52$), ^tLS (statisztikailag szignifikáns pozitív korreláció, de az r -értéket nem közlik), ^ukorral növekvő érték (trend, $p<0,05$) az OPG interkvartilis növekedésével, ^va korral illesztett combnyak-BMD nem különbözött az OPG-kvartilisek mentén, ^wa GFR csökkent (trend, $p<0,05$) az OPG növekvő kvartiliseivel, ^xa kor szerint illesztett disztális alkar BMD csökkent (trend, $p=0,001$) a növekvő OPG tercilisekkel, ^ya totál (disztális rádus és a tibia), ^zOC és PINP a medián OPG szint alatt, ^{aa}vizelet DPD és a szérum β -CTx a medián OPG szint felett, ^{ac}n.s. kreatininnal és GFR-el de $r=0,298$ ($p<0,001$) a cisztatin C-vel.

Az OPG korrelációját a BMD-vel és a csontforgalom (turnover) biokémiai markereivel a napjainkig megjelent releváns közlésekből vettem át, statisztikai minősítésükkel: szignifikáns pozitív, negatív, valamint nem szignifikáns (lásd 48. táblázat). Tudván, hogy az OPG messenger ribonukleinsav (mRNA) számos szerv szöveteiben expresszálódik, köztük a tüdőben, vesében és szívben, a keringő OPG-szint számos forrásból jön létre. A csontszövet anyagcsere-folyamataiban betöltött szerepét ezért legjobban a csont mikrokörnyezetében végzett OPG-mérésekkel lehetne megismerni (566).

Saját adataink szignifikáns korrelációt mutattak az E2 és OPG között, hasonlóan a Szulc és mtsai valamint Indridason és mtsai közléseihez, és támogatják azt a következtetést, hogy az E2 növeli az OPG mRNA készletét és a fehérjeszintézist az ösztrogénre reagáló humán oszteoblaszt sejtvonalban (119,126).

Továbbá Khosla és mtsai kimutatták, hogy az ösztrogén kezelés növeli az OPG szinteket felnőtt férfiakban (121). Saját negatív korrelációs leleteink a tesztoszteron és OPG között összhangban vannak két korábbi közlés adataival, de ellentétesek további két közlemény következtetéseivel (117,119,120,126).

Mindazonáltal, a negatív korrelációs leletünk egy irányba mutat Kosla és mtsai következtetésével, akik *in vivo* igazolni tudták, hogy a tesztoszteron terápia csökkentette az OPG szinteket (121).

Leleteinkben az életkor és a sRANKL közötti korreláció hiánya összhangban van a mások által korábban közöltekkel (123,124,125,127,128,130).

Kétszemponos variancia-analízissel nem találtunk korrelációt az sRANKL és a BMD között, hasonlóan Trofimov és mtsai, valamint Oh és mtsai közléséhez, de ellentétesen Stern és mtsai eredményeivel, akik inverz összefüggésről számoltak be a RANKL és BMD között (124,125,128).

Kiemelem, hogy az anyagunkban kimutatott statisztikailag magasabb FN és LS csontsűrűség azokban, akiknek magasabbak (kimutatási határ felett) voltak az sRANKL szintjei. Ez a leletünk legalább részben magyarázhatja a nem-traumatikus törések alacsonyabb kockázatát Schett és mtsai tanulmányának azon résztvevői körében, akiknek RANKL koncentrációi az összes mérési adat felső harmadába estek (123). Ki kell emelni azonban, hogy Schett és mtsai nem találtak összefüggést az sRANKL szintek és a csont-ultrahang (QUS) paraméterek között és BMD méréseket nem végeztek a tanulmány résztvevőin (123). További adat az ellentmondásokhoz Jorgensen és mtsai közleménye, akik nem találtak különbséget azok BMD szintjeiben, akiknek detektálható, illetve detektálási szint alatti sRANKL mérési eredményei voltak (130). Igaz, hogy az sRANKL immunoassay mai generációjának kimutatási határa már alacsonyabb, mint a korábbiaké, a detektálási határ további javítása igen kívánatos. Érzékenyebb immunoassay-k bevezetése várhatóan lehetőséget teremtene az sRANKL mérésére azon mintákban is, amelyekben a korábbi és még a mai módszerekkel sem lehetséges a magas kimutatási határ miatt. Ezáltal újabb összefüggések feltárására nyílna lehetőség alacsony RANKL szintekkel társuló rendellenességek körében.

Ezidáig egyetlen tanulmány vizsgálta az sRANKL/OPG hányados és életkor kapcsolatát és nem talált szignifikáns összefüggést. Saját vizsgálataink viszont negatív korrelációt találtak e hányados és az életkor között. Ez a leletünk még megerősítésre vár más kutatók által.

Bár több közlemény támogatta a PTH gátló hatását az OPG-termelésre, mi nem találtunk korrelációt a PTH és OPG szintek között (567,568).

Eredményeink összhangban vannak Indridason és mtsai adataival, de ellentétesek Szulc és mtsai, valamint Kudlacek és mtsai által közöltekkel (119,122,126).

Irodalmi közlések támogatják az 1,25OHD stimuláló hatását az OPG termelésre, azonban férfiakban végzett in vivo vizsgálatok ellene szólnak, és mi sem találtunk korrelációt a 25OHD, mint a D-vitamin ellátottság mutatója és az OPG között (119,122,126,569,570).

A különböző vizsgálatok gyakran ellentmondó megállapításainak több magyarázata lehet, amelyek legalább részben rávilágítanak a háttérben rejlő okokra. Az okok egyike biztosan az eltérő assay-módszerekben található, de jelentős tényező lehet a fagyasztott minták akár évtizedes tárolási időtartama, a vizsgálati csoport toborzásának eltérő feltételei, a vizsgált kohorsz létszáma és kormegoszlása.

A vese csökkent protein-kiválasztását okozta néhány korábbi szerző a korrallal járó OPG-emelkedésért (127,129,131).

Mazziotti és mtsai szignifikáns pozitív korrelációt találtak a kreatinin-szint és az OPG között, Samuelson és mtsai pedig kimutatták, hogy az OPG növekvő kvartilis-értékei a GFR szignifikáns csökkenésével járnak (127,129).

Ez a lelet ellenétes Szulc és mtsai által közöltekkel, akik nem találtak korrelációt az OPG és kreatinin értékek között (131). Saját adataink sem mutattak korrelációt az OPG és eGFR kapcsolatában az MDRD egyenlet használatakor, de szignifikáns negatív korrelációt kaptunk, amikor a CKD-EPI cisztatin C és a CKD kreatinin-cisztatin egyenlettel számoltunk (403). Ez az eredmény igazolja a GFR számításához használt egyenlet típusának fontosságát. Mindazonáltal a kombinált kreatinin-cisztatin C egyenletet jobb teljesítőképességűnek tartják, mint a két markert külön (404,405).

Mi erős pozitív korrelációt találtunk az OPG és a cisztatin C között. Pozitív leletünk ellentétes Indridason és mtsai-ével, akik nem találtak ilyen korrelációt (126). Bár ez utóbbi szerzők assay-módszere nem azonos a mi általunk alkalmazottal, az eltérő módszerek egyedül nem magyarázzák az eredmények különbözőségét. Közölték azonban, hogy férfi idült veseelégtelenségben az OPG pozitív korrelációt mutat cisztatin C-vel (571).

Bár tanulmányunk résztvevőit egy jól jellemzett és kivizsgált, egészséges férfiakból álló népességi csoportból véletlenszerűen választottuk ki, vizsgálatunknak korlátai is vannak. A HunMen study eredeti terve nem tartalmazta ezen adatok gyűjtését és elemzését. Az időközben történt tervmódosítás miatt az összesen 206 résztvevő közül csak 194 mintát vettünk és dolgoztunk fel szérum OPG és sRANKL meghatározásra (398). Ezen kívül nem volt lehetőségünk a közvetlenül mért biológiailag hozzáférhető (szabad) nemi hormonok OPG-re kifejtett hatásainak vizsgálatára, ezért számított szexhormon-indexeket használtunk a statisztikai elemzésekben.

A cisztatin C OPG-re kifejtett hatását akár lehet az osteoclastogenesis renális markerének vagy inhibitorának tekinteni, bár ennek mechanizmusát jelen tanulmányunk nem világítja meg, hangsúlyozzuk, hogy a cisztatin C fontos előjelzője az OPG szintek alakulásának. Leleteink megerősítésére szükségesnek látjuk további vizsgálatok végzését.

Vizsgálatunkban bizonyítjuk, hogy az életkor, mint legerősebb előjelző mellett más módosító tényezők is jelentősen befolyásolják az OPG termelését, mint a cisztatin C, az FTI, és E2. Továbbá azt is, hogy a cisztatin C és OPG társulásának kapcsolata a kor előrehaladtával nyilvánvalóbbá válik. Végkövetkeztetünk, hogy a cisztatin C szignifikáns előjelzője az OPG szintek változásának függetlenül az életkor, FTI és E2 hatásaitól is.

5.3. A terhességi és laktációs tanulmány (42)

A csontanyagcsere-markerek vizsgálata a várandós nők csontrendszerében jelentős biológiai aktivitásra utal. Kimutatták (572-575), hogy az OC szintek az első trimeszterben a nem terhes nőkéhez hasonlóak, a második trimesztetben csökkennek, majd a harmadikban visszatérnek a nem-gravid szintre. A mi anyagunkban a kiindulási értékek a szülésig csaknem duplázódtak és már a 22-24 gestációs héten meghaladták az alapszintet.

Az irodalomban a BSAP-t az első trimeszterben alacsony szintűnek írták le, és később is alacsony maradt (576), mások szerint kisebb, vagy jelentősebb mértékben nőtt az utolsó harmadban (572,574,575). Saját méréseink a BSAP fokozatos növekedését mutatták a 22-24. hétig, majd gyors szintemelkedést a szülésig.

Irodalmi közlések a vizelet D-pyr szintjeit alacsonynak írták le az első trimeszterben, ezután gyors növekedést találtak az alapszint kétszereséig a harmadikban (572,577). Az általunk vizsgált páciensekben a 22-24. héttől a szülésig jelentős szintemelkedést mértünk.

Mások a PTH szinteket alacsony-normál sávban találták a várandósság mindhárom harmadában (572,578-583). Mi sem találtunk PTH emelkedést a terhesség teljes idejében.

Egy összefoglaló közleményben a szérum 25OHD szintjeit a harmadik trimeszterben szignifikánsan magasabbnak írták le a terhesség előtti értékekhez viszonyítva (584). Mi nem találtunk jelentős 25OHD szintkülönbséget a tanulmány vizitjein vett vérmintákban. Viszont a terhesség során fokozott csont turnover mutattunk ki hasonlóan Naylor és mtsaihoz (585). A harmadik trimeszterbeli fokozott turnover időben egybeesik az anyai csontrendszerből mobilizált kalcium növekvő transzportjával a magzatba, a csontképződés igénye szerint.

Tartós, egy évet meghaladó szoptatás kapcsán Sowers és mtsai (586) kimutatták, hogy az OC és BSAP szintek tetőpontjukat szülés után 18 hónappal érik el. Saját vizsgálatunkban az OC a laktáció 6. hónapjában tetőzött (>144,6%), majd a 12. hónapban 62,5%-ra csökkent. Míg

a BSAP szüléskor érte el tetőpontját és azt követően a kiindulási érték 146%-ára csökkent a laktáció 12 hónapjának végére. Hasznos lett volna egy mérés 18 hónap után is a további változási irányok megismerésére, de erre nem volt lehetőségünk.

A PTH szintek 50%-os, vagy nagyobb csökkenését írták le szoptató anyákban mind keresztmetszeti (587,588), mind pedig longitudinális vizsgálatokban (572,584,588-592). Saját adataink szerint a szoptatók PTH szintjei szignifikánsan emelkedtek szülés után 12 hónapig a kiindulási szinthez képest, de átlaguk a PTH referencia tartomány határain belül maradt.

A PICP szintek irodalmi közlések szerint csökkentek a második trimeszterben, majd a harmadikban emelkedtek (572,573,576,584). Az általunk nyert adatok szerint a PICP szintek a szülés időpontjáig csaknem 650%-ot emelkedtek és csak post partum 6 hónappal kezdtek csökkenni (593).

Tanulmányok közleményeiben a D-pyr szint 2-3-szorosára emelkedett a laktáció alatt, magasabbra, mint a terhesség harmadik trimeszterében (572,576). Az általunk vizsgált csoportban szignifikáns koncentráció növekedés történt szüléstől a szoptatás első hat hónapjának végéig.

Összefoglalva, leleteink mutatják, hogy a csontképzési markerek emelkednek a terhesség folyamán, az OC és PICP szintek a szülés utáni 6 hónapban is emelkedett szinten maradnak szoptató anyákban. A rezorpció markerek szintje pedig terhesség közepéig csökken, majd a szülésig emelkedik és a szülés után, a laktáció alatt kiindulási szintig csökken. Leleteink különözése másokétól részben kisebb vizsgálati számainkkal magyarázható. Emiatt mérési számunk néhány összehasonlításban nem volt elegendő kellő statisztikai erő adásához a különözések tesztelésor.

Vizsgálataink során nyilvánvaló csontvesztést találtunk, különösen hosszantartó laktáció alatt – ennek hosszútávú következményeit a szülönők későbbi életére többen tanulmányozták. Két vélemény kristályosodott ki: az egyik szerint lehetnek késő

következményei a csontegészségre, pl. fokozott csonttörési kockázat, mások többségi véleménye szerint a csontvesztés késői hatásait kompenzáló mechnizmusok kivédik, valójában a csontanyagcsere egyensúlya csak átmenetileg inoghat meg. A nők globálisan csökkenő szülésszáma ismeretében a kalcium- és csontanyagcsere azokban az egyénekben, társadalmi csoportokban érdemel további vizsgálatot, ahol magas az egy nőre eső szülésszám.

Az anyai fokozott csont turnover erősen arra utal, hogy magzat és szoptatott csecsemő csontfejlődéséhez szükséges kalcium - legalábbis jórésben – az anyai csontrendszerből származik. A csúcs csonttömeg kialakulásának életszakasza részben egybeesik a terhesség és laktáció idejével, ezért feltételezhető, hogy szerepe van a csontállomány visszanyerésének biológiai folyamatában. A csontállomány várandósság és szoptatás alatti eseményeinek, a még nyitva maradt kérdéseknek további tanulmányozása indokolt.

5.4. A kereskedelmi forgalomban lévő csontforgalmi-markerek vizsgálata

(407,408)

A globálisan forgalmazott nagyszámú különböző mérőrendszer eredményeinek összehasonlíthatósága jogos igény a laboratóriumi medicinában. A klinikus partnerek joggal várják, hogy a különböző vizsgálóhelyeken más-más módszerekkel végzett mérések eredményei egy azonos mintában azonosnak, vagy statisztikailag értelmezhető közelségben legyenek. A tudományos közlések nemzetközi jellegét a klinikai medicina is leképezi, és szintén globális normákat igényel. Ennek tükrében vizsgáltam az értekezésemben szereplő analitikumok forgalomban lévő reagenseinek és használatban lévő gépi analitikai rendszereinek néhány időszerű kérdését nemzetközi kitekintéssel.

5.4.1. PINP

Jorgensen és mtsai egy 2308 személyt bevonó nagy tanulmányban, ahol az eGFR >30 mL/min/1,73 m² volt (1250 férfi, 1058 nő, életkor terjedeleme: 24-76 év) szérumban PINP összehasonlító méréseket végeztek IDS-iSYS és Roche Cobas analizátorokkal (445). Számításaik $R=0,8573$ ($p<0,001$) összefüggési együtthatót adtak PINP-re a két módszert összehasonlítva. Átlagos mérési különbség statisztikailag szignifikáns $-3\mu\text{g/L}$ volt. Az átlagértékek növekedésével a különbség varianciája is nőtt. A PINP referencia intervalluma (a centrális 95%-al számolva) nem különbözött jelentősen a két módszer használatakor nők és férfiak mintáiban (445).

Koivula és mtsai megvizsgálták a Roche Elecsys PINP assay és az Orion RIA mérési eredményeit 34 egészséges véradó szérumban, 39 veseelégtelenségben szenvedőben és 173 idős (>65 éves) ágyban fekvő betegben (21). A két módszerrel mért eredmények hasonlóak voltak az egészséges véradók csoportjában, de az Elecsys assay szignifikánsan magasabb értékeket adott a hemodialízis programban lévő és az ágyhoz kötött idős betegek mintáiban (21). A kapcsolódó Passing-Bablok regressziós egyenletet az 49. táblázat mutatja.

49. számú táblázat. Passing-Bablok regressziós egyenletek a Roche, illetve az IDS iSYS PINP meghatározásokhoz

Személyek	Regressziós egyenlet	Merekség 95% CI	Metszéspont 95% CI
Osteoporotikus betegek (409)	Cobas = 0,91; iSYS + 2,6	0,90 - 0,92	2,2 - 3,1
Egészséges véradók (21)	Elecsys = 0,94; iSYS – 3,6	0,80 - 1,15	-18,4 - 3,6
Egészségesek, osteoporotikus betegek (446)	iSYS = 1,05; Cobas – 1,4	1,04 - 1,06	-1,9 - -0,8
Egészséges önkéntesek, rheumatoid Arthritisben szenvedő betegek (447)	iSYS = 0,98; Elecsys = – 1,42	0,94 - 1,03	-2,86 - 0,08
Hemodializissel kezelt betegek (21)	Elecsys = 5,74; iSYS – 95,6	4,56 - 8,57	-240,9 - -31,9
CKD-ben szenvedő betegek (448)	iSYS = 0,74; Cobas + 3,7	0,67 - 0,81	1,2 - 5,8
Ágyhoz kötött idős betegek (21)	Elecsys = 1,57; iSYS – 12,0	1,43 - 1,73	-19,0 - -5,7

Moravat és mtsai 828 általában egészséges személy – köztük gyermekek és csontritkulásos betegek – szérumban vizsgálták a PINP szinteket Elecsys Roche és IDS iSYS módszerrel (446). A két assay mérési adatai nem-lineáris kapcsolatban voltak. Ráadásul az iSYS PINP alacsony (<100 µg/L) és magas (>670 µg/L) értéktartományában az iSYS mérési adatai alacsonyabbak voltak, mint az Elecsys rendszeré. Cavalier és mtsai összehasonlították a szérumban PINP értékeit Roche Elecsys és IDS iSYS rendszerrel mérve egy CKD betegcsoportban: közülük 157 beteg a 3-5 CKD, 125 pedig az 5D súlyossági fokozatba tartozott (448). Megállapították, hogy a két módszer azokban a személyekben adott leginkább eltérő eredményt, akiknek eGFR értéke <30 mL/min/1,73 m² volt. Azonban néha a 30 és 60 mL/min/1,73 m² közötti eGFR zónában is hangsúlyosan megjelent ez a különbség - ennek alapján felmerül, hogy a két módszer harmonizációja csak az eGFR>60 mL/min/1,73 m² értéket mutató személyek esetén lehetséges.

Wheater és mtsai is összehasonlították a Roche Elecsys és IDS iSYS módszerekkel kapott szérum PINP értékeket egészségesek és betegek csoportjaiban: 127 személyben >30 mL/min/1,73 eGFR értékkel, 72, magát egészségesnek tartó, ismert csontbetegség nélküli önkéntesben, és 55 reumatoid arthritisz (RA) betegben (447). A két rendszerrel mért értékek medián különbsége $2,0 \mu\text{g/L}$ (95% CI 1,3, 2,8), statisztikailag szignifikáns volt (447).

Összesítve, ezek az eredmények azt mutatják, hogy a két automatizált PINP assay rendszer (Roche Diagnostics és IDS iSYS) által mért értékek nagyon közel állnak egymáshoz egészséges személyekben, akinek eGFR értéke >30 mL/min/1,73 m², de szignifikáns arányos eltérés (bár jó korreláció) mutatható ki az Orion RIA és a két automatizált rendszer által mért eredmények között. További munkát igényel e három, kereskedelmi forgalomban lévő mérési rendszer egységesítése és harmonizálása. A PINP molekuláris szerkezete és az intakt és totál PINP assay-kben detektált további peptidek/fragmentumok módosító hatása miatt ez a folyamat nem lesz egyszerű. Példaként kiemelem, hogy az assay rendszerekben általában megkívánt egy stabil, jól definiált referencia-standard használata, esetünkben egy ilyen molekula szintetizálása, valamint a mérési folyamat egységesítése jelentős nehézségekbe ütközhet. A körülményekre tekintettel az IFCC/IOF Joint Committee on Bone Metabolism véleménye szerint a PINP módszerek harmonizálása látszik reális célnak (407). A PINP assay-k univerzális harmonizálása úgy kivitelezhető, ha nemzetközi multicentrikus tanulmányokban bármelyik kereskedelmi forgalomban lévő assay-fajtát használják, a méréseket az adott reagenscsomagot gyártó céggel együttműködésben végezzék és a módszerrel kapott tapasztalatokat külön elemezzék.

Szintén szükséges klinikai irányelvek kifejlesztése egységes mérési referenciahatárokkal és terápiás célértékekkel. A fentebb idézett tanulmányok eredményeiből megállapítható, hogy egy PINP referencia módszer harmonizálása (esetleg standardizálása/egységesítése) GFR >60 mL/min/1,73 m² vesefunkciójú személyek számára

kereskedelmi egységcsomagokkal, közös kalibrátorok és egységes referencia eljárások kifejlesztésével lehetséges (407). Hátránya ennek a megközelítésnek, hogy csak mérésenként beszűkült vesefunkciójú személyek nemzetközi multicentrikus tanulmányában használható előnnyel. A jövőben bármely új assay rendszer kifejlesztését is az előbbieken vázolt, újonnan létrehozandó kalibrátorok és referencia módszerek alkalmazásával célszerű végezni.

5.4.2. β -CTx

Jorgensen és mtsai korábban a PINP assay kapcsán idézett közleményében egy 2308 személyt bevonó nagy tanulmányban, ahol az eGFR >30 mL/min/1,73 m² volt (1250 férfi, 1058 nő, életkor terjedelem: 24-76 év) szérum β -CTx összehasonlító méréseket végeztek IDS-iSYS és Roche Cobas analizátorokkal (445). Számításaikkal $r^2=0,8924$ ($p<0,001$) determinációs együtthatót kaptak β -CTx-re. Az átlagos mérési különbség 13 μ g/L volt. Ráadásul komplex rendszerhibát is találtak a két rendszer összehasonlítása során: a Cobas módszer magasabb mérési értékeket adott az alacsony koncentrációtartományban, míg a iSYS a magasabb koncentráció zónájában mért magasabbat. A szérum β -CTx felső referenciahatára (a centrális 95%-ból számolva) az iSYS assay esetében magasabbnak bizonyult, mint a Cobas által mért határérték mind férfiakban, mind nőkben. A szerzők következtetése szerint a két mérési rendszer közötti multifaktoriális különbség miatt a mérési adatokra nem alkalmazható egyszerű átszámítási faktor, következésképpen a két módszer harmonizációja nehezen kezelhető problémát jelent (445).

Chubb és mtsai EDTA-koagulált plazmában 2 automata rendszerrel (Roche Elecsys és IDS iSYS) és egy manuális IDS ELISA assay alkalmazásával végzett β -CTx méréseket hasonlítottak össze 161, metabolikus csontbetegségben szenvedő személyből (119 nő, 42 férfi,

medián életkor 65 év – interkvartilis terjedeleme 57-76 év) vett mintákban (594). Jelentős proporcionális és szisztémás hibát is találtak, amikor az iSYS módszert akár az ELISA-hoz, akár az Elecsys módszerhez hasonlították (50. táblázat). Meg tudták még erősíteni Jorgensen és tsai leletét is, miszerint az iSYS assay alacsonyabb β -CTx mérési értékeket adott az alacsonyabb koncentráció zónájában és magasabbat a felső mérési sávban, mint az Elecsys rendszer (594).

50. táblázat Passing-Bablok regressziós egyenletek a Roche és az IDS iSYS automata rendszerekben β -CTx-re.

Személyek	Regressziós egyenlet	Merekség 95% CI	Metszéspont 95% CI
Egészséges reumatoid arthritiszesek személyek (447)	iSYS=1,29; Elecsys -24	1,24 - 1,34	-34 - -13
Csontbeteg páciensek (594)	iSYS=1,61; Elecsys -109	1,55 - 1,66	-129 - -92

Wheater és mtsai 127 személy vizsgálata során szintén szignifikáns negatív rendszerhibát és pozitív proporcionális hibát találtak, amikor az iSY rendszerben mért adatokat az Elecsys assay adataival hasonlították össze (447). A β -CTx értékek medián különbsége -30 ng/L (95% CI -45 és -21 ng/L) volt. Azonban ez az egyetlen adat nem megfelelően mutatja a két módszer által adott különböző eredmények háttérét, mert a hiba varianciája változik a mérési spektrum mentén és a különbséget komplex módon, több tényező okozza (447).

Összefoglalva, az előbbi két tanulmány gyenge egyezést mutat a kereskedelmi forgalomban lévő két assay által adott leletek között a β -CTx vérből történő mérése során. Mivel a mérendő β -CTx molekula (EKAHD- β -GGR) szerkezete kellően ismert, egy referencia standard készítmény szintézise lehetségesnek látszik. Egy referencia mérési eljárás a stabil, szintetikus β -CTx molekula, mint mérés standard használatával alkalmas lenne a vérből β -CTx mérésére gyártott és kereskedelemben forgalmazott reagens egységcsomagok

standardizálására. Az IFCC/IOF Joint Committee on Bone Metabolism célja ennek a folyamatnak felgyorsítása.

5.4.3. További tervek

A IFCC C-BM együttműködésben a kereskedelmi forgalomba szánt reagensek gyártóival tervezi hozzáférhető nemzetközi referencia készítmények előállítását és közös meghatározási módszerek kifejlesztését a PINP és β -CTx vérből történő mérésére. Ha a módszerek harmonizációja és standardizációja megvalósul, engedélyt kérnek a módosított assay-rendszerek használatára a szabályozó hatóságoktól. Klinikai szinten a β -CTx és a PINP vérszintek referencia tartományának meghatározását és a beavatkozási határértékek definiálását – csont-markerekről lévén szó – az IOF illetékes bizottságával együttműködésben tervezik. További vizsgálatok kellenek ezen csontforgalmi-markerek csonttörést előjelző erejének meghatározására is.

5.5. A menopauzális hormonterápia és SLE tanulmány (410)

Eredményeink mutatják, hogy a transzdermális ösztrogén tapasz védhet a csontvesztés ellen posztmenopauzális SLE-beteg nőkben az ágyéki gerinc-csigolyákban és a combnyak állományában. A terápiás válasz hasonlított Kung és mstai (595) közléséhez, akik orális konjugált ösztradiollal végeztek terápiás tanulmányt. Más kutatók (596-598) szerint kortikoszteroid terápian lévő betegek csonttömegét növelte a hormonpótló kezelés. A csontokra kifejtett kedvező hatás azonban nem tulajdonítható egyedül az ösztradiolnak, mivel a betegek kalciumot, D-vitamint és progesztint is kaptak – ezek szintén hatnak a csontokra.

A legtöbb prospektív tanulmányban, amelyek menopauzális hormonterápiát (MHT) alkalmaztak posztmenopauzális SLE-nőbetegek kezelésére (595,599,600), közös korlátja volt a résztvevők csekély száma. Saját vizsgálatunkban is hasonló a helyzet – az alacsony létszám korlátozza levonható következtetéseinket.

A hormonpótló terápia anti-rezorptív hatású, a csontforgalom markereinek csökkenését okozza a kezelés alatt (598). Tanulmányunkban a szérum β -CTx és OC szintek csökkentek az alapszinthez viszonyítva a kezelés időszaka alatt. A vérszintek nem képeztek platót a kezelés folyamán, ennek oka a magas dropout ráta lehetett.

Kung és mtsai (595) erősen csökkent OC szinteket mértek kiinduláskor, mi azonban nem. Továbbá, mi nem találtunk különbséget a csoportokon belül a tanulmány időszaka alatt. Kung és mtsai (595) nem találtak különbséget a két vizsgálati csoportjuk OC-szintjei között, mi viszont szignifikáns OC-csökkenést mutattunk ki az ösztradiol-csoportban a 12 hónapos viziten a placebo-csoporthoz viszonyítva. Az immunológiai paraméterek titerei fluktuáltak a vizitek során, azonban mindig a megfelelő referencia-határokon belül maradtak. Egy betegben sem észleltünk klinikai relapszust és nem növekedett az átlagos betegség-aktivitás sem.

Újabb MHT-tanulmányok (601,602) eredményei a kezelés hatására megnövekedett stroke-, emlőrák-, szív-érrendszeri betegség- és trombo-embolia kockázatot igazoltak. Jelenleg is folyik a vita arról, hogy mekkora a szerepe a szövődmények kialakulásában az ösztrogén fajtájának és dózisének, alkalmazási útjának, az együtt adott progesztinnek és a páciens kockázati profiljának (603). Mi a tanulmány résztvevőinek toborzásakor törekedtünk a fokozott kockázatot viselő kizárására. Ismeretlen eredetű hüvelyi vérzés, emlőrák fokozott kockázata, endometrium carcinoma, endometriózis, magas vérnyomás, coronaria keringési zavar (IszB), angina pectoris kizárták a MHT alkalmazást. Thrombophilia gyanúját felvető előzményi adat, V. faktor Leiden mutáció és koagulációs hajlamot fokozó prothrombin polimorfizmus megléte

kizáró körülmény volt. Az anti-cardiolipin, anti-beta2-glikoprotein antitestek és a lupus anticoagulans szintjeinek ellenőrzése rendszeresen megtörtént a tanulmány ideje alatt.

Mivel az APC rezisztenciát befolyásolhatja az ösztrogén terápia (604), ennek ellenőrzése is ismételten megtörtént. Bár az anti-foszfolipid antitestek jelenléte, emelkedett szintje tromboembolia kockázatot jelent, az SLE ezek hiányában is előidézhet trombo-emboliás eseményt. A tanulmány során két placebo-csoportba tartozó páciensben észleltünk szív-érrendszeri eseményt. Ez is felhívja a figyelmet arra, hogy ezek a páciensek beavatkozás nélkül is magas cardiovascularis, pl. atherosclerosis-kockázatot hordoznak (605).

A kiesési hányad magas volt, főleg a MHT-kezelés elején tapasztaltuk és többnyire a hormonkezelés ismert mellékhatásai okozták. Bár a terápiás adherencia jó volt, a MHT toleranciája nem volt kedvező. Vaginális pecsételő vérzés és emlőérzékenység volt a kilépés fő oka (4/15) a kezelt csoportban.

Azt reméltük, hogy a “Safety of Estrogen in Lupus Erythematosus National Assessment” (SELENA) (606), egy kettős vak, placebo-kontrollos randomizált tanulmány, 0,625 mg konjugált ösztrogén naponta és 5 mg medroxi-progeszteron acetát havonta 12 napig tervezett alkalmazásával választ ad az ösztrogén és SLE kapcsolatának kérdéseire a biztonság és betegség-aktivitás terén. Azonban az NIH leállította a SELENA tanulmányt a Women’s Health Initiative tanulmány eredményei tükrében, így várunk kell még ezekre a válaszokra.

Alternatív hormonkezelés is szóba jöhet SLE-betegekben. A praszteronról (dehidroepiandroszteron) kimutatták, hogy stabilizálja, vagy csökkenti a betegség aktivitást (607), vagy a raloxifen (608), egy szelektív ösztrogénreceptor-modulátor, mely kedvezően hat a csontegészségre, a hagyományos MHT mellékhatásai nélkül. A transzdermális hormonbevitellel történő kezelés kérdését érdemes megvizsgálni, amennyiben nagyobb résztvevői létszámmal indítanának multicentrikus tanulmányt. A bőrön át történő ösztrogén bevitel előnye, hogy megkerüli a hormon májban történő first pass átalakulását, amely az orális

bevitel sajátossága, alacsonyabb dózisok alkalmazásával érhető el azonos biológiai hatás. A first pass metabolikus átalakulás során prothrombotikus anyagok felszabadulása is történik, amelyek hozzájárulhatnak az ösztrogének tromboemboliás kockázatot fokozó hatásához (609). Az SLE-betegek között gyakrabban találunk tromboembolia fokozott kockázatát viselő személyeket a betegség természete miatt. Emiatt nehézségbe ütközik elegendő számú páciens bevonása egy randomizált kontrollált tanulmányba, mint amilyen a miénk, az alacsony betegszám pedig a statisztikai erő ellen dolgozik. Ezzel magyarázható tanulmányunkban az alacsony résztvevői szám, (8/15) amely a betegség patológiai természete alapján felállított beválasztási és kizárási kritériumok következetes alkalmazásának eredménye.

5.6. Férfi cukorbeteg (2-es típus, - T2DM) és ízületi gyulladással társult pikkelysömör-betegek (arthritis psoriatica – PsA) tanulmánya

5.6.1. A férfi T2DM tanulmány (414)

Ebben a keresztmetszeti, életkor szerint illesztett résztvevőkkel végzett eset-kontroll tanulmányban magasabb LS és FN BMD értékeket kaptunk 50 évnél idősebb, 2-es típusú cukorbeteg magyar férfiakban. Leleteink összhangban vannak korábbi tanulmányok adataival (610-613).

A csontforgalom biokémiai marker-szintjei alapján tanulmányunkban más vizsgálókkal egybehangzóan csökkent turnover aktivitást mutattunk ki 50 évesnél idősebb nem inzulindependens cukorbeteg férfi népességi csoportban (614-616). A csökkent turnover kevesebb csontvesztéssel jár, ez magyarázhatja a BMD magasabb értékeit 2-es típusú cukorbetegekben.

Népességi szintű tanulmányokban a magasabb BMD ellenére emelkedett törési kockázatot mutattak ki 2-es típusú cukorbetegekben (613,617).

Több magyarázata lehet ennek az ellentmondásnak. Fokozott elesési hajlam a T2DM-betegek gyengébb látása miatt egyike ezeknek (618). Cukorbetegben a denzitástól független csontminőség romlása bekövetkezhet a kortikális csontállomány finomszerkezeti szintjén, valamint csont fehérjék glikációjának zavara következtében (619,620).

A csípőtáji és nagyobb (csigolya, alkar, csípő, váll) oszteoporotikus törések 10 éves kockázatának mértéke ma már megállapítható a FRAX algoritmus alapján (610). Megemlítem, hogy a FRAX algoritmus listáján a klinikai kockázati tényezők között csak az 1-es típusú cukorbetegség szerepel a másodlagos oszteoporózisok egyikeként, a T2DM nem. FRAX-alapú törési kockázatbecslést végeztek 2-es típusú cukorbeteg idős férfiakon egy korábbi tanulmányban, és kimutatták, hogy a részükre kiadott kockázati szintnél magasabb százalékos arányú a valóban bekövetkező törés, mint nem diabéteszes kortársaikban (612). Giangregorio és mtsai (621) szintén beszámoltak róla, hogy a FRAX alábecsüli a kockázatot cukorbetegben és javasolták a diabetesz, mint önálló kockázati tényező integrálását a FRAX programba. Úgy tűnik azonban, hiába vonták le ezek a tanulmányok (612,621) következtetéseiket nagy, népesség-alapú kohorszok adataiból, a törési kockázat többi jelentős klinikai tényezőinek súlya (glukokortikoid használat, előzetes törés, reumatoid arthritisz), erősen csökkenti, vagy meg is szünteti a cukorbeteg és nem cukorbeteg csoportok közötti kockázati különbséget. Hozzáteszem, hogy az 1-es és 2-es cukorbetegség között nem tesz különbséget a Giangregorio (621) tanulmány.

Bár ismeretes, hogy az inzulin-kezelték fokozott törési kockázatát több tényező és a betegség komplikált természete együtt adja, anyagunkban nem találtunk különbséget a FRAX-alapú százalékos kockázat szintjében inzulin-kezelt és -nem kezelt T2DM-beteg férfiokban (621).

A D-vitamin szinteket illetően leleteink egybehangzanak legalább két korábbi tanulmányéval, amelyek 50 évnél idősebb T2DM-beteg férfiakban alacsonyabb D-vitamin szinteket találtak és kapcsolatot a D-hipovitaminózis és T2DM között (622,623). Az alacsony D-vitamin szintek lehetséges oka ezekben a betegekben a jelentősen magasabb BMI. Több szerző rámutatott, hogy a lipidoldékony D-vitamin lerakódik a zsírszövetben és csökkentheti a D-vitamin mobilizálhatóságát (624). További oka lehet az alacsony D-vitamin szinteknek a T2DM-betegek körében gyakoribb idült vesebetegség (625).

Bár tanulmányunk hiányossága a résztvevők kevés száma, elsőként számoltunk be ugyanazon, 50 évnél idősebb T2DM-beteg férfi kohorszban megnövekedett BMD-ről, alacsony csont turnover-ről, és szignifikáns különbség hiányáról inzulin-kezelt és -nem kezelt alcsoportok között. Továbbá a szisztematikusan kiválasztott egészséges, korban illesztett kontrollcsoport képzése kiküszöbölte a zavaró kockázati tényezőket.

Összefoglalva, tanulmányunk eredményei az irodalmi adatokhoz hasonlóan arra utalnak, hogy a FRAX algoritmus által mért törési kockázat alulbecsüli a valódi kockázati szintet 2-es típusú cukorbeteg férfiakban és indokolják a cukorbetegségnek, mint önálló kockázati tényezőnek integrálását a FRAX algoritmusba.

5.6.2. A férfi PsA tanulmány (416)

Ebben a keresztmetszeti, korban illesztett tanulmányban a D-hipovitaminózis magasabb prevalenciáját mutattuk ki arthritis psoriatica betegségben szenvedő férfiakban. Leleteink a D-hipovitaminózis nagyobb gyakoriságáról egybevágnak egy korábbi tanulmány eredményeivel, amelyben pikkelysömörös (de nem artritiszes) férfiak és nők körében gyakoribb volt a D-hipovitaminózis prevalenciája, mint az egészséges kontrollokéban (626). Másik tanulmányban

nem találtak alacsonyabb D-vitamin szinteket pikkelysömörös arthritises és nem arthritises betegekben (627). Nem találtunk irodalmi adatot, amelyben hozzánk hasonlóan vizsgálták a D-vitamin ellátottságot PsA-beteg férfiakban kor és nem szerint illesztett kontrollcsoporttal összehasonlítva. A PsA-beteg vizsgálati csoport csökkent D-vitamin szintjeit magyarázhatja életmódbeli korlátozottságuk. Bőrbetegségük tüneteinek és ízületi fájdalmaik miatt kevesebb lehet részük szabadidős fizikai tevékenységben (ebből adódóan napfény-expozíciójuk is kevesebb lehet), összehasonlítva a kontrollcsoporttal. A betegség okozta pszichológiai teher tovább korlátozhatja társasági, szabadidős tevékenységüket.

A csontforgalom biokémiai markerei alapján tanulmányunk alátámasztja a feltételezett fokozott turnover-t PsA-betegek körében (628). A fokozott csontátépülés magyarázhatja a kimutatott, bár statisztikailag nem szignifikáns BMD csökkenést vizsgálati betegcsoportunkban. Irodalmi közlésekben nem egységes a BMD-értékek változásának bemutatása PsA-ban (629-631).

Nemrégiben megnövekedett törési kockázatról számoltak be PsA-betegekben (654). A fokozott turnover alacsony D-vitamin szintekkel kombinálva magyarázhatja ezt a leletet.

Tanulmányunk korlátja, hogy a kontrollcsoport kiválasztásához nem állt rendelkezésünkre népszerű regiszter, és a helyi adatokhoz sem tudtunk maradéktalanul hozzáférni a tanulmányi személyek kiválasztásához. Olyan módszert választottunk ezért, amelyben egészséges önkéntesek toborzása hibalehetőséget rejthet. Úgy ellensúlyoztuk ezt a feltételes hibaforrást, hogy a szóba jövő önkénteseket azonos besorolási/kizárási feltételek alapján szűrtük és csak a kritériumoknak megfelelő személyek adatai kerültek bele a végleges elemzésbe. Egyébként minden résztvevő kaukázusi rasszbeli volt, ami jellemző a magyar lakosság többségére. A Debrecen környéki lakosság demográfiai szempontból is nagyon hasonló Magyarország többi régiójának lakosaihoz, ezért kontrollcsoportunkat az ország népességi reprezentánsának tekintjük. A résztvevők fizikai aktivitását nem jegyeztük fel, emiatt

ezt a nagy hatású életmódbeli tényezőt nem vehettük figyelembe az adatok elemzésekor. Élelmiszerek közül a tejtermékek, tojás és halak tartalmazzak D-vitamint. Az élelmiszerek általában Magyarországon nem tartalmazzak hozzáadott kiegészítőket és Európában sincs egységesen követett fortifikációs irányelv. Részletes étrendi kérdőívet nem alkalmaztunk jelen tanulmányban. Egyébként nehéz pontosan meghatározni az ételekkel bevitt és napfény hatására képződött D-vitamin mennyiségét. A napsugárzás időtartama és az expozíció erőssége nem mérhető egyszerűen, eredményességét a D-vitamin képzésben számos tényező csökkenti, mint az életkor, bőrpigmentáció, napvédők használata, az öltözék és az ablaküveg is (543). Az egyenlítőt övező földrajzi szélességi zónában egyedül a napsugárzás elegendő, de 40°-nál nagyobb északi és déli szélesség esetén télen szoláris hatásra nem, vagy alig képződik elegendő D-vitamin télen. A 25OHD mérése ad közvetlen információt az ellátottságról, de vérszintjét befolyásolja az életkor, napfény-expozíció, étrenddel, vagy pótlással bevitt D-vitamin mennyisége.

A résztvevők viszonylag kis számát tekintjük tanulmányunk fő korlátjának. Mindazonáltal, tudomásom szerint az irodalomban közöltek között miénk az egyik legnagyobb létszámú férfi pikkelysömörös artritiszes betegcsoport, amelyben közöltük a D-hipovitaminózis növekedett prevalenciáját, egyidejűleg a csont turnover fokozott voltát egy szisztematikusan kiválasztott egészséges, kor és nem szerint illesztett kontrollcsoporthoz viszonyítva.

Tanulmányunk eredményei mutatják, hogy a PsA-beteg férfiak 25OHD szintje alacsonyabb, mint az illesztett férfi kontrollcsoporté és a következményes hátrányokat fokozza az egyidejűleg igazolható fokozott csontforgalom, következményes csontvesztéssel.

5.6.3. A PsA-pQCT tanulmány (419)

Ez a tanulmány a csontdenzitás és FRAX-alapú törési kockázatbecslés vizsgálatát helyezi középpontba. A korábban tárgyalt vizsgálati módszerek mellett pQCT méréseket végeztünk a csont volumetrikus denzitásának meghatározására.

Mind a “területi”, mind pedig a volumetrikus ásványianyag sűrűség szignifikánsan csökkent beteganyagunkban a kor és nem szerint illesztett kontrollcsoportéhoz képest. Ez a lelet összhangban van több szerzőével, akik alacsonyabb területi csontdenzitásról (aBMD) számoltak be (629-635). Más szerzők vizsgálatai viszont nem tudták az alacsony aBMD-t igazolni (636,-641). Az eltérő leletek oka az alkalmatlan összehasonlító csoport lehet. Saját mérési adataink az FN és LS területeken szignifikánsan korrelálnak a betegség tartamával, hasonlóan korábbi más szerzőkéhez (630,639,642).

A pQCT-vel mért ásványi denzitásról Kocijan és mtsai közöltek adatokat (643). Leleteik szerint a trabekuláris állomány denzitása szignifikánsan csökken a kontrollokhoz képest, de a kortikálisé nem. Ez a lelet ellentétes a mienkével, mi ugyanis csökkent denzitást kaptunk mind a trabekulátáris, mind a kortikális állományban. A különbség a mi betegeink idősebb életkorával, valamint a PSA-juk és artritiszük fennállásának hosszabb időtartamával magyarázható.

Tanulmányunk az irodalomban elsőként hasonlította össze PSA-betegekben az aBMD-t és a volumetrikus denzitást, és igazolt szignifikáns korrelációt a két módszerrel kapott eredmények között. Ez az eredmény összhangban van két másik tanulmányával, amelyekben gyulladásos reumatikus betegségben szenvedő pácienseket vizsgáltak (423,644).

Mi szignifikánsan megnövekedett 10 éves törési kockázatot számítottunk PsA-betegeinkben FRAX-módszerrel, mind a csípőre, mind pedig az összes jelentős törésfajtákra.

Korábban nem közöltek adatokat oszteoporotikus törések FRAX-módszerrel számolt kockázatáról PsA-betegekben. Kockázati számításaink összhangban vannak mások leleteivel, akik az oszteoporotikus törések bekövetkeztét vizsgálták elsődleges végpontként és a patológiás törések nagyobb esélyét, valamint az összes törés magasabb kockázatát állapították meg PsA-betegekben (633,645,646). Spanyolországból egy keresztmetszeti tanulmány az oszteoporotikus törések nagyobb prevalenciáját közölte posztmenopauzális PsA-betegekben (636). Egy brazil tanulmány előjelző értékűnek találta kistraumas törésekre a betegség hosszabb fennállását (635). Egy olasz vizsgálat viszont nem talált különbséget az oszteoporotikus törések prevalenciájában beteg és kontrollcsoport között (647).

A 10 éves osteoporotikus törési kockázat ismert kockázati tényezői mellett, mint az életkor és BMD, leleteink sugallják, hogy PsA-ban a DAS28 szerinti erősen fokozott betegség aktivitás szintén említést érdemlő tényező.

A FRAX módszerrel és disztális rádusz volumetriás denzitásméréssel végzett törési kockázatbecslés kiváló alternatíva lehet FN BMD mérési probléma esetén, pl. kétoldali teljes csípőprotézis vagy súlyos coxarthrosis esetén.

Bár pácienseink oszteoporotikusnak minősültek a FN aBMD alapján, a volumetriás mérések jelentősen nagyobb számú betegben mértek alacsony ásványianyag sűrűséget (34% vs. 88%, $p < 0,001$). Igaz, hogy a készülék gyártói német referencia népesség adataiból számított T-score-t adtak meg mindkét módszerre, a két mérési mód eredményei közötti megegyezés hiányát Marshall és mtsai is igazolták (648).

A FRAX törési kockázatbecslő módszer több páciensben igazolta az oszteoporózis elleni kezelés indokoltságát, mint a FN területén mért aBMD ($n=8$ vs. $n=6$). Az FRAX módszer szerinti intervenció határokat elérő 10 éves törési kockázat mértéke, azaz csípőre: $\geq 3\%$ ($n=1$); összes jelentős törésre: $\geq 20\%$ ($n=8$) volt. A FRAX által minősítetteken kívül a DR volumetriás denzitometria további személyeket azonosított oszteoporotikusként ($n=28$, 24%).

A FRAX eszköz lehetőséget ad a FN aBMD mérési értékének bevitelére. Ennek a lehetőségnek gyakorlati haszna növekedhetne a törési kockázat pontosabb becslésében, ha a volumetriás BMD értékeket is befogadná a rendszer, valamint a diagnosztizált PsA-t, mint másodlagos kockázati tényezőt.

A FRAX módszert 40 – 90 év közötti életkorúak törési kockázatbecslésére fejlesztették ki, ennél a határnál fiatalabbakra legitim módon nem alkalmazható. A 40 évnél fiatalabb PsA pácienseink (n=18) közül 3 személy (17%) FN aBMD értéke és 16 személy (89%) DR volumetriás BMD értéke esett az alacsony denzitás (osteopenia) határértéke (T-score ≤ -1) alá. Megfigyelésünk azt sugallja, hogy a volumetriás BMD mérés biztosabban azonosítja a fokozott törési kockázatú személyeket és lehetőséget teremt kockázatcsökkentő beavatkozásra fiatalabb korosztályban is. Valószínűnek látszik, hogy egyedül az aBMD mérés általában alábecsüli a valódi törési kockázatot.

Bár kívül esik jelen tanulmányunk hatókörén, érdemes volna egyéb diagnosztikus képalkotó technikák alkalmazását is megvizsgálni a PsA-betegség súlyossági besorolásában, mint a térd ultrasonográfia és MRI (649-652).

A Nemzeti Egészségbiztosítási Alapkezelő támogatja az oszteoporózis terápiáját azok számára, akiknek BMD T-score értéke $\leq -2,5$, vagy a FRAX becslés szerinti 10 éves kockázata $>3\%$ a csípőtörésre és $>20\%$ az összes jelentős kistraumás törésre. Saját eredményeink azt jelzik, hogy nagy számú oszteopéniás és oszteoporotikus beteg nem kapja meg a törési kockázatot csökkentő kezelést, ha csak az a BMD mérési eredményt veszik figyelembe és FRAX kockázatbecslését nem.

Vizsgálatunkban a csontforgalom biokémiai markereinek emelkedett szintjeit állapítottuk meg PsA betegekben, ez a turnover fokozódására utal. Leletünk összhangban van a korábbi tanulmányunk adataival (416). Grisar és mtsai jelentősen magasabb β -CTx szinteket közöltek egy PsA-beteg csoportban, mint egészséges kontrollokban (637). Szentpetery és mtsai

korrelációt találtak a csontforgalmi-markerek és a BMD között (653). Borman és mtsai korrelációt állapítottak meg a β -CTx és az artritisz időtartam között, de nem találtak különbséget a csontmarkerek szintjeiben azok között, akiknek artritisze volt, és akiknek nem (629). Saját beteganyagunkban nem találtunk korrelációt a csontmarkerek és egyéb paraméterek között. A csontforgalmi-markerek szintjeről közölt adatok változatosságáról Jadon és mtsai írtak összefoglaló közleményt (92).

A D-hipovitaminózis betegeinkben megfigyelt magas prevalenciája egyezést mutat korábbi leleteivel (627,416,654,655).

Bár az ízületi gyulladásos és gyulladás nélküli pikkelysömörös betegek 25OHD szintjei között nem találtak különbséget, korábbi két tanulmány a korreláció hiányáról számolt be a 25OHD szintek és a betegség aktivitási pontszámai között (627,416). PsA-betegeink fokozott hajlama D-hipovitaminózisra, valószínűleg állapotukból adódik. Bőrtüneteik miatti szégyenérzetük és mozgásbeli nehézségeik miatt kevesebb a fizikai tevékenységük, szabad levegőn, napfényen kevesebb időt töltenek.

Bár tanulmányunkban nem korreláció-vizsgálattal nem tudtuk alátámasztani feltételezhető, hogy a D-hipovitaminózis, a fokozott csont turnover és az alacsony denzitás hozzájárulhat a nem-traumás csonttörések fokozott esélyéhez ebben a betegcsoportban.

Tanulmányunk következtetéseit korlátozhatja, hogy nem juthattunk hozzá helyi lakossági nyilvántartáshoz a kontrollszemélyek kiválasztására. Emiatt a kontrollcsoport képzésünk módja hibalehetőséget is rejthet. Leleteink érvényességét nagyobb vizsgálati létszámú tanulmányban kellene megerősíteni.

A vizsgálati személyek számának emelése növelhette volna következtetéseink statisztikai erejét, de a hibalehetőségeket ellensúlyozni szándékoztunk tanulmányunkban, egy PsA-betegcsoportban 10 éves törési kockázat becslésének, a D-hipovitaminózis igazoltan

magas számarányának, az alacsony csontdenzitásnak és a fokozott csontforgalmi aktivitásnak kombinált bemutatásával egy keresztmetszeti modellben.

Bár még hitelesítésre vár, a volumetriás BMD-meghatározás a hagyományos aBMD mérésekkel és FRAX-alapú törési kockázatbecsléssel kiegészítve ma is alkalmazható eszköz a PsA-beteg populációban alacsony csontdenzitású, magas töréskockázatú egyének költséghatékony azonosítására. A magas kockázatú PsA-betegek gyors azonosítása, kezelése és követése segíthet a nem-traumás törések okozta súlyos teher csökkentésében.

A vizsgált PsA betegcsoportban a betegség-aktivitás független előjelző tényezője volt a FRAX által jelzett jelentős oszteoporotikus töréseknek, a volumetriás és a BMD mérések javították az alacsony csontdenzitású egyének felismerést.

5.7. A 25OHD-vitamin meghatározás standardizációs tanulmánya HunMen kohorsz mintáin (424)

Utalok a VDSP nemzetközi együttműködési programra, melyben számos ügynökség, intézetek és egyetemek vesznek részt, és amelyet a US-NIH Étrendi Kiegészítők Hivatala koordinál (340). A VDSP eredeti célja a 25OHD laboratóriumi mérések egységesítése volt nemzeti egészség- és táplálkozásfelmérő programokban világszerte. Két fő protokollt hoztak létre, egyiket a jelenleg és a jövőben használt 25OHD-mérések egységesítésére, másikat a korábbi tanulmányokban végzett 25OHD mérések eredményeinek retrospektív egységesítésére (340,656).

Cashman és kollégái a 2008-2010 között folytatott Irish National Adult Nutrition Survey archivált szérum-mintáiból végeztek 25OHD újramérést a VDSP protokoll javaslata

szerint folyadék kromatográfia-tandem tömegspektrográfia módszerrel (LS-Tandem MS) (657).

Sempos és mtsai korrigálták a korábbi D-vitamin-felmérés adatait, ahol a standardizáció lehetetlennek bizonyult, a felmérés időpontjában érvényes DEQAS ALTM korrekciót alkalmazták (339).

Sarafin és társai a Canadian Health Measures Survey 25OHD mérési adatait standardizálták (259). A standardizációt kétlépcsős folyamatban végezték el. Először az eredeti plazmamintáknak megfelelő szérummintákat mérték jelenleg forgalmazott immunoassay módszerrel. Másodsor, a NIST és Ghent referencia-laboratóriumok által adott 50 ismert 25OHD-koncentrációjú szérum-mintát elemeztek jelenleg forgalmazott immunoassay módszerekkel.

Újabban Cashman és társai a VDSP protokollt alkalmazták négy skandináv népességi mintából végzett tanulmány 25OHD értékeinek standardizálására. A tanulmányokból származó archív biobank szérum-mintákat újra mérték LC-MS/MS módszerrel és egy kalibrációs egyenletet képeztek a régi és az új 25OHD adatok átváltására. Ezt a képletet alkalmazták azután mindegyik tanulmány összes adatának konverziójára (658).

Tanulmányunk korlátja, hogy vizsgálatunkban 6 éves, -70°C -on tárolt mintákkal dolgoztunk és ez közvetett eljárásnak tekinthető. Emiatt szükséges lehet módszerünk validálása számításaink pontosságának ellenőrzésével további szérumminták vizsgálatával. Nem tekintjük korlátnak, de szükségesnek látjuk, hogy saját eljárásunk mérési torzításainak (bias) folyamatos monitorizálását a NIST célérték szempontjából minden DEQAS felmérésben. Vagyis minden DEQAS felmérési forduló után meg kell ismételni a regressziós analízist az új adatokkal és az így kapott faktort kell használni, amíg az új felmérés eredményét megkapjuk.

Nem egyszerű feladat hátrányos helyzetű intézetekben a VDSP irányelvek betartása. Magyarországon nem ismert olyan laboratórium, amelyben a javasolt referencia módszerrel

mérik a 25OHD szinteket rutin diagnosztikai, vagy kutatási céllal. Jelentős anyagi teherrel jár az eltett minták újramérése LC-tandem MS módszerrel, emellett a személyzet munkaterhelése is jelentős. Másrészt a DEQAS program részvételi díja méltányos és a programban megkapott NIST teljes célérték vonzó lehet a résztvevő laboratóriumok számára, mert kényelmesen lehetővé teszi a 25OHD mérési adataik korrekcióját. Saját egyszerű megközelítésünk a 25OHD értékek standardizációjára, hogy a DEQAS felmérés eltérését használjuk a NIST teljes célértéktől, ezáltal a nyers adatok azonnali korrekciójára és kiadására nyílik lehetőség – más laboratóriumok számára is javasolható eljárás. Egy alternatívát javasolunk az RPM - VDSP követelményekhez olyan környezetben, ahol a teljes módszer, vagy annak finanszírozása nem elérhető. Elismerjük megközelítésünk korlátait is, de úgy látjuk, hogy alapeljárásnak megfelel ott, ahol a VDSP protokoll nem követhető. Megközelítésünk akár kiegészítheti a VDSP protokollt és alternatívát jelenthet, amíg kereskedelemben elérhetőek lesznek olyan reagenscsomagok, amelyek a NIST koncentrációnak megfelelő értékeket mérnek adott hibahatárokon belül, bármely mintában.

Javaslatom egy egyszerű megközelítési elv, amely könnyen alkalmazható a 25OHD mérési értékekre rutin diagnosztikai laboratóriumban, a mérések elsődleges színhelyén, amely gyakorlati megoldást jelenthet a nem-egységesített 25OHD mérési adatokat körülvevő anomáliákra.

5.8. A 25OHD-vitamin meghatározás analitikai teljesítmény-specifikáció nemzetközi multicentrikus tanulmánya (427)

A D-vitamin hiány világszerte probléma (166). A D-vitamin ellátottság vizsgálata pontos módszerekkel nélkülözhetetlen a hiányállapot felismerésére és a pótlás hatékonyságának ellenőrzésére. A VDSP és a CDC VDSCP szakmai szervezetek a közelmúlt években sikeres

erőfeszítéseket tettek a vizsgálati módszerek egységesítésének előmozdítására. Tudnunk kell, hogy valamennyi standardizációs törekvés a Stöckl és mtsai (347) által kifejlesztett analitikai teljesítmény specifikáció (APS) módszerén alapul, amelynek alkalmazását az összes klinikai laboratórium számára ajánlották. A stratégia, amelyet követtek az APS megvalósítására az RMP területén, valamint a klinikai diagnózis és monitorozás folyamatában egy nemzetközileg elfogadott hierarchikus megközelítés volt, amelyről 1999-ben a Stockholm Consensus Conference on Setting Global Analytical Goals in Laboratory Medicine fórumán született megegyezés (659). Azóta azonban egy új, egyszerűbb megközelítést javasol az EFLM az APS meghatározására a következő három modell használatával: [1] – a klinikai kimenetel, [2] BV, és [3] a korszerű teljesítmény (meghatározás) (659).

Mi megvizsgáltuk a 2. számú modellt, mivel ezt tekintik általában a legjobbnak (660), és az 1. számút is azért, hogy teszteljük, milyen APS kell a 25OHD koncentráció egy hét, vagy három hónap során bekövetkező jelentős, vagy nagyon jelentős változásának kimutatásához. Ezen a területen vizsgálódva, elsőként az irodalomban, két fontos megállapításra jutottunk. Először rámutattunk, hogy a hagyományos úton képzett és a BV-re alkalmazott adatok nem alkalmazhatók a 25OHD-re. Valóban, vizsgálatunk igazolta, hogy a 25OHD koncentrációknak nincs állandó állapota az idő folyamán, és hogy bármely modell alkalmazása, amely egy homeosztatisz állandó érték körüli random variációra épül, megalapozatlan. Ez a megállapítás nyilvánvalónak tűnhet, mivel évtizedek óta tudjuk, hogy a 25OHD koncentrációk nyáron magasabbak, mint télen (661), de mi elsőként mutattuk ki ezt a változást egy egészségesnek tekinthető kohorszban. Ennek a leletnek közvetlen alkalmazása bármely 25OHD APS-re a BV-adatokra alapozva egyszerűen indokolatlan.

Ebből következik, hogy másik APS meghatározása szükséges a 25OHD vizsgálatra. Közleményünkben javasolt megközelítés a mérési bizonytalanság (measurement uncertainty, MU) használata (427).

Az ISO 15189 szabályzat 5.5.1.4 fejezete előírja a laboratóriumok számára a standard MU megállapítását minden mérési eljárásra a vizsgálati fázisban és használatukat a páciens minták mennyiségi leleteinek közlésekor és egy magába foglaló faktor formájában a mindennapi gyakorlatban (662). Az MU magába foglal a szisztémás hatásokból származó összetevőket. Néha a várható szisztémás hatásokat nem korrigálják az adott módszerre, ahogy azt tenni kellene a mérés technikai alapelvek szerint, helyette a társuló MU komponenseket veszik figyelembe (663). A betegellátás szintjén a laboratóriumi adatok rendszerint egyetlen mérést jelentenek és az MU minden összetevő komponensével nem lehet korrekciót végezni. Azonban a korrekt módon nyert, általánosan alkalmazható becslések alkalmazása az eredmények tolmácsolásához értékes segítséget nyújt.

A közleményünkig nem publikáltak a 25OHD –re vonatkozó APS javaslatokat az MU-ra (427). *Ezért a jelen munkánk második pontjaként APS leírást javasolunk MU-ra 25OHD koncentrációk időtől függő élettani variációjára alapozva.* Eredményeink azt mutatják, hogy európai népességben a 25OHD koncentráció tavasz folyamán heti 2,8%-ot növekedett és hogy 10 hét elteltével az átlag emelkedés elérte a 31,6%-ot. Érdekességként megjegyzem, hogy egy Liège-ben (50,57° É, 5,57° K) folytatott véletlen besorolásos kontrollós vizsgálat placebo csoportjában (n=48) ősszel a koncentrációk átlag 39,6%-kal csökkentek, ami a saját anyagban közöltekkel közel azonos érték (664,427). Úgy gondoljuk, hogy a 25OHD szintek időfüggő variációjának kimutatása új szereplő lehet ezen analitikum vizsgálati módszereinek értékelésében. Következésképpen javasoljuk, hogy magasabb szintű referenciamódszerekben $MU < 1,2\%$ legyen, a “rutin” eljárásokban pedig $< 13,6\%$ ahhoz, hogy különbséget igazolhasson két mérési eredmény között $p < 0,05$ szignifikanciaszinten és $9,6\%$ legyen a $p < 0,01$ szignifikanciaszinthez. Ez utóbbi APS érdekes módon csaknem azonos a CV_A -hoz rendelt APS 10%-os értékével a VDSP-ben. Hasonló stratégiával az MU célértékek magasabb szintű nem-referencia módszerekre is képezhetők egy 5 hetes időszak alatti szignifikáns változás

detektálásának valószínűségére alapozva. A fentebb leírt egyenletek és adatok alapján az MU < 6,2%, $p < 0,05$ szignifikanciaszinten. Ez teljesen egybevág Stepman és Thienpont (665) javaslatával a 25OHD MU közleményéhez (666) írt levelükben.

Az EQAS nem képes az egész MU értékelésre (667,668). A pontosság-alapú EQAS magasabbszintű (referencia) célkoncentrációkat ad meg az anyagaira, amelyek mérési/rendszerhibák értékelésére használhatók. Ez továbbra is az alkalmazás indoka marad, legjobb esetben a módszer valódi hibáinak vizsgálatára (667). Gyakorlatilag az MU-t az EQAS üzemeltetői és a CDC VDSCP is megadhatja a módszerek minőségi tanusítványában. A VDSCP MU%-érték, amelyet a CHU de Liège minősített LCM-MS/MS módszerével számoltak a 25OHD koncentrációkra 40 minta mérési adataiból 5,9% volt, ami nagyon közel esik a fentebb leírt <6,2%-os APS értékhez. Másrészt, egy francia EQAS szolgáltató, a ProBioQual (Lyon, Franciaország) javaslata az MU számítását a résztvevő laboratóriumok célértékeire alapozná, valamint a BV adatokon alapuló célértékekre (ahol ezek rendelkezésre állnak). Az általunk használt módszer (DiaSorin, Saluggioia, Olaszország) MU-értéke 2019-ben 16,3% volt, kissé alacsonyabb, mint a DiaSorin használók medián értéke, de magasabb, mint az általunk rutin módszerekre javasolt <13,6%-os MU. Végül, a Vitamin D External Quality Assessment Scheme (DEQAS, London, UK) tanácsadó testülete a közelmúltban javasolta, hogy a szolgáltató közölje az MU %-ot a programban résztvevő laboratóriumok számára kiküldött minden minta célértékére az alkalmazott RPM-módszere szerint (669). A kombinált átlagos bizonytalanság a 2020 áprilisában kiosztott minták (No. 571-575) mérésében 1,3%-volt, ami teljesen megfelel az MU APS mintasor általunk javasolt szintjének.

Az egységesítő programok jellemzően a vizsgálatok teljesítőképességének mérésével kezdődnek az általános népesség tagjaitól vett mintákon, majd a szakmai társaságok által javasolt sajátos alcsoportok mintáin folytatódnak. A 25OHD-ről különböző tanulmányok kimutatták, hogy eltérően viselkedik az analízis során a páciens egészségi állapotától függően

(315,351,433,670). Olyan helyzetekben, amelyekben nem lehetséges az egészségi állapot szisztémás és random hatásait vizsgálni a meghatározások teljesítőképességére, az MU használata esélyt jelent ezen varianciák jelentőségének becslésére az MU-hoz illő APS szerint, amely a 25OHD szintek élettani változatosságain alapul. További vizsgálatokra is szükség lenne arra nézve, hogy az MU segít-e majd azonosítani és javítani a D-vitamin mérések jelenleg megfigyelhető minta-specifikus hibáit.

Vizsgálataink korlátjaként megemlítem, hogy az itt javasolt APS Európa egyes régióiban élő népességi minták adataiból képződött, és kérdés, hogy kiterjeszhető-e ettől jelentősen különböző rassz/etnikai jellemzőjű populációkra. Alkalmaztunk még egy immunoassayt a VDSP által minősített LC MS/MS módszeren kívül a minták vizsgálatára több indokolható okból, pl. a rendelkezésre álló minták mérete, alkalmassága hosszantartó vizsgálati procedurára. Az így vizsgált minták többségét LC MS/MS módszerünkkel is lemértük és kiváló korrelációt igazoltunk. Ebből arra következtettünk, hogy bemutatott adataink minőségére az analitikai módszernek csekély befolyása volt.

Egyedülálló tanulmányunk, amely az IFCC Committee on Bone Metabolism (C-BM) egyik szakmai állásfoglalását alapozta meg, bizonyítja, hogy a nemzetközi klinikai laboratóriumi közösség által javasolt APS, melyet Stöckl és mtsai több mint egy évtizede dolgoztak ki (347), tovább fejleszhető az MU integrálásával. További vizsgálatok erősíthetik meg, hogy ezek a változtatások segítenek-e javítani a D-vitamin mérések pontosságát és megbízhatóságát. Gazdasági vonatkozása is van ezeknek a vizsgálatoknak – az igazolt hiányos D-vitamin ellátottság intézkedéseket indíthat a kívánatos 25OHD koncentrációk elérésére népegészségügyi szinten, különösen a nagyobb földrajzi szélességi zónában élő európai populációkban.

5.9. Étrendi és földrajzi szélességi nemzetközi tanulmány a D-vitamin ellátottságról (435)

A földrajzi szélességre vonatkozó leleteket nehéz tolmácsolni. Kimutatták néhány közleményben (671,672), hogy a Közel-Keleten és Európában élő bennszülöttek bőrszíne világosodik a bőrt érő UVB sugárdózis függvényében. Ezt az összefüggést evolúciós alkalmazkodásnak tekinthetjük, mert a fokozott bőr pigmentáció fényvédelmet nyújt a szabadgyök képződés és a folsav-lebontás ellen azon a szinten, amely még megengedi a D-vitamin termelést. További téli D-vitamin forrás Európában a zsíros halak fogyasztása (673). Ezek ismeretében, a földrajzi szélesség csekély hatással lehet a szoláris UVB hatására képződött 25OHD koncentrációkra. Néhány egyéb szempont is befolyásolja a D-vitamin ellátottságot. Egyik az öltözék. Moszlim nők hagyományosan a testet csaknem teljesen elfedő, fátyolozott öltözetet viselnek. Az 51. táblázaton látható a fátyolozott és nem fátyolozott öltözetek hatása. Mérsékelt, vagy akár jelentős mértékű különbséget közöltek a 25OHD szintekben a ruházat jellegétől függően. Bár a férfiak az arcukat nem takarják, a hagyományos köpenyük szintén takarja a testük nagy részét. Második tényező a kisebb szélességi fokon élők esetében a hőség. Emiatt az emberek napközben, ha tehetik és különösen, ha légkondicionálójuk van, a lakásukban tartózkodnak. Harmadik faktor a bőr pigmentációjának csökkenése magasabb szélességi fokon, ami fokozza a D-vitamin képződését (674). Negyedik tényező, hogy nyáron a nappalok hosszabbak magasabb szélességi fokon és hosszabb expozíciós időt engednek az UVB sugárzásnak.

51. táblázat. Az öltözék típusának befolyása a 25OHD koncentrációkra Közel-Keleten.

Ország	Módszer	Átlag életkor (év)	Fátyolozott (nmol/L)	Nem fátyolozott (nmol/L)	N (nmol/L)	Ref.
Bahrein	ELISA	33	20 ± 19 Abayah		23 ± 19	[452]
Egyiptom*	IEMA radioimmune, DiaSorin		42 ± 8	58 ± 23		[675]
Jordánia	Immunodiagnostic	39	29 ± 4 Niqab (7,3%) *			[676]
		34		31 ± 6 Hijab (46,7%) *		
		23			40 ± 8 (13,3%) *	
Libanon	Radioimmune, Instar	39	13 ± 9 (47%) *	25 ± 16 (53%) *		[677]
	Protein-binding, DiaSorin	55	40 ± 19 (17%) *	68 ± 35 (83%) *		[678]
Szíria	Elecsys 2010, Roche	36	13 (10–22 IQR) (60%) *	17 (10–33 IQR) (40%) *		[464]
Tunézia	Radioimmune, Instar	40?	35 ± ? (38%) *	43 ± ? (62%) *		[679]
Egyesült Arab Emírátság	chemiluminescent microparticle immunoassay, Abbott	45	44 ± 14 (38%) *	40 ± 13 (41%) *	47 ± 16 (21%)	[680]

* A résztvevők százalékos részaránya. IQR: interkvartilis terjedelem.

A FAO étrendi tényezők használata erős támogatást kapott a kulcsfontosságú étrendi tanulmányok és azok hatásainak tanulmányozásában. Az első nagy ökológiai tanulmány, amely az étrendi tényezők és a rák-gyakoriság összefüggését vizsgálta, Armstrong és Doll munkája volt (438). Ez a közlemény 2019. augusztusig 2882 idézést kapott a scholar.google.com szerint. A tanulmányt kiterjesztették és eredményeit megerősítették egy újabb publikációban, amelyben multiplex lineáris regressziót alkalmaztak (681). Emellett a közlemény inspirációt adott az első tanulmány végzésére az Alzheimer kór (AD) kapcsolatáról makroétrendi tényezőkkel, köztük a hal fogyasztásával (682). Ez az ökológiai közlemény sarkallta a Columbia University kutatóit egy terjedelmes vizsgálat elvégzésére az étrend szerepéről az AD kockázatára (683-685).

A halra vonatkozó megállapítást 2003-ban megerősítették (686). A diéta és AD kapcsolatáról szóló legújabb környezeti tanulmány szerint a hús a legfontosabb kockázati tényező – a mediterrán étrend az AD kockázatát mintegy a felére csökkentette (687).

Egy további, környezeti hatásokat vizsgáló tanulmányban kimutatták, hogy az édesítőszer a nők miokardiális infarktuszának fontos kockázati tényezői (688). Az American Heart Association (AHA) elutasította ezt a következtetést, mert nem vették figyelembe, hogy cukrok hozzájárulnak a trigliceridek termeléséhez és ezek artériás érelzáródást okozhatnak. Az AHA 2009-ben elfogadta ennek a mechanizmusnak a jelentőségét (689).

Az itt tárgyalt tanulmánynak egyik fontos tanulsága, hogy erős kétséget támaszt a több országban folytatott vizsgálatok feltételezése iránt, miszerint a szérumban 25OHD koncentrációk közvetlenül függenek a napsugárzás UVB dózisától, vagy az ezzel azonos hatásúnak tekintett földrajzi szélességtől, mint azt a rák esetében tették (442). Ugyanakkor ez a feltételezés helytálló lehet egyetlen országban végzett tanulmány esetén, pl. a rákról (690). Ezek szerint több országban a 25OHD koncentrációkról közös programban végzett vizsgálat esetén országokénti 25OHD szinteket kell figyelembe venni, a tanulmányterv szerint az UVB-t, bőrpigmentációt, esetleg az öltözködéstípust is.

Számos tanulmányban vizsgálták a 25OHD mennyiségét állati eredetű élelmiszertermékekben, aminek kettős jelentősége van: először, ez a metabolit jelentősebben hozzájárulhat az emberi 25OHD vérszintek emelkedéséhez, mint a táplálék D-vitamin tartalma, másodszer mert ez nem szerepel a tápanyag felvételt mutató táblázatokban, és általában nem veszik figyelembe az étrendi D-vitamin felvétel mennyiségét vizsgáló humán tanulmányokban. Egy 2013-ban megjelent áttekintő közlemény táblázatot közölt arról, hogy több országban mennyi 25OHD-t tartalmaz a nyers hús, belsőségek, tej, tejtermékek, baromfi, tojás és hal (691), és megállapították, hogy a hús és a tojássárgája tartalmaz legtöbbet. A jelen tanulmány azonban nem tudta megerősíteni a húsfogyasztás és a magas 25OHD koncentráció kapcsolatát.

Egy Egyesült Államokbeli kutatási program keretében számos hústermékben, valamint tojásban mérték a D-vitamin és a 25OHD mennyiségét (692). A marhahús, csirke és disznóhús 0,9-1,4 µg/100g D-vitamin + 25OHD-t tartalmazott; a marha zsír és a csirkebőr 2,2-2,75 µg/100g 25OHD; a tojás 5,75 µg/100g-ot. A kutatók kiszámolták, hogy férfiak 4,15 µg/nap 25OHD-t fogyasztanak hússal és tojással, a nők pedig 2,48 µg/nap mennyiséget.

Egy további vizsgálat keretében Ausztráliában 25OHD méréseket végeztek bolti fehér húsú halakban és tojásokban (691). A 25OHD főtt fehér húsú halban 2,2 és 3,0 µg/100g között, a kemény főtt tojásban 2,4 és 6,5 µg/100g között váltakozott, átlagosan 4,2 µg/100 µg/100 mg volt. Ezek a vizsgálok más országokból (Hollandia, Egyesült Királyság, Egyesült Államok) is bemutattak táblázatokon mérési adatokat – ezekben az országokban az előbbieknél alacsonyabb szintek voltak. Az alacsonyabb szinteket magyarázhatja a kisebb szoláris UVB sugárdózis, a halfarmon tenyésztett lazac gyakoribb fogyasztása a vad lazacnál, tojások esetében a tojótyúkók beltéri tartása (693).

Tajvanból 2008-tól egy tanulmányban 25OHD koncentrációk és az étrendi tényezők közötti kapcsolatot vizsgálták 5564 közösségben élő 55 éves, vagy idősebb résztvevő bevonásával (694). A halfogyasztás korrelált a 25OHD koncentrációval $p < 0,001$ szinten. A $>68,6$ g/nap fogyasztás szemben a 12,9 g/nap mennyiséggel 14 nmol/L növekedést eredményezett férfiakban. Nőkben pedig a $>68,6$ g/nap fogyasztás szemben a 0, elvértve fogyasztott mennyiséggel 11 nmol/L 25OHD szintemelkedést eredményezett. A tejfogyasztás jóval kisebb mértékben növelte a 25OHD szinteket, míg a tojás és húsfogyasztás nem szignifikáns inverz korrelációban volt velük.

Az egyesült királyságbeli tanulmány azt mutatta, hogy a halhúst rendszeresen fogyasztók 25OHD szintje 8 nmol/L-el magasabb, mint a vegetáriánusoké és 18 nmol/L-el haladta meg a vegán diétán élők szintjeit (695). Egy meta-analízis szerint a 25OHD szintek zsíros halat fogyasztókban 7 nmol/L-el (95%-os CI : 4-10 nmol/L) (696). Eszerint a sok

halfogyasztás összehasonlítva a kevés fogyasztással nagyobb mértékben emeli a 25OHD szintjét a vártnál, aminek magyarázata lehet további források (hallal társuló más állati termékek fogyasztása, magasabb UVB-kitettség) kiegészítő szerepe.

Tanulmányunk leletei azt mutatják, hogy a D-vitamin ellátottságot csökkentő már eddig is ismert tényezőkön túl, mint az öltözködés, az élelmiszerek dúsításának hiánya és a hiányos napsugár-expozíció, további hatásokkal kell számolnunk, mint például a különböző régiókban kialakult étrendi szokások, amelyeknek fontos szerepe lehet a D-hipovitaminózis gyakoriságának alakításában különböző népességi csoportokban, mint az idősek, gyermekek, valamint a várandós nők.

Bár kereskedelmi forgalomban beszerezhető 25OHD mérési készletek jó ideje rendelkezésre állnak, a különböző módszerekkel kapott eredmények még ma sem teljesen egyöntetűek. Ma az összes 25OHD-re kifejlesztett assay teljes 25OHD-t mér, vagyis D2+D3-at együtt. Ismételten bizonyították, hogy a különböző módszerek különböző szintű hibával járnak, amelyek lehetnek pozitív, vagy negatív irányúak (697-700).

Megtudhatjuk a Vitamin D External Quality Assurance Scheme (DEQAS) összefoglaló beszámolójából, hogy a különböző assayk eltérő eredményeket adnak, és nem látszik összefüggés a mérések terjedelme (range) és a hibák nagysága és iránya között. Mégis kijelenthető, hogy a módszerek közötti különbségeket igen jelentősen sikerült csökkenteni az utóbbi évtizedben (425). A DEQAS program több, mint 1000 résztvevőjének több, mint 25%-a használja a DiaSorin kemilumineszcens immunoassayt LIAISON platformon. Valószínűleg a DEQAS beszámolók alkalmasak leginkább a módszertani fejlődés követésére. A folyadékkromatográfia-tandem tömegspektrometria tekinthető a totál 25OHD koncentráció "aranystandard" mérőmódszerének, de többnyire csak kutatóintézetekben áll rendelkezésre. A 25OHD mérések iránti egyre növekvő igény szükségessé teszi nagy mintaszám kezelésére alkalmas automata rendszerek alkalmazását. A National Institute of Health részlegeként

működő Office of Dietary Supplements létrehozott egy D-vitamin standardizációs programot, amely irányelveket dolgozott ki az archív D-vitamin adatok standardizálására, de csak néhány tanulmányt folytattak (259,339,658).

Jelen saját tanulmányunk a kiválasztott érdeklődési területünkről származó adatok áttekintését tartalmazza, de ezek nem standardizált adatok. Általában igaz a nem-standardizált módszerek eredményeiből levont következtetésekre, hogy ezek hozzájárulnak a kapott eredmények korlátozott alkalmazhatóságához. A D-vitamin standardizálása egyik feladata a Klinikai Kémia és Laboratóriumi Medicina Nemzetközi Szövetsége tudományos bizottságának (Scientific Committee on Bone Metabolism).

Egyéb tervek között a bizottság szolgáltatás nyújtását javasolja a korábbi epidemiológiai és intervenciós tanulmányokban nem standardizált módszerekkel kapott 25OHD adatok újraértékelésére a valódi érték elérése céljából (701).

A különböző módszerekkel mért 25OHD értékek egységesítése az eddigi erőfeszítések ellenére máig komoly kihívás maradt. Bár az 50 nmol/L feletti koncentrációk a csontegészség szempontjából megfelelők lehetnek, a csontrendszeren kívüli számos javasolt hatás eléréséhez 75-100 nmol/L vérszintet nyilvánították szükségesnek (702). Különböző megközelítésből a kutatók a magasabb 25OHD koncentrációkhoz járulékos egészségnyereséget társítottak különböző betegségek kedvezőbb kimenetele, vagy megelőzése révén (166,703,704), köztük a rák (705,706,474), légúti fertőzések (707), valamint a terhességek és szülések kedvezőbb kimenetelét, pl. csökkent koraszülési esély által (708). Továbbá, két nagy klinikai program adatainak másodlagos elemzése során jelentősen kevesebb kedvezőtlen kóros esemény kialakulását igazolták: egyikben a <math><25\text{ kg/m}^2</math> testtömeg-indexű személyek a rákos megbetegedésének incidenciája alacsonyabb volt, ha napi 2000 NE D₃ vitamint szedtek (474), másik szerint a <math><30\text{ kg/m}^2</math> testtömeg-indexű személyekben a prediabetesz átmenete diabetész

betegségbe csökkent gyakorisággal következett be, napi 4000 NE D-vitamin szedése esetén (475).

Tanulmányunk korlátjaként említem, hogy 15 országból származó 25OHD koncentrációk adatait használtuk és ezek változtak az országok szerint. Ezen túl a koncentrációk szórásértékei (SD) is magasak voltak mindkét adatcsoportban. Az étrendi adataink csak megközelítőek a 25OHD-mérésre mintát adók valódi fogyasztási adataihoz képest. Ráadásul az élelmiszerek szokásos vesztesége sem egyforma országonként. Általában 30%-ra teszik a szemétbe dobott arányt (437), de pl. Szaudi Arábiából származó adatok magasabbak (709). Egy közlemény becslése szerint elérheti az 50%-ot, Szaudi Arábiában személyenként évente 427 kg a kidobott élelmiszer mennyisége, az Egyesült Államokban pedig 277 kg (710). A jelen ökológiai tanulmányunk támpontot adhat gondosabban tervezett megfigyeléses tanulmányok végzéséhez.

Korábbi kutatások eredményei szerint a 25OHD koncentrációk viszonylag alacsonyak a MENA régióban és Dél-Európában. Számos tényező okozhatja ezt a kedvezőtlen népegészségügyi jelenséget, mint a kulturális és vallási alapokon nyugvó, testfelszín teljesen takaró öltözet, és a közvetlen napsugárzás kerülése a nagyon meleg nyári évszakban. Emellett az étrend szerepét sem tanulmányozták elég alaposan a súlyos D-hipovitaminózis kialakulásában ezekben az országokban. Saját tanulmányi adataink szerint a táplálkozási szokások csekély szerepet játszhatnak a D-hipovitaminózis létrejöttében a Közel-Keleti régióban. Az alacsony szérumban 25OHD koncentrációk emelése a fontos, általánosan fogyasztott tejtermékek és gabonából készült ételek D-vitamin-fortifikációjával és a széles lakossági körben javasolt D-vitamin-pótlás kombinálásával volna legcélszerűbben megvalósítható.

5.10. A COVID-19 járvány és D-vitamin tanulmány (443)

Az itt áttekintett adatok alátámasztják a magasabb 25OHD koncentrációk szerepét az akut légúti fertőzés (ARTI)-esetek és következményes halál kockázatának csökkentésében, köztük az influenza, CoV és pneumonia vonatkozásában. Az ARTI-k csúc szezonja általában a legalacsonyabb 25OHD-szintek időszakára esik. Ebből következik, hogy a D3-vitamin pótlást hónapokkal a telet megelőzően kell kezdeni, hogy az ARTI-k megelőzéséhez elvárt 25OHD koncentráció-zóna kialakulhasson. Az itt szemlézt tanulmányok szerint általában 50-75 nmol/L 25OHD-szintek már csökkentették a az ARTI-k kockázatát (707). Ennek a viszonylag alacsony protektív szintnek az lehet a magyarázata, hogy a tanulmányba kevés személyt vontak be magasabb 25OH-szintekkel. Egy megfigyeléses tanulmányban azonban közölték, hogy legalább 38 ng/mL volt a megfelelő koncentráció a CaP fertőzés kockázatának csökkentésére (711). Bár a védelem mértéke általában növekszik a 25OHD koncentráció emelkedésével, optimálisnak a 100-150 nmol/L sávot tekintik. Ezeknek a szinteknek az elérésére a lakosság mintegy felének napi 2000-5000 NE D3-vitamint kellene bevenni (712). Különböző telítő dózisokat vizsgáltak, mennyivel érhető el a 75 nmol/L koncentráció. Például egy tanulmányban 100 000-200 000 NE össz-dózist adtak 8 hét alatt (1800, vagy 3600 NE/nap) (713). Azonban 100-150 nmol/L szint eléréséhez magasabb telítő dózis szükséges. Egy kanadai emlőrákos, csontmetasztázisok miatt biszfoszfonát kezelésben részesülő, de komorbiditás nélküli betegeken végzett tanulmányban 10 000 NE/nap D₃ vitamin adása négy hónapon át, nem váltott ki mellékhatásokat, de felfedett két hiperparatireózis esetet (714). Egy 33 résztvevős tanulmányban, akik közül heten 4000 NE/nap D3-vitamint szedtek, hatan pedig 10 000 NE/nap adagot 8 hétig, a 25OHD koncentráció 50 nmol/L -ről 97,5 nmol/L-re emelkedett a napi 4000 NE/napi adag hatására, és 47,5 nmol/L -ről 167,5 nmol/L-ra mellékhatások nélkül, és a bél mikrobiota minősége is javult (715). Az irodalomban ebből következtetik, hogy ésszerű napi

10 000 NE-et adni egy hónapig, amely hatékonyan és gyorsan növeli a keringő 25OHD szintjét a kívánatos 100-150 nmol/L sávba. Ennek a szintnek a megtartásához a telítést célzó első hónap után a napi dózis 5000 NE-re csökkenthető (712,716,717).

Nagy dózisú D-vitamin adása alatt a kalcium-pótlás adagját le kell állítani a hiperkalcémia kockázatának csökkentésére.

Egy újabb tanulmány a D-vitamin telítő adagjaként 200 000 – 3000 000 NE mennyiséget javasol 50 000 NE tartalmú kapszulákban a COVID-19 fertőzés kockázatának és súlyosságának csökkentésére (393).

A magas dózisú D-vitamin adásának hatékonyságát és biztonságos voltát egy pszichiátriai kórház beteganyagában igazolták Cincinnati, Ohio-ban (718). A páciensek életkora 18-90 év közötti volt. Közülük fele fekete, közel fele fehér rasszbeli volt. Az összes belépő páciensnek 2011-től napi 5 000, vagy 10 000 NE D3 vitamin adását ajánlották fel. Az a 36 páciens, akik 5 000 NE/nap adagot kaptak 12 hónapig, vagy tovább, a szérum 25OHD átlag szintje 60-ről 170 nmol/L-re nőtt, míg a napi 10 000 NE-et kapott 78 betegben a koncentráció 62,5-ről 240 nmol/L-re emelkedett. Egy esetben sem mutattak ki D-vitamin okozta hiperkalcémiát. Ez a közlemény még rövid áttekintést is ad más, nagy dózisú D-vitamint alkalmazó tanulmányokról, melyekben 60 000-600 000 NE/nap dózisokat adtak különböző betegségek kezelésére, mint az asztma, arthritis rheumatica, rachitisz és tuberkulózis, az 1930-as és 1940-es években. Azok az adagok jóval magasabbak voltak, mint a napi 10 000-25 000 D3 vitamin, amennyit egyébként a napsugárzás UVB expozíciója is eredményezhet (164). Azonban sokkal az élettani szintek feletti adagok alkalmazása alatt észlelt hiperkalcémia-esetek közlése után (719),-a nagy dózisú D-vitamin adása háttérbe szorult.

Egy közelmúltbeli közlemény Új-Zélandból 5 110 résztvevő 100 000 NE havi dózissal átlag 3,3 évig folyt kezeléséről számolt be, amely nem növelte a vesekő-képződés és a hiperkalcémia incidenciáráját (720).

Sajnos, a legtöbb országban nem fejlesztettek ki irányelvet a D-vitamin-pótlás adagjairól és a kívánatos 25OHD koncentrációkról, figyelembe véve a téli szintcsökkenést is. A szakmai ajánlások több országban a 50 nmol/L értéket megfelelőnek tartják. A „European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis, and Musculoskeletal Diseases” állásfoglalása szerint „a csontegészség fenntartásához szükséges köszöbértéken felüli 25-hidroxitamin D szint elérése nem ajánlható, mert a jelenlegi bizonyítékok szerint biztonságos voltát még nem erősítették meg” (721). Ezt az állásfoglalást 2017-ben közzétették és ma már nem tekinthető helytállóknak, mivel számos D-vitamin-pótlással kapcsolatos hosszútávú tanulmány eredményei egészség-nyereséget igazoltak káros mellékhatások nélkül. Említhető a napi 2 000 NE D₃-vitamin rák-kockázatot csökkentő hatása (474), és 4 000 NE napi adag prediabétesz-diabétesz átmenetet késleltető effektusa (475).

Egy közelmúltban publikált referátum a D-vitamin-hiány globális állapotáról nyilatkozta, hogy a klinikai vizsgálatok elégtelen bizonyítékai miatt “ az >50 nmol/L vagy 20 ng/mL 25OHD-szint az elsődleges kezelési cél, bár némely adat magasabb köszöbérték előnyét állítja” (722). Ugyanabban a folyóiratban egy másik cikk szerint “bár a 50 nmol/L szint megfelelőnek látszik a vázrendszeri problémák és az ARTI események csökkentésére, a 75 nmol/L feletti szintek a rák-, 2-es típusú cukorbetegség- és kedvezőtlen terhességi/szülészeti események csökkent kockázatával társultak” (723). Számos, nemrég publikált és részben jelen munkában is hivatkozott közlemény, valamint az emlő- és kolorektális rák megelőzésére született ajánlás alapján a kívánatos koncentrációnak legalább a 100-150 nmol/L-nek kell lennie (724). Az Egyesült Államokbeli Institute of Medicine 2011-ben adta ki D-vitamin- és kalcium irányelvét (725). Az Intézet D-vitamin-pótlásra 600 NE napi adagot javasolt a 70 évnél fiatalabbaknak, 800 NE/nap dózist a 70 évnél idősebbek számára, szérumban pedig 50 nmol/L-t, vagy magasabbat. Az ajánlást a D-vitamin csontegészségre kifejtett hatása alapján határozták meg. Az Intézet elismerte, hogy egyetlen tanulmány sem közölt káros

mellékhatást a 10 000 NE/napnál kevesebb D-vitamin adagokkal, de a felső beviteli határt 4 000 NE/nap szinten határozták meg, részben azzal indokolva, hogy megfigyeléses tanulmányokban U-alakú viszonyt állapítottak meg a 25OHD koncentrációk és az egészség-hatások között. Későbbi vizsgálatok azonban kimutatták, hogy a J, vagy U-alakú dózis-hatás viszonyt olyan obszervációs tanulmányokban írták le meg, amelyekben nem mérték a 25OHD szinteket és a leírt kapcsolat hátterében részben olyan személyek besorolása lehetett, akik a D-vitamin szedését röviddel a belépés előtt kezdték (726).

Az Endocrine Society (ES) 2011-ben adta közre javaslatát 1 000 - 4 000 NE D-vitamin pótlására, amellyel elérhető a 75 nmol/L, vagy magasabb 25OHD koncentráció (727). Ezeket az adagokat D-vitamin-hiányos betegek számára javasolták, de úgy tűnik, hogy számos krónikus egészségprobléma esetén is érvényes a javallat. Az érvényes magyar ajánlás összhangban van az ES ajánlásával (728). A U.S. Institute of Medicine (IoM) közleményében az is szerepel, hogy a napi <10 000 NE adagról nem közöltek mellékhatásokról (725). Ugyanakkor máig tart a vita a két szakmai társaság között arról, hogy mekkora 25OHD koncentráció szükséges a PTH-szintek emelkedésének megállításához, vagy az emelkedett koncentráció csökkentéséhez. Az IoM állítja, hogy ez a határ 50 nmol/L, mint élettani határérték, az ES magasabbra teszi a küszöböt, vagyis 75 nmol/L-re vagy magasabbra.

A 25OHD koncentráció mérése hasznos lehet a kiindulási szint meghatározására és az elért szintek igazolására. További közlemény a rendszeres mérést az ismerten alacsony koncentrációjú lakossági csoportokban javasolja, mint a várandósok, túlsúlyosok, krónikus betegek és az idősek (723). A mérések végzésének további haszna lehet a magasabb 25OHD szintekhez kapcsolódó egészségnyereség tudatosítása. A D-vitamin dózison túl befolyásolhatják a 25OHD koncentráció növekedését D-vitamin-pótlás hatására, például egyedi genetikai tényezők, az emésztőszervek egészségi állapota, testsúly, és a kiindulási szint. A napi 5 000 NE, vagy heti 30 000-35 000 NE D3-vitamint szedők mintegy felének 25OHD

koncentrációja éri el a 40 ng/mL szintet. Számítások szerint a népesség 97,5%-ban >50 nmol/L koncentráció eléréséhez napi 6 235-7 248 NE bevitele szükséges, ami nem lépi túl a 10 000 NE/nap veszélyességi küszöbértéket (729). A D-vitamin-pótlás 75 nmol/L vérszint eléréséhez a korábban felsorolt számos lakossági csoport számára ajánlott, különösen télen -tavasszal (702). Kimutatták viszont, hogy az élelmiszerek, mint a tejtermékek és a liszt fortifikációja D-vitaminnal (492,730) a legalacsonyabb 25OHD szintű személyek esetében csak csekély mértékben (néhány nmol/L-el) emeli a kiindulási koncentrációt. Ezzel azonban mégis elérhető az ARTI-esetek kockázatának csökkentése extrém súlyosan D-vitamin hiányos személyekben (707,731).

Nagyobb egészségnyereség érdekében azonban a napi, vagy heti D-vitamin-pótlás ajánlható (707), ami a veszélyeztetett lakossági csoportok kívánatos éves szintű 25OHD koncentrációjának eléréséhez szükséges (723).

A D-vitamin-pótlással egyidőben magnézium adása is javasolt. A magnézium segíti a D-vitamin aktiválását, ezen keresztül támogatja a kalcium és foszfát homeosztázist, általa jótékonyan befolyásolja a csontok növekedését és anyagcsere-egyensúlyát. A D-vitamin metabolizmusában szereplő valamennyi enzim számára szükséges a magnézium, ami kofaktorként hat a májban és vesében lezajló enzimatikus folyamatokban (732). A magnézium napi adagja 250-500 mg, együtt a kalcium kétszeres (500-1000 mg) dóziséval.

A csontegészség megtartásához napi összesen 1000-1500 mg kalcium bevitele szükséges. A táplálékkal bevitt kalciumon túl ez kalcium karbonát, vagy inkább-citrát formájában történjen. A csontok egészsége érdekében ezeken túl elegendő fehérje bevitele is szükséges, különösen idősök számára (~1 gm/tskg/nap).

A D-vitamin-pótlás feltételezett kockázatsökkentő hatását az influenza és COVID-19 incidenciára és halálozásra olyan tanulmányokban kell vizsgálni, amelyek meghatározzák a hatásos D-vitamin adagokat, a szérum 25OHD koncentrációt és a lehetséges biztonsági

tényezőket. A D-vitamin adás hatásáról Atlantában (Georgia) lélegeztetett intenzív osztályos betegekben végzett randomizált kontrollált tanulmány (RCT) jó modell lehet erre (502).

Egy közelmúltban megjelent összefoglaló közlemény szerint: “Bár ellentmondó adatok is találhatóak, a rendelkezésre álló bizonyítékok alapján kimondható, hogy immuntámogató hatással bíró számos mikrotápanyag modulálhatja a immunológiai folyamatokat és csökkentheti a fertőzések kockázatát. A mikrotápanyagok közül a C-vitamin, D-vitamin és cink immunerősítő hatását támogatja a legerősebb bizonyíték. A mikrotápanyagok adagjaira és kombinációira irányuló, javított tervezésű és különböző populációkban végzett humán klinikai tanulmányokra van szükség, hogy javítsuk ismereteinket a mikronutriensek infekciók elleni kedvező hatásairól (367).

6. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. Megállapítottuk, hogy a D-hipovitaminózis prevalenciája Magyarországon magas (tavasszal még inkább) a közösségben élő posztmenopauzális nők körében, valamint hogy az alacsony 25OHD szintek és a kevés kalcium-felvétel kapcsolatban van a combnyak alacsony ásványianyag-sűrűségével. A D-hipovitaminózis prevalenciája férfi kohorszunkban alacsonyabb volt, mint amit a posztmenopauzális nőkben találtunk. A férfi kohorszunkban a FRAX érték, és nem a BMD társul a D-vitamin vérszintekkel. Ismeretes, hogy a combnyak csökkent BMD értéke az oszteoporotikus törések fokozott kockázatának erőteljes jelzője. Ebből következik, hogy megállapításainknak valószínűleg népegészségügyi jelentősége van, és segítő forrásanyagként szolgálhatnak a hazai és más európai, hozzánk hasonló társadalmi-gazdasági adottságú országok egészségpolitikai döntéshozói számára. Adatainkból is következik, hogy a D-vitamin és kalcium-pótlás, különösen télen hasznos és költséghatékony hozzájárulás lehet az oszteoporózis és vele kapcsolatos csonttörések megelőzéséhez és a rendelkezésünkre álló irodalmi bizonyítékok alapján további egészségnyereséggel is járhat.
2. A veseműködés és csontanyagcsere kapcsolatának vizsgálata során kimutattuk, hogy a szérum szklerosztin-szintek az életkorral emelkednek egészséges, 50 évnél idősebb férfiakban. Azt is megállapítottuk, hogy férfiakban normális FN és/vagy LS csontdenzitás/T-score esetén idősebb férfiakban magasabbak a szklerosztin szintek, mint a középkorúakban. A veseműködés növekvő életkorral bekövetkező hanyatlása fontos tényező lehet az idős férfiak emelkedett szérum szklerosztin-szintjeinek létrejöttében. Mienk az első szklerosztin-szinteket vizsgáló tanulmány, amelyben egyidejűleg cisztatin C meghatározások is történtek a veseműködés vizsgálatára. Vizsgálati eredményeink

igazolták, hogy a csontanyagcserében egyik fontos szereplő, a szérum OPG szintje növekszik, a sRANKL/OPG hányados pedig csökken az életkor növekedésével egészséges, 50 évnél idősebb férfiakban. Végkövetkeztetünk, hogy a cisztatin C szignifikáns előjelzője az OPG szintek változásának függetlenül az életkor, a szabad tesztoszteron index és az ösztradiol hatásaitól is.

3. Megállapítottuk, hogy a *csontképzési markerek* szintjei emelkednek a terhesség folyamán. Az OC és PICP szintek a szülés után 6 hónappal is emelkedett szinten maradnak szoptató anyákban. A *rezorpciós markerek* szintje pedig terhesség középidejéig csökken, majd a szülésig emelkedik és a szülés után, a laktáció alatt kiindulási értékig csökken. Az anyai fokozott csont turnover erősen arra utal, hogy magzat és szoptatott csecsemő csontfejlődéséhez szükséges kalcium - legalábbis jórésben – az anyai csontrendszerből származik. A csúcs csonttömeg kialakulásának életszakasza részben egybeesik a terhesség és laktáció idejével, ezért feltételezhető, hogy szerepe van a csontállomány általunk is igazolt visszanyerésének biológiai folyamatában.
4. Az irodalomban közölt adatok azt mutatják, hogy a két automatizált PINP assay rendszer (Roche Diagnostics és IDS iSYS) által mért értékek nagyon közel állnak egymáshoz, de szignifikáns arányos eltérés mutatható ki az Orion RIA és a két automatizált rendszer által mért eredmények között. Az IFCC/IOF Joint Committee on Bone Metabolism - amelynek tagja vagyok - véleménye szerint a PINP módszerek harmonizálása látszik reális célnak. A PINP assay-k univerzális harmonizálása úgy kivitelezhető, ha nemzetközi multicentrikus tanulmányokban bármelyik kereskedelmi forgalomban lévő assay-fajtát használják, a méréseket az adott reagenscsomagot gyártó céggel együttműködésben végezzék és a módszerrel kapott tapasztalatokat külön elemezzék. Továbbá gyenge

egyezést mutat a kereskedelmi forgalomban lévő két assay által adott mérési eredmény között a β -CTx vérből történő mérése során. Mivel a mérendő β -CTx molekula (EKAHD- β -GGR) szerkezete kellően ismert, egy referencia standard készítmény szintézise lehetségesnek látszik. Egy referencia-mérési eljárás a stabil, szintetikus β -CTx molekula, mint mérés standard használatával alkalmas lenne a vérből β -CTx mérésére gyártott és kereskedelemben forgalmazott reagens egységcsomagok standardizálására.

5. Véletlenszerű besorolásos kontrollós klinikai vizsgálatban megállapítottuk, hogy az ösztrogénhiányos kellemetlen tünetek csökkentésére alkalmazott transzdermális ösztrogén tapasz védhet a csontvesztés ellen posztmenopauzális SLE-beteg nőkben az ágyéki gerinc-csigolyákban és a combnyak állományában. A kiesési hányad magas volt, főleg a MHT-kezelés elején tapasztaltuk és többnyire a hormonkezelés ismert lehetséges mellékhatásai okozták. Bár a ragaszkodás a terápiához jó volt, a MHT toleranciája nem volt kedvező, széleskörű alkalmazása a jövőben nem várható ebben a betegcsoportban.
6. Szignifikáns kapcsolatot találtunk a D-hipovitaminózis és a 2-es típusú cukorbetegség, valamint a PsA között, a D-hipovitaminózisos személyek esélye jelentősen nagyobb volt T2DM betegségekre, mint a kontrolloké. A FRAX algoritmus által mért törési kockázat alulbecsüli a valódi kockázati szintet 2-es típusú cukorbeteg férfiakban és indokolják a cukorbetegségnek, mint önálló kockázati tényezőnek integrálását a FRAX algoritmusba. Mienk az irodalomban közölt egyik legnagyobb létszámú férfi pikkelysömörös artritiszes betegcsoport, amelyben közöltük a D-hipovitaminózis növekedett prevalenciáját, egyidejűleg a csont turnover fokozott voltát egy szisztematikusan kiválasztott egészséges, kor és nem szerint illesztett kontrollcsoporthoz viszonyítva. A PsA-pQCT tanulmányunk az irodalomban elsőként hasonlította össze PsA-betegekben az aBMD-t és a volumetrikus

denzitást, és igazolt szignifikáns korrelációt a két módszerrel kapott eredmények között. Mi szignifikánsan megnövekedett 10 éves törési kockázatot számítottunk PsA-betegeinkben FRAX-módszerrel, mind a csípőre, mind pedig az összes jelentős törésfajtákra. A vizsgált PsA betegcsoportban a betegség-aktivitás független előjelző tényezője volt a FRAX által jelzett jelentős oszteoporotikus töréseknek, a volumetriás és aBMD mérések javították az alacsony csontdenzitású egyének felismerést.

7. Saját kezdeményezésű tanulmányunkban egyszerű megközelítést javasoltunk a 25OHD értékek standardizációjára oly módon, hogy a DEQAS felmérés eltérését használjuk a NIST teljes célértéktől, ezáltal a nyers adatok azonnali korrekciójára és kiadására nyílik lehetőség – más laboratóriumok számára is javasolható ez az eljárás. Egy további alternatívát javasolunk az RPM - VDSP követelményekhez olyan környezetben, ahol a teljes módszer, vagy annak finanszírozása nem elérhető. Az általunk javasolt egyszerű megközelítési elv gyakorlati megoldást jelenthet a nem-egységesített 25OHD mérési adatokat körülvevő anomáliákra.
8. Először mutattunk rá, hogy a hagyományos úton képzett és a biológiai variációra alkalmazott adatok nem alkalmazhatók a 25OHD-re. Vizsgálatunk igazolta, hogy a 25OHD koncentrációknak nincs állandó állapota az idő folyamán (jelentős szezonális ingadozást mutat), és hogy bármely modell alkalmazása, amely egy homeosztatisz állandó érték körüli random variációra épül, megalapozatlan. Ebből következik, hogy másik APS meghatározása szükséges a 25OHD vizsgálatra és a részvételemmel IFCC Committee on Bone Metabolism által javasolt megközelítés a mérési bizonytalanság (measurement uncertainty, MU) használata.

9. Megállapítottuk, hogy a D-vitamin ellátottságot csökkentő már eddig is ismert tényezőkön túl, mint az öltözködés, az élelmiszerek dúsításának hiánya és a hiányos napsugár-expozíció, további hatásokkal kell számolnunk, mint például a különböző régiókban kialakult étrendi szokások, amelyeknek fontos szerepe lehet a D-hipovitaminózis gyakoriságának alakításában különböző népességi csoportokban, mint az idősek, gyermekek, valamint a várandós nők.

10. A nemzetközi irodalomból származó, majd általunk áttekintett és publikált adatok alátámasztják a magasabb 25OHD koncentrációk szerepét az akut légúti fertőzés (ARTI)-esetek és következményes halál kockázatának csökkentésében, köztük az influenza, SARS-CoV2 és pneumonia vonatkozásában. A D3-vitamin évszak szerinti hullámzó értékeit figyelembe véve a pótlást hónapokkal a telet megelőzően kell kezdeni, hogy az ARTI-k megelőzéséhez elvárt 25OHD koncentráció-zóna kialakulhasson. Bár a védelem mértéke általában növekszik a 25OHD koncentráció emelkedésével, optimálisnak a 40-60 ng/mL (100-150 nmol/L) sávot tekintik.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Tudományos pályámon Balogh Ádám tanár úr indított el, nagyon köszönöm neki. Külön hálás vagyok azért, mert segített, hogy megtaláljam saját utamat.

Köszönöm Muszbek László akadémikusnak, aki munkahelyet biztosított az ország egyik legelőkelőbb orvosdiagnosztikai és kutató laboratóriumában.

Köszönöm Kappelmayer János professzornak a folyamatos támogatást, a jó munkahelyi légkört, de leginkább azt a biztatást, hogy a legjobbat hozzam ki magamból. Kovács L Gábor professzor segítette kapcsolataim kiépítését a laboratóriumi medicina nemzetközi társaságaival és ennek köszönhetem a jelenlegi nemzetközi szakmapolitikai megbízásaimat.

Köszönöm Khosrow Adeli, Tahir Pillay, Mario Plebani, Ana-Maria Simundic, Guiseppe Lippi és Tomris Ozben professzoroknak a segítőkészségét irányomban, amelyet folyamatosan biztosítanak számomra, mint magyar delegáltak különböző nemzetközi fórumokon. Köszönettel tartozom a külföldi kollaborációs kollégáknak, William B Grant, Pawel Pludowski, Etienne Cavalier, Samuel Vasikaran, Annemieke Heijboer, Konstantinos Makris, John Kanis, Cyrus Cooper, Christa Cobbaert és Michael Neumaier professzoroknak a gyümölcsöző együttműködési programokért.

Óriási szerencsém, hogy munkámat kiváló klinikus kollégákkal végezhetem. A betegekhez való odafordulásuk, alázatuk, a velük való mindig stimuláló eszmecserék, az évek során kivívott tisztelet és nem egy esetben barátság folyamatos motivációt jelent számomra.

Teljesség igénye nélkül, köszönöm ezt Kiss Emese, Szekanecz Zoltán, Poór Gyula, Lakatos Péter, Horváth Csaba és Balla József professzoroknak. Köszönöm azoknak a hallgatóknak, akik engem választottak diplomamunka vagy TDK témavezetőjüknek. Hálás vagyok PhD hallgatóimnak, Dr. Jakab Évának, Dr. Pethő Zsófiának, Dr. Pap Zoltánnak, Rác Szilviának.

Köszönöm a disszertációhoz laboratóriumi munkával vagy adminisztratív segítséggel hozzájárulóknak, Kalina Editnek, Földesi Rozáliának, Horváthné Ágnesnek, Kálmánczhey Viktóriának, Kópis Ildikónak és Kériné Katalinnak.

Végül azoknak, akiknek ezt soha nem tudom eléggé meghálálni: *a szüleimnek, a fiaimnak és a feleségemnek.*

8. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

1. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003;423:337-342.
2. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*. 2002;418:41-49.
3. Szulc P, Bauer DC, Eastell R. Biochemical markers of bone turnover in Osteoporosis. In *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism 8th edition*. Ed. Rosen CJ. American Society of Bone and Mineral Research, Washington DC, USA. 2013. pp. 297-306.
4. Hans D, Goertzen AL, Krieg MA, Leslie WD. Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: the Manitoba study. *J Bone Miner Res*. 2011;26:2762–2769.
5. Garnero P, Hausherr E, Chapuy MC, Marcelli C, Grand-jean H, Muller C, et al. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study. *J Bone Miner Res*. 1996;11:1531–1538.
6. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E, et al. FRAX™ and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporosis International* 2008;19:385-397.
7. <https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/index.aspx>.
8. Devogelaer JP, Boutsen Y, Gruson D, Manicourt D. Is there a place for bone turnover markers in the assessment of osteoporosis and its treatment? *Rheum Dis Clin North Am*. 2011;37:365-386.
9. Chesnut CH, McClung MR, Ensrud KE, Bell NH, Genant HK, Harris ST, et al. Alendronate treatment of the post-menopausal osteoporotic woman: effect of multiple dosages on bone mass and bone remodeling. *Am J Med*. 1995;99:144–152.
10. Vervloet MG, Brandenburg VM; CKD-MBD working group of ERA-EDTA. Circulating markers of bone turnover. *J Nephrol*. 2017;30:663-670.
11. Coen G, Ballanti P, Bonucci E, Calabria S, Centorrino M, Fassino V, et al. Bone markers in the diagnosis of low turnover osteodystrophy in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13:2294–2302.
12. Ott SM. Histomorphometric measurements of bone turnover, mineralization, and volume. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3:S151–S156
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI; formerly NCCLS). *Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens; Approved Guideline – Second Edition*. Vol. 21. No. 19. Document GP-16A2. Wayne, PA 2001.
14. Baim S, Miller PD. Assessing the clinical utility of serum CTX in postmenopausal osteoporosis and its use in predicting risk of osteonecrosis of the jaw. *J Bone Miner Res*. 2009;24:561–574.
15. Hlaing TT, Compston JE. Biochemical markers of bone turnover - uses and limitations. *Ann Clin Biochem*. 2014;51:189-202.
16. Eastell R, Baumann M, Hoyle NR, Wiczorek L. *Bone Markers: Biochemical and Clinical Perspectives*. 2001. CRC Press.
17. Zimmermann EA, Busse B, Ritchie RO. The fracture mechanics of human bone: influence of disease and treatment. *Bonekey Rep*. 2015;4:743.
18. Wheeler G, Elshahaly M, Tuck SP, Datta HK, van Laar JM. The clinical utility of bone marker measurements in osteoporosis. *J Transl Med*. 2013;11:201.
19. Greenblatt MB, Tsai JN, Wein MN. Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Monitoring of Metabolic Bone Disease. *Clin Chem*. 2017;63:464-474.
20. Vasikaran SD, Chubb SP, Ebeling PR, Jenkins N, Jones GRd, Kotowicz MA, et al. Harmonised Australian reference intervals for serum PINP and CTX in adults. *Clin Biochem Rev*. 2014;35:237–242.
21. Koivula MK, Ruotsalainen V, Björkman M, Nurmenniemi S, Ikäheimo R, Savolainen K, et al. Difference between total and intact assays for N-terminal propeptide of type I procollagen reflects degradation of pN-collagen rather than denaturation of intact propeptide. *Ann Clin Biochem*. 2010;47:67–71.
22. Price PA, Lothringer JW, Baukol SA, Hari Reddi A. Developmental appearance of the vitamin K-dependent protein of bone during calcification. Analysis of mineralizing tissues in human, calf, and rat. *J Biol Chem*. 1981;256:3781–3784.
23. Oury F, Sumara G, Sumara O, Ferron M, Chang H, Smith CE, et al. Endocrine regulation of male fertility by the skeleton. *Cell*. 2011;144:796–809.
24. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Del Fattore A, DePinho RA, Teti A, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell*. 2010;142:296–308.
25. Oury F, Khrimian L, Denny CA, Gardin A, Chamouni A, Goeden N, et al. Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions. *Cell*. 2013;155:228–241.

26. Delmas PD, Demiaux B, Malaval L, Chapuy MC, Edouard C, Meunier PJ. Serum bone gamma carboxyglutamic acid-containing protein in primary hyperparathyroidism and in malignant hypercalcemia. Comparison with bone histomorphometry. *J Clin Invest.* 1986;77:985–991.
27. Rosenquist C, Qvist P, Bjarnason N, Christiansen C. Measurement of a more stable region of osteocalcin in serum by ELISA with two monoclonal antibodies. *Clin Chem.* 1995;41:1439–1445.
28. Garnero P, Grimaux M, Demiaux B, Preaudat C, Seguin P, Delmas PD. Measurement of serum osteocalcin with a human-specific two-site immunoradiometric assay. *J Bone Miner Res.* 1992;7:1389–1398.
29. Woitge HW, Pecherstorfer M, Li Y, Keck AV, Horn E, Ziegler R, et al. Novel serum markers of bone resorption: clinical assessment and comparison with established urinary indices. *J Bone Miner Res.* 1999;14:792–801.
30. Kress BC, Mizrahi IA, Armour KW, Marcus R, Emkey RD, Santora 2nd AC. Use of bone alkaline phosphatase to monitor alendronate therapy in individual postmenopausal osteoporotic women. *Clin Chem.* 1999;45:1009–1017.
31. Magnusson P, Sharp CA, Magnusson M, Risteli J, Davie MW, Larsson L. Effect of chronic renal failure on bone turnover and bone alkaline phosphatase isoforms. *Kidney Int.* 2001;60:257–265
32. Johnson KA, Hesse L, Vaingankar S, Wennberg C, Mauro S, Narisawa S, et al. Osteoblast tissue-nonspecific alkaline phosphatase antagonizes and regulates PC-1. *Am J Physiol.* 2000;279:R1365–R1377.
33. Maruyama Y, Taniguchi M, Kazama JJ, Yokoyama K, Hosoya T, Yokoo T, et al. A higher serum alkaline phosphatase is associated with the incidence of hip fracture and mortality among patients receiving hemodialysis in Japan. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2014;29:1532–1538
34. Alvarez L, RicOs C, Peris P, GueNabens N, Monegal A, Pons F, et al. Components of biological variation of biochemical markers of bone turnover in Paget’s bone disease. *Bone.* 2000;26:571–576.
35. Garnero P, Vergnaud P, Hoyle N. Evaluation of a fully automated serum assay for total N-terminal propeptide of type I collagen in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem.* 2008;54:188–196.
36. Bhattoa HP. Laboratory aspects and clinical utility of bone turnover markers. *EJIFCC.* 2018;29:117–128.
37. Mora S, Prinster C, Proverbio MC, Bellini A, de Poli SC, Weber G, et al. Urinary markers of bone turnover in healthy children and adolescents: age-related changes and effect of puberty. *Calcif Tissue Int.* 1998;63:369–374.
38. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev.* 2005;26:97–122.
39. Fatayerji D, Eastell R. Age-related changes in bone turnover in men. *J Bone Miner Res.* 1999;14:1203–1210.
40. Pratt JH, Manatunga AK, Peacock M. A comparison of the urinary excretion of bone resorptive products in white and black children. *J Lab Clin Med.* 1996;127:67–70.
41. Naylor KE, Iqbal P, Fledelius C, Fraser RB, Eastell R. The effect of pregnancy on bone density and bone turnover. *J Bone Miner Res.* 2000;15:129–137.
42. More C, Bhattoa HP, Bettembuk P, Balogh A. The effects of pregnancy and lactation on hormonal status and biochemical markers of bone turnover. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;106:209–213.
43. Zerwekh JE, Ruml LA, Gottschalk F, Pak CY. The effects of twelve weeks of bed rest on bone histology, biochemical markers of bone turnover, and calcium homeostasis in eleven normal subjects. *J Bone Miner Res.* 1998;13:1594–1601.
44. Ingle BM, Hay SM, Bottjer HM, Eastell R. Changes in bone mass and bone turnover following ankle fracture. *Osteoporos Int.* 1999;10:408–415.
45. Ingle BM, Hay SM, Bottjer HM, Eastell R. Changes in bone mass and bone turnover following distal forearm fracture. *Osteoporos Int.* 1999;10:399–407.
46. Veitch SW, Findlay SC, Hamer AJ, Blumsohn A, Eastell R, Ingle BM. Changes in bone mass and bone turnover following tibial shaft fracture. *Osteoporos Int.* 2006;17:364–372.
47. Costa AG, Bilezikian JP. Bone turnover markers in primary hyperparathyroidism. *J Clin Densitom.* 2013;16:22–27.
48. Brown JE and Sim S. Evolving role of bone biomarkers in castration-resistant prostate cancer. *Neoplasia.* 2010;12:685–696.
49. Cremers S and Garnero P. Biochemical markers of bone turnover in the clinical development of drugs for osteoporosis and metastatic bone disease: potential uses and pitfalls. *Drugs.* 2006;66:2031–2058.
50. Hannon RA and Eastell R. Bone markers and current laboratory assays. *Cancer Treat Rev.* 2006;32:7–14.
51. Garnero P. Markers of bone turnover in prostate cancer. *Cancer Treat Rev.* 2001;27:187–192.
52. Leeming DJ, Koizumi M, Byrjalsen I, Li B, Qvist P, Tankó LB. The relative use of eight collagenous and noncollagenous markers for diagnosis of skeletal metastases in breast, prostate, or lung cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15:32–38.
53. Seibel MJ. Clinical use of markers of bone turnover in metastatic bone disease. *Nat Clin Pract Oncol.* 2005;2:504–517.

54. Malmgren L, McGuigan F, Christensson A, Akesson KE. Reduced kidney function is associated with BMD, bone loss and markers of mineral homeostasis in older women: a 10-year longitudinal study. *Osteoporos Int.* 2017;28:3463-3473.
55. Nielsen HK, Brixen K, Bouillon R, Mosekilde L. Changes in biochemical markers of osteoblastic activity during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;70:1431-7.
56. Zittermann A, Schwarz I, Scheld K, Sudhop T, Berthold HK, von Bergmann K, et al. Physiologic fluctuations of serum estradiol levels influence biochemical markers of bone resorption in young women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:95-101.
57. Woitge HW, Scheidt-Nave C, Kissling C, Leidig-Bruckner G, Meyer K, Grauer A, et al. Seasonal variation of biochemical indexes of bone turnover: results of a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:68-75.
58. Gombos Császár G, Bajsz V, Sió E, Steinháusz Tóth V, Schmidt B, Szekeres L, et al. The direct effect of specific training and walking on bone metabolic markers in young adults with peak bone mass. *Acta Physiol Hung.* 2014;101:205–215.
59. Lombardi G, Lanteri P, Colombini A, Banfi G. Blood biochemical markers of bone turnover: pre-analytical and technical aspects of sample collection and handling. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50:771-789.
60. Hannon R and Eastell R. Preanalytical variability of biochemical markers of bone turnover. *Osteoporos Int.* 2000;11:S30–S44.
61. Glover SJ, Garnero P, Naylor K, Rogers A, Eastell R. Establishing a reference range for bone turnover markers in young, healthy women. *Bone.* 2008;42:623–630.
62. Allanore Y, Borderie D, Lemaréchal H, Cherruau B, Ekindjian OG, Kahan A. Correlation of serum collagen I carboxyterminal telopeptide concentrations with cutaneous and pulmonary involvement in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2003;30:68–73.
63. Klappacher G, Franzen P, Haab D, Mehrabi M, Binder M, Plesch K, et al. Measuring extracellular matrix turnover in the serum of patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy and impact on diagnosis and prognosis. *Am J Cardiol.* 1995;75:913–918.
64. Kunishige M, Kijima Y, Sakai T, Akutagawa O, Matsuo A, Nishibe A, et al. Transient enhancement of oxidant stress and collagen turnover in patients with acute worsening of congestive heart failure. *Circ J.* 2007;71:1893–1897.
65. Vasikaran S, Cooper C, Eastell R, Griesmacher A, Morris HA, Trenti T, et al. International Osteoporosis Foundation and International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine position on bone marker standards in osteoporosis. *Clin Chem Lab Med.* 2011;49:1271-1274.
66. Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O, Foldes AJ, Garnero P, Griesmacher A, et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporos Int.* 2011;22:391–420.
67. Vasikaran SD, Morris HA, Cooper C, Kanis JA. Standardising biochemical assessment of bone turnover in osteoporosis. *Clin Biochem.* 2011;44:1033-1034.
68. <http://www.ifcc.org/media/477331/ifcc-handbook-2018-2020-chapter-08.pdf>
69. Riggs BL and Melton LJ III. Bone turnover matters: the raloxifene treatment paradox of dramatic decreases in vertebral fractures without commensurate increases in bone density. *J Bone Miner Res.* 2002;17:11–14.
70. Sarkar S, Mitlak BH, Wong M, Stock JL, Black DM, Harper KD. Relationships between bone mineral density and incident vertebral fracture risk with raloxifene therapy. *J Bone Miner Res.* 2002;17:1–10.
71. Bauer DC, Garnero P, Hochberg MC, Santora A, Delmas P, Ewing SK, et al. Pretreatment levels of bone turnover and the antifracture efficacy of alendronate: the fracture intervention trial. *J Bone Miner Res.* 2006;21:292–299.
72. Eastell R, Barton I, Hannon RA, Chines A, Garnero P, Delmas PD. Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate. *J Bone Miner Res.* 2003;18:1051–1056.
73. Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, et al. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 2007;356:1809–1822.
74. Cummings SR, San MJ, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR, et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med.* 2009;361:756–765.
75. Glover SJ, Eastell R, McCloskey EV, Rogers A, Garnero P, Lowery J, et al. Rapid and robust response of biochemical markers of bone formation to teriparatide therapy. *Bone.* 2009;45:1053–1058.
76. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, Nevitt MC, et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet.* 1996;348:1535–1541.
77. Rizzoli R, Greenspan SL, Bone G 3rd, Schnitzer TJ, Watts NB, Adami S, et al. Two-year results of once-weekly administration of alendronate 70 mg for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2002;17:1988–1996.

78. Clowes JA, Peel NF and Eastell R. The impact of monitoring on adherence and persistence with antiresorptive treatment for postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:1117–1123.
79. Delmas PD, Vrijens B, Eastell R, Roux C, Pols HAP, Ringe JD, et al. Effect of monitoring bone turnover markers on persistence with risedronate treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:1296–1304.
80. Bjarnason NH, Sarkar S, Duong T, Mitlak B, Delmas PD, Christiansen C. Six and twelve month changes in bone turnover are related to reduction in vertebral fracture risk during 3 years of raloxifene treatment in post-menopausal osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2001;12:922–930.
81. Sarkar S, Reginster J-Y, Crans GG, Diez-Perez A, Pinette KV, Delmas PD. Relationship between changes in biochemical markers of bone turnover and BMD to predict vertebral fracture risk. *J Bone Miner Res.* 2004;19:394–401.
82. Jacques RM, Boonen S, Cosman F, Reid IR, Bauer DC, Black DM, et al. Relationship of changes in total hip bone mineral density to vertebral and nonvertebral fracture risk in women with postmenopausal osteoporosis treated with once-yearly zoledronic acid 5 mg: the HORIZON-Pivotal Fracture Trial (PFT). *J Bone Miner Res.* 2012;27:1627–1634.
83. Christiansen C, Riis BJ, Rødbro P. Prediction of rapid bone loss in postmenopausal women. *Lancet.* 1987;1:1105–1108.
84. Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy MC, Delmas PD. Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1996;11:337–349.
85. Burch J, Rice S, Yang H, Neilson A, Stirk L, Francis R, et al. Systematic review of the use of bone turnover markers for monitoring the response to osteoporosis treatment: the secondary prevention of fractures, and primary prevention of fractures in high-risk groups. *Health Technol Assess.* 2014;18:1–180.
86. Garrett G, Sardiwal S, Lamb EJ, Goldsmith DJA. PTH—a particularly tricky hormone: why measure it at all in kidney patients? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013;8:299–312.
87. Coleman R, Costa L, Saad F, Cook R, Hadji P, Terpos E, et al. Consensus on the utility of bone markers in the malignant bone disease setting. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2011;80:411–432.
88. Confavreux CB, Borel O, Lee F, Vaz G, Guyard M, Fadat C, et al. Osteoid osteoma is an osteocalcinoma affecting glucose metabolism. *Osteoporos Int.* 2012;23:1645–1650.
89. Wang J, Pei F, Tu C, Zhang H, Qiu X. Serum bone turnover markers in patients with primary bone tumors. *Oncology.* 2007;72:338–342.
90. Garnero P, Landewé R, Boers M, Verhoeven A, Van Der Linden S, Christgau S, et al. Association of baseline levels of markers of bone and cartilage degradation with long-term progression of joint damage in patients with early rheumatoid arthritis: the COBRA study. *Arthritis Rheum.* 2002;46:2847–2856.
91. Krabben A, Knevel R, Huizinga TWJ, Cavet G, van der Helm-van Mil AHM. Serum pyridinoline levels and prediction of severity of joint destruction in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2013;40:1303–1306.
92. Jadon DR, Nightingale AL, McHugh NJ, Lindsay MA, Korendowych E, Sengupta R. Serum soluble bone turnover biomarkers in psoriatic arthritis and psoriatic spondyloarthropathy. *J Rheumatol.* 2015;42:21–30.
93. Whyte MP. Paget’s disease of bone and genetic disorders of RANKL/OPG/RANK/NF-kappaB signaling. *Ann NY Acad Sci.* 2006;1068:143–164.
94. Al Nofal AA, Altayar O, BenKhadra K, Agha OQQ, Asi N, Nabhan M, et al. Bone turnover markers in Paget’s disease of the bone: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2015;26:1875–1891.
95. Teisner B, Rasmussen HB, Højrup P, Yde-Andersen E, Skjødt K. Fetal antigen 2: an amniotic protein identified as the aminopropeptide of the alpha 1 chain of human procollagen type I. *APMIS.* 1992;100:1106–1114.
96. Fay TN, Jacobs I, Teisner B, Poulsen O, Chapman MG, Stabile I, et al. Two fetal antigens (FA-1 and FA-2) and endometrial proteins (PP12 and PP14) isolated from amniotic fluid; preliminary observations in fetal and maternal tissues. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1988;29:73–85.
97. Orum O, Hansen M, Jensen CH, Sørensen HA, Jensen LB, Hørslev-Petersen K, et al. Procollagen type I N-terminal propeptide (PINP) as an indicator of type I collagen metabolism: ELISA development, reference interval, and hypovitaminosis D induced hyperparathyroidism. *Bone.* 1996;96:157–163.
98. Price KM, Silman R, Armstrong P, Grudzinskas JG. Development of a radioimmunoassay for fetal antigen 2. *Clin Chim Acta.* 1994;224:95–102.
99. Melkko J, Kauppila S, Niemi S, Risteli L, Haukipuro K, Jukkola A, et al. Immunoassay for intact amino-terminal propeptide of human type I procollagen. *Clin Chem.* 1996;42:947–954.
100. Jensen CH, Hansen M, Brandt J, Rasmussen HB, Jensen PB, Teisner B. Quantification of the N-terminal propeptide of human procollagen type I (PINP): comparison of ELISA and RIA with respect to different molecular forms. *Clin Chim Acta.* 1998;269:31–41.

101. Brandt J, Krogh TN, Jensen CH, Frederiksen JK, Teisner B. Thermal instability of the trimeric structure of the N-terminal propeptide of human procollagen type I in relation to assay technology. *Clin Chem.* 1999;45:47–53.
102. Tahtela R, Turpeinen M, Sorva R, Karonen SL. The aminoterminal propeptide of type I procollagen: evaluation of a commercial radioimmunoassay kit and values in healthy subjects. *Clin Biochem.* 1997;30:35–40.
103. Koivula MK, Richardson J, Leino A, Valleala H, Griffiths K, Barnes A, et al. Validation of an automated intact N-terminal propeptide of type I procollagen (PINP) assay. *Clin Biochem.* 2010;43:1453–1457.
104. Garnero P, Vergnaud P, Hoyle N. Evaluation of a fully automated serum assay for total N-terminal propeptide of type I collagen in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem.* 2008;54:188–196.
105. Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Riis BJ, Christiansen C. Immunoassay for quantifying type I collagen degradation products in urine evaluated. *Clin Chem.* 1994;40:2022–2225.
106. Rosenquist C, Fledelius C, Christgau S, Pedersen BJ, Bonde M, Qvist P, et al. Serum CrossLaps One Step ELISA. First application of monoclonal antibodies for measurement in serum of bone-related degradation products from C-terminal telopeptides of type I collagen. *Clin Chem.* 1998;44:2281–2289.
107. Szulc P, Naylor K, Hoyle NR, Eastell R, Leary ET. National Bone Health Alliance Bone Turnover Marker Project. Use of CTX-I and PINP as bone turnover markers: National Bone Health Alliance recommendations to standardize sample handling and patient preparation to reduce pre-analytical variability. *Osteoporos Int.* 2017;28:2541–2556.
108. Bonde M, Garnero P, Fledelius C, Qvist P, Delmas PD, Christiansen C. Measurement of bone degradation products in serum using antibodies reactive with an isomerized form of an 8 amino acid sequence of the C-telopeptide of type I collagen. *J Bone Miner Res.* 1997;12:1028–1034.
109. Crofton PM, Evans N, Taylor MR, Holland CV. Serum CrossLaps: pediatric reference intervals from birth to 19 years of age. *Clin Chem.* 2002;48:671–673.
110. Rogers A, Glover SJ, Eastell R. A randomised, double-blinded, placebocontrolled, trial to determine the individual response in bone turnover markers to lasofoxifene therapy. *Bone.* 2009;45:1044–1052.
111. Garnero P, Borel O, Delmas PD. Evaluation of a fully automated serum assay for C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen in osteoporosis. *Clin Chem.* 2001;47:694–702.
112. Seres Z, Dixon C, Middlemist S, Wynn C, Laurie D, Fox C, Barnes A, Garrity M. A new β -crosslaps® (CTX-I) assay on the IDS-ISYS automated analyser. *Bone.* 2010;47:S143.
113. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology.* 2001;142:5050–5055.
114. Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science.* 2000;289:1504–1508.
115. Vega D, Maalouf NM, Sakhaee K. Clinical review: the role of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:4514–4521.
116. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Spelsberg TC, Riggs BL. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology.* 1999;140:4367–4370.
117. Hofbauer LC, Hicok KC, Chen D, Khosla S. Regulation of osteoprotegerin production by androgens and anti-androgens in human osteoblastic lineage cells. *Eur J Endocrinol.* 2002;147:269–273.
118. Hofbauer LC, Heufelder AE. The role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in the pathogenesis and treatment of metabolic bone diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2355–2363.
119. Szulc P, Hofbauer LC, Heufelder AE, Roth S, Delmas PD. Osteoprotegerin serum levels in men: correlation with age, estrogen, and testosterone status. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:3162–3165.
120. Khosla S, Arrighi HM, Melton III LJ, Atkinson EJ, O’Fallon WM, Dunstan C, et al. Correlates of osteoprotegerin levels in women and men. *Osteoporos Int.* 2002;13:394–399.
121. Khosla S, Atkinson EJ, Dunstan CR, O’Fallon WM. Effect of estrogen versus testosterone on circulating osteoprotegerin and other cytokine levels in normal elderly men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:1550–1554.
122. Kudlacek S, Schneider B, Woloszczuk W, Pietschmann P, Willvonseder R. Serum levels of osteoprotegerin increase with age in a healthy adult population. *Bone.* 2003;32:681–686.
123. Schett G, Kiechl S, Redlich K, Oberhollenzer F, Weger S, Egger G, et al. Soluble RANKL and risk of nontraumatic fracture. *JAMA.* 2004;291:1108–1113.
124. Trofimov S, Pantsulaia I, Kobylansky E, Livshits G. Circulating levels of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand/osteoprotegerin/macrophage-colony stimulating factor in a presumably healthy human population. *Eur J Endocrinol.* 2004;150:305–311.
125. Oh KW, Rhee EJ, Lee WY, Kim SW, Baek KH, Kang MI, et al. Circulating osteoprotegerin and receptor activator of NF-kappaB ligand system are associated with bone metabolism in middle-aged males. *Clin Endocrinol.* 2005;62:92–98.

126. Indridason OS, Franzson L, Sigurdsson G. Serum osteoprotegerin and its relationship with bone mineral density and markers of bone turnover. *Osteoporos Int.* 2005;16:417–423.
127. Mazziotti G, Amato G, Sorvillo F, Piscopo M, Rizzo MR, Lalli E, et al. Increased serum osteoprotegerin values in long-lived subjects: different effects of inflammation and bone metabolism. *Eur J Endocrinol.* 2006;154:373–377.
128. Stern A, Laughlin GA, Bergstrom J, Barrett-Connor E. The sex-specific association of serum osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand with bone mineral density in older adults: the Rancho Bernardo study. *Eur J Endocrinol.* 2007;156:555–562.
129. Samelson EJ, Broe KE, Demissie S, Beck TJ, Karasik D, Kathiresan S, et al. Increased plasma osteoprotegerin concentrations are associated with indices of bone strength of the hip. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:1789–1795.
130. Jorgensen L, Vik A, Emaus N, Brox J, Hansen JB, Mathiesen E, et al. Bone loss in relation to serum levels of osteoprotegerin and nuclear factor-kappaB ligand: the Tromsø Study. *Osteoporos Int.* 2010;21:931–938.
131. Szulc P, Hawa G, Boutroy S, Vilayphiou N, Schoppet M, Chapurlat R, et al. Cortical bone status is associated with serum osteoprotegerin concentration in men: the STRAMBO study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:2216–2226.
132. Brage M, Lie A, Ransjö M, Kasprzykowski F, Kasprzykowska R, Abrahamson M, et al. Osteoclastogenesis is decreased by cysteine proteinase inhibitors. *Bone.* 2004;34:412–424.
133. Brage M, Abrahamson M, Lindström V, Grubb A, Lerner UH. Different cysteine proteinases involved in bone resorption and osteoclast formation. *Calcif Tissue Int.* 2005;76:439–447.
134. Randers E, Erlandsen EJ. Serum cystatin C as an endogenous marker of the renal function – a review. *Clin Chem Lab Med.* 1999;37:389–395.
135. Baron R, Rawadi G. Targeting the Wnt/beta-catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. *Endocrinology.* 2007;148:2635–2643.
136. Krishnan V, Bryant HU, MacDougald OA. Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J Clin Invest.* 2006;116:1202–1209.
137. Balemans W, Ebeling M, Patel N, Van Hul E, Olson P, Dioszegi M, et al. Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). *Hum Mol Genet.* 2001;10:537–543.
138. Padhi D, Jang G, Stouch B, Fang L, Posvar E. Single-dose, placebo-controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J Bone Miner Res.* 2011;26:19–26.
139. Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future. *Lancet.* 2011;377:1276–1287.
140. Mirza FS, Padhi ID, Raisz LG, Lorenzo JA. Serum sclerostin levels negatively correlate with parathyroid hormone levels and free estrogen index in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:1991–1997.
141. Mödder UI, Clowes JA, Hoey K, Peterson JM, McCready L, Oursler MJ, et al. Regulation of circulating sclerostin levels by sex steroids in women and in men. *J Bone Miner Res.* 2011;26:27–34.
142. Drake MT, Srinivasan B, Mödder UI, Peterson JM, McCready LK, Riggs BL, et al. Effects of parathyroid hormone treatment on circulating sclerostin levels in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:5056–5062.
143. Polyzos SA, Anastasilakis AD, Bratengeier C, Woloszczuk W, Papatheodorou A, Terpos E. Serum sclerostin levels positively correlate with lumbar spinal bone mineral density in postmenopausal women—the six-month effect of risedronate and teriparatide. *Osteoporos Int.* 2012;23:1171–1176.
144. Gaudio A, Pennisi P, Bratengeier C, Torrisi V, Lindner B, Mangiafico RA, et al. Increased sclerostin serum levels associated with bone formation and resorption markers in patients with immobilization-induced bone loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:2248–2253.
145. Mödder UI, Hoey KA, Amin S, McCready LK, Achenbach SJ, Riggs BL, et al. Relation of age, gender, and bone mass to circulating sclerostin levels in women and men. *J Bone Miner Res.* 2011;26:373–379.
146. Ardawi MS, Al-Kadi HA, Rouzi AA, Qari MH. Determinants of serum sclerostin in healthy pre- and postmenopausal women. *J Bone Miner Res.* 2011;26:2812–2822.
147. Amrein K, Amrein S, Drexler C, Dimai HP, Dobnig H, Pfeifer K, et al. Sclerostin and its association with physical activity, age, gender, body composition, and bone mineral content in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:148–154.
148. Kirmani S, Amin S, McCready LK, Atkinson EJ, Melton LJ 3rd, Müller R, et al. Sclerostin levels during growth in children. *Osteoporos Int.* 2012;23:1123–1130.
149. Sheng Z, Tong D, Ou Y, Zhang H, Zhang Z, Li S, et al. Serum sclerostin levels were positively correlated with fat mass and bone mineral density in central south Chinese postmenopausal women. *Clin Endocrinol. (Oxf).* 2012;76:797–801.

150. Makris K, Bhattoa HP, Cavalier E, Phinney K, Sempos CT, Ulmer CZ, et al. Recommendations on the measurement and the clinical use of vitamin D metabolites and vitamin D binding protein - A position paper from the IFCC Committee on bone metabolism. *Clin Chim Acta*. 2021;517:171-197.
151. Bikle DD. Vitamin D and bone. *Curr Osteoporos Rep*. 212;10:151-159.
152. P. Glendenning P, Inderjeeth CA. Screening for vitamin D deficiency: defining vitamin D deficiency, target thresholds of treatment and estimating the benefits of treatment. *Pathology*. 2012;44:160-165.
153. Souberbielle JC, Body JJ, Lappe JM, Plebani M, Shoenfeld Y, Wang TJ, et al. Vitamin D and musculoskeletal health, cardiovascular disease, autoimmunity and cancer: Recommendations for clinical practice. *Autoimmun Rev*. 2010;9:709-715.
154. Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, Bikle D, White JH, Dawson-Hughes B, et al. Skeletal and extraskeletal actions of vitamin D: current evidence and outstanding questions. *Endocr Rev*. 2019;40:1109-1151.
155. Marino R, Misra M. Extra-skeletal effects of vitamin D. *Nutrients*. 2019;11:1460.
156. Zerwekh JE. Blood biomarkers of vitamin D status. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:1087S-1091S.
157. Jenkinson C. The vitamin D metabolome: an update on analysis and function. *Cell Biochem Funct*. 2019;37:408-423.
158. Tuckey RC, Cheng CYS, Slominski AT. The serum vitamin D metabolome: What we know and what is still to discover. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019;186:4-21.
159. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol*. 2014;21:319-329.
160. Houghton LA, Vieth R. The case against ergocalciferol (vitamin D₂) as a vitamin supplement. *Am J Clin Nutr*. 2006;84:694-697.
161. Hollis BW. Comparison of equilibrium and disequilibrium assay conditions for ergocalciferol, cholecalciferol and their major metabolites. *J Steroid Biochem*. 1984;21:81-86.
162. Horst RL, Reinhardt TA, Ramberg CF, Koszewski NJ, Napoli JL. 24-Hydroxylation of 1,25-dihydroxyergocalciferol. An unambiguous deactivation process. *J Biol Chem*. 1986;261:9250-9256.
163. Tripkovic L, Lambert H, Hart K, Smith CP, Bucca G, Penson S, et al. Comparison of vitamin D₂ and vitamin D₃ supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis *Am J Clin Nutr*. 2012;95:1357-1364.
164. Holick MF. Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 1995;61:638S-645S.
165. Bouillon R, Suda T. Vitamin D: calcium and bone homeostasis during evolution. *Bonekey Rep*. 2014;3:480.
166. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357:266-281.
167. Holick MF. Biological effects of sunlight, ultraviolet radiation, visible light, infrared radiation and vitamin D for health. *Anticancer Res*. 2016;36(3):1345-1356.
168. Holick MF. The photobiology of vitamin D and its consequences for humans. *Ann N Y Acad Sci*. 1985;453:1-13.
169. Clemens TL, Adams JS, Henderson SL, Holick MF. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D₃. *Lancet*. 1982;1:74-76.
170. Libon F, Cavalier E, Nikkels AF. Skin color is relevant to vitamin D synthesis. *Dermatology (Basel, Switzerland)*. 2013;227:250-254.
171. Holick MF. Chapter 4 - Photobiology of vitamin D. In: D. Feldman (Ed.), *Vitamin D*, fourth ed. Academic Press, 2018;pp.45-55.
172. Xiang F, Lucas R, de Gruijl F, Norval M. A systematic review of the influence of skin pigmentation on changes in the concentrations of vitamin D and 25-hydroxyvitamin D in plasma/serum following experimental UV irradiation. *Photochem Photobiol Sci*. 2015;14:2138-2146.
173. Bogh MK, Schmedes AV, Philipsen PA, Thieden E, Wulf HC. Vitamin D production after UVB exposure depends on baseline vitamin D and total cholesterol but not on skin pigmentation. *J Invest Dermatol*. 2010;130:546-553.
174. Young AR. Some light on the photobiology of vitamin D. *J Invest Dermatol*. 2010;130:346-348.
175. Christakos S, Li S, De La Cruz J, Bikle DD. New developments in our understanding of vitamin metabolism, action and treatment. *Metabolism* 2019;98:112-120.
176. Zhu JG, Ochalek JT, Kaufmann M, Jones G, Deluca HF. CYP2R1 is a major, but not exclusive, contributor to 25-hydroxyvitamin D production in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110:15650-15655.
177. Cheng JB, Levine MA, Bell NH, Mangelsdorf DJ, Russell DW. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:7711-7715.
178. Thacher TD, Fischer PR, Singh RJ, Roizen J, Levine MA. CYP2R1 mutations impair generation of 25-hydroxyvitamin D and cause an atypical form of vitamin D deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100:E1005-E1013.
179. Henry HL. Regulation of vitamin D metabolism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25:531-541.

180. Jones G, Kottler ML, Schlingmann KP. Genetic diseases of vitamin D metabolizing enzymes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2017;46:1095–1117.
181. Lerner DP, Adams JS, Hewison M. Chapter 8 - Regulation of renal and extrarenal 1 α -hydroxylase. In: Feldman D. (Ed.), *Vitamin D (Fourth Edition)*. Academic Press, 2018:117–137.
182. Plum LA, DeLuca HF. The functional metabolism and molecular biology of vitamin D action. *Clin Rev Bone Mineral Metab.* 2009;7:20–41.
183. Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. *J Lipid Res.* 2014;55:13–31.
184. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol Rev.* 2016;96: 365–408.
185. Pike JW, Christakos S. Biology and mechanisms of action of the vitamin D hormone. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2017;46:815–843.
186. Prie D, Friedlander G. Reciprocal control of 1,25-dihydroxyvitamin D and FGF23 formation involving the FGF23/Klotho system. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:1717–1722.
187. Adams JS, Hewison M. Extrarenal expression of the 25-hydroxyvitamin D-1-hydroxylase. *Arch Biochem Biophys.* 2012;523:95–102.
188. Takeda E, Yamamoto H, Taketani Y, Miyamoto K. Vitamin D-dependent rickets type I and type II. *Acta Paediatr Jpn.* 1997;39:508–513.
189. Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ, Mady LJ. Vitamin D: metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39:243–53.
190. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev.* 1998;78:1193–1231.
191. Bosworth C, de Boer IH. Impaired vitamin D metabolism in CKD. *Semin Nephrol.* 2013;33:158–168.
192. Jones G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr.* 2008;88:582S–586S.
193. Tebben PJ, Singh RJ, Kumar R. Vitamin D-mediated hypercalcemia: mechanisms, diagnosis, and treatment. *Endocr Rev.* 2016;37:521–547.
194. Wang W, Lin YS, Zheng XE, Senn T, Hashizume T, Scian M et al. An inducible cytochrome P450 3A4-dependent vitamin D catabolic pathway. *Mol Pharmacol.* 2012;81:498–509.
195. Roizen JD, Li D, O’Lear L, Javaid MK, Shaw NJ, Ebeling PR et al. CYP3A4 mutation causes vitamin D-dependent rickets type 3. *J Clin Invest.* 2018;128:1913–1918.
196. Demay MB. The good and the bad of vitamin D inactivation. *J Clin Invest.* 2018;128:3736–3738.
197. Zhou SF. Drugs behave as substrates, inhibitors and inducers of human cytochrome P450 3A4. *Curr Drug Metab.* 2008;9:310–322.
198. Gonzalez FJ. CYP3A4 and pregnane X receptor humanized mice. *J Biochem Mol Toxicol.* 2007;21:158–162.
199. Hawkes CP, Li D, Hakonarson H, Meyers KE, Thummel KE, Levine MA. CYP3A4 induction by rifampin: an alternative pathway for vitamin D inactivation in patients with CYP24A1 mutations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102:1440–1446.
200. Baecher S, Leinenbach A, Wright JA, Pongratz S, Koold U, Thiele R. Simultaneous quantification of four vitamin D metabolites in human serum using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for vitamin D profiling. *Clin Biochem.* 2012;45:1491–1496.
201. Wong RG, Myrtle J, Tsai HC, Norman AW. Studies on calciferol metabolism. V. The occurrence and biological activity of 1,25-dihydroxy-vitamin D 3 in bone. *J Biol Chem.* 1972;247:5728–5735.
202. Herrmann M, Farrell CL, Pusceddu I, Fabregat-Cabello N, Cavalier E. Assessment of vitamin D status - a changing landscape. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55:3–26.
203. Colak A, Toprak B, Dogan N, Ustuner F. Effect of sample type, centrifugation and storage conditions on vitamin D concentration. *Biochem Med. (Zagreb).* 2013;23:321–325.
204. Lensmeyer GL, Wiebe DA, Binkley N, Drezner MK. HPLC method for 25- hydroxyvitamin D measurement: comparison with contemporary assays. *Clin Chem.* 2006;52:1120–1126.
205. Elder PA, Lewis JG, King RI, Florkowski CM. An anomalous result from gel tubes for vitamin D. *Clin Chim Acta* 2009;410:95.
206. Yu S, Zhou W, Cheng X, Fang H, Zhang R, Cheng Q et al. Blood collection tubes and storage temperature should be evaluated when using the siemens ADVIA centaur XP for measuring 25-hydroxyvitamin D. *PLoS ONE.* 2016;11: e0166327.
207. Heures N. Vitamin D testing-where are we and what is on the horizon? *Adv Clin Chem.* 2017;78:59–101.
208. Borai A, Bahijri S, Livingstone C, Nawajha M, Bawazeer A, Baarmah Z, et al. Assessment of Becton Dickinson plain and serum separator tubes in measurement of 25-hydroxyvitamin D3 (25OHD3) by HPLC and immunoassay methods. *J Clin Lab Anal.* 2016;30:32–35.
209. Fraser WD, Tang JCY, Dutton JJ, Schoenmakers I. Vitamin D measurement, the debates continue, new analytes have emerged, developments have variable outcomes. *Calcif Tissue Int.* 2020;106:3–13.

210. Makowski AJ, Rathmacher JA, Horst RL, Sempos CT. Simplified 25-hydroxyvitamin D standardization and optimization in dried blood spots by LCMS/MS. *J AOAC Int.* 2017;100:1328–1336.
211. Lissner D, Mason RS, Posen S. Stability of vitamin D metabolites in human blood serum and plasma. *Clin Chem.* 1981;27:773.
212. Wielders JP, Wijnberg FA. Preanalytical stability of 25(OH)-vitamin D3 in human blood or serum at room temperature: solid as a rock. *Clin Chem.* 2009;55:1584–1585.
213. Agborsangaya C, Toriola AT, Grankvist K, Surcel HM, Holl K, Parkkila S, et al. The effects of storage time and sampling season on the stability of serum 25-hydroxy vitamin D and androstenedione. *Nutr Cancer.* 2010;62:51–57.
214. Hayden Y, Pillay T, Marx G, de Lange W, Kuyl JM. Pre-analytical stability of 25(OH)-vitamin D in primary collection tubes. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53:e55–e57.
215. Mena-Bravo A, Priego-Capote F, Luque de Castro MD. Study of blood collection and sample preparation for analysis of vitamin D and its metabolites by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 2015;879:69–76.
216. Mena-Bravo A, Calderon-Santiago M, Luque de Castro MD, Priego-Capote F. Evaluation of short-term storage prior to analysis of vitamin D3 and metabolites in human serum by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta.* 2019;198:344–349.
217. Borai A, Khalil H, Alghamdi B, Alhamdi R, Ali N, Bahijri S, Ferns G. The preanalytical stability of 25-hydroxyvitamin D: Storage and mixing effects. *J Clin Lab Anal.* 2020;34:e23037.
218. Antonucci DM, Black DM, Sellmeyer DE. Serum 25-hydroxyvitamin D is unaffected by multiple freeze-thaw cycles. *Clin Chem.* 2005;51:258–261.
219. Calvo MS, Whiting SJ, Barton CN. Vitamin D intake: a global perspective of current status. *J Nutr.* 2005;135:310–316.
220. Maxwell JD. Seasonal variation in vitamin D. *Proc Nutr Soc.* 1994;53:533–543.
221. Spiro A, Buttriss JL. Vitamin D: an overview of vitamin D status and intake in Europe, *Nutrit Bull.* 2014;39:322–350.
222. Webb AR, Kline L, Holick MF. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D3: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D3 synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;67:373–378.
223. Vuistiner P, Rousson V, Henry H, Lescuyer P, Boulat O, Gaspoz JM, et al. A population-based model to consider the effect of seasonal variation on serum 25(OH)D and vitamin D status. *Biomed Res Int.* 2015;2015:168189.
224. Krzywanski J, Mikulski T, Krysztofiak H, Mlynczak M, Gaczynska E, Ziemia A. Seasonal vitamin D status in polish elite athletes in relation to sun exposure and oral supplementation. *PLoS ONE.* 2016;11:e0164395.
225. O'Neill CM, Kazantzidis A, Ryan MJ, Barber N, Sempos CT, Durazo-Arvizu RA, et al. Seasonal changes in vitamin D-effective UVB availability in europe and associations with population serum 25-hydroxyvitamin D. *Nutrients* 2016;8:533.
226. Bolland MJ, Grey AB, Ames RW, Mason BH, Horne AM, Gamble GD, et al. The effects of seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and fat mass on a diagnosis of vitamin D sufficiency. *Am J Clin Nutr.* 2007;86:959–964.
227. Holick MF, Matsuoka LY, Wortsman J. Age, vitamin D, and solar ultraviolet. *Lancet.* 1989;2:1104–1105.
228. Gallagher JC. Vitamin D and aging. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2013;42:319–332.
229. Meehan M, Penckofer S. The role of vitamin D in the aging adult. *J Aging Gerontol.* 2014;2:60–71.
230. Veldurthy V, Wei R, Oz L, Dhawan P, Jeon YH, Christakos S. Vitamin D, calcium homeostasis and aging. *Bone Res.* 2016;4:16041.
231. Gloth FM 3rd, Gundberg CM, Hollis BW, Haddad JG Jr, Tobin JD. Vitamin D deficiency in homebound elderly persons *JAMA.* 1995;274:1683–1686.
232. Guessous I, Dudler V, Glatz N, Theler JM, Zoller O, Paccaud F, Swiss Survey on Salt Group, et al. Vitamin D levels and associated factors: a population-based study in Switzerland. *Swiss Med Wkly.* 2012;142:w13719.
233. Arunabh S, Pollack S, Yeh J, Aloia JF. Body fat content and 25-hydroxyvitamin D levels in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:157–161.
234. Parikh SJ, Edelman M, Uwaifo GI, Freedman RJ, Semega-Janneh M, Reynolds J, et al. The relationship between obesity and serum 1,25-dihydroxy vitamin D concentrations in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:1196–1199.
235. Lagunova Z, Porojnicu AC, Lindberg F, Hexeberg S, Moan J. The dependency of vitamin D status on body mass index, gender, age and season. *Anticancer Res.* 2009;29:3713–3720.
236. Zhang Y, Zhang X, Wang F, Zhang W, Wang C, Yu C, et al. The relationship between obesity indices and serum vitamin D levels in Chinese adults from urban settings. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2016;25:333–339.

237. Pereira-Santos M, Costa PR, Assis AM, Santos CA, Santos DB. Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2015;16:341–349.
238. Yao Y, Zhu L, He L, Duan Y, Liang W, Nie Z, et al. A metaanalysis of the relationship between vitamin D deficiency and obesity. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8:14977–14984.
239. Migliaccio S, Di Nisio A, Mele C, Scappaticcio L, Savastano S, Colao A. –Programs of nutrition, G. Assessment, Obesity and hypovitaminosis D: causality or casualty? *Int J Obes.* 2019;Suppl.9:20–31.
240. Hyppönen E, Power C. Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:860–868.
241. Compston JE, Vedi S, Ledger JE, Webb A, Gazet JC, Pilkington TR. Vitamin D status and bone histomorphometry in gross obesity. *Am J Clin Nutr.* 1981;34(11):2359–2363.
242. Vanlint S. Vitamin D and obesity. *Nutrients.* 2013;5:949–956.
243. Abboud M, Gordon-Thomson C, Hoy AJ, Balaban S, Rybchyn MS, Cole L, et al. Uptake of 25-hydroxyvitamin D by muscle and fat cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;144:232–236.
244. Muscogiuri G, Barrea L, Somma CD, Laudisio D, Salzano C, Pugliese G, et al. Sex differences of vitamin D status across BMI classes: an observational prospective cohort study. *Nutrients.* 2019;11:3034.
245. Verdoia M, Schaffer A, Barbieri L, Di Giovine G, Marino P, Suryapranata H, et al. Atherosclerosis Study, Impact of gender difference on vitamin D status and its relationship with the extent of coronary artery disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2015;25:464–470.
246. Yan X, Zhang N, Cheng S, Wang Z, Qin Y. Gender differences in vitamin D status in China. *Med Sci Monit.* 2019;25:7094–7099.
247. Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Morita M, Yamada H, Tanaka S, et al. Profiles of vitamin D insufficiency and deficiency in Japanese men and women: association with biological, environmental, and nutritional factors and coexisting disorders: the ROAD study. *Osteoporos Int.* 2013;24:2775–2787.
248. Bolland MJ, Grey AB, Ames RW, Mason BH, Horne AM, Gamble GD, et al. Determinants of vitamin D status in older men living in a subtropical climate. *Osteoporos Int.* 2006;17:1742–1748.
249. Blaak E. Gender differences in fat metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2001;4:499–502.
250. Gurrici S, Hartriyanti Y, Hautvast J, Deurenberg P. Relationship between body fat and body mass index: differences between Indonesians and Dutch Caucasians. *Eur J Clin Nutr.* 1998;52:779–783.
251. Gallagher D, Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, Murgatroyd PR, Sakamoto Y. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:694–701.
252. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:690–693.
253. Rabenbergh M, Scheidt-Nave C, Busch MA, Rieckmann N, Hintzpeter B, Mensink GB. Vitamin D status among adults in Germany—results from the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1). *BMC Public Health.* 2015;15:641.
254. Janssen HC, Emmelot-Vonk MH, Verhaar HJ, van der Schouw YT. Determinants of vitamin D status in healthy men and women aged 40–80 years. *Maturitas.* 2013;74:79–83.
255. Hagenau T, Vest R, Gissel TN, Poulsen CS, Erlandsen M, Mosekilde L, et al. Global vitamin D levels in relation to age, gender, skin pigmentation and latitude: an ecologic meta-regression analysis. *Osteoporos Int.* 2009;20:133–140.
256. Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, Burckhardt P, Dawson-Hughes B, Eisman JA, et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int.* 2009;20:1807–1820.
257. Hilger J, Friedel A, Herr R, Rausch T, Roos F, Wahl DA, et al. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br J Nutr.* 2014;111:23–45.
258. Schleicher RL, Sternberg MR, Looker AC, Yetley EA, Lacher DA, Sempos CT, et al. National estimates of serum total 25-hydroxyvitamin D and metabolite concentrations measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the US pop during 2007–2010. *J Nutr.* 2016;146:1051–1061.
259. Sarafin K, Durazo-Arvizu R, Tian L, Phinney KW, Tai S, Camara JE, et al. Standardizing 25-hydroxyvitamin D values from the Canadian Health Measures Survey. *Am J Clin Nutr.* 2015;102:1044–1050.
260. Cashman KD, Dowling KG, Skrabakova Z, Gonzalez-Gross M, Valtuena J, De Henauw S, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr.* 2016;103:1033–1044.
261. Holick MF. Vitamin D deficiency in 2010: health benefits of vitamin D and sunlight: a D-bate. *Nat Rev Endocrinol.* 2011;7:73–75.
262. Manios Y, Moschonis G, Lambrinou CP, Mavrogianni C, Tsigoti L, Hoeller U, et al. Associations of vitamin D status with dietary intakes and physical activity levels among adults from seven European countries: the Food4Me study. *Eur J Nutr.* 2018;57:1357–1368.

263. Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, et al. Determinants of vitamin D status in Caucasian adults: influence of sun exposure, dietary intake, sociodemographic, lifestyle, anthropometric, and genetic factors. *J Invest Dermatol.* 2015;135:378–388.
264. Sato Y, Iwamoto J, Kanoko T, Satoh K. Amelioration of osteoporosis and hypovitaminosis D by sunlight exposure in hospitalized, elderly women with Alzheimer’s disease: a randomized controlled trial. *J Bone Miner Res.* 2005;20:1327–1333.
265. Jones G, Dwyer T. Bone mass in prepubertal children: gender differences and the role of physical activity and sunlight exposure. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:4274–4279.
266. Thuesen B, Husemoen L, Fenger M, Jakobsen J, Schwarz P, Toft U, et al. Determinants of vitamin D status in a general population of Danish adults. *Bone.* 2012;50:605–610.
267. Guzel R, Kozaoglu E, Guler-Uysal F, Soyupak S, Sarpel T. Vitamin D status and bone mineral density of veiled and unveiled Turkish women. *J Women’s Health Gender-Based Med.* 2001;10:765–770.
268. Mishal A. Effects of different dress styles on vitamin D levels in healthy young Jordanian women. *Osteoporos Int.* 2001;12:931–935.
269. Chakhtoura M, Rahme M, Chamoun N, El-Hajj Fuleihan G. Vitamin D in the Middle East and North Africa. *Bone Rep.* 2018;8:135–146.
270. Neale RE, Khan SR, Lucas RM, Waterhouse M, Whiteman DC, Olsen CM. The effect of sunscreen on vitamin D: a review. *Brit J Dermatol.* 219;181:907–915.
271. Kritchevsky SB, Tooze JA, Neiberg RH, Schwartz GG, Hausman DB, Johnson MA, et al. A.B.C.S. Health, 25-Hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, and mortality in black and white older adults: the health ABC study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:4156–4165.
272. Neer RM. The evolutionary significance of vitamin D, skin pigment, and ultraviolet light. *Am J Phys Anthropol.* 1975;43:409–416.
273. Jablonski NG. The evolution of human skin and skin color. *Ann Rev Anthropol.* 2004;33:585–623.
274. Webb AR. Who, what, where and when-influences on cutaneous vitamin D synthesis. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006;92:17–25.
275. Bonilla C, Ness AR, Wills AK, Lawlor DA, Lewis SJ, Davey Smith G. Skin pigmentation, sun exposure and vitamin D levels in children of the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *BMC Public Health.* 2014;14:597.
276. Powe CE, Evans MK, Wenger J, Zonderman AB, Berg AH, Nalls M, et al. Vitamin D-binding protein and vitamin D status of black Americans and white Americans. *N Engl J Med.* 2013;369:1991–2000.
277. Ponchon G, DeLuca HF. The role of the liver in the metabolism of vitamin D. *J Clin Invest.* 1969;48:1273–1279.
278. Ponchon G, Kennan AL, DeLuca HF. “Activation” of vitamin D by the liver. *J Clin Invest.* 1969;48:2032–2037.
279. Bouillon R, Pauwels S. The vitamin D-binding protein. In: Feldman D, Pike WJ, Bouillon R, Giovannucci E, Goltzman D, Hewison M (Eds.), *Vitamin D, Volume 1: Biochemistry, Physiology and Diagnostics.* Elsevier, 2018.
280. Bouillon R, Schuit F, Antonio L, Rastinejad F. Vitamin D binding protein: a historic overview. *Front Endocrinol. (Lausanne).* 2019;10:910.
281. Fisher L, Fisher A. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007;5:513–520.
282. Arteh J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci.* 2010;55:2624–2628.
283. Konstantakis C, Tselekouni P, Kalafateli M, Triantos C. Vitamin D deficiency in patients with liver cirrhosis. *Ann Gastroenterol.* 2016;29:297–306.
284. Malham M, Jorgensen SP, Ott P, Agnholt J, Vilstrup H, Borre M, JDahlerup JF. Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than aetiology. *World J Gastroenterol.* 2011;17:922–925.
285. Heaf JG. Hepatic Osteodystrophy. *Scand J Gastroenterol.* 1985;20(9):1035–1040.
286. Barchetta I, Carotti S, Labbadia G, Gentilucci UV, Muda AO, Angelico F, et al. Liver vitamin D receptor, CYP2R1, and CYP27A1 expression: relationship with liver histology and vitamin D3 levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis or hepatitis C virus. *Hepatology* 2012;56:2180–2187.
287. Stokes CS, Volmer DA, Grunhage F, Lammert F. Vitamin D in chronic liver disease. *Liver Int.* 2013;33:338–352.
288. Costa Silva M, Erotides Silva T, de Alentar ML, Honorio Coelho MS, Wildner LM, Bazzo ML, et al. Factors associated with 25-hydroxyvitamin D levels in patients with liver cirrhosis. *Ann Hepatol.* 2015;14:99–107.
289. White P, Cooke N. The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein. *Trends Endocrinol Metab.* 2000;11:320–327.

290. Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: the importance of vitamin D status in chronic liver disease. *J Hepatol.* 2012;57:897–909.
291. Miroliaee A, Nasiri-Toosi M, Khalilzadeh O, Esteghamati A, Abdollahi A, Mazloumi M. Disturbances of parathyroid hormone-vitamin D axis in noncholestatic chronic liver disease: a cross-sectional study. *Hepatol Int.* 2010;4:634–640.
292. Corey RL, Whitaker MD, Crowell MD, Keddis MT, Aqel B, Balan V, et al. Vitamin D deficiency, parathyroid hormone levels, and bone disease among patients with end-stage liver disease and normal serum creatinine awaiting liver transplantation. *Clin Transplant.* 2014;28:579–584.
293. Wiese RJ, Uhland-Smith A, Ross TK, Prael JM, DeLuca HF. Up-regulation of the vitamin D receptor in response to 1,25-dihydroxyvitamin D₃ results from ligand-induced stabilization. *J Biol Chem.* 1992;267:20082–20086.
294. Dusso AS, Tokumoto M. Defective renal maintenance of the vitamin D endocrine system impairs vitamin D renoprotection: a downward spiral in kidney disease. *Kidney Int.* 2011;79:715–729.
295. Jean G, Souberbielle JC, Chazo C. Vitamin D in chronic kidney disease and dialysis patients. *Nutrients.* 2017;9: 328.
296. Guessous I, McClellan W, Kleinbaum D, Vaccarino V, Zoller O, Theler JM, et al. Swiss Survey on Salt, Comparisons of serum vitamin D levels, status, and determinants in populations with and without chronic kidney disease not requiring renal dialysis: a 24-hour urine collection population-based study. *J Ren Nutr.* 2014;24:303–312.
297. Kim SM, Choi HJ, Lee JP, Kim DK, Oh YK, Kim YS, et al. Prevalence of vitamin D deficiency and effects of supplementation with cholecalciferol in patients with chronic kidney disease. *J Ren Nutr.* 2014;24:20–25.
298. Melamed ML, Astor B, Michos ED, Hostetter TH, Powe NR, Muntner P. 25-hydroxyvitamin D levels, race, and the progression of kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20:2631–2639.
299. Agarwal R, Georgianos PI. Con: Nutritional vitamin D replacement in chronic kidney disease and end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31:706–713.
300. Goldsmith DJ. Pro: Should we correct vitamin D deficiency/insufficiency in chronic kidney disease patients with inactive forms of vitamin D or just treat them with active vitamin D forms? *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31:698–705.
301. Levin A, Bakris GL, Molitch M, Smulders M, Tian J, Williams LA, et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int.* 2007;71:31–38.
302. Lee SW, Russell J, Avioli LV. 25-hydroxycholecalciferol to 1,25-dihydroxycholecalciferol: conversion impaired by systemic metabolic acidosis. *Science.* 1977;195:994–996.
303. Hsu CH, Patel SR, Young EW, Vanholder R. Effects of purine derivatives on calcitriol metabolism in rats. *Am J Physiol.* 1991;260:F596–F601.
304. Vanholder R, Patel S, Hsu CH. Effect of uric acid on plasma levels of 1,25(OH)₂D in renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 1993;4:1035–1038.
305. Bosworth CR, Levin G, Robinson-Cohen C, Hoofnagle AN, Ruzinski J, Young B, et al. The serum 24,25-dihydroxyvitamin D concentration, a marker of vitamin D catabolism, is reduced in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2012;82:693–700.
306. Waldron JL, Ashby HL, Cornes MP, Bechervaise J, Razavi C, Thomas OL, et al. Vitamin D: a negative acute phase reactant. *J Clin Pathol.* 2013;66:620–622.
307. Saraf R, Morton SM, Camargo CA Jr., Grant CC. Global summary of maternal and newborn vitamin D status - a systematic review. *Matern Child Nutr.* 2016;12:647–668.
308. Christesen HT, Elvander C, Lamont RF, Jorgensen JS. The impact of vitamin D in pregnancy on extraskeletal health in children: a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2012;91:1368–1380.
309. Christesen HT, Falkenberg T, Lamont RF, Jorgensen JS. The impact of vitamin D on pregnancy: a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2012;91:1357–1367.
310. Urrutia RP, Thorp JM. Vitamin D in pregnancy: current concepts. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2012;24:57–64.
311. Aghajafari F, Nagulesapillai T, Ronksley PE, Tough SC, O’Beirne M, Rabi DM. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ.* 2013;346:f1169.
312. Harvey NC, Holroyd C, Ntani G, Javaid K, Cooper P, Moon R, et al. Vitamin D supplementation in pregnancy: a systematic review. *Health Technol Assess.* 2014;18:1–190.
313. Amegah AK, Klevor MK, Wagner CL. Maternal vitamin D insufficiency and risk of adverse pregnancy and birth outcomes: a systematic review and metaanalysis of longitudinal studies. *PLoS ONE.* 2017;12:e0173605.

314. Curtis EM, Moon RJ, Harvey NC, Cooper C. Maternal vitamin D supplementation during pregnancy. *Br Med Bull.* 2018;126:57–77.
315. Heijboer AC, Blankenstein MA, Kema IP, Buijs MM. Accuracy of 6 routine 25-hydroxyvitamin D assays: influence of vitamin D binding protein concentration. *Clin Chem.* 2012;58:543–548.
316. Tsuprykov O, Buse C, Skoblo R, Haq A, Hocher B. Reference intervals for measured and calculated free 25-hydroxyvitamin D in normal pregnancy. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018;181:80–87.
317. Tsuprykov O, Chen X, Hocher CF, Skoblo R, Lianghong Y, Hocher B. Why should we measure free 25(OH) vitamin D? *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018;180:87–104.
318. Ahn J, Yu K, Stolzenberg-Solomon R, Simon KC, McCullough ML, L. Gallicchio L, et al. Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet.* 2010;19:2739–2745.
319. Dickinson JL, Perera DI, van der Mei AF, Ponsonby AL, Polanowski AM, Thomson RJ, et al. Past environmental sun exposure and risk of multiple sclerosis: a role for the Cdx-2 Vitamin D receptor variant in this interaction. *Mult Scler.* 2009;15:563–570.
320. Orton SM, Morris AP, Herrera BM, Ramagopalan SV, Lincoln MR, Chao MJ, et al. Evidence for genetic regulation of vitamin D status in twins with multiple sclerosis. *Am J Clin Nutr.* 2008;88:441–447.
321. Shea MK, Benjamin EJ, Dupuis J, Massaro JM, Jacques PF, D’Agostino RBSr., et al. Genetic and non-genetic correlates of vitamins K and D. *Eur J Clin Nutr.* 2009;63:458–464.
322. Bahrami A, Sadeghnia HR, Tabatabaeizadeh SA, Bahrami-Taghanaki H, Behboodi N, Esmaeili H, et al. Genetic and epigenetic factors influencing vitamin D status. *J Cell Physiol.* 2018;233:4033–4043.
323. Braithwaite VS, Jones KS, Schoenmakers I, Silver M, Prentice A, Hennig BJ. Vitamin D binding protein genotype is associated with plasma 25OHD concentration in West African children. *Bone.* 2015;74:166–170.
324. Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem Sci.* 2004;29:664–673.
325. Wang TJ, Zhang F, Richards JB, Kestenbaum B, van Meurs JB, Berry D, et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genomewide association study. *Lancet.* 2010;376:180–188.
326. Lips P. Relative value of 25(OH)D and 1,25(OH)₂D measurements. *J Bone Miner Res.* 2007;22:1668–1671.
327. Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Stuck AE, Staehelin HB, Orav EJ, et al. Prevention of nonvertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med.* 2009;169:551–561.
328. Murad MH, Elamin KB, Abu Elnour NO, Elamin MB, Alkatib AA, Fatourehchi MM, et al. Clinical review: the effect of vitamin D on falls: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:2997–3006.
329. Su Z, Narla SN, Zhu Y. 25-Hydroxyvitamin D: analysis and clinical application, *Clin Chim Acta.* 2014;433:200–205.
330. Bikle DD. Vitamin D Assays. *Front Horm Res.* 2018;50:14–30.
331. Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol.* 2009;19:73–78.
332. Gil A, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: classic and novel actions. *Ann Nutr Metab.* 2018;72:87–95.
333. Wallace AM, Gibson S, de la Hunty A, Lamberg-Allardt C, Ashwell M. Measurement of 25-hydroxyvitamin D in the clinical laboratory: current procedures, performance characteristics and limitations. *Steroids.* 2010;75:477–488.
334. Altieri B, Cavalier E, Bhattoa HP, Perez-Lopez FR, Lopez-Baena MT, Perez-Roncero GR, et al. Vitamin D testing: advantages and limits of the current assays. *Eur J Clin Nutr.* 2020;74:231–247.
335. Rezayi M, Ghayour-Mobarhan M, Tavakoly Sany SB, Fani M, Avan A, Pasdar Z, et al. A comparison of analytical methods for measuring concentrations of 25-hydroxy vitamin D in biological samples. *Anal Methods.* 2018;10:5599–5612.
336. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Guidelines for preventing and treating vitamin D deficiency and insufficiency revisited. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:1153–1158.
337. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB ed. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium. The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
338. Binkley N, Krueger D, Cowgill CS, Plum L, Lake E, Hansen KE, et al. Assay variation confounds the diagnosis of hypovitaminosis D: a call for standardization. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:3152–3157.
339. Sempos CT, Durazo-Arvizu RA, Binkley N, Jones J, Merkel JM, Carter GD. Developing vitamin D dietary guidelines and the lack of 25-hydroxyvitamin D assay standardization: The ever-present past. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;164:115–119.

340. Sempos CT, Vesper HW, Phinney KW, Thienpont LM, Coates PM, Vitamin D Standardization Program (VDSP). Vitamin, Vitamin D status as an international issue: national surveys and the problem of standardization, *Scand J Clin Lab Invest.* 2012;Suppl243:32–40.
341. Stepman HC, Vanderroost A, Van Uytvanghe K, Thienpont LM. Candidate reference measurement procedures for serum 25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 by using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem.* 2011;57:441–448.
342. Tai SS, Bedner M, Phinney KW. Development of a candidate reference measurement procedure for the determination of 25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 in human serum using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chem.* 2010;82:1942–1948.
343. Stepman HCM, Vanderroost A, Van Uytvanghe K, Thienpont LM. Candidate reference measurement procedures for serum 25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 by using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem.* 2011;57:441–448.
344. Mineva EM, Schleicher RL, Chaudhary-Webb M, Maw KL, Botelho JC, Vesper HW, et al. A candidate reference measurement procedure for quantifying serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D(3) and 25-hydroxyvitamin D(2) using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 2015;407:5615–5624.
345. Binkley N, Sempos CT. D.S.P. Vitamin, Standardizing vitamin D assays: the way forward. *J Bone Miner Res.* 2014;29:1709–1714.
346. Sempos CT, Betz JM, Camara JE, Carter GD, Cavalier E, Clarke MW, et al. General steps to standardize the laboratory measurement of serum total 25-hydroxyvitamin D. *J AOAC Int.* 2017;100:1230–1233.
347. Stöckl D, Sluss PM, Thienpont LM. Specifications for trueness and precision of a reference measurement system for serum/plasma 25-hydroxyvitamin D analysis. *Clin Chim Acta.* 2009;408:8–13.
348. Depreter B, Heijboer AC, Langlois MR. Accuracy of three automated 25- hydroxyvitamin D assays in hemodialysis patients. *Clin Chim Acta.* 2013;415:255–260.
349. Cavalier E, Lukas P, Bekaert AC, Carlisi A, Le Goff C, Delanaye P, et al. Analytical and clinical validation of the new Abbot Architect 25 (OH)D assay: fit for purpose? *Clin Chem Lab Med.* 2017;55:378–384.
350. Cavalier E, Lukas P, Crine Y, Peeters S, Carlisi A, Le Goff C, et al. Evaluation of automated immunoassays for 25 (OH)-vitamin D determination in different critical populations before and after standardization of the assays. *Clin Chim Acta.* 2014;431:60–65.
351. Moreau E, Bacher S, Mery S, Le Goff C, Piga N, Vogeser M, et al. Performance characteristics of the VIDAS(R) 25-OH Vitamin D Total assay - comparison with four immunoassays and two liquid chromatographytandem mass spectrometry methods in a multicentric study. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54:45–53.
352. Rousseau AF, P. Damas P, M. Janssens M, S. Kalin S, D. Ledoux D, C. Le Goff C, et al. Critical care and vitamin D status assessment: what about immunoassays and calculated free 25OH-D? *Clin Chim Acta.* 2014;437:43–47.
353. Shu I, Pina-Oviedo S, Quiroga-Garza G, Meng QH, Wang P. Influence of vitamin D2 percentage on accuracy of 4 commercial total 25-hydroxyvitamin D assays. *Clin Chem.* 2013;59:1273–1275.
354. Binkley N, Gemar D, Engelke J, Gangnon R, Ramamurthy R, Krueger D, et al. Evaluation of ergocalciferol or cholecalciferol dosing, 1,600 IU daily or 50,000 IU monthly in older adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:981–988.
355. Cashman KD, Hayes A, Galvin K, Merkel J, Jones G, Kaufmann M, et al. Significance of serum 24,25-dihydroxyvitamin D in the assessment of vitamin D status: a doubleedged sword? *Clin Chem.* 2015;61:636–645.
356. Carter GD, Jones JC, Shannon J, Williams EL, Jones G, Kaufmann M, et al. 25-Hydroxyvitamin D assays: potential interference from other circulating vitamin D metabolites. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;164:134–138.
357. Phinney KW, Sempos CT, Tai SS, Camara JE, Wise SA, Eckfeldt JH, et al. Baseline assessment of 25-hydroxyvitamin D reference material and proficiency testing/external quality assurance material commutability: a vitamin D standardization program study. *J AOAC Int.* 2017;100:1288–1293.
358. Wise SA, Phinney KW, Tai SS, Camara JE, Myers GL, Durazo-Arvizu R, et al. Baseline assessment of 25-hydroxyvitamin D assay performance: a vitamin D standardization program (VDSP) interlaboratory comparison study. *J AOAC Int.* 2017;100:1244–1252.
359. Beard JA, BeardenA, Striker R. Vitamin D and the anti-viral state. *J Clin Virol.* 2011;50:194–200.
360. Hewison M. An update on vitamin D and human immunity. *Clin Endocrinol.* 2012;76:315–325.
361. Greiller CL, Martineau AR. Modulation of the immune response to respiratory viruses by vitamin D. *Nutrients.* 2015;7:4240–4270.
362. Wei R, Christakos S. Mechanisms Underlying the Regulation of Innate and Adaptive Immunity by Vitamin D. *Nutrients.* 2015;7: 8251–8260.

363. Coussens AK. The role of UV radiation and vitamin D in the seasonality and outcomes of infectious disease. *Photochem Photobiol Sci.* 2017;16:314–338.
364. Lang PO, Aspinall R. Vitamin D Status and the Host Resistance to Infections: What It Is Currently (Not) Understood *Clin Ther.* 2017;39:930–945.
365. Gruber-Bzura BM. Vitamin D and Influenza-Prevention or Therapy? *Int J Mol Sci.* 2018;19:2419.
366. Rondanelli M, Miccono A, Lamburghini S, Avanzato I, Riva A, Allegrini P, et al. Self-Care for Common Colds: The Pivotal Role of Vitamin D, Vitamin C, Zinc, and Echinacea in Three Main Immune Interactive Clusters (Physical Barriers, Innate and Adaptive Immunity) Involved during an Episode of Common Colds-Practical Advice on Dosages and on the Time to Take These Nutrients/Botanicals in order to Prevent or Treat Common Colds. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018;2018:5813095.
367. Gombart AF, Pierre A, Maggini S. A review of micronutrients and the immune system-working in harmony to reduce the risk of infection. *Nutrients.* 2020;12:236.
368. Schwalfenberg GK. A review of the critical role of vitamin D in the functioning of the immune system and the clinical implications of vitamin D deficiency. *Mol Nutr Food Res.* 2011;55:96–108.
369. Kast JI, McFarlan AJ, Globinska A, Sokolowska M, Wawrzyniak P, Sanak M, et al. Respiratory syncytial virus infection influences tight junction integrity. *Clin Exp Immunol.* 2017;190:351–359.
370. Chen Y, Leng K, Lu Y, Wen L, Qi Y, Gao W, et al. Epidemiological features and time-series analysis of influenza incidence in urban and rural areas of Shenyang, China, 2010–2018. *Epidemiol Infect.* 2020;148:e29.
371. Rossi GA, Fanous H, Colin AA. Viral strategies predisposing to respiratory bacterial superinfections. *Pediatr Pulmonol.* 2020;55:1061-1073.
372. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science.* 2006;311(5768):1770–1773.
373. Adams JS, Ren S, Liu PT, Chun RF, Lagishetty V, Gombart AF, et al. Vitamin d-directed rheostatic regulation of monocyte antibacterial responses. *J Immunol.* 2009;182:4289–4295.
374. Laaksi I. Vitamin D and respiratory infection in adults. *Proc Nutr Soc.* 2012;71:90–97.
375. Herr C, Shaykhiev R, Bals R. The role of cathelicidin and defensins in pulmonary inflammatory diseases. *Expert Opin Biol Ther.* 2007;7:1449–1461.
376. Agier J, Efenberger M, Brzezinska-Blaszczyk E. Cathelicidin impact on inflammatory cells. *Cent Eur J Immunol.* 2015;40:225–235.
377. Barlow PG, Svoboda P, Mackellar A, Nash AA, York IA, Pohl J, et al. Antiviral activity and increased host defense against influenza infection elicited by the human cathelicidin LL-37. *PLoS ONE.* 2011;6:e25333.
378. Zhao Y, Ran Z, Jiang Q, Hu N, Yu B, Zhu L, et al. Vitamin D Alleviates Rotavirus Infection through a MicroRNA-155-5p Mediated Regulation of the TBK1/IRF3 Signaling Pathway In Vivo and In Vitro. *Int J Mol Sci.* 2019;20:3562.
379. Martinez-Moreno J, Hernandez JC, Urcuqui-Inchima S. Effect of high doses of vitamin D supplementation on dengue virus replication, Toll-like receptor expression, and cytokine profiles on dendritic cells. *Mol Cell Biochem.* 2020;464:169–180.
380. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395:497-506.
381. Sharifi A, Vahedi H, Nedjat S, Rafiei H, Hosseinzadeh-Attar MJ. Effect of single-dose injection of vitamin D on immune cytokines in ulcerative colitis patients: A randomized placebo-controlled trial. *APMIS.* 2019;127:681–687.
382. Cantorna MT. Mechanisms underlying the effect of vitamin D on the immune system. *Proc Nutr Soc.* 2010;69:286–289.
383. Lemire JM, Adams JS, Kermani-Arab V, Bakke AC, Sakai R, Jordan SC. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 suppresses human T helper/inducer lymphocyte activity in vitro. *J Immunol.* 1985;134:3032–3035.
384. Cantorna MT, Snyder L, Lin YD, Yang L. Vitamin D and 1,25(OH)2D regulation of T cells. *Nutrients.* 2015;7:3011–3021.
385. Jeffery LE, Burke F, Mura M, Zheng Y, Qureshi OS, Hewison M, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *J Immunol.* 2009;183:5458–5467.
386. Vasarhelyi B, Satori A, Olajos F, Szabo A, Beko G. Low vitamin D levels among patients at Semmelweis University: Retrospective analysis during a one-year period. *Orv Hetil.* 2011;152:1272–1277.
387. Novel, C.P.E.R.E. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2020;41:145–151.
388. MacLaughlin J, Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest.* 1985;76:1536–1538.
389. Grober U, Kisters K. Influence of drugs on vitamin D and calcium metabolism. *Dermatoendocrinol.* 2012;4:158–166.

390. Lei GS, Zhang C, Cheng BH, Lee CH. Mechanisms of Action of Vitamin D as Supplemental Therapy for Pneumocystis Pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61: e01226-17.
391. Mousavi S, Bereswill S, Heimesaat MM. Immunomodulatory and Antimicrobial Effects of Vitamin C. *Eur J Microbiol Immunol.* 2019;9:73–79.
392. Colunga Biancatelli RML, Berrill M, Marik PE. The antiviral properties of vitamin C. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2020;18:99–101.
393. Wimalawansa SJ. Global epidemic of coronavirus–COVID-19: What we can do to minimize risks. *Eur J Biomed Pharm Sci.* 2020;7:432–438.
394. Bhattoa HP, Bettembuk P, Ganacharya S, Balogh A. Prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in community dwelling postmenopausal Hungarian women. *Osteoporos Int.* 2004;15:447–451.
395. Kanis JA, Melton LJ 3rd, Christiansen C, Johnston CC, Khaltaev N. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1994;9:1137–1141.
396. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev.* 2001;22:477–501.
397. <http://www.met.hu>
398. Bhattoa HP, Nagy E, More C, Kappelmayer J, Balogh A, Kalina E, et al. Prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in healthy Hungarian men over 50 years of age. The HunMen Study. *Osteoporos Int.* 2013;24:179–186.
399. Fardellone P, Sebert JL, Bouraya M, Bonidan O, Leclercq G, Doutrelot C, et al. Evaluation of the calcium content of diet by frequential self-questionnaire. *Rev Rhum Mal Osteoartic.* 1991;58:99–103.
400. FRAX® Fracture Risk Assessment Tool. <http://www.sheffield.ac.uk/FRAX/tool.jsp?country027>
401. Bhattoa HP, Wamwaki J, Kalina E, Foldesi R, Balogh A, Antal-Szalmás P. Serum sclerostin levels in healthy men over 50 years of age. *J Bone Miner Metab.* 2013;31:579-84.
402. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, et al. Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2006;145:247–254.
403. Kulcsar-Jakab E, Petho Z, Pap Z, Kalina E, Foldesi R, Balogh A, et al. Cystatin C as a potential predictor of osteoprotegerin levels in healthy men, a cross-sectional, observational study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2015;16:227.
404. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med.* 2012;367:20–9.
405. Teo BW, Sabanayagam C, Liao J, Toh QC, Saw S, Wong TY, et al. Comparison of CKD-EPI cystatin C and creatinine glomerular filtration rate estimation equations in Asian Indians. *Int J Nephrol.* 2014;74:6497.
406. More C, Bettembuk P, Bhattoa HP, Balogh A. The effects of pregnancy and lactation on bone mineral density. *Osteoporos Int.* 2001;12:732-737.
407. Vasikaran SD, Bhattoa HP, Eastell R, Heijboer AC, Jørgensen NR, Makris K, et al. Harmonization of commercial assays for PINP; the way forward. *Osteoporos Int.* 2020;31:409–412.
408. Bhattoa HP, Cavalier E, Eastell R, Heijboer AC, Jørgensen NR, Makris K, et al. Analytical considerations and plans to standardize or harmonize assays for the reference bone turnover markers PINP and β -CTX in blood. *Clin Chim Acta.* 2021;515:16-20.
409. Cavalier E, Eastell R, Rye Jørgensen N, Makris K, Tournis S, Vasikaran S, et al. IFCC-IOF Joint Committee for Bone Metabolism (C-BM). A multicenter study to evaluate harmonization of assays for N-terminal propeptide of type I procollagen (PINP): a report from the IFCC-IOF Joint Committee for Bone Metabolism. *Clin Chem Lab Med.* 2019;57:1546–1555.
410. Bhattoa HP, Bettembuk P, Balogh A, Szegedi G, Kiss E. The effect of one year transdermal estrogen replacement therapy on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in osteopenic postmenopausal systemic lupus erythematosus patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Osteoporosis Int* 2004;15:396–404.
411. Hochberg M. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1725–1734.
412. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum.* 1992;35:630–640.
413. Gladman DD, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang M, Urowitz M, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1996;39:363–369.
414. Bhattoa HP, Onyeka U, Kalina E, Balogh A, Paragh G, Antal-Szalmás P, Kaplar M. Bone metabolism and the 10-year probability of hip fracture and a major osteoporotic fracture using the country-specific FRAX

- algorithm in men over 50 years of age with type 2 diabetes mellitus: a case-control study. *Clin Rheumatol*. 2013;32:1161-1167.
415. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int*. 2005;16:713–716.
 416. Petho Z, Kulcsar-Jakab E, Kalina E, Balogh A, Pusztai A, Gulyas K, et al. Vitamin D status in men with psoriatic arthritis: a case-control study. *Osteoporos Int*. 2015;26:1965–70.
 417. Prevoo ML, Van't Hof MA, Kuper HH, Van Leeuwen MA, Van de Putte LB, Van Riel PL. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts: development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1995;38:44–48.
 418. Fredriksson T, Pettersson U. Severe psoriasis—oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica*. 1978;157:238–244.
 419. Petho Z, Kalina E, Pap Z, Hodosi K, Falcsik R, Balogh R, Szekanecz Z, Bhattoa HP. Characterization of bone metabolism in hungarian psoriatic arthritis patients: a case–control study. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2021;22:70.
 420. Taylor W, Gladman D, Helliwell P, Marchesoni A, Mease P, Mielants H. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum*. 2006;54:2665–2673.
 421. Garrett S, Jenkinson T, Kennedy LG, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the bath ankylosing spondylitis disease activity index. *J Rheumatol*. 1994;21:2286–2291.
 422. Westergren A. Diagnostic tests: the erythrocyte sedimentation rate range and limitations of the technique. *Triangle; The Sandoz Journal of Medical Science*. 1957;3:20–25.
 423. Juhasz B, Gulyas K, Horvath A, Petho Z, Bhattoa HP, Vancsa A, et al. Comparison of peripheral quantitative computed tomography forearm bone density versus DXA in rheumatoid arthritis patients and controls. *Osteoporos Int*. 2017;28:1271–1277.
 424. Jakab E, Kalina E, Petho Z, Pap Z, Balogh A, Grant WB, Bhattoa HP. Standardizing 25-hydroxyvitamin D data from the HunMen cohort. *Osteoporos Int* 2017;28:1653-1657.
 425. www.deqas.org
 426. Carter GD. Accuracy of 25-hydroxyvitamin D assays: confronting the issues. *Curr Drug Targets*. 2011;12:19–28.
 427. Cavalier E, Fraser CG, Bhattoa HP, Heijboer AC, Makris K, Ulmer CZ, et al. Analytical Performance Specifications for 25-Hydroxyvitamin D Examinations. On Behalf Of The Ifcc-Iof Committee For Bone Metabolism. *Nutrients*. 2021;13:431.
 428. Carobene A, Strollo M, Jonker N, Barla G, Bartlett WA, Sandberg S, et al. Sample collections from healthy volunteers for biological variation estimates' update: A new project undertaken by the working group on biological variation established by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med*. 2016;54:1599–1608.
 429. Røraas T, Petersen PH, Sandberg S. Confidence intervals and power calculations for within-person biological variation: Effect of analytical imprecision, number of replicates, number of samples, and number of individuals. *Clin Chem*. 2012;58:1306–1313.
 430. Lewis JG, Elder PA. Serum 25-OH Vitamin D2 and D3 are stable under exaggerated conditions. *Clin Chem*. 2008;54:1931–1932.
 431. Carobene A, Guerra E, Locatelli M, Cucchiara V, Briganti A, Aarsand AK, et al. Biological variation estimates for prostate specific antigen from the European Biological Variation Study; consequences for diagnosis and monitoring of prostate cancer. *Clin Chim Acta*. 2018;486:185–191.
 432. Carobene A, Aarsand AK, Guerra E, Bartlett WA, Coşkun A, Díaz-Garzón J, et al. European biological variation study (EUBIVAS): Within-And between-subject biological variation data for 15 frequently measured proteins. *Clin Chem*. 2019;65:1031–1041.
 433. Cavalier E, Lukas P, Bekaert AC, Peeters S, Le Goff C, Yayo E., et al. Analytical and clinical evaluation of the new Fujirebio Lumipulse® G non-competitive assay for 25(OH)-vitamin D and three immunoassays for 25(OH)D in healthy subjects, osteoporotic patients, third trimester pregnant women, healthy African subjects, hemodialyzed and intensive care patients. *Clin Chem Lab Med*. 2015;54:1347-1355.
 434. CDC Vitamin D Standardization-Certification Program (CDC VDSCP) Certified Total 25-Hydroxyvitamin D Procedures. Available online: https://www.cdc.gov/labstandards/pdf/hs/CDC_Certified_Vitamin_D_Procedures-508.pdf
 435. Grant WB, Fakhoury HMA, Karras SN, Al Anouti F, Bhattoa HP. Variations in 25-Hydroxyvitamin D in Countries from the Middle East and Europe: The Roles of UVB Exposure and Diet. *Nutrients*. 2019;11:2065.
 436. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food Balance Sheets. Available online: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS>.

437. FAO. Global Food Losses and Food Waste—Extent, Causes and Prevention; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2011; p. 29.
438. Armstrong B, Doll R. Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries, with special reference to dietary practices. *Int J Cancer*. 1975;15:617–631.
439. Kuchuk NO, van Schoor NM, Pluijm SM, Chines A, Lips P. Vitamin D status, parathyroid function, bone turnover, and BMD in postmenopausal women with osteoporosis: Global perspective. *J Bone Miner Res*. 2009;24:693–701.
440. Dafterdar R, Al-Fayoumi M, Saadeddin S, Khan R, Alothaim A, Hasanato R, et al. Vitamin D immunoassay systems: A comparison. *Br J Biomed Sci*. 2014;71:127–130.
441. Sadat-Ali M, Al-Elq AH, Al-Shaikh IH, Al-Turki HA, Al-Ali AK, Al-Othman AA. Assessment of low vitamin D among Saudi Arabians. Did we overshoot the runway? *Saudi Med J*. 2014;35:1243–1249.
442. Garland, C.F.; Cuomo, R.E.; Gorham, E.D.; Zeng, K.; Mohr, S.B. Cloud cover-adjusted ultraviolet B irradiance and pancreatic cancer incidence in 172 countries. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016;155:257–263.
443. Grant WB, Lahore H, McDonnell SL, Baggerly CA, French CB, Aliano JL, et al. Evidence that Vitamin D Supplementation Could Reduce Risk of Influenza and COVID-19 Infections and Deaths. *Nutrients*. 2020;12:988.
444. Anonymous. NIH Consensus conference. Optimal calcium intake. NIH Consensus Development Panel on Optimal Calcium Intake. *JAMA* 1994;272:1942–1948.
445. Jørgensen NR, Møllehave LT, Hansen YBL, Quardon N, Lylloff L, Linneberg A. Comparison of two automated assays of BTM (CTX and PINP) and reference intervals in a Danish population. *Osteoporos Int*. 2017;28:2103–2113.
446. Morovat A, Catchpole A, Meurisse A, Carlisi A, Bekaert AC, Rousselle O, et al. IDS iSYS automated intact procollagen-1-Nterminus pro-peptide assay: method evaluation and reference intervals in adults and children. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51:2009–2018.
447. Wheeler G, Goodrum C, Tuck SP, Datta HK, van Laar JM. Method-specific differences in beta-isomerised carboxy-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen and procollagen type I amino-terminal propeptide using two fully automated immunoassays. *Clin Chem Lab Med*. 2014;52:e135–e138.
448. Cavalier E, Lukas P, Carlisi A, Gadisseur R, Delanaye P. Aminoterminal propeptide of type I procollagen (PINP) in chronic kidney disease patients: the assay matters. *Clin Chim Acta*. 2013;425:117–118.
449. Pludowski P, Grant WB, Bhattoa HP, Bayer M, Povoroznyuk V, Rudenka E, et al. Vitamin D status in Central Europe. *Int J Endocrinol*. 2014;2014:589587.
450. Aarsand AK, Diaz-Garzon J, Fernandez-Calle P, Guerra E, Locatelli M, Bartlett WA, et al. The EuBIVAS: Within-And between-subject biological variation data for electrolytes, lipids, urea, uric acid, total protein, total bilirubin, direct bilirubin, and glucose. *Clin Chem*. 2018;64:1380–1393.
451. Cochran WG. The distribution of the largest of a set of estimated variances as a fraction of their total. *Ann Hum Genet*. 1941;11:47–52.
452. Golbahar J, Al-Saffar N, Altayab Diab D, Al-Othman S, Darwish A, Al-Kafaji G. Predictors of vitamin D deficiency and insufficiency in adult Bahrainis: A cross-sectional study. *Public Health Nutr*. 2014;17:732–738.
453. Heidari B, Mirghassemi MBH. Seasonal variations in serum vitamin D according to age and sex. *Casp J Intern Med*. 2012;3:535–540.
454. Nouri Saeidlou S, Vahabzadeh D, Babaei F, Vahabzadeh Z. Seasonal variations of vitamin D and its relation to lipid profile in Iranian children and adults. *J Health Popul Nutr*. 2017;36:21.
455. Saliba W, Rennert HS, Kershenbaum A, Rennert G. Serum 25(OH)D concentrations in sunny Israel. *Osteoporos Int*. 2012;23:687–694.
456. Bonelli P, Buonocore R, Aloe R, Lippi G. Blood Sampling Seasonality as an Important Preanalytical Factor for Assessment of Vitamin D Status. *J Med Biochem*. 2016;35:113–117.
457. Gannage-Yared MH, Helou E, Zaraket V, Abi Akl S, Antonios L, Moussalli ML, et al. Serum 25 hydroxyvitamin D in employees of a Middle Eastern university hospital. *J Endocrinol Investig*. 2014;37:541–546.
458. Bettencourt A, Boleixa D, Reis J, Oliveira JC, Mendonca D, Costa PP, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in a healthy population from the North of Portugal. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018;175:97–101.
459. Al-Dabhani K, Tsilidis KK, Murphy N, Ward HA, Elliott P, Riboli E, et al—Prevalence of vitamin D deficiency and association with metabolic syndrome in a Qatari population. *Nutr Diabetes* 2017;7:e263.
460. Niculescu DA, Capatina CAM, Dusceac R, Caragheorgheopol A, Ghemigian A, Poiana C. Seasonal variation of serum vitamin D levels in Romania. *Arch Osteoporos*. 2017;12:113.
461. Kanan RM, Al Saleh YM, Fakhoury HM, Adham M, Aljaser S, Tamimi W. Year-round vitamin D deficiency among Saudi female out-patients. *Public Health Nutr*. 2013;16:544–548.

462. Klingberg E, Olerod G, Konar J, Petzold M, Hammarsten O. Seasonal variations in serum 25-hydroxy vitamin D levels in a Swedish cohort. *Endocrine*. 2015;49:800–808.
463. Merlo C, Trummeler M, Essig S, Zeller A. Vitamin D Deficiency in Unselected Patients from Swiss Primary Care: A Cross-Sectional Study in Two Seasons. *PLoS ONE*. 2015;10:e0138613.
464. Sayed-Hassan R, Abazid N, Alourfi Z. Relationship between 25-hydroxyvitamin D concentrations, serum calcium, and parathyroid hormone in apparently healthy Syrian people. *Arch Osteoporos*. 2014;9:176.
465. Cinar N, Harmanci A, Yildiz BO, Bayraktar M. Vitamin D status and seasonal changes in plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in office workers in Ankara, Turkey. *Eur J Intern Med*. 2014;25197–201.
466. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323:1061-1069.
467. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: A retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395:1054-1062.
468. He Q, Gu Y, Zhang M. Spatiotemporal trends of PM2.5 concentrations in central China from 2003 to 2018 based on MAIAC-derived high-resolution data. *Environ Int*. 2020;137:105536.
469. Longhin E, Holme JA, Gualtieri M, Camatini M, Ovrevik J. Milan winter fine particulate matter (wPM2.5) induces IL-6 and IL-8 synthesis in human bronchial BEAS-2B cells, but specifically impairs IL-8 release. *Toxicol In Vitro*. 2018;52:365–373.
470. Autier P, Mullie P, Macacu A, Dragomir M, Boniol M, Coppens K, et al. Effect of vitamin D supplementation on non-skeletal disorders: A systematic review of meta-analyses and randomised trials. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017;5:986–1004.
471. Rejnmark L, Bislev LS, Cashman KD, Eiriksdottir G, Gaksch M, Grubler M, et al. Non-skeletal health effects of vitamin D supplementation: A systematic review on findings from meta-analyses summarizing trial data. *PLoS ONE*. 2017;12:e0180512.
472. Heaney RP. Guidelines for optimizing design and analysis of clinical studies of nutrient effects. *Nutr Rev*. 2014;72:48–54.
473. Grant WB, Boucher BJ, Bhattoa HP, Lahore H. Why vitamin D clinical trials should be based on 25-hydroxyvitamin D concentrations. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018;177:266–269.
474. Manson JE, Cook NR, Lee IM, ChristenW, Bassuk SS, Mora S, et al. Vitamin D Supplements and Prevention of Cancer and Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2019;380:33–44.
475. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Sheehan P, Ware JH, Knowler WC, Aroda VR, et al. Vitamin D Supplementation and Prevention of Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2019;381:520–530.
476. Lu D, Zhang J, Ma C, Yue Y, Zou Z, Yu C, et al. Link between community-acquired pneumonia and vitamin D levels in older patients. *Z Gerontol Geriatr*. 2018;51:435–439.
477. Zhou YF, Luo BA, Qin LL. The association between vitamin D deficiency and community-acquired pneumonia: A meta-analysis of observational studies. *Medicine*. 2019;98:e17252.
478. Manion M, Hullsiek KH, Wilson EMP, Rhame F, Kojic E, Gibson D, et al. Vitamin D deficiency is associated with IL-6 levels and monocyte activation in HIV-infected persons. *PLoS ONE*. 2017;12:e0175517.
479. Dalvi SM, Ramraje NN, Patil VW, Hegde R, Yeram N. Study of IL-6 and vitamin D3 in patients of pulmonary tuberculosis. *Indian J Tuberc*. 2019;66:337–345.
480. Poudel-Tandukar K, Poudel KC, Jimba M, Kobayashi J, Johnson CA, Palmer PH. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and C-reactive protein in persons with human immunodeficiency virus infection. *AIDS Res Hum Retrovir* 2013;29:528–534.
481. Zhang M, Gao Y, Tian L, Zheng L, Wang X, Liu W, et al. Association of serum 25-hydroxyvitamin D3 with adipokines and inflammatory marker in persons with prediabetes mellitus. *Clin Chim Acta*. 2017;468:152–158.
482. Zhou W, Mao S, Wu L, Yu J. Association Between Vitamin D Status and Sepsis. *Clin Lab*. 2018;64:451–460.
483. Li Y, Ding S. Serum 25-Hydroxyvitamin D and the risk of mortality in adult patients with Sepsis: A meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2020;20:189.
484. Thickett DR, Moromizato T, Litonjua AA, Amrein K Quraishi SA, Lee-Sarwar KA, et al. Association between prehospital vitamin D status and incident acute respiratory failure in critically ill patients: A retrospective cohort study. *BMJ Open Respir Res* 2015;2:e000074.
485. Dancer RC, Parekh D, Lax S, D'Souza V, Zheng S, Bassford CR, et al. Vitamin D deficiency contributes directly to the acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Thorax*. 2015;70:617–624.
486. Hou YM, Zhao JY, Liu HY. Impact of serum 25-hydroxyvitamin D on cardiac prognosis in Chinese patients with heart failure. *Br J Nutr*. 2019;122:162–171.

487. Aparicio-Ugarriza R, Salguero D, Mohammed YN, Ferri-Guerra J, Baskaran DJ, Mirabbasi SA, et al. Is vitamin D deficiency related to a higher risk of hospitalization and mortality in veterans with heart failure? *Maturitas*. 2020;132:30–34.
488. McDonnell SL, Baggerly LL, French CB, Heaney RP, Gorham ED, Holick MF, et al. Incidence rate of type 2 diabetes is >50% lower in GrassrootsHealth cohort with median serum 25-hydroxyvitamin D of 41 ng/mL than in NHANES cohort with median of 22 ng/mL. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016;155:239–244.
489. Kroll MH, Bi C, Garber CC, Kaufman HW, Liu D, Caston-Balderrama A, et al. Temporal relationship between vitamin D status and parathyroid hormone in the United States. *PLoS ONE*. 2015;10:e0118108.
490. Xie Z, Xia W, Zhang Z, Wu W, Lu C, Tao S, et al. Prevalence of Vitamin D Inadequacy Among Chinese Postmenopausal Women: A Nationwide, Multicenter, Cross-Sectional Study. *Front Endocrinol*. 2019;9:782.
491. Brot C, Jorgensen NR, Sorensen OH. The influence of smoking on vitamin D status and calcium metabolism. *Eur J Clin Nutr*. 1999;53:920–926.
492. Pilz S, Marz W, Cashman KD, Kiely ME, Whiting SJ, Holick MF, et al. Rationale and Plan for Vitamin D Food Fortification: A Review and Guidance Paper. *Front Endocrinol*. 2018;9:373.
493. Chen X, Wu W, Wang L, Shi Y, Shen F, Gu X, et al. Association Between 25-Hydroxyvitamin D and Epicardial Adipose Tissue in Chinese Non-Obese Patients with Type 2 Diabetes. *Med Sci Monit*. 2017;23:4304–4311.
494. Lucato P, Solmi M, Maggi S, Bertocco A, Bano G, Trevisan C, et al. Low vitamin D levels increase the risk of type 2 diabetes in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Maturitas*. 2017;100:8–15.
495. Qi D, Nie XL, Wu S, Cai J. Vitamin D and hypertension: Prospective study and meta-analysis. *PLoS ONE*. 2017;12:e0174298.
496. Gholami F, Moradi G, Zareei B, Rasouli MA, Nikkhoo B, Roshani D, et al. The association between circulating 25-hydroxyvitamin D and cardiovascular diseases: A meta-analysis of prospective cohort studies. *BMC Cardiovasc Disord*. 2019;19:248.
497. Zhu M, Wang T, Wang C, Ji Y. The association between vitamin D and COPD risk, severity, and exacerbation: An updated systematic review and meta-analysis. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2016;11:2597–2607.
498. Hoseinzadeh E, Taha P, Wei C, Godini H, Ashraf GM, Taghavi M, et al. The impact of air pollutants, UV exposure and geographic location on vitamin D deficiency. *Food Chem Toxicol*. 2018;113:241–254.
499. Slow S, Epton M, Storer M, Thiessen R, Lim S, Wong J, et al. Effect of adjunctive single high-dose vitamin D3 on outcome of community-acquired pneumonia in hospitalised adults: The VIDCAPS randomised controlled trial. *Sci Rep*. 2018;8:13829.
500. Mirzavandi F, Talenezhad N, Razmpoosh E, Nadjarzadeh A, Mozaffari-Khosravi H. The effect of intramuscular megadose of vitamin D injections on E-selectin, CRP and biochemical parameters in vitamin D-deficient patients with type-2 diabetes mellitus: A randomized controlled trial. *Complement Ther Med*. 2020;49:102346.
501. Amrein K, Papinutti A, Mathew E, Vila G, Parekh D. Vitamin D and critical illness: What endocrinology can learn from intensive care and vice versa. *Endocr Connect*. 2018;7:R304–R315.
502. Han JE, Jones JL, Tangpricha V, Brown MA, Brown LAS, Hao L, et al. High Dose Vitamin D Administration in Ventilated Intensive Care Unit Patients: A Pilot Double Blind Randomized Controlled Trial *J Clin Transl Endocrinol*. 2016;4:59–65.
503. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018.;138:271–281.
504. Henley SJ, Gallaway S, Singh SD, O'Neil ME, Buchanan Lunsford N, Momin B, et al. Lung Cancer Among Women in the United States. *J Womens Health*. 2018;27:1307–1316.
505. Malinovsky A, Masoero M, Bellocchia M, Ciuffreda A, Solidoro P, Mattei A, et al. Severe vitamin D deficiency is associated with frequent exacerbations and hospitalization in COPD patients. *Respir Res*. 2014;15:131.
506. Kim HJ, Jang JG, Hong KS, Park JK, Choi EY. Relationship between serum vitamin D concentrations and clinical outcome of community-acquired pneumonia. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2015;19:729–734.
507. Naghshtabrizi B, Borzouei S, Bigvand P, Seifrabiei MA. Evaluation of the Relationship between Serum 25-Hydroxy Vitamin D and Hypertension in Hamadan, Iran-A Case Control Study. *J Clin Diagn Res*. 2017;11:LC01–LC03.
508. Valcour A, Blocki F, Hawkins DM, Rao SD. Effects of age and serum 25-OH-vitamin D on serum parathyroid hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97: 3989–3995.
509. Christensen MH, Lien EA, Hustad S, Almas B. Seasonal and age-related differences in serum 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D and parathyroid hormone in patients from Western Norway. *Scand J Clin Lab Invest*. 2010;70:281–286.

510. Nam HH, Ison MG. Respiratory syncytial virus infection in adults. *BMJ*. 2019;366:15021.
511. Paynter S, Ware RS, Sly PD, Weinstein P, Williams G. Respiratory syncytial virus seasonality in tropical Australia. *Aust N Z J Public Health* 2015;39:8–10.
512. Hope-Simpson RE. The role of season in the epidemiology of influenza. *J Hyg.* 1981;86:35–47.
513. Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, Holick MF, Grant WB, Madronich S, et al. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect.* 2006;134:1129–1140.
514. Feng X, Guo T, Wang Y, Kang D, Che X, Zhang H, et al. The vitamin D status and its effects on life quality among the elderly in Jinan, China. *Arch Gerontol Geriatr.* 2016;62:26–29.
515. Nassar MS, Bakhrebah MA, Meo SA, Alsuabeyl MS, Zaher WA. Global seasonal occurrence of middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22:3913–3918.
516. Moura FE, Perdigo AC, Siqueira MM. Seasonality of influenza in the tropics: A distinct pattern in northeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81:180–183.
517. Arboleda JF, Urcuqui-Inchima S. Vitamin D-Regulated MicroRNAs: Are They Protective Factors against Dengue Virus Infection? *Adv Virol.* 2016;2016:1016840.
518. Villamor E, Villar LA, Lozano A, Herrera V, Herran OF. Vitamin D serostatus and dengue fever progression to dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome. *Epidemiol Infect.* 2017;145:2961–2970.
519. Fan HZ, Zhang R, Tian T, Zhong YL, Wu MP, Xie CN, et al. CYP24A1 genetic variants in the vitamin D metabolic pathway are involved in the outcomes of hepatitis C virus infection among high-risk Chinese population. *Int J Infect Dis.* 2019;84:80–88.
520. Hu YC, Wang WW, Jiang WY, Li CQ, Guo JC, Xun YH. Low vitamin D levels are associated with high viral loads in patients with chronic hepatitis B: A systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol.* 2019;19:84.
521. Brice DC, Toth Z, Diamond G. LL-37 disrupts the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus envelope and inhibits infection in oral epithelial cells. *Antivir Res.* 2018;158:25–33.
522. Alvarez N, Aguilar-Jimenez W, Rugeles MT. The Potential Protective Role of Vitamin D Supplementation on HIV-1 Infection. *Front Immunol.* 2019;10:2291.
523. Gui B, Chen Q, Hu C, Zhu C, He G. Effects of calcitriol (1, 25-dihydroxy-vitamin D3) on the inflammatory response induced by H9N2 influenza virus infection in human lung A549 epithelial cells and in mice. *Virol J.* 2017;14:10.
524. Currie SM, Findlay EG, McHugh BJ, Mackellar A, Man T, Macmillan D, et al. The human cathelicidin LL-37 has antiviral activity against respiratory syncytial virus. *PLoS ONE.* 2013;8:e73659.
525. Laplana M, Royo JL, Fibla J. Vitamin D Receptor polymorphisms and risk of enveloped virus infection: A meta-analysis. *Gene.* 2018;678:384–394.
526. Bucak IH, Ozturk AB, Almis H, Cevik MO, Tekin M, Konca C, et al. Is there a relationship between low vitamin D and rotaviral diarrhea? *Pediatr Int.* 2016;58:270–273.
527. Theron M, Huang KJ, Chen YW, Liu CC, Lei HY. A probable role for IFN-gamma in the development of a lung immunopathology in SARS. *Cytokine.* 2005;32:30–38.
528. Wong CK, Lam CW, Wu AK, Ip WK, Lee NL, Chan IH, et al. Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clin Exp Immunol.* 2004;136:95–103.
529. Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int.* 1997;7:439–443.
530. Bettica P, Bevilacqua M, Vago T, Norbiato G. High prevalence of hypovitaminosis D among free-living postmenopausal women referred to an osteoporosis outpatient clinic in northern Italy for initial screening. *Osteoporos Int.* 1999;9:226–229.
531. Brot C, Vestergaard P, Kolthoff N, Gram J, Hermann AP, Sorensen OH. Vitamin D status and its adequacy in healthy Danish perimenopausal women: relationships to dietary intake, sun exposure and serum parathyroid hormone. *Br J Nutr.* 2001;86:S97–103.
532. Kauppinen-Makelin R, Tahtela R, Loyttyneimi E, Karkkainen J, Valimaki MJ. A high prevalence of hypovitaminosis D in Finnish medical in- and outpatients. *J Int Med.* 2001;249:559–563.
533. Mezquita-Raya P, Munoz-Torres M, Luna JD, et al. Relation between vitamin D insufficiency, bone density, and bone metabolism in healthy postmenopausal women. *J Bone Miner Res.* 2001;16:1408–1415.
534. Silverberg SJ, Fitzpatrick LA, Bilezikian JP. The role of parathyroid hormone and vitamin D in the pathogenesis of osteoporosis. In: Marcus R, Feldman D, Kesley J, (eds). *Osteoporosis*. San Diego: Academic Press; 1996. p.716–726.
535. Heaney RP, Gallagher JC, Johnston CC, Neer R, Parfitt AM, Whedon GD. Calcium nutrition and bone health in the elderly. *Am J Clin Nutr.* 1982;36:986–1013.
536. Krall EA, Sahyoun N, Tannenbaum S, Dallal GE, Dawson-Hughes B. Effect of vitamin D intake on seasonal variations in parathyroid hormone secretion in postmenopausal women. *N Engl J Med.* 1989;321:1777–1783.

537. Lips P, Netelenbos JC, Jongen MJ, et al. Histomorphometric profile and vitamin D status in patients with femoral neck fracture. *Metab Bone Dis Relat Res.* 1982;4:85–93.
538. Silverberg SJ, Shane E, de la Cruz L, et al. Skeletal disease in primary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res.* 1989;4:283–291.
539. Sahota O, Masud T, San P, Hosking DJ. Vitamin D insufficiency increases bone turnover markers and enhances bone loss at the hip in patients with established vertebral osteoporosis. *Clin Endocrinol. (Oxf).* 1999;51:217–221.
540. Marcus R, Madvig P, Young G. Age-related changes in parathyroid hormone and parathyroid hormone action in normal humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 1984;58:223–230.
541. Ooms ME, Lips P, Roos JC, et al. Vitamin D status and sex hormone binding globulin: determinants of bone turnover and bone mineral density in elderly women. *J Bone Miner Res.* 1995;10:1177–1784.
542. McAuley KA, Jones S, Lewis-Barned NJ, Manning P, Goulding A. Low vitamin D status is common among elderly Dunedin women. *N Z Med J.* 1997;110:275–277.
543. Holick MF. Vitamin D—new horizons for the 21st century. *Am J Clin Nutr.* 1994;60:619–630.
544. Pye SR, Devakumar V, Boonen S, et al. Influence of lifestyle factors on quantitative heel ultrasound measurements in middle-aged and elderly men. *Calcif Tissue Int.* 2010;86:211–219.
545. McBeth J, Pye SR, O'Neill TW, Macfarlane GJ, Tajar A, Bartfai G, et al. Musculoskeletal pain is associated with very low levels of vitamin D in men: results from the European Male Ageing Study. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:1448–1452.
546. van derWielen RP, Lowik MR, van den Berg H, et al. Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *Lancet.* 1995;346:207–210.
547. Sherman SS, Hollis BW, Tobin JD. Vitamin D status and related parameters in a healthy population: the effects of age, sex, and season. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;71:405–413.
548. Dawson-Hughes B, Harris SS, Dallal GE. Plasma calcidiol, season, and serum parathyroid hormone concentrations in healthy elderly men and women. *Am J Clin Nutr.* 1997;65:67–71.
549. Jacques PF, Felson DT, Tucker KL, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and its determinants in an elderly population sample. *Am J Clin Nutr.* 1997;66:929–936.
550. Lamberg-Allardt CJ, Outila TA, Karkkainen MU, Rita HJ, Valsta LM. Vitamin D deficiency and bone health in healthy adults in Finland: could this be a concern in other parts of Europe? *J Bone Miner Res.* 2001;16:2066–2073.
551. Looker AC, Dawson-Hughes B, Calvo MS, Gunter EW, Sahyoun NR. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. *Bone.* 2002;30:771–777.
552. Kudlacek S, Schneider B, Peterlik M, et al. Assessment of vitamin D and calcium status in healthy adult Austrians. *Eur J Clin Invest.* 2003;33:323–331.
553. Szulc P, Munoz F, Marchand F, Chapuy MC, Delmas PD. Role of vitamin D and parathyroid hormone in the regulation of bone turnover and bone mass in men: the MINOS study. *Calcif Tissue Int.* 2003;73:520–530.
554. Maggio D, Cherubini A, Lauretani F, et al. 25(OH)D Serum levels decline with age earlier in women than in men and less efficiently prevent compensatory hyperparathyroidism in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2005;60:1414–1419.
555. Saquib N, von Muhlen D, Garland CF, Barrett-Connor E. Serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, and bone mineral density in men: the Rancho Bernardo study. *Osteoporos Int.* 2006;17:1734–1741.
556. Hannan MT, Litman HJ, Araujo AB, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and bone mineral density in a racially and ethnically diverse group of men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:40–46.
557. Araujo AB, Travison TG, Esche GR, Holick MF, Chen TC, McKinlay JB. Serum 25-hydroxyvitamin D and bone mineral density among Hispanic men. *Osteoporos Int.* 2009;20:245–255.
558. Khosla S, Melton LJ 3rd, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Klee GG, Riggs BL. Relationship of serum sex steroid levels and bone turnover markers with bone mineral density in men and women: a key role for bioavailable estrogen. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:2266–2274.
559. Ross PD, Knowlton W. Rapid bone loss is associated with increased levels of biochemical markers. *J Bone Miner Res.* 1998;3:297–302.
560. Nguyen TV, Meier C, Center JR, Eisman JA, Seibel MJ. Bone turnover in elderly men: relationships to change in bone mineral density. *BMC Musculoskelet Disord.* 2007;8:13.
561. Bruyere O, De Cock C, Mottet C, Neuprez A, Malaise O, Reginster JY. Low dietary calcium in European postmenopausal osteoporotic women. *Public Health Nutr.* 2009;12:111–114.
562. Adams JS, Hewison M. Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:471–478.
563. http://hvg.hu/egeszseg/20110302_tiz_koltseges_betegseg

564. Cejka D, Jäger-Lansky A, Kieweg H, Weber M, Bieglmayer C, Haider DG, et al. Sclerostin serum levels correlate positively with bone mineral density and microarchitecture in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27:226–230.
565. Robling AG, Niziolek PJ, Baldrige LA, Condon KW, Allen MR, Alam I, et al. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *J Biol Chem*. 2008;283:5866–5875.
566. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997;89:309–319.
567. Onyia JE, Miles RR, Yang X, Halladay DL, Hale J, Glasebrook A, et al. In vivo demonstration that parathyroid hormone 1–38 inhibits the expression of osteoprotegerin in bone with the kinetics of an immediate early gene. *J Bone Miner Res*. 2000;15:863–871.
568. Lee SK, Lorenzo JA. Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonucleic acid expression in murine bone marrow cultures: correlation with osteoclast-like cell formation. *Endocrinology*. 1999;140:3552–3561.
569. Horwood NJ, Elliott J, Martin TJ, Gillespie MT. Osteotropic agents regulate the expression of osteoclast differentiation factor and osteoprotegerin in osteoblastic stromal cells. *Endocrinology*. 1998;139:4743–4746.
570. Murakami T, Yamamoto M, Ono K, Nishikawa M, Nagata N, Motoyoshi K, et al. Transforming growth factor- β 1 increases mRNA levels of osteoclastogenesis inhibitory factor in osteoblastic/stromal cells and inhibits the survival of murine osteoclast-like cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998;252:747–752.
571. Shaarawy M, Fathy SA, Mehany NL, Hindy OW. Circulating levels of osteoprotegerin and receptor activator of NF- κ B ligand in patients with chronic renal failure. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45:1498–503.
572. Cross NA, Hillman LS, Allen S, Krause GF, Vieira NE. Calcium homeostasis and bone metabolism during pregnancy, lactation, and post-weaning: a longitudinal study. *Am J Clin Nutr*. 1995;61:514–523.
573. Seki K, Makimura N, Mitsui C, Hirata J, Nagata I. Calcium-regulation hormones and osteocalcin levels during pregnancy: a longitudinal study. *Am J Obstet Gynecol*. 1991;164:1248–1252.
574. Rodin A, Duncan A, Quarero HWP, Pistofidis G, Mashiter G, Whitaker K, et al. Serum concentrations of alkaline phosphatase isoenzymes and osteocalcin in normal pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;68:1123–1127.
575. Karlsson R, Eden S, Eriksson L, von-Schoultz B. Osteocalcin 24-h profiles during normal pregnancy. *Gynecol. Obstet Invest*. 1992;34:197–201.
576. Gallacher SJ, Fraser WD, Owens OJ. Changes in calciotropic hormones and biochemical markers of bone turnover in normal human pregnancy. *Eur J Endocrinol*. 1994;131:369–374.
577. Yamaga A, Taga M, Minaguchi H, Sato K. Changes in bone mass as determined by ultrasound and biochemical markers of bone turnover during pregnancy and puerperium: a longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:752–756.
578. Davis OK, Hawkins DS, Rubin LP, Posillico JT, Brown EM, Schiff I. Serum parathyroid hormone (PTH) in pregnant women determined by an immunoradiometric assay for intact PTH. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988;67:850–852.
579. Gertner JM, Coustan DR, Kliger AS, Mallette LE, Ravin N, Broadus AE. Pregnancy as a state of physiologic absorptive hypercalciuria. *Am J Med*. 1986;81:451–456.
580. Saggese G, Baroncelli GI, Bertelloni S, Cipolloni C. Intact parathyroid hormone levels during pregnancy, in healthy term neonates and in hypocalcemic pre-term infants. *Acta Paediatr Scand*. 1991;80:36–41.
581. Frolich A, Rusnicki M, Fischer-Rasmussen W, Olofsson K. Serum concentrations of intact parathyroid hormone during late human pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1991;42:85–87.
582. Seely EW, Brown EM, Demaggio DM, Weldon DK, Graves SW. A prospective study of calciotropic hormones in pregnancy and postpartum: reciprocal changes in serum intact parathyroid hormones and 1,25-dihydroxyvitamin D. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;176:214–217.
583. Thiebaud D, Janisch S, Koelbl H, Hanzal E, Jacquet AF, Leodolter S, et al. Direct evidence of a parathyroid related protein gradient between the mother and the new-born in humans. *Bone Miner*. 1993;23:213–321.
584. Cross NA, Hillman LS, Allen SH, Krause GF. Changes in bone mineral density and markers of bone remodelling during lactation and post-weaning in women consuming high amounts of calcium. *J Bone Miner Res*. 1995;10:1312–1320.
585. Naylor KE, Iqbal P, Fledelius RB. The effect of pregnancy on bone mineral density and bone turnover. *Am J Bone Miner Res*. 2000;15:129–137.
586. Sowers MF, Eyre D, Hollis BW, Randolph JF, Shapiro B, Jannausch ML, et al. Biochemical markers of bone turnovers in lactating and non-lactating postpartum mothers. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80:2210–2216.
587. Grill V, Hillary J, Ho PM, Law FM, MacIssaq RJ, et al. Parathyroid hormone-related protein: a possible endocrine function in lactation. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1992; 37:405–410.

588. Kovacs CS, Chik CL. Hyperprolactinemia caused by lactation and pituitary adenomas is associated with altered serum calcium, phosphate, parathyroid hormone (PTH), and PTH-related peptide levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80:3036-3042.
589. Specker BL, Tsang R, Ho ML. Changes in calcium homeostasis over the first year postpartum: effect of lactation and weaning. *Obstet Gynecol.* 1991;78:56-62.
590. Affinito P, Tommaselli GA, di Carlo C, Guida F, Nappi C. Changes in bone mineral density and calcium metabolism in breast feeding women: a 1 year follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:2314-2318.
591. Zinaman MJ, Hickey M, Tomai TP, Albertson BD, Simon JA. Calcium metabolism in postpartum lactation: the effect of estrogen status. *Fertil Steril.* 1990;54:465-469.
592. Krebs NF, Reidinger CJ, Robertson AD, Brenner M. Bone mineral density changes during lactation: maternal, dietary and biochemical correlates. *Am J Clin Nutr.* 1997;82:323-330.
593. Chan GM, Slater P, N. Ronald N, Roberts CC, Thomas MR, Folland D, et al. Bone mineral status of lactating mothers of different ages. *Am J Obstet Gynecol.* 1982;144:483-491.
594. Chubb SA, Mandelt CD, Vasikaran SD. Comparison of results from commercial assays for plasma CTX: The need for harmonization. *Clin Biochem.* 2015;48:519-524.
595. Kung AW, Chan TM, Lau CS, Wong RW, Yeung SS. Osteopenia in young hypogonadal women with systemic lupus erythematosus receiving chronic steroid therapy: a randomized controlled trial comparing calcitriol and hormonal replacement therapy. *Rheumatol. (Oxford).* 1999;38:1239-1244.
596. Lukert BP, Johnson BE, Robinson RG. Estrogen and progesterone replacement therapy reduces glucocorticoid-induced bone loss. *J Bone Miner Res.* 1992;7:1063-1069.
597. Hall GM, Daniels M, Doyle DV, Spector TD. Effects of hormone replacement therapy on bone mass in rheumatoid arthritis patients with and without steroids. *Arthritis Rheum.* 1994;37:1499-1505.
598. Delmas PD. Markers of bone turnover for monitoring treatment of osteoporosis with antiresorptive drugs. *Osteoporos Int.* 2002;11:S66-76.
599. Mok CC, Lau CS, Ho CT, Lee KW, Mok MY, Wong RW. Safety of hormonal replacement therapy in postmenopausal patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol.* 1998;27:342-349.
600. Kreidstein S, Urowitz MB, Gladman DD, Gough J. Hormone replacement therapy in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1997;24:2149-2152.
601. Grady D, Herrington D, Bittner V, Blumental R, Davidson M, Hlatky M, et al. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: heart and estrogen/progestin replacement study follow-up (HERS II). *JAMA.* 2002;288:49-57.
602. Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E, Cauley J, Grady D, Haskell W, et al. Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: heart and estrogen/progestin replacement study follow-up (HERS II). *JAMA.* 2002;288:58-66.
603. Genazzani AR, Monteleone P, Giannini A, Simoncini T, et al. Hormone therapy in the postmenopausal years: considering benefits and risks in clinical practice. *Human Reprod Update.* 2021;27:1115-1150.
604. Post MS, Christella M, Thomassen LG, Van Der Mooren MJ, Van Baal WM, Rosing J, et al. Effect of oral and transdermal estrogen replacement therapy on hemostatic variables associated with venous thrombosis: a randomized, placebo-controlled study in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:1116-1121.
605. Urowitz MB, Gladman DD. Accelerated atheroma in lupus—background. *Lupus.* 2000;9:161-165.
606. Petri M. Exogenous estrogens in systemic lupus erythematosus: oral contraceptives and hormone replacement therapy. *Lupus.* 2001;10:222-226.
607. Petri MA, Lahita RG, van Vollenhoven RF, Merrill JT, Schiff M, Ginzler EM, et al. Effects of prasterone on corticosteroid requirements of women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2002;46:1820-1829.
608. Ettinger B, Black DM, Mitlak BH, Knickerbocker RH, Nickelsen T, Genant HK, et al. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene. Results from a 3-year randomized clinical trial. *JAMA.* 1999;282:637-645.
609. Mehta J, King JM, Manson JA. Risks, Benefits, and Treatment Modalities of Menopausal Hormone Therapy. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:564781.
610. de Liefde II, van der Klift M, de Laet CE, van Daele PLA, Hofman A, Pols HAP. Bone mineral density and fracture risk in type-2 diabetes mellitus: the Rotterdam Study. *Osteoporos Int.* 2005;16:1713-1720.
611. Strotmeyer ES, Cauley JA, Schwartz AV, Nevitt MC, Resnick HE, Bauer DC, et al. Nontraumatic fracture risk with diabetes mellitus and impaired fasting glucose in older white and black adults: the health, aging, and body composition study. *Arch Intern Med.* 2005;165:1612-1617.
612. Schwartz AV, Vittinghoff E, Bauer DC, Hillier TA, Strotmeyer ES, Ensrud KE, et al. Association of BMD and FRAX score with risk of fracture in older adults with type 2 diabetes. *JAMA.* 2011;305:2184-2192.

613. Janghorbani M, Van Dam RM, Willett WC, Hu FB. Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am J Epidemiol.* 2007;166:495–505.
614. Krakauer JC, McKenna MJ, Buderer NF, Rao DS, Whitehouse FW, Parfitt AM. Bone loss and bone turnover in diabetes. *Diabetes.* 1995;44:775–782.
615. Dobnig H, Piswanger-Solkner JC, Roth M. Type 2 diabetes mellitus in nursing home patients: effects on bone turnover, bone mass, and fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:3355–3363.
616. Achemlal L, Tellal S, Rkiouak F. Bone metabolism in male patients with type 2 diabetes. *Clin Rheumatol.* 2005;24:493–496.
617. Lipscombe LL, Jamal SA, Booth GL, Hawker GA. The risk of hip fractures in older individuals with diabetes: a populationbased study. *Diabetes Care.* 2007;30:835–841.
618. Schwartz AV, Hillier TA, Sellmeyer DE, Resnick HE, Gregg E, Ensrud KE, et al. Older women with diabetes have a higher risk of falls: a prospective study. *Diabetes Care* 2002;25:1749–1754.
619. Hofbauer LC, Brueck CC, Singh SK, Dobnig H. Osteoporosis in patients with diabetes mellitus. *J Bone Miner Res.* 2007;22:1317–1328.
620. Petit MA, Paudel ML, Taylor BC. Bone mass and strength in older men with type 2 diabetes: the osteoporotic fractures in men study. *J Bone Miner Res.* 2010;25:285–291.
621. Giangregorio LM, Leslie WD, Lix LM, Johansson H, Oden A, McCloskey E, et al. FRAX underestimates fracture risk in patients with diabetes. *J Bone Miner Res.* 2012;27:301–308.
622. Scragg R, Holdaway I, Singh V, Metcalf P, Baker J, Dryson E. Serum 25-hydroxyvitamin D3 levels decreased in impaired glucose tolerance and diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 1995;27:181–188.
623. Baynes KC, Boucher BJ, Feskens EJ, Kromhout D. Vitamin D, glucose tolerance and insulinaemia in elderly men. *Diabetologia.* 1997;40:344–347.
624. Ford ES, Ajani UA, McGuire LC, Liu S. Concentrations of serum vitamin D and the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care.* 2005;28:1228–1230.
625. Yaturu S, Davis J. Prevalence of decreased vitamin D Levels is high among veterans with diabetes and/or CKD. *ISRN Endocrinol.* 2011;2011:109458.
626. Orgaz-Molina J, Buendía-Eisman CA, Arrabal-Polo MA, Ruiz JC, Arias-Santiago S. Deficiency of serum concentration of 25-hydroxyvitamin D in psoriatic patients: a case-control study. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67:931–938.
627. Orgaz-Molina J, Magro-Checa C, Rosales-Alexander JL, Arrabal-Polo MA, Buendía-Eisman A, Raya-Alvarez E, et al. Association of 25-hydroxyvitamin D serum levels and metabolic parameters in psoriatic patients with and without arthritis. *J Am Acad Dermatol.* 2013;69:938–946.
628. Del Puente A, Esposito A, Parisi A, Attenu M, Montalbano S, Vitiello M, Esposito C, Bertolini N, Foglia F, Costa L, Scarpa R. Osteoporosis and psoriatic arthritis. *J Rheumatol.* 2012;89: 36–38.
629. Borman P, Babaoglu S, Gur G, Bingol S, Bodur H. Bone mineral density and bone turnover in patients with psoriatic arthritis. *Clin Rheumatol.* 2008;27:443–447.
630. Attia EA, Khafagy A, Abdel-Raheem S, Fathi S, Saad AA. Assessment of osteoporosis in psoriasis with and without arthritis: correlation with disease severity. *Int J Dermatol.* 2011;50:30–35.
631. Frediani B, Allegri A, Falsetti P, Storri L, Bisogno S, Baldi F, et al. Bone mineral density in patients with psoriatic arthritis. *J Rheumatol.* 2001;28:138–143.
632. Pedreira PG, Pinheiro MM, Szejnfeld VL. Bone mineral density and body composition in postmenopausal women with psoriasis and psoriatic arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2011;13:R16.
633. Kathuria P, Gordon KB, Silverberg JI. Association of psoriasis and psoriatic arthritis with osteoporosis and pathological fractures. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76(6):1045–1053.e3.
634. Reddy SM, Anandarajah AP, Fisher MC, Mease PJ, Greenberg JD, Kremer JM, et al. Comparative analysis of disease activity measures, use of biologic agents, body mass index, radiographic features, and bone density in psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis patients followed in a large U.S. disease registry. *J Rheumatol.* 2010;37:2566–2572.
635. Nolla JM, Fiter J, Rozadilla A, Gómez-Vaquero C. Bone involvement in psoriatic arthritis. *J Rheumatol.* 2002;29:1108–1109.
636. Riesco M, Manzano F, Font P, García A, Nolla JM. Osteoporosis in psoriatic arthritis: an assessment of densitometry and fragility fractures. *Clin Rheumatol.* 2013;32:1799–1804.
637. Grisar J, Bernecker PM, Aringer M, Redlich K, Sedlak M, Wolozczuk W, et al. Ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis, and reactive arthritis show increased bone resorption, but differ with regard to bone formation. *J Rheumatol.* 2002;29:1430–1436.
638. Harrison BJ, Hutchinson CE, Adams J, Bruce IN, Herrick AL. Assessing periarticular bone mineral density in patients with early psoriatic arthritis or rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2002;61:1007–1011.
639. D'Epiro S, Marocco C, Salvi M, Mattozzi C, Luci C, Macaluso L, et al. Psoriasis and bone mineral density: implications for long-term patients. *J Dermatol.* 2014;41:783–787.

640. Dheda K, Cassim B, Patel N, Mody GM. A comparison of bone mineral density in Indians with psoriatic polyarthritis and healthy Indian volunteers. *Clin Rheumatol*. 2004;23:89.
641. Cortet B, Trouvé MH, Flipo RM. Bone involvement in psoriatic arthritis. *J Rheumatol*. 2002;29:1107–1108.
642. Busquets N, Vaquero CG, Moreno JR, Vilaseca DR, Narváez J, Carmona L, Nolla JM. Bone mineral density status and frequency of osteoporosis and clinical fractures in 155 patients with psoriatic arthritis followed in a university hospital. *Reumatol Clin*. 2014;10:89–93.
643. Kocijan R, Finzel S, Englbrecht M, Engelke K, Rech J, Schett G. Differences in bone structure between rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis patients relative to autoantibody positivity. *Ann Rheum Dis*. 2014;73:2022–2028.
644. Horváth Á, Végh E, Pusztai A, Pethő Z, Hamar A, Czókolyová M, et al. Complex assessment of bone mineral density, fracture risk, vitamin D status, and bone metabolism in Hungarian systemic sclerosis patients. *Arthritis Res Ther*. 2019;21:274.
645. Ogdie A, Harter L, Shin D, Baker J, Takeshita J, Choi HK, et al. The risk of fracture among patients with psoriatic arthritis and psoriasis: a populationbased study. *Ann Rheum Dis*. 2017;76:882–885.
646. Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, Wong JB, King A, Tosteson A. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005–2025. *J Bone Miner Res*. 2007;22:465–475.
647. Del Puente A, Esposito A, Costa L, Benigno C, Del Puente A, Foglia F, et al. Fragility fractures in patients with psoriatic arthritis. *J Rheumatol*. 2015;93:36–39.
648. Marshall LM, Lang TF, Lambert LC, Zmuda JM, Ensrud KE, Orwoll ES. Osteoporotic fractures in men (MrOS) research group. Dimensions and volumetric BMD of the proximal femur and their relation to age among older U.S. men. *J Bone Miner Res*. 2006;21:1197–206.
649. Razek AA, Fouda NS, Elmetwaley N, Elbogdady E. Sonography of the knee joint. *J Ultrasound*. 2009;12:53–60.
650. Razek AA, El-Basyouni SR. Ultrasound of knee osteoarthritis: interobserver agreement and correlation with Western Ontario and McMaster universities osteoarthritis. *Clin Rheumatol*. 2016;35:997–1001.
651. Razek AAKA, Ashmalla GA. Assessment of paraspinal neurogenic tumors with diffusion-weighted MR imaging. *Eur Spine J*. 2018;27:841–846.
652. Razek AAKA, Sherif FM. Diagnostic accuracy of diffusion tensor imaging in differentiating malignant from benign compressed vertebrae. *Neuroradiology*. 2019;61:1291–1296.
653. Szentpetery A, McKenna MJ, Murray BF, Ng CT, Brady JJ, Morrin M, et al. Periarticular bone gain at proximal interphalangeal joints and changes in bone turnover markers in response to tumor necrosis factor inhibitors in rheumatoid and psoriatic arthritis. *J Rheumatol*. 2013;40:653–662.
654. Touma Z, Eder L, Zisman D, Feld J, Chandran V, Rosen CF, et al. Seasonal variation in vitamin D levels in psoriatic arthritis patients from different latitudes and its association with clinical outcomes. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63:1440–1447.
655. Kincse G, Bhattoa PH, Herédi E, Varga J, Szegedi A, Kéri J, Gaál J. Vitamin D3 levels and bone mineral density in patients with psoriasis and/or psoriatic arthritis. *J Dermatol*. 2015;42:679–684.
656. ThienpontLM, Stepman HCM, Vesper HW. Standardization of measurements of 25-hydroxyvitamin D3 and D2. *Scand J Clin Lab Invest*. 2012;Suppl 243:41–49.
657. Cashman KD, Muldowney S, McNulty B, Nugent A, FitzGerald AP, Kiely M, et al. Vitamin D status of Irish adults: findings from the National Adult Nutrition Survey. *Br J Nutr*. 2013;109:1248–1256.
658. Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z, Kiely M, Lamberg-Allardt C, Durazo-Arvizu RA, et al. Standardizing serum 25-hydroxyvitamin D data from four Nordic population samples using the vitamin D standardization program protocols: shedding new light on vitamin D status in Nordic individuals. *Scand J Clin Lab Invest*. 2015;75:549–561.
659. Fraser CG. The 1999 Stockholm Consensus Conference on quality specifications in laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53:837–840.
660. Ceriotti F, Fernandez-Calle P, Klee GG, Nordin G, Sandberg S, Streichert T, et al. Criteria for assigning laboratory measurands to models for analytical performance specifications defined in the 1st EFLM Strategic Conference. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55:189–194.
661. Stamp TCB, Round JM. Seasonal changes in human plasma levels of 25-hydroxyvitamin D. *Nature*. 1974;247:563–565.
662. ISO—ISO 15189:2012—Medical Laboratories—Requirements for Quality and Competence. Available online: <https://www.iso.org/standard/56115.html>
663. Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM). International Vocabulary of Metrology—Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM), 3rd ed. Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM): Paris, France, 2008.
664. Brunel E, Schnitzler M, Foidart-Dessalle M, Souberbielle JC, Cavalier E. A double-blind, placebo controlled, randomized trial to assess the impact of a monthly administration of 50,000 IU of vitamin D3

- for 6 months on serum levels of 25-hydroxyvitamin d in healthy young adults. *Int J Endocrinol.* 2013;2013:652648.
665. Stepman HCM, Thienpont LM. Measurement uncertainty for the analysis of serum 25-hydroxyvitamin D. *Osteoporos Int.* 2010;21:1053.
666. Cavalier E, Rozet E, Gadisseur R, Carlisi A, Monge M, Chapelle J.-P, et al. Measurement uncertainty of 25-OH vitamin D determination with different commercially available kits: Impact on the clinical cut offs. *Osteoporos Int.* 2010;21:1047–1051.
667. College of American Pathologists. Measurement Uncertainty Guide ISO 15189 Accreditation Program. Available online: <https://documents.cap.org/documents/cap15189-accreditation-program-measurement-uncertainty-guide.pdf>
668. ISO-ISO/TS 20914:2019—Medical Laboratories—Practical Guidance for the Estimation of Measurement Uncertainty. Available online: <https://www.iso.org/standard/69445.html>.
669. Durazo-Arvizu R, Ahmed F, Berry J, Cavalier E, Gunter E, Jones G, et al. Estimating uncertainty of target values for deqas serum materials. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2019;188:90–94.
670. Depreter B, Heijboer AC, Langlois MR. Accuracy of three automated 25-hydroxyvitamin D assays in hemodialysis patients. *Clin Chim Acta* 2013;415:255–260.
671. Jablonski NG, Chaplin G. The evolution of human skin coloration. *J Hum Evol.* 2000;39:57–106.
672. Chaplin G. Geographic distribution of environmental factors influencing human skin coloration. *Am J Phys Anthropol.* 2004;125:292–302.
673. Chaplin G, Jablonski NG. The human environment and the vitamin D compromise: Scotland as a case study in human biocultural adaptation and disease susceptibility. *Hum Biol.* 2013;85:529–552.
674. Jablonski NG, Chaplin G. Colloquium paper: human skin pigmentation as an adaptation to UV radiation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:8962–8968.
675. Botros RM, Sabry IM, Abdelbaky RS, Eid YM, Nasr MS, Hendawy LM. Vitamin D deficiency among healthy Egyptian females. *Endocrinol Nutr.* 2015;62:314–321.
676. Mallah EM, Hamad MF, Elmanaseer MA, Qinna NA, Idkaidek NM, Arafat TA, et al. Plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D among Jordanians: Effect of biological and habitual factors on vitamin D status. *BMC Clin Pathol.* 2011;11:8.
677. Gannage-Yared MH, Chemali R, Yaacoub N, Halaby G. Hypovitaminosis D in a sunny country: Relation to lifestyle and bone markers. *J Bone Miner Res.* 2000;15:1856–1862.
678. Darwish H, Zeinoun P, Ghusn H, Khoury B, Tamim H, Khoury SJ. Serum 25-hydroxyvitamin D predicts cognitive performance in adults. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2015;11:2217–2223.
679. Meddeb N, Sahli H, Chahed M, Abdelmoula J, Feki M, Salah H, et al. Vitamin D deficiency in Tunisia. *Osteoporos Int.* 2005;16:180–183.
680. Al Attia HM, Ibrahim MA. The high prevalence of vitamin D inadequacy and dress style of women in the sunny UAE. *Arch Osteoporos.* 2012;7:307–310.
681. Grant WB. A multicountry ecological study of cancer incidence rates in 2008 with respect to various risk-modifying factors. *Nutrients.* 2014;6:163–189.
682. Grant WB. Dietary links to Alzheimer’s disease. *Alz Dis Rev.* 1997;2:42–55.
683. Grant WB. The APOE-epsilon4 allele and Alzheimer disease among African Americans, Hispanics, and whites. *JAMA (J Am Med Assoc).* 1998;280:1662–1663.
684. Luchsinger JA, Tang MX, Shea S, Mayeux R. Caloric intake and the risk of Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2002;59:1258–1263.
685. Rainey-Smith SR, Gu Y, Gardener SL, Doecker JD, Villemagne VL, Brown BM, et al. Mediterranean diet adherence and rate of cerebral Abeta-amyloid accumulation: Data from the Australian Imaging, Biomarkers and Lifestyle Study of Ageing. *Transl Psychiatry* 2018;8:238.
686. Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, Bennett DA, Wilson RS, et al. Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2003;60:940–946.
687. Grant WB. Using Multicountry Ecological and Observational Studies to Determine Dietary Risk Factors for Alzheimer’s Disease. *J Am Coll Nutr.* 2016;35:476–489.
688. Grant WB. Reassessing the role of sugar in the etiology of heart disease. *J Orthomolec Med.* 1998;13:95–104.
689. Johnson RK, Appel LJ, Brands M, Howard BV, Lefevre M, Lustig RH, et al. Dietary sugars intake and cardiovascular health: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2009;120:1011–1020.
690. Moukayed M, Grant WB. Molecular link between vitamin D and cancer prevention. *Nutrients.* 2013;5:3993–4021.
691. Dunlop E, Cunningham J, Sherriff JL, Lucas RM, Greenfield H, Arcot J, et al. Vitamin D(3) and 25-Hydroxyvitamin D(3) Content of Retail White Fish and Eggs in Australia. *Nutrients.* 2017;9:647.

692. Taylor CL, Patterson KY, Roseland JM, Wise SA, Merkel JM, Pehrsson PR, et al. Including food 25-hydroxyvitamin D in intake estimates may reduce the discrepancy between dietary and serum measures of vitamin D status. *J Nutr.* 2014;144:654–659.
693. Jakobsen J, Smith C, Bysted A, Cashman KD. Vitamin D in Wild and Farmed Atlantic Salmon (*Salmo Salar*)-What Do We Know? *Nutrients.* 2019;11:982.
694. Chuang SC, Chen HL, Tseng WT, Wu IC, Hsu CC, Chang HY, et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D and physical performance in older adults: A nationwide study in Taiwan. *Am J Clin Nutr.* 2016;104:1334–1344.
695. Crowe FL, Steur M, Allen NE, Appleby PN, Travis RC, Key TJ. Plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in meat eaters, fish eaters, vegetarians and vegans: Results from the EPIC-Oxford study. *Public Health Nutr.* 2011;14:340–346.
696. Lehmann U, Gjessing HR, Hirche F, Mueller-Belecke A, Gudbrandsen OA, Ueland PM, et al. Efficacy of fish intake on vitamin D status: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2015;102:837–847.
697. Farrell CJ, Martin S, McWhinney B, Straub I, Williams P, Herrmann M. State-of-the-art vitamin D assays: A comparison of automated immunoassays with liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods. *Clin Chem.* 2012;58:531–542.
698. Holmes EW, Garbincius J, McKenna KM. Analytical variability among methods for the measurement of 25-hydroxyvitamin D: Still adding to the noise. *Am J Clin Pathol.* 2013;140:550–560.
699. Hsu SA, Soldo J, Gupta M. Evaluation of two automated immunoassays for 25-OH vitamin D: Comparison against LC-MS/MS. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;136:139–145.
700. Wyness SP, Straseski JA. Performance characteristics of six automated 25-hydroxyvitamin D assays: Mind your 3s and 2s. *Clin Biochem.* 2015;48:1089–1096.
701. <http://www.ifcc.org/ifcc-scientific-division-committees/c-bm>
702. Pludowski P, Holick MF, Grant WB, Konstantynowicz J, Mascarenhas MR, Haq A, et al. Vitamin D supplementation guidelines. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018;175:125–135.
703. Pludowski P, Holick MF, Pilz S, Wagner CL, Hollis BW, Grant WB, et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality—A review of recent evidence. *Autoimmun Rev.* 2013;12:976–989.
704. Grant W.B. Vitamin D and health in the Mediterranean countries. *Hormones.* 2019;18:23–35.
705. McDonnell SL, Baggerly C, French CB, Baggerly LL, Garland CF, Gorham ED, et al. Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations ≥ 40 ng/mL Are Associated with $>65\%$ Lower Cancer Risk: Pooled Analysis of Randomized Trial and Prospective Cohort Study. *PLoS ONE.* 2016;1:e0152441.
706. McDonnell SL, Baggerly CA, French CB, Baggerly LL, Garland CF, Gorham ED, et al. Breast cancer risk markedly lower with serum 25-hydroxyvitamin D concentrations ≥ 60 vs <20 ng/mL (150 vs 50 nmol/L): Pooled analysis of two randomized trials and a prospective cohort. *PLoS ONE.* 2018;13:e0199265.
707. Martineau AR, Jolliffe DA, Hooper RL, Greenberg L, Aloia JF, Bergman P, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: Systematic review and meta-analysis of individual participant data. *BMJ.* 2017;356:i6583.
708. McDonnell SL, Baggerly KA, Baggerly CA, Aliano JL, French CB, Baggerly LL, et al. Maternal 25(OH)D concentrations ≥ 40 ng/mL associated with 60% lower preterm birth risk among general obstetrical patients at an urban medical center. *PLoS ONE.* 2017;12:e0180483.
709. Baig MB, Al-Zahrani KH, Schneider F, Straquadine GS, Mourad M. Food waste posing a serious threat to sustainability in the Kingdom of Saudi Arabia—A systematic review. *Saudi J Biol Sci.* 2019;26:1743–1752.
710. FAO. Reducing Food Losses and Waste in the Near East & North Africa Region; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2014; p. 11.
711. Sabetta JR, DePetrillo P, Cipriani RJ, Smardin J, Burns LA, Landry ML. Serum 25-hydroxyvitamin d and the incidence of acute viral respiratory tract infections in healthy adults. *PLoS ONE.* 2010;5:e11088.
712. Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr.* 2003;77:204–210.
713. van Groningen L, Opdenoordt S, van Sorge A, Telting D, Giesen A, de Boer H. Cholecalciferol loading dose guideline for vitamin D-deficient adults. *Eur J Endocrinol.* 2010;162:805–811.
714. Amir E, Simmons CE, Freedman OC, Dranitsaris G, Cole DE, Vieth R, et al. A phase 2 trial exploring the effects of high-dose (10,000 IU/day) vitamin D(3) in breast cancer patients with bone metastases. *Cancer.* 2010;116:284–291.
715. Charoengam N, Shirvani A, Kalajian TA, Song A, Holick MF. The Effect of Various Doses of Oral Vitamin D3 Supplementation on Gut Microbiota in Healthy Adults: A Randomized, Double-blinded, Dose-response Study. *Anticancer Res.* 2020; 40:551–556.

716. Ekwaru JP, Zwicker JD, Holick MF, Giovannucci E, Veugelers PJ. The importance of body weight for the dose response relationship of oral vitamin D supplementation and serum 25-hydroxyvitamin D in healthy volunteers. *PLoS ONE*. 2014;9:e111265.
717. Shirvani A, Kalajian TA, Song A, Holick MF. Disassociation of Vitamin D's Calcemic Activity and Non-calcemic Genomic Activity and Individual Responsiveness: A Randomized Controlled Double-Blind Clinical Trial. *Sci Rep*. 2019;9:17685.
718. McCullough PJ, Lehrer DS, Amend J. Daily oral dosing of vitamin D3 using 5000 TO 50,000 international units a day in long-term hospitalized patients: Insights from a seven year experience. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019;189:228–239.
719. Howard JE, Meyer RJ. Intoxication with vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*. 1948;8:895–910.
720. Malihi Z, Lawes CMM, Wu Z, Huang Y, Waayer D, Toop L, et al. Monthly high-dose vitamin D supplementation does not increase kidney stone risk or serum calcium: Results from a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2019;109:1578–1587.
721. Cianferotti L, Bertoldo F, Bischoff-Ferrari HA, Bruyere O, Cooper C, Cutolo M, et al. Vitamin D supplementation in the prevention and management of major chronic diseases not related to mineral homeostasis in adults: Research for evidence and a scientific statement from the European society for clinical and economic aspects of osteoporosis and osteoarthritis (ESCEO). *Endocrine*. 2017;56:245–261.
722. Amrein K, Scherkl M, Hoffmann M, Neuwersch-Sommeregger S, Kostenberger M, Tmava Berisha A, et al. Vitamin D deficiency 2.0: An update on the current status worldwide. *Eur J Clin Nutr*. 2020;74:1498–1513.
723. Grant WB, Al Anouti F, Moukayed M. Targeted 25-hydroxyvitamin D concentration measurements and vitamin D3 supplementation can have important patient and public health benefits. *Eur J Clin Nutr*. 2020;74:366–376.
724. Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, Garland FC. Vitamin D for cancer prevention: Global perspective. *Ann Epidemiol*. 2009;19:468–483.
725. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: What clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:53–58.
726. Grant WB, Karras SN, Bischoff-Ferrari HA, Annweiler C, Boucher BJ, Juzeniene A, et al. Do studies reporting 'U'-shaped serum 25-hydroxyvitamin D-health outcome relationships reflect adverse effects? *Derm Endocrinol*. 2016;8:e1187349.
727. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:1911–1930.
728. Takács I, Dank M, Majnik J, Nagy G, Szabó A, Szabó B, et al. Magyarországi konszenzusajánlás a D-vitamin szerepéről a betegségek megelőzésében és kezelésében. *Orv Hetil*. 2022;163(15):575–584.
729. Veugelers PJ, Pham TM, Ekwaru JP. Optimal Vitamin D Supplementation Doses that Minimize the Risk for Both Low and High Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations in the General Population. *Nutrients*. 2015;7:10189–10208.
730. Grant WB, Boucher BJ. A Review of the Potential Benefits of Increasing Vitamin D Status in Mongolian Adults through Food Fortification and Vitamin D Supplementation. *Nutrients*. 2019;11:2452.
731. Camargo CA Jr, Ganmaa D, Frazier AL, Kirchberg FF, Stuart JJ, Kleinman K, et al. Randomized trial of vitamin D supplementation and risk of acute respiratory infection in Mongolia. *Pediatrics*. 2012;130:e561–e567.
732. Uwitonze AM, Razzaque MS. Role of Magnesium in Vitamin D Activation and Function. *J Am Osteopath Assoc*. 2018;118:181–189.

9. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

1. More C, **Bhattoa HP**, Bettembuk P, Balogh A. The effects of pregnancy and lactation on hormonal status and biochemical markers of bone turnover. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;106(2):209-213. (Q1, IF: 1,002)
2. **Bhattoa HP**, Bettembuk P, Balogh A, Szegedi G, Kiss E. The effect of one year transdermal estrogen replacement therapy on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in osteopenic postmenopausal systemic lupus erythematosus patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Osteoporosis Int.* 2004;15:396–404. (D1, IF: 2,954)
3. **Bhattoa HP**, Bettembuk P, Ganacharya S, Balogh A. Prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in community dwelling postmenopausal Hungarian women. *Osteoporosis Int.* 2004;15(6):447-451. (D1, IF: 2,954)
4. **Bhattoa HP**, Nagy E, More C, Kappelmayer J, Balogh A, Kalina E, Antal-Szalmas P. Prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in healthy Hungarian men over 50 years of age. The HunMen Study. *Osteoporosis Int.* 2013;24(1):179-186. (D1, IF: 4,165)
5. **Bhattoa HP**, Wamwaki J, Kalina E, Foldesi R, Balogh A, Antal-Szalmas P. Serum sclerostin levels in healthy men over 50 years of age. *J Bone Miner Metab.* 2013;31(5):579-584. (Q1, IF: 2,114)
6. **Bhattoa HP**, Onyeka U, Kalina E, Balogh A, Paragh G, Antal-Szalmas P, Kaplar M. Bone metabolism and the 10-year probability of hip fracture and a major osteoporotic fracture using the country-specific FRAX algorithm in men over 50 years of age with type 2 diabetes mellitus: a case-control study. *Clin Rheumatol.* 2013;32(8):1161-1167. (Q1, IF: 1,774)
7. Petho Z, Kulcsar-Jakab E, Kalina E, Balogh A, Pusztai A, Gulyas K, Horvath A, Szekanez Z, **Bhattoa HP**. Vitamin D status in men with psoriatic arthritis: a case-control study. *Osteoporosis Int.* 2015;26:1965–1970. (Q1, IF: 3,445)
8. Kulcsar-Jakab E, Petho Z, Pap Z, Kalina E, Foldesi R, Balogh A, Antal-Szalmas P, **Bhattoa HP**. Cystatin C as a potential predictor of osteoprotegerin levels in healthy men. A cross-sectional, observational study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2015;16:227. (Q1, IF: 1,684)

9. Jakab E, Kalina E, Petho Z, Pap Z, Balogh A, Grant WB, **Bhattoa HP**. Standardizing 25-hydroxyvitamin D data from the HunMen cohort. *Osteoporos Int*. 2017;28:1653-1657. (Q1, IF: 3,856)
10. **Bhattoa HP**. Laboratory aspects and clinical utility of bone turnover markers eJIFCC. 2018;29(2):117-128.
11. Grant WB, Fakhoury HMA, Karras SN, Al Anouti F, **Bhattoa HP**. Variations in 25-Hydroxyvitamin D in Countries from the Middle East and Europe: The Roles of UVB Exposure and Diet. *Nutrients*. 2019;11:2065. (D1, IF: 4,546)
12. Grant WB, Lahore H, McDonnell SL, Baggerly CA, French CB, Aliano JL, **Bhattoa HP**. Evidence that Vitamin D Supplementation Could Reduce Risk of Influenza and COVID-19 Infections and Deaths. *Nutrients*. 2020;12:988. (D1, IF: 5,717)
13. Vasikaran SD, **Bhattoa HP**, Eastell R, Heijboer AC, Jørgensen NR, Makris K, Ulmer C, Kanis JA, Cooper C, Silverman S, Cavalier E. Harmonization of commercial assays for PINP; the way forward. *Osteoporos Int*. 2020;31:409-412. (Q1, IF: 4,507)
14. **Bhattoa HP**, Cavalier E, Eastell R, Heijboer AC, Jorgensen NR, Makris K, Ulmer CZ, Kanis JA, Cooper C, Silverman SL, Vasikaran SD; IFCC-IOF Committee for Bone Metabolism. Analytical considerations and plans to standardize or harmonize assays for the reference bone turnover markers PINP and α_1 -CTX in blood. *Clin Chim Acta*. 2021;515:16-20. (Q1, IF: 6,314)
15. Petho Z, Kalina E, Pap Z, Hodosi K, Falcsik R, Balogh R, Szekanecz Z, **Bhattoa HP**. Characterization of bone metabolism in Hungarian psoriatic arthritis patients: a case-control study. *BMC Musculoskelet Disord*. 2021;22:70. (Q2, IF: 2,562)
16. Makris K, **Bhattoa HP**, Cavalier E, Phinney K, Sempos CT, Ulmer CZ, Vasikaran SD, Vesper H, Heijboer AC. Recommendations on the measurement and the clinical use of vitamin D metabolites and vitamin D binding protein - A position paper from the IFCC Committee on bone metabolism. *Clin Chim Acta*. 2021;517:171-197. (Q1, IF: 6,314)
17. Cavalier E, Fraser CG, **Bhattoa HP**, Heijboer AC, Makris K, Ulmer CZ, Vesper HW, Vasikaran S, Lukas P, Delanaye P, Carobene A, On Behalf Of The Ifcc-Iof Committee For Bone Metabolism. Analytical Performance Specifications for 25-Hydroxyvitamin D Examinations. *Nutrients* 2021;13: 431. (D1, IF: 6,706)

10. AZ ÉRTEKEZÉSBEN NEM TÁRGYALT NEMZETKÖZI ÉS HAZAI KÖZLEMÉNYEK

Teljes terjedelmű nemzetközi közlemények

1. **Bhattoa HP**, Ganacharya S, Batar I. A decade of experience with TCu 200. *Adv contracept.* 1999;15:351-361. (IF: 0,206)
2. More C, Bettembuk P, **Bhattoa HP**, Balogh A. The effects of pregnancy and lactation on bone mineral density. *Osteoporosis Int.* 2001;12:732-737. (IF: 3,529)
3. **Bhattoa HP**, Kiss E, Bettembuk P, Szegedi G, Balogh A. Bone Mineral Density, Biochemical Markers of Bone Turnover and Hormonal Status in Men with Systemic Lupus Erythematosus. *Rheumatol Int.* 2001;21:97-102. (IF: 0,893)
4. Kiss E, **Bhattoa HP**, Bettembuk P, Balogh A, Szegedi G. Pregnancy in Women with Systemic Lupus Erythematosus. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2002;101:129-134. (IF: 0,854)
5. **Bhattoa HP**, Bettembuk P, Balogh A, Szegedi G, Kiss E. Bone mineral density in women with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 2002;21:135-141. (IF: 0,976)
6. Ganacharya S, **Bhattoa HP**, Batar I. Ectopic pregnancy among non-medicated and copper-containing intrauterine device users: a 10-year follow-up. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;111:78-82. (IF: 1,002)
7. Ganacharya S, Bhattoa HP, Batár I. Pre-malignant and malignant cervical pathologies among inert and copper-bearing intrauterine contraceptive device users: A 10-year follow-up study. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2006;11:89-97. (IF: 0,467)
8. Kiss E, Soltesz P, Der H, Kocsis Z, Tarr T, **Bhattoa HP**, Shoenfeld Y, Szegedi G. Reduced flow-mediated vasodilation as a marker for cardiovascular complications in lupus patients. *J Autoimmun.* 2006;27:211-217. (IF: 2,154)
9. Tarr T, Lakos G, **Bhattoa HP**, Shoenfeld Y, Szegedi G, Kiss E. Analysis of risk factors for the development of thrombotic complications in antiphospholipid antibody positive lupus patients. *Lupus* 2007;16:39-45 (IF: 2,248)
10. Tarr T, Lakos G, **Bhattoa HP**, Szegedi G, Shoenfeld Y, Kiss E. Primary antiphospholipid syndrome as the forerunner of systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2007;16: 324-328. (IF: 2,248)
11. Nagy B, Csongradi E, **Bhattoa HP**, Balogh I, Blasko G, Paragh G, Kappelmayer J, Kaplar M. Investigation of Thr715Pro P-selectin gene polymorphism and soluble P-selectin levels in type 2 diabetes mellitus. *Thromb Haemost.* 2007;98:186-191. (IF: 3,501)
12. Tarr T, Gyorffy B, Szekanecz E, **Bhattoa HP**, Zeher M, Szegedi G, Kiss E. Occurrence of Malignancies in Hungarian Patients with Systemic Lupus Erythematosus. Results from a Single Center. *Ann NY Acad Sci.* 2007; 1108:76-82. (IF: 1,731)
13. Tarr T, Lakos G, **Bhattoa HP**, Soltesz P, Shoenfeld Y, Szegedi G, Kiss E. Clinical thrombotic manifestations in SLE patients with and without antiphospholipid antibodies: a 5-year follow-up. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2007;32:131-137. (IF: 2,077)
14. Goldstein SR, **Bhattoa HP**, Neven P, Cox DA, Dowsett SA, Alam J, Sipos A, Muram D. Gynecological effects of arzoxifene in postmenopausal women with osteoporosis or low bone mass. *Menopause.* 2012;19:41-47. (IF: 3,163)

15. Góth L, Nagy T, Kósa Z, Fejes Z, **Bhattoa HP**, Paragh G, Káplár M. Effects of rs769217 and rs1001179 polymorphisms of catalase gene on blood catalase, carbohydrate and lipid biomarkers in diabetes mellitus. *Free Radic Res.* 2012;46:1249-1257. (IF: 3,279)
16. Szánthó E, **Bhattoa HP**, Csobán M, Antal-Szalmás P, Ujfalusi A, Kappelmayer J, Hevessy Z. Serum thymidine kinase activity: analytical performance, age-related reference ranges and validation in chronic lymphocytic leukemia. *PLoS One.* 2014;9:e91647. (IF: 3,234)
17. Pludowski P, Grant W, **Bhattoa HP**, Bayer M, Povoroznyuk V, Rudenka E, Ramanau H, Varbiro S, Rudenka A, Karczarewicz E, Lorenc RS, Czech-Kowalska J, Konstantynowicz J. Vitamin D status in Central Europe. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:589587. (IF: 1,948)
18. Nagy B, **Bhattoa HP**, Steiber Z, Csobán M, Szilasi M, Méhes G, Müller M, Lázár J, Kappelmayer J, Antal-Szalmás P. Serum human epididymis protein 4 (HE4) as a tumor marker in men with lung cancer. *Clin Chem Lab Med.* 2014;52:1639-1648. (IF: 2,707)
19. Kalász J, Pásztor Tóth E, Bódi B, Fagyas M, Tóth A, **Pal BH**, G. Vári S, Balog M, Blažetić S, Heffer M, Papp Z, Borbély A. Single acute stress-induced progesterone and ovariectomy alter cardiomyocyte contractile function in female rats. *Croat Med J.* 2014;55:239-249. (IF: 1,305)
20. Molnar Z, Mokanszki A, Kassai Bazsane Z, **Bhattoa HP**, Benyo M, Olah E, Jakab A. Sperm concentration, hyaluronic acid-binding capacity, aneuploidy and persistent histones in testicular cancer. *Hum Reprod.* 2014;29:1866-1874. (IF: 4,569)
21. Nagy T, Paszti E, Kaplar M, **Bhattoa HP**, Goth L. Further acatalasemia mutations in Hungarian patients with diabetes and microcytic anemia. *Mutat Res Fundam Mol Mech Mutagen.* 2015;772:10–14. (IF: 2,581)
22. Kincse G, **Bhattoa PH**, Herédi E, Varga J, Szegedi A, Kéri J, Gaál J. Vitamin D3 levels and bone mineral density in patients with psoriasis and/or psoriatic arthritis. *J Dermatol.* 2015;42:679-684. (IF: 1.577)
23. Nagy B Jr, Nagy B, Fila L, Clarke LA, Gönczy F, Bede O, Nagy D, Újhelyi R, Szabó Á, Anghelyi A, Major M, Bene Z, Fejes Z, Antal-Szalmás P, **Bhattoa HP**, Balla G, Kappelmayer J, Amaral MD, Macek M Jr, Balogh I. Human epididymis protein 4 (HE4): a novel serum inflammatory biomarker in cystic fibrosis. *Chest.* 2016;150:661-672. (IF: 6,147)
24. Bombicz M, Prikosz D, Varga B, Gesztelyi R, Kertesz A, Lengyel P, Balogh P, Csupor D, Hohmann J, **Bhattoa HP**, Haines DD, Juhasz B.. Anti-Atherogenic Properties Of Allium Ursinum Liophylizate: Impact On Lipoprotein Homeostasis And Cardiac Biomarkers Under Hypercholesterolemic Circumstances. *Int J Mol Sci.* 2016;17:E1284. (IF: 3,226)
25. Becs G, Hudák R, Fejes Z, Debreceni IB, **Bhattoa HP**, Balla J, Kappelmayer J. Haemodiafiltration elicits less platelet activation compared to haemodialysis. *BMC Nephrol.* 2016.;17:147. (IF: 2,289)
26. Csenteri OK, Sándor J, Kalina E, **Bhattoa HP**, Gődény S. The role of hyperinsulinemia as a cardiometabolic risk factor independent of obesity in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol.* 2017;33:34-38. (IF: 1,453)
27. Juhasz B, Gulyás K, Horváth Á, Pethő Z, **Bhattoa HP**, Vánca A, Szekanecz É, Horváth C, Kocsis J, Horváth Z, Hodosi K, Szántó S, Szűcs G, Szekanecz Z. Comparison of peripheral quantitative computed tomography forearm bone density versus DXA in rheumatoid arthritis patients and controls. *Osteoporos Int.* 2017;28:1271-1277. (IF: 3,856)

28. **Bhattoa HP**, Konstantynowicz J, Laszcz N, Wojcik M, Pludowski P. Vitamin D: Musculoskeletal health. *Rev Endocr Metab Disord.* 2017;18:363-371. (IF: 4.963)
29. Muscogiuri G, Altieri B, Annweiler C, Balercia G, **Pal HB**, Boucher BJ, Cannell JJ, Foresta C, Grübler MR, Kotsa K, Mascitelli L, März W, Orio F, Pilz S, Tirabassi G, Colao A. Vitamin D and chronic diseases: the current state of the art. *Arch Toxicol.* 2017;91:97-107. (IF: 5.728)
30. Grant WB, **Bhattoa HP**, Boucher BJ. Seasonal variations of U.S. mortality rates: Roles of solar ultraviolet-B doses, vitamin D, gene expression, and infections. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2017;173:5-12. (IF: 4.095)
31. Muscogiuri G, Annweiler C, Duval G, Karras S, Tirabassi G, Salvio G, Balercia G, Kimball S, Kotsa K, Mascitelli L, **Bhattoa HP**, Colao A. Vitamin D and Cardiovascular Disease: from atherosclerosis to myocardial infarction and stroke. *Int J Cardiol.* 2017;230:577-584. (IF: 4.034)
32. Szentpetery A, Horvath A, Gulyas K, Petho Z, Bhattoa HP, Szanto S, Szucs G, FitzGerald O, Schett G, Szekanecz Z. Effects of targeted therapies on the bone in arthritides. *Autoimmun Rev.* 2017;16:313-320. (IF: 8,745)
33. Oláh C, Kardos Z, Sepsi M, Sas A, Kostyál L, **Bhattoa HP**, Hodosi K, Kerekes G, Tamási L, Valikovics A, Bereczki D, Szekanecz Z. Assessment of intracranial vessels in association with carotid atherosclerosis and brain vascular lesions in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2017 26;19:213. (IF: 4,269)
34. Pludowski P, Holick MF, Grant WB, Konstantynowicz J, Mascarenhas MR, Haq A, Povoroznyuk V, Balatska N, Barbosa AP, Karonova T, Rudenka E, Misiorowski W, Zakharova I, Rudenka A, Łukasziewicz J, Marcinowska-Suchowierska E, Łaszc N, Abramowicz P, **Bhattoa HP**, Wimalawansa SJ. Vitamin D supplementation guidelines. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018;175:125-135. (IF: 3,785)
35. Katko M, Gazso AA, Hirsu I, **Bhattoa HP**, Molnar Z, Kovacs B, Andrasi D, Aranyosi J, Makai R, Veress L, Torok O, Bodor M, Samson L, Nagy EV. Thyroglobulin level at week 16 of pregnancy is superior to urinary iodine concentration in revealing pre-conceptual and first trimester iodine supply. *Matern Child Nutr.* 2018;14:e12470. (IF: 3,305)
36. Kardos Z, Oláh C, Sepsi M, Sas A, Kostyál L, Bóta T, **Bhattoa HP**, Hodosi K, Kerekes G, Tamási L, Bereczki D, Szekanecz Z. Increased frequency of temporal acoustic window failure in rheumatoid arthritis: a manifestation of altered bone metabolism? *Clin Rheumatol.* 2018;37:1183-1188. (IF: 2,293)
37. Andrassy L, Gomez I, Horváth Á, Gulyás K, Pethö Z, Juhász B, **Bhattoa HP**, Szekanecz Z. Laser-induced plasma spectroscopy (LIPS): use of a geological tool in assessing bone mineral content. *Lasers Med Sci.* 2018;33:1225-1236. (IF: 2,076)
38. Muscogiuri G, **Bhattoa HP**. Vitamin D and endocrine disorders: routine laboratory diagnostic implications. *eJIFCC.* 2018;29:111-116.
39. Grant WB, Boucher BJ, **Bhattoa HP**, Lahore H. Why vitamin D clinical trials should be based on 25-hydroxyvitamin D concentrations. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018;177:266-269. (IF: 3,785)
40. Márton J, Péter M, Balogh G, Bódi B, Vida A, Szántó M, Bojcsuk D, Jankó L, **Bhattoa HP**, Gombos I, Uray K, Horváth I, Török Z, Balint BL, Papp Z, Víg L, Bai P. Poly(ADP-ribose) polymerase-2 is a lipid-modulated modulator of muscular lipid homeostasis. *Biochim Biophys Acta. Mol Cell Biol Lipids.* 2018;1863:1399-1412. (IF: 4,402)
41. Muscogiuri G, Barrea L, Altieri B, Di Somma C, **Bhattoa H**, Laudisio D, Duval GT, Pugliese G, Annweiler C, Orio F, Fakhouri H, Savastano S, Colao A. Calcium and vitamin D supplementation. Myths and realities with regard to cardiovascular risk. *Curr Vasc Pharmacol.* 2019;17:610-617. (IF: 2,672)

42. Horváth A, Vegh E, Pusztai A, Petho Z, Hamar A, Czokolyova M, **Bhattoa H**, Nagy G, Juhász B, Hodosi K, Domjan A, Szekanecz Z, Szucs G, Szamosi S. Complex assessment of bone mineral density, fracture risk, vitamin D status and bone metabolism in Hungarian systemic sclerosis patients. *Arthritis Res Ther.* 2019;21:274. (IF: 4,103)
43. Gulyás K, Horváth Á, Végh E, Pusztai A, Szentpétery Á, Pethő Z, Vánca A, Bodnár N, Csomor P, Hamar A, Bodoki L, **Bhattoa HP**, Juhasz B, Nagy Z, Hodosi K, Karosi T, FitzGerald O, Szucs G, Szekanecz Z, Szamosi S, Szanto S. Effects of 1-year anti-TNF- α therapies on bone mineral density and bone biomarkers in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol.* 2020;39:167–175. (IF: 2,980)
44. Altieri B, Cavalier E, **Bhattoa HP**, Pérez-López FR, López-Baena MT, Pérez-Roncero GR, Chedraui P, Annweiler C, Della Casa S, Zelzer S, Herrmann M, Faggiano A, Colao A, Holick MF. Vitamin D testing: advantages and limits of the current assays. *Eur J Clin Nutr.* 2020;74:231-247 (IF: 4.016)
45. Cavalier E, Vasikaran S, **Bhattoa HP**, Heijboer AC, Makris K, Ulmer CZ. The path to the standardization of PTH: Is this a realistic possibility? A position paper of the IFCC C-BM. *Clin Chim Acta.* 2021;515:44-51. (IF: 6,314)
46. Hamar A, Szekanecz Z, Pusztai A, Czókolyová M, Végh E, Pethő Z, Bodnár N, Gulyás K, Horváth Á, Soós B, Bodoki L, **Bhattoa HP**, Nagy G, Tajti G, Panyi G, Szekanecz É, Domján A, Hodosi K, Szántó S, Szűcs G, Szamosi S. Effects of one-year tofacitinib therapy on bone metabolism in rheumatoid arthritis. *Osteoporos Int.* 2021;32:1621-1629. (IF: 5.071)
47. Katko M, Galgoczi E, Erdei A, Gazdag A, Berta E, Bodor M, Seres I, Hircsu I, Badics A, Ujhelyi B, Sira L, **Bhattoa HP**, Nagy EV. The 4G/5G Polymorphism of Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 is a Predictor of Moderate-to-Severe Thyroid Eye Disease. *J Inflamm Res.* 2021;14:1883-1890. (IF: 4,631)
48. Samson L, Hircsu I, Katko M, Bodor M, Gazdag A, Gazso AA, Kovacs B, Posta J, Balogh E, Mocsary P, **Bhattoa HP**, Nagy EV. Lower educational status interferes with maternal iodine intake during both pregnancy and lactation. *Endocr Connect.* 2021;10:742-749. (IF: 3.221)
49. Juhász B, Gulyás K, Horváth Á, Végh E, Pusztai A, Szentpétery Á, Pethő Z, Bodnár N, Hamar A, Bodoki L, **Bhattoa HP**, Szekanecz É, Hodosi K, Domján A, Szamosi S, Horváth C, Szántó S, Szűcs G, Raterman HG, Lems WF, FitzGerald O, Szekanecz Z. Peripheral quantitative computed tomography in the assessment of bone mineral density in anti-TNF-treated rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis patients. *BMC Musculoskelet Disord.* 2021;22:817. (IF: 2,562)
50. Pusztai A, Hamar A, Czókolyová M, Gulyás K, Horváth Á, Végh E, Pethő Z, Szamosi S, Balogh E, Bodnár N, Bodoki L, Szentpétery Á, **Bhattoa HP**, Kerekes G, Juhász B, Szekanecz É, Hodosi K, Domján A, Szántó S, Raterman HG, Lems WF, Szekanecz Z, Szűcs G. Associations of vascular and bone status in arthritis patients. *Sci Rep.* 2021;11:19504. (IF: 4,996)
51. Vasikaran SD, Miura M, Pikner R, **Bhattoa HP**, Cavalier E; IOF-IFCC Joint Committee on Bone Metabolism (C-BM). Practical Considerations for the Clinical Application of Bone Turnover Markers in Osteoporosis. *Calcif Tissue Int.* 2021 Nov 30. doi: 10.1007/s00223-021-00930-4. (IF: 4,000)
52. Kappelmayer J, **Bhattoa HP**, Kovács GL. An Overview on the Scientometric Advancement of the eJIFCC. *eJIFCC.* 2021;32:403-408.
53. Bereczki D, Nagy B, Kerényi A, Nagy G, Szarka K, Kristóf K, Szalay B, Vásárhelyi B, **Bhattoa HP**, Kappelmayer J. EDTA-Induced Pseudothrombocytopenia Up to 9 Months After Initial COVID-19 Infection Associated with Persistent Anti-SARS-CoV-2 IgM/IgG Seropositivity. *Lab Med.* 2022;53:206-209. (IF: 1,865)

54. Cobbaert C, Capoluongo ED, Vanstapel FJLA, Bossuyt PMM, **Bhattoa HP**, Nissen PH, Orth M, Streichert T, Young IS, Macintyre E, Fraser AG, Neumaier M. Implementation of the new EU IVD regulation: urgent initiatives are needed to avert impending crisis. *Clin Chem Lab Med.* 2022;60:33-43. (IF: 8,490)
55. Pap Z, Kalabiska I, Balogh Á, **Bhattoa HP**. Prevalence of sarcopenia in community dwelling outpatient postmenopausal Hungarian women. *BMC Musculoskelet Disord.* 2022;23:207. (IF: 2,562)
56. Soós B, Szentpétery Á, Raterman HG, Lems WF, **Bhattoa HP**, Szekanecz Z. Effects of targeted therapies on bone in rheumatic and musculoskeletal diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2022;18:249-257. (IF: 32,28)

Nemzetközi szerkesztői levelek:

1. Karras SN, Annweiler C, Boucher B, **Bhattoa HP**, Muscogiuri G, Stefan P. Re: Bias, Bones and Vitamin D. <http://www.bmj.com/content/351/bmj.h3170/rr-3>. Response to: Grey A, Bolland MJ. Web of industry, advocacy, and academia in the management of osteoporosis. *BMJ* 2015; 351 doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.h3170>
2. Grant WB, Baggerly CA, **Bhattoa HP**, Boucher BJ, Moukayed M, Pludowski P. Nursing home residents could reduce risk of COVID-19 by supplementing with vitamin D3. <https://www.bmj.com/content/369/bmj.m2530/rr> (Published 30 June 2020). Rapid Response to: Griffin S. Covid-19: Continued outbreaks in care homes risk extending pandemic, say experts. *BMJ* 2020;369:m2530. <https://doi.org/10.1136/bmj.m2530> (Published 24 June 2020).

Nemzetközi kommentár:

Boucher B, Grant WB, **Bhattoa HP**. Exploring the role of Vitamin D. Comments on Fleury et al. Sun exposure and its effects on human health: mechanisms through which sun exposure could reduce the risk of developing obesity and cardiometabolic dysfunction. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2016, 13, 999. *Int J Environ Res Public Health.* 2016;13:1256.

Teljes terjedelmű hazai közlemények:

1. Bettembuk P, **Bhattoa HP**, More C, Balogh Á. A Debreceni Regionális Osteoporosis Centrum denzitometriai vizsgálatainak tapasztalatai. *Ca és Csont.* 2001;4(2):61-65.
2. **Bhattoa HP**, Csathy L, Demenyi T, Kappelmayer J. „Webalapú” laboratóriumi szolgáltatás. *Orv Hetil.* 2008;149:203-208.
3. Mezo T, Tabak A, **Bhattoa HP**, Lakatos P. Az osteoporosis és az osteoporoticus törések kockázati tényezői magyar nők csoportjában: a Nemzeti Osteoporosis Kockázati Kérdőív (NOKK) vizsgálat eredményei. *Ca és Csont.* 2009;12:118-124.
4. Balogh A, **Bhattoa HP**. Új ismeretek a corticalis csontállomány biológiájáról és részvételéről a csonttörések létrejöttében. *Lege Artis Medicinae. Kalcium Interdiszciplináris Fórum (LAM-KID).* 2011;1:5-8.
5. **Bhattoa HP**. Női és férfi oszteoporózis: különböznek? *Medical Tribune.* 2011;IX(18):10.
6. **Bhattoa HP**. D-vitamin-meghatározás: preanalitikai és analitikai szempontok. *Lege Artis Medicinae. Kalcium Interdiszciplináris Fórum (LAM-KID).* 2011;1:49-51.
7. Balogh A, **Bhattoa HP**. A posztmenopauzális osteoporosis korszerű kezelése. *Magyar Családorvosok Lapja.* 2012;2:2-5.

8. Molnar Z, Wamwaki J, Petho Z, Kalina E, Foldesi R, Balogh A, Antal-Szalmas P, **Bhattoa HP**. Szklerosztinszint-meghatározás egészséges férfiakban. *Lege Artis Medicinae. Kalcium Interdiszciplináris Fórum (LAM KID)*. 2014;4:63–68.
9. Kincse G, **Bhattoa HP**, Varga J, Szegedi A, Kéri J, Gaál J. D3-vitamin-státusz és csontdenzitás psoriasisban és arthritis psoriaticában szenvedő betegekben. *Immunológiai Szemle*. 2014;1-2:10-16.
10. Andrásy L, Maros G, Kovács IJ, Horváth A, Gulyás K, Bertalan E, Besnyi A, Fűri J, Fancsik T, Szekanez Z, **Bhattoa HP**. Lézer-alapú geológiai technikák felhasználhatósága a csontkutatásban: kalcium oxid eloszlás vizsgálatok állati csont vékonycsiszolatokon. *Orv Hetil*. 2014;155:1783-1793. (IF: 0,707)
11. Petho Z, Kulcsar-Jakab E, Onyeka U, Molnar Z, Kalina E, Balogh A, Paragh G, Antal-Szalmas P, Kaplar M, **Bhattoa HP**. Az ország specifikus FRAX-algoritmus által meghatározott 10 éves csípő- és major osteoporoticus törések valószínűségének vizsgálata 2-es típusú diabeteses férfiak csoportjában. *Lege Artis Medicinae. Kalcium Interdiszciplináris Fórum (LAM KID)*. 2014;4:155–161.
12. Kovács I, Udvardi B, Falus G, Földvári M, Fancsik T, Kónya P, Bodor E, Mihály J, Németh C, Czirják G, Ősi A, Vargáné Barna Z, **Bhattoa HP**, Szekanez Z, Turza S. Az ATR FTIR spektrometria gyakorlati alkalmazása néhány - elsősorban földtani - esettanulmány bemutatásával. *Földtani Közöny*. 2015;145:173-192.
13. Szekanez Z, **Bhattoa HP**. Csontanyagcsere Diabetes Mellitusban. *Metabolizmus*. 2016;14:110-114.
14. Balogh A, **Bhattoa HP**. A D-vitamin és kalcium hatásai időskorban. *Magyar Nővosok Lapja*. 2017;80:63-69.
15. Kappelmayer J, **Bhattoa HP**. Neuroendokrin tüdőtumorkok laboratóriumi kivizsgálása. *Magy Onkol*. 2018;62:108–112.
16. Nagy B Jr, **Bhattoa HP**, Kappelmayer J. A prosztatarák laboratóriumi diagnosztikája: honnan hová tartunk? *Magy Onkol*. 2019;63:16–25.
17. Kovács D, Fedor R, András M, Barna S, Tóth L, **Bhattoa H**, Bodor M, Gyóry F. Parathyroid carcinoma: rare endocrine disease. *Magyar Seb*. 2020;73:43-46.
18. Hirsu I, Gazdag A, Bodor M, Berta E, András M, Kanyári Z, Gyóry F, Barna S, **Bhattoa HP**, Nagy B, Nagy VE, Erdei A. A multiplex endokrin neoplasia-2A szindrómáról egy család kapcsán. *Orv Hetil*. 2020;161:75-79. (IF: 0,540)
19. Szekanez Z, Pethő Z, **Bhattoa H**. A diabetes mellitus és a csontanyagcsere összefüggései. *Metabolizmus*. 2020;17:206-212.
20. Szekanez Z, Pethő Z, **Bhattoa H**. A diabetes mellitus és a csontanyagcsere összefüggései. *Mozgásszervi Továbbk. Szle*. 2020;3:102-108.
21. Herman T, Csehely S, Orosz M, **Bhattoa HP**, Deli T, Török P, Jakab A. Endokrin kórképek előfordulása és társulása in vitro fertilizációs programban részt vevő nők körében. *Orv Hetil*. 2022;163:712-719. (IF:0,707)

Szakmai irányelvek:

Fejlesztő munkacsoport. Az Emberi Erőforrások Minisztériuma egészségügyi szakmai irányelve a differenciált pajzsmirigy-rák diagnosztikája és kezelése. *Egészségügyi Közl*. 2021;24:2643-2716.

11. KÖNYVFEJEZET, SZAKTANULMÁNY

Felsőoktatási művek:

1. **Bhattoa HP.** Point of care testing (POCT). In Practicals in laboratory medicine. Eds. Kappelmayer J, Muszbek L. University of Debrecen, Debrecen, 2006. pp. 151-156.
2. **Bhattoa HP.** Point of care testing (POCT). Kappelmayer J, Muszbek L (szerk.). In Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2006. pp. 151-156.
3. **Bhattoa HP.** Clinical chemistry assays in case of liver diseases. Eds. Kappelmayer J, Muszbek L. In Practicals in laboratory medicine. University of Debrecen, Debrecen, 2006. pp. 157-163.
4. **Bhattoa HP.** Klinikai kémiai vizsgálatok a májbetegségek diagnosztikájában. Kappelmayer J, Muszbek L (szerk.). In Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2006. pp. 157-163.
5. **Bhattoa HP.** Ligandassay-immunoassay. In Practicals in laboratory medicine. Eds. Kappelmayer J, Muszbek L. University of Debrecen, Debrecen, 2006. pp. 183-193.
6. **Bhattoa HP.** Ligandassay-immunoassay. Kappelmayer J, Muszbek L (szerk.). In Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2006. pp. 183-193.
7. **Bhattoa HP.** Clinical laboratory investigations in the diagnostics of hepatic disorders. In Practicals in laboratory medicine. Eds. Kappelmayer J, Muszbek L. University of Debrecen, Debrecen, 2010. pp. 171-177.
8. **Bhattoa HP.** A májbetegségek diagnosztikája. Kappelmayer J, Muszbek L (szerk.). In Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2010. pp. 171-177.
9. Lenkey Á, **Bhattoa HP.** Ligandassay-immunoassay. In Practicals in laboratory medicine. Eds. Kappelmayer J, Muszbek L. University of Debrecen, Debrecen, 2010. pp. 199-210.
10. Lenkey Á, **Bhattoa HP.** Ligandassay-immunoassay. Kappelmayer J, Muszbek L (szerk.). In Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2010. pp. 199-210.
11. V. Oláh A, **Bhattoa HP.** Autovalidation in laboratory medicine, clinical chemistry. 2015. <http://elettudomanyi-klinikaifelsooktatas.unideb.hu/>
<http://tamop411c13.unideb.hu/datastore/list&lang=en>
12. **Bhattoa HP.** Endokrin tesztek és tumormarkerek autovalidálása. 2015. <http://elettudomanyi-klinikaifelsooktatas.unideb.hu/>
<http://tamop411c13.unideb.hu/datastore/list&lang=hu>
13. **Bhattoa HP.** Ligandassay-immunoassay. In Practicals in laboratory medicine. Ed. Kappelmayer J. University of Debrecen, Debrecen, 2016. pp. 229-240.
14. Lenkey Á, **Bhattoa HP.** Ligandassay-immunoassay. Kappelmayer J (szerk.). In Laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatok. Debreceni Egyetem, Debrecen, 2016. pp. 229-240.
15. Bhattoa HP, Nagy G. Gyulladás jelei, mozgásszervek bajainak laboratóriumi diagnosztikája, csontanyagcsere (Ca és P, mellékpajzsmirigy). Ajzner É (szerk.). In Konzultatív laboratóriumi Medicina. ÁEEK, Budapest. 2018. pp. 493-548. ISBN 978 963 9661 44 8.

Könyv:

Balogh A, **Bhattoa HP**. Postmenopausal osteoporosis: megelőzés és terápia. Medicina könyvkiadó Rt. Budapest 2004. 226.p. ISBN 963 242 924 9.

Könyvfejezetek

1. **Bhattoa HP**. Laboratóriumi vizsgálatok. In Metabolikus csontbetegségek. Lakatos P, Takács I (szerk.) Medintel könyvkiadó, Budapest 2006. pp. 102-115. ISBN 978 963 843 329 9.
2. **Bhattoa HP**, Speer G, Lakatos P. Laboratóriumi referenciatartományok. In Metabolikus csontbetegségek. Lakatos P, Takács I (szerk.). Medintel könyvkiadó, Budapest 2006. pp. 471-473. ISBN 978 963 843 329 9.
3. Balogh A, **Bhattoa HP**. Az osteoporosis és hatása az időskorúak egészségügyi állapotára. In A klinikai gerontológia alapjai. Sándor I (szerk.). Medicina könyvkiadó, Budapest 2007. pp. 113-134. ISBN 963 226 065 1.
4. Balogh A, **Bhattoa HP**. Oszteoporózis gyógyszeres terápiaja. In Reumatológiai gyógyszeres terápia Szekanecz Z (szerk.). Medicina könyvkiadó, Budapest 2009. pp. 305-340. ISBN 978 963 226 096 9.
5. Balogh A, **Bhattoa HP**. Normális laboratóriumi értékek terhességben. In A várandósgondozás kézikönyve Papp Z (szerk.). Medicina könyvkiadó, Budapest 2016. pp. 123-130. ISBN 978 963 226 566 7.
6. Grant WB, **Bhattoa HP**, Pludowski P. Determinants of Vitamin D Deficiency From Sun Exposure: A Global Perspective. In Vitamin D, 4th Edition: Volume 2: Health, Disease and Therapeutics. Eds. Feldman D, Pike JW, Bouillon R, Giovannucci E, Goltzman D, Hewison M. Academic Press, San Diego, CA, USA. 2018. pp. 79-90. ISBN 978 012 809 963 6.

12. CSOPORTOS (MULTICENTRIKUS) KÖZLEMÉNYBEN KOLLABORÁCIÓS KÖZREMŰKÖDŐ

1. Cavalier, E., Eastell, R., Rye Jrgensen, N., Makrilakis, K., Tournis, S., Vasikaran, S., Kanis, J., Cooper, C., Pottel, H., Morris, H., **IFCC-IOF Joint Committee for Bone Metabolism**: A multicenter study to evaluate harmonization of assays for N-terminal propeptide of type I procollagen (PINP): a report from the IFCC-IOF Joint Committee for Bone Metabolism. *Clin Chem Lab Med.* 2019;57:1546-1555. (IF: 3,595)
2. Merkely, B., Szabó, A., Kosztin, A., Berényi, E., Sebestyén, A., Lengyel, C., Merkely, G., Karády, J., Várkonyi, I., Papp, C., Miseta, A., Betlehem, J., Burián, K., Csóka, I., Vásárhelyi, B., Ludwig, E., Prinz, G., Sinkó, J., Hankó, B., Varga, P., Fülöp, G., Mag, K., Vokó, Z., **HUNgarian COronaVirus-19 Epidemiological Research (H-UNCOVER) investigators**: Novel coronavirus epidemic in the Hungarian population, a cross-sectional nationwide survey to support the exit policy in Hungary. *GeroScience.* 2020;42:1063-1074. (IF: 7.713)
3. Cavalier E, Lukas P, Bottani M, Aarsand AK, Ceriotti F, Coşkun A, Díaz-Garzón J, Fernández-Calle P, Guerra E, Locatelli M, Sandberg S, Carobene A; European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Working Group on Biological Variation and **IOF-IFCC Committee on Bone Metabolism**. European Biological Variation Study (EuBIVAS): within- and between-subject biological variation estimates of β -isomerized C-terminal telopeptide of type I collagen (β -CTX), N-terminal propeptide of type I collagen (PINP), osteocalcin, intact fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated-unphosphorylated matrix-Gla protein-a cooperation between the EFLM Working Group on Biological Variation and the International Osteoporosis Foundation-International Federation of Clinical Chemistry Committee on Bone Metabolism. *Osteoporos Int.* 2020;31:1461-1470. (IF: 4,507)
4. Cavalier E, Eastell R, Jørgensen NR, Makris K, Tournis S, Vasikaran S, Kanis JA, Cooper C, Pottel H, Morris HA; **IFCC-IOF Committee for Bone Metabolism (C-BM)**. A Multicenter Study to Evaluate Harmonization of Assays for C-Terminal Telopeptides of Type I Collagen (β -CTX): A Report from the IFCC-IOF Committee for Bone Metabolism (C-BM). *Calcif Tissue Int.* 2021;108:785-797. (IF: 4,000)

13. TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK

Bhattoa Harjit Pal tudományos és oktatási közleményeinek összefoglalása
MTA V. Orvostudományi Osztály (2022.10.05)

Tudományos és oktatási közlemények	Száma		Hivatkozások	
	Összesen	Részletezve	Független	Összesen
I. Folyóiratcikk	87	---	---	---
szakcikk, nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű	---	56	1258	1413
szakcikk, hazai idegen nyelvű	---	10	0	0
szakcikk, magyar nyelvű	---	8	6	11
szakcikk, sokszerzős, érdemi szerzőként	---	1	10	13
összefoglaló közlemény	---	20	1263	1373
rövid közlemény	---	2	39	60
II. Könyv	1	---	---	---
a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként	1	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	1	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv	---	0	0	0
b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	---	---
magyar nyelvű	---	0	---	---
bb) Felsőoktatási tankönyv	---	0		
III. Könyvrészlet	18	---	---	---
idegen nyelvű	---	1	4	4
magyar nyelvű	---	4	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet	---	13	0	0
IV. Konferenciaközlemény	0	---	0	0
Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)	---	13	0	0
Tudományos közlemények összesen (I-IV)		93	2580	2874
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	106	---	2580	2874
V. További tudományos művek	12	---	---	---
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkeket is	---	8	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	4	4	4
Oltalmak (szabadalmak)	---	0	0	0
VI. Hivatkozott absztraktok	6	---	5	10
Összes hivatkozás	---	---	2589	2888
Hirsch index	26	---	---	---
g index	53	---	---	---
Speciális tudománymetriai adatok		Száma	Összes hivatkozás	
Első szerzős teljes folyóiratcikkek száma	12		327	
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikkek száma	15		920	
A tudományos fokozat elnyerése utáni (2002) teljes tudományos folyóiratcikkek száma	81		2643	
Az utolsó 10 év (2012 - 2022) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkeinek száma	68		2157	
A legmagasabb hivatkozottságú közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	872		30,19%	
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben	---		96	
Jelentés, guideline	1		0	
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő	4		56	