

G. ANZALONE

Carenza di Vitamina D e patologie dell'apparato respiratorio

PROGRESS IN NUTRITION
VOL. 13, N. 1, 12-21, 2011

TITLE

Vitamin D deficiency and respiratory diseases

KEY WORDS

Vitamin D, cathelicidin, defensins, asthma, inhaled corticosteroids, COPD, metalloproteinases

PAROLE CHIAVE

Vitamina D, catechicine, defensine, asma, corticosteroidi inalatori, BPCO, metalloproteinasi

Direttore Unità Operativa
Complessa di Pneumologia
Ospedale "Misericordia e Dolce"
ASL4 Prato

Indirizzo per la corrispondenza:
Dr. Giuseppe Anzalone
Direttore Unità Operativa Complessa di
Pneumologia
Ospedale "Misericordia e Dolce"
ASL4 Prato
E-mail: ganzalone@usl4.toscana.it

Summary

Vitamin D and its metabolites have a significant clinical role because of their interrelationship with calcium homeostasis and bone metabolism. But they did not limit their action at that level, as they also exert significant regulatory activity on other organs and systems. There are experimental evidences that show the action of vitamin D on immune responses in the respiratory system. It operates in fact in the stimulation and regulation of anti-infective immunity, both innate and acquired, modulates bronchial inflammation and sensitivity to the action of inhaled steroids in asthma, inhibits the production of metalloproteinases and defends from the development of certain systemic effects of COPD, inhibits the main mechanisms that induce fibrosis of lung parenchyma. Low serum levels of vitamin D are associated with more severe forms of chronic lung diseases and in particular with a greater deterioration of respiratory function. However many aspects remain to be clarified, especially regarding the utility and the dosage of supplementation with vitamin D.

Riassunto

La Vitamina D ed i suoi metaboliti svolgono la loro attività principale in quanto strettamente connessi all'omeostasi del calcio ed al metabolismo osseo. Essi però non limitano la loro azione a tale livello, ma esplicano anche rilevanti attività regolatorie su altri organi ed apparati. Vi sono evidenze sperimentali che dimostrano l'azione della Vitamina D sulle risposte immunitarie a livello dell'apparato respiratorio. Essa interviene infatti nella stimolazione e regolazione delle difese immunitarie antinfettive, sia innate che acquisite, modula la flogosi bronchiale e la sensibilità all'azione degli steroidi inalatori nell'asma, inibisce la produzione di metalloproteinasi e difende dallo sviluppo e da alcuni effetti sistemici della BPCO, inibisce i principali meccanismi pro-fibrosanti nel parenchima polmonare. A bassi livelli sierici di Vitamina D si associano forme più gravi delle malattie croniche polmonari ed in particolare un maggiore deterioramento della funzione respiratoria. Rimangono però molti aspetti da chiarire, in particolar modo riguardo alla utilità ed ai dosaggi della supplementazione con Vitamina D.

Introduzione

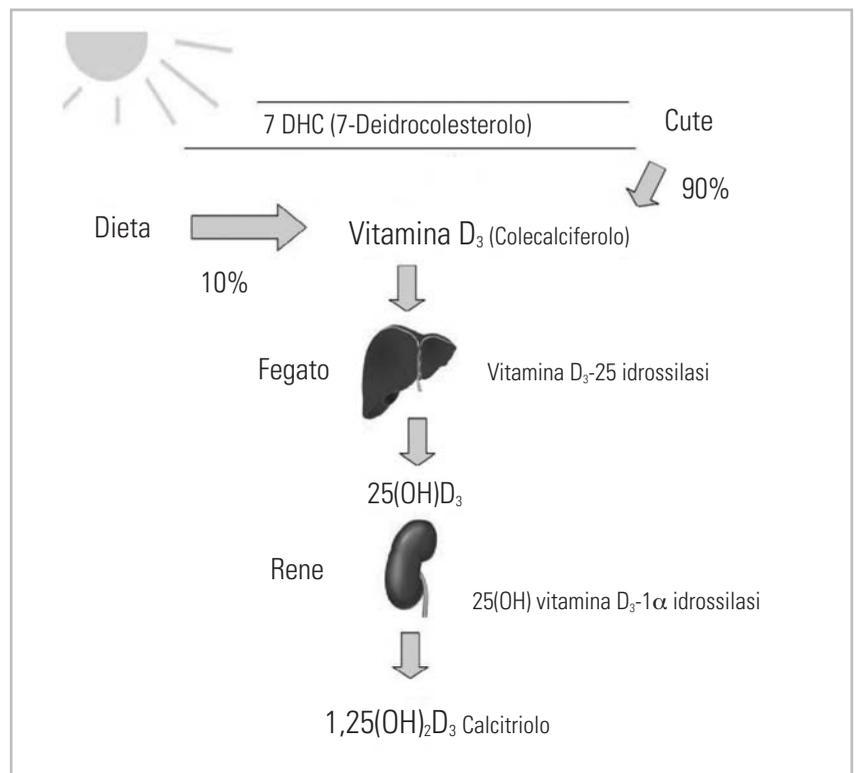
Per Vitamine intendiamo un certo numero di sostanze organiche che non possono essere sintetizzate dall'organismo umano ma devono essere introdotte con la dieta in piccole quantità per prevenire disordini metabolici. Si dividono in Vitamine Idrosolubili e Liposolubili. Nel 1918 Sir Edward Mellanby ha descritto la carenza di un costituente liposolubile della dieta come causa del rachitismo (1). Pochi anni dopo, nel 1923, Goldblatt e Soames hanno dimostrato che la cute umana, irradiata con luce solare o raggi ultravioletti, produceva una sostanza con proprietà simili al fattore dietetico liposolubile di Mellanby (2). Questa osservazione ha condotto nel 1936 alla scoperta della struttura chimica della Vitamina D da parte di Windaus (3). La Vitamina D ed i suoi metaboliti svolgono un ruolo clinico di primo piano in quanto strettamente connessi all'omeostasi del calcio ed al metabolismo osseo. Condizioni di insufficienza o addirittura carenza di Vitamina D sono frequenti particolarmente fra gli adolescenti (4, 5) e negli anziani (6, 7). La carenza subclinica di Vitamina D può contribuire allo sviluppo di osteoporosi, ed è anche associata ad un aumentato rischio di fratture e cadute nell'anziano, ad una riduzione della funzione immunitaria, a dolore osseo, insor-

genza di cancro del colon, malattie cardiovascolari (8).

Vitamina D, o calciferolo, è un termine generico che si riferisce ad un gruppo di composti liposolubili caratterizzati da una struttura a quattro anelli di colesterolo. La luce solare e i raggi ultravioletti inducono nella pelle la fotoisomerizzazione della pro-Vitamina D a Vitamina D₃ (colecalfiferolo) (Fig. 1). Il colecalfiferolo prodotto a livello cutaneo viene legato a proteine vettrici (VDBP) e trasportato per via ematica agli organi ber-

saglio. La fonte maggiore di Vitamina D è però l'assorbimento intestinale dai componenti della dieta (latticini, pesce grasso, uova). La Vitamina D viene assorbita dagli enterociti e impacchettata nei chilomicroni, che sono poi trasportati al fegato tramite la circolazione portale. Qui ha inizio un processo di idrossilazione che viene poi completato a livello dei mitocondri del tubulo prossimale renale, con la produzione di 1,25(OH)₂-Vitamina D, la forma fisiologicamente attiva di cui sono stati iden-

Figura 1 - Ciclo di attivazione della vitamina D₃ o colecalfiferolo



tificati 25 metaboliti attivi, ognuno con diverse attività biologiche (9). La sintesi ed il metabolismo della Vitamina D sono strettamente connessi all'omeostasi del calcio, e sono modulati dall'ormone paratiroideo e dai livelli plasmatici di calcio e fosforo.

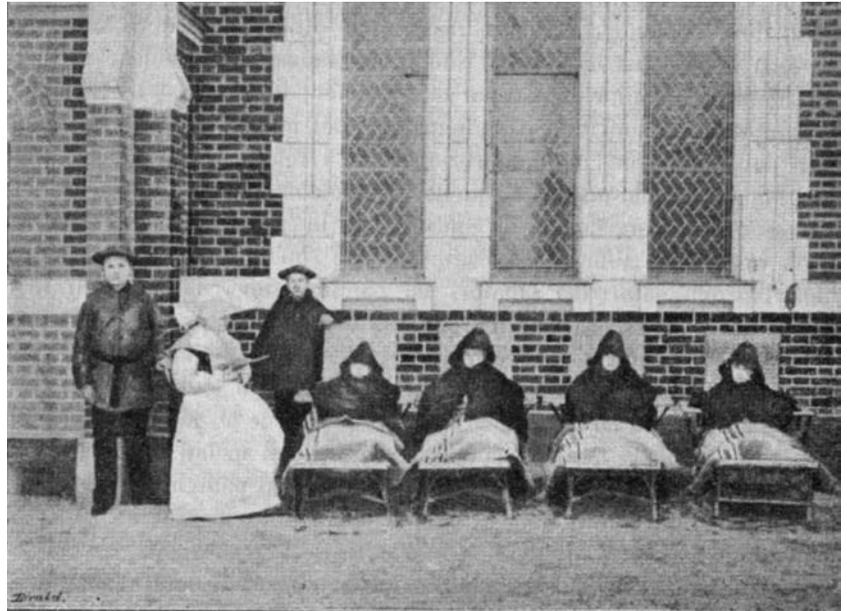
Vitamina D e patologie respiratorie

Infezioni delle vie respiratorie

Nel 1903 il medico danese Niels Finsen ricevette il Premio Nobel per avere scoperto che la luce ad alta intensità prodotta da una lampada elettrica ad arco voltaico era in grado di guarire il 95% dei pazienti affetti da tubercolosi cutanea, il cosiddetto Lupus Vulgaris. A partire dagli anni '20 l'esposizione al sole (elioterapia) fu riconosciuta come un trattamento efficace per la Tubercolosi polmonare (11) (Fig. 2). A seguito dell'avvento degli antibiotici, dopo la seconda guerra mondiale, l'idea che una regolare esposizione al sole possa proteggere dalle infezioni è stata poi rapidamente abbandonata.

Nell'ultimo decennio una serie di osservazioni laboratoristiche ed epidemiologiche ha però fornito basi scientifiche a tali storici interventi terapeutici, suggerendo che la Vitamina D giochi un ruolo rilevante tanto nell'immunità acqui-

Figura 2 - Sanatorio del Dr. Wolff a Reiboldsgrün. Tubercolotici che fanno elioterapia



sita che in quella innata (12). Le difese naturali locali, che riconoscono rapidamente i potenziali germi patogeni, giocano un ruolo di primaria importanza nella prevenzione della colonizzazione batterica, causa di infezioni ricorrenti (13, 14). A livello delle vie aeree, e soprattutto delle vie aeree superiori che sono il primo sito di contatto con i patogeni inalati, esistono tre diversi meccanismi di protezione antibatterica. Il primo è costituito da uno strato sottile di muco gelatinoso che riveste l'epitelio ciliato e rimuove fisicamente i patogeni inalati (15, 16). Il secondo meccanismo difensivo è costituito dai cosiddetti peptidi antimicrobi-

ci presenti nelle secrezioni respiratorie: *defensine*, *catelicidine*, e proteine di maggiori dimensioni come il lisozima, la lactoferrina, e l'inibitore delle proteasi di origine leucocitaria (17-19). Il terzo meccanismo si identifica con l'esordio della risposta infiammatoria ed il reclutamento di cellule ad attività fagocitaria di fronte allo sviluppo di ogni infezione (16). I peptidi antimicrobici, che sono sintetizzati e rilasciati in grande quantità dalle cellule epiteliali e dai neutrofili, sono dotati di un ampio spettro di attività verso batteri, virus e funghi e, contrariamente a molti antibiotici convenzionali, sembrano avere attività battericida (18, 19).

Nell'uomo sono state identificate due diverse famiglie di *defensine*, α e β . Le β -defensine sono prodotte dalle cellule epiteliali del polmone, della cute e dell'intestino, e la loro espressione può essere tanto innata che inducibile (16).

Le *catelicidine* sono una diversa famiglia di peptidi antimicrobici, e sono state identificate in diverse specie animali. Laddove molte specie sono in grado di produrre una varietà di catelicidine, l'essere umano produce un unico tipo di catelicidina, chiamata hCAP-18. Le catelicidine hanno effetto sinergico sia col lisozima che con la lattoferrina (20). Oltre a possedere un'attività battericida ad ampio spettro, le β -defensine e le catelicidine incrementano l'espressione di geni ad attività pro infiammatoria, sono coinvolte nei meccanismi di proliferazione e riparazione epiteliale, e modulano la funzione immunitaria attraverso un effetto sulla maturazione delle cellule dendritiche (16, 21-23). Le catelicidine sono state identificate nelle cellule epiteliali delle vie aeree sia superiori che inferiori (20).

La Vitamina D influenza la produzione di catelicidine e β -defensina-2 (24-28). I geni per il recettore della Vitamina D sono posizionati accanto a due geni che codificano per catelicidine e β -defensina-2 (24). La Vitamina D può indurre un modesto aumento della produzione cellulare di β -defensi-

na-2, ma in numerosi tipi cellulari (incluso cellule del sistema immunitario e cheratinociti) può determinare un drammatico incremento della produzione di catelicidine. Adeguate livelli di 25-idrossivitamina D [25(OH)D], la principale forma circolante di Vitamina D, sono necessari per attivare la produzione di catelicidine e stimolare la funzione macrofagica e l'immunità innata (29). La produzione di catelicidine sembrerebbe essere facilitata da livelli di Vitamina D superiori a 100 nmol/l (26), ed è dimostrato che anche l'integrazione alimentare con Vitamina D incrementa la produzione di catelicidine (29).

Inizialmente si riteneva che i peptidi antimicrobici, defensine e catelicidine, avessero la funzione di sistema difensivo a rapida risposta verso le minacce infettive, per dare il tempo all'immunità acquisita di entrare in funzione. Attualmente è noto che i peptidi antimicrobici hanno anche la funzione di modulare le risposte immunitarie innate ed acquisite.

La Vitamina D sembra di conseguenza svolgere un ruolo importante nella regolazione della immunità naturale delle vie respiratorie, anche se non è nota la concentrazione ottimale necessaria per prevenire e/o trattare le infezioni delle vie respiratorie (30). Peraltro è nota la concentrazione di 25(OH)D al di sotto della quale

sono significativamente più frequenti le infezioni delle vie respiratorie superiori, come dimostrato da Ginde et al. su una coorte di 18883 partecipanti al *Third National Health and Nutrition Examination Survey* negli USA, e questa concentrazione è di 10 ng/ml (31). L'eventuale supplementazione dovrebbe stabilizzare la concentrazione di 25(OH)D sui livelli ottenuti con l'irradiazione UV naturale durante la stagione estiva (50 ng/ml), evitando livelli potenzialmente tossici. I soggetti con elevate concentrazioni di melanina a livello cutaneo, gli obesi, coloro che evitano il sole, gli anziani, potrebbero richiedere dosi superiori a 5000 UI/die per raggiungere tali livelli, specialmente durante la stagione invernale (32).

Aloia e collaboratori (33) nel 2009 hanno pubblicato uno studio randomizzato e controllato condotto su 162 adulti randomizzati per ricevere o 50 μ g di Vitamina D₃ (2000 UI) o placebo quotidianamente per 12 settimane. Ogni due settimane veniva somministrato un questionario per rilevare l'incidenza e l'intensità di eventuali infezioni delle vie aeree superiori. I livelli di 25(OH)D di base nei due bracci erano molto simili (64,3 \pm 25,4 nmol/l nel gruppo che riceveva la Vitamina D, e 63,0 \pm 25,8 nmol/l nel gruppo placebo), e dopo 12 settimane vi è stato un significativo aumento del livello di

25(OH)D, fino a $88,5 \pm 23,2$ nmol/l, nel gruppo che riceveva la Vitamina D. Cionondimeno la supplementazione di Vitamina D non ha determinato una riduzione dell'incidenza o dell'intensità delle infezioni delle vie aeree superiori durante l'inverno. Lo studio però è stato condotto somministrando la Vitamina D durante la stagione invernale, mentre perché si raggiungano stabilmente concentrazioni elevate sono necessari alcuni mesi. Dal momento che è dimostrata l'azione della Vitamina D sull'immunità innata tramite la stimolazione della produzione di peptidi antimicrobici e sull'immunità acquisita, con effetti diretti sull'attivazione dei T-linfociti e sul fenotipo e la funzione delle Antigen-Presenting Cells (APC) (34), sono necessari studi controllati che prevedano la somministrazione di dosi giornaliere anche più elevate di Vitamina D a partire dall'inizio dell'autunno per stabilirne con certezza l'attività protettiva dalle infezioni respiratorie.

In vitro è stata anche dimostrata da parte della Vitamina D assunta per os un'attività stimolante le risposte immunitarie antimicobatteriche, e sarebbe assolutamente opportuno impostare studi clinici controllati per verificare in vivo su ampie casistiche la sua efficacia in tal senso (35-38). Un unico studio randomizzato e controllato verso placebo, in doppio cieco, è stato

pubblicato nel 2009 da Wejse et al. (39). Lo studio, condotto su un campione di 356 adulti della Guinea-Bissau con tubercolosi (TB) polmonare sottoposti a trattamento antitubercolare per 12 mesi, prevedeva la somministrazione al braccio attivo di una dose di 100000 UI di colecalciferolo all'immissione e dopo 5 e 8 mesi dall'inizio del trattamento. L'outcome primario era la riduzione dello score di severità (TBscore) per tutti i pazienti, il secondario la riduzione della mortalità. Entrambi gli outcome non sono stati raggiunti, e gli autori concludevano che la supplementazione con Vitamina D non era in grado di migliorare gli outcome clinici nei pazienti con tubercolosi polmonare, anche se era possibile che la dose di colecalciferolo somministrata fosse insufficiente ad ottenere l'effetto.

Vitamina D e asma

Uno dei problemi principali nella terapia dell'asma è la variabilità della risposta ai corticosteroidi inalatori (ICS), con una quota di pazienti che non raggiungono il controllo ottimale della malattia nonostante assumano alte dosi di ICS. In questi pazienti, il mancato controllo dell'asma si associa ad un accelerato declino della funzione respiratoria. Nel 2006 Xystrakis e collaboratori hanno dimostrato in

vitro che la supplementazione con Vitamina D₃ incrementa l'effetto del desametasone sulla produzione di IL-10 da parte di linfociti T regolatori, e che in soggetti con asma steroido-resistente la preincubazione dei linfociti T con IL-10 e Vitamina D₃ riesce a superare il difetto di produzione di IL-10 desametasone-indotta da parte dei linfociti CD4+ (40). A supporto di questi dati sperimentali uno studio condotto in Costa Rica su una popolazione di 616 bambini asmatici fra i 6 e i 12 anni ha dimostrato una correlazione fra bassi livelli plasmatici di 25(OH)D (<30 ng/ml), IgE totali, conta degli eosinofili, reattività bronchiale alla metacolina, rischio di ospedalizzazione, e aumentato uso di steroidi inalatori, e al contrario come un livello maggiore di log(10) di 25(OH)D si associasse ad un miglioramento significativo dei predetti marcatori di gravità (41).

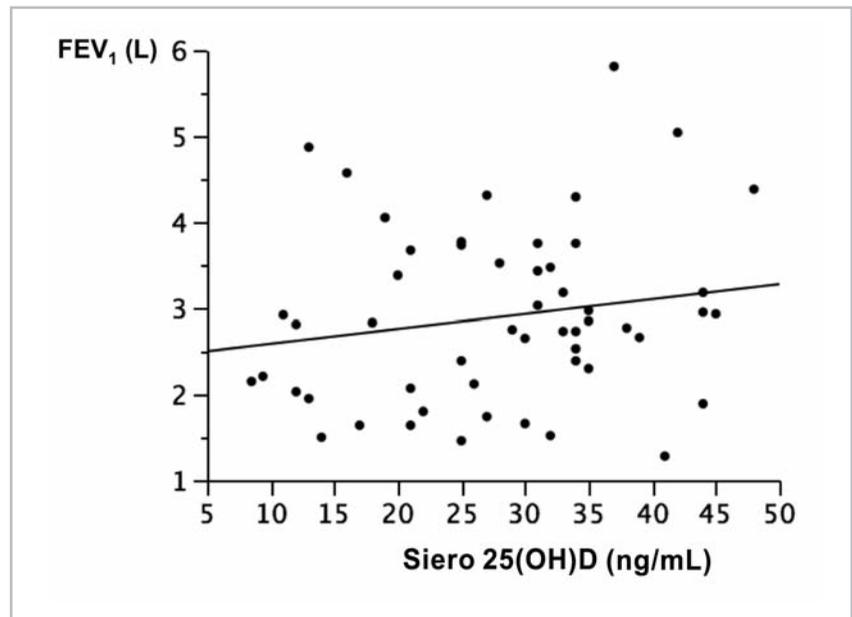
In un recentissimo studio pubblicato sull'*American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, Sutherland e collaboratori hanno effettuato le medesime constatazioni su un campione di 54 adulti asmatici con livelli sierici di Vitamina D di $28,1 \pm 10,2$ ng/ml, osservando inoltre che livelli più elevati di Vitamina D erano associati ad una maggiore funzione polmonare, con un aumento del FEV₁ pari a $22,7 \pm 9,3$ ml per ciascun aumento di ng/ml di Vitami-

na D ($p = 0,02$) (Fig. 3). Inoltre nei pazienti non trattati con ICS, l'espressione di MPK-1 indotta da desametasone aumentava con livelli più alti di Vitamina D (Fig. 4). Gli Autori concludono che nei pazienti asmatici ridotti livelli di 25(OH)D si associano con peggiore funzione polmonare, aumentata iperreattività bronchiale, e ridotta risposta agli steroidi inalatori suggerendo che una integrazione con Vitamina D possa migliorare molti indicatori di gravità della malattia e la risposta alla terapia (42).

Vitamina D e BPCO

Timms et al. (43) hanno dimostrato in uno studio su 171 adulti sani che i livelli sierici di metallo proteinasi di matrice (MMP), ed in particolare di MMP-9, sono inversamente proporzionali ai livelli di Vitamina D circolanti. Essi hanno poi somministrato ad un sottogruppo di soggetti una supplementazione di colecalciferolo ogni 3 mesi per un anno, osservando una significativa riduzione dei livelli di MMP-9. Come è noto le metallo proteinasi sono enzimi che svolgono un ruolo di primo piano nella flogosi e nel conseguente rimodellamento della parete bronchiale in corso di BPCO, così come nel rimodellamento della muscolatura liscia bronchiale nell'asma (44, 45). I livelli di MMP-9 risultano au-

Figura 3 - Grafico della vitamina D nel siero (25(OH)D, ng/mL) versus FEV₁ (Volume Espiratorio Forzato nel 1° sec) (L) pre-broncodilatatore, che rappresenta un aumento di $22,7 \pm 9,3$ mL nel FEV₁ per ciascun aumento di nanogrammo per millilitro di vitamina D ($p = 0,02$, r corretto = 0,8)



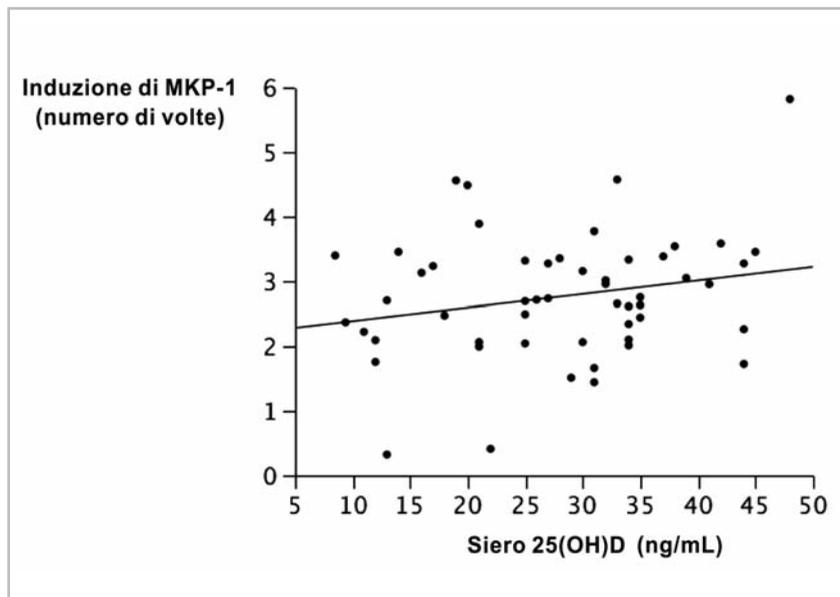
mentare significativamente nell'escreato dei pazienti che vanno incontro a riacutizzazione di BPCO rispetto ai livelli pre-riacutizzazione, mentre quelli del suo inibitore specifico, TIMP-1, si riducono di pari passo. Questa osservazione potrebbe spiegare il meccanismo attraverso cui frequenti episodi di riacutizzazione accelerano il declino della funzione respiratoria nel paziente con BPCO (46).

Un altro punto di coinvolgimento della Vitamina D nella patogenesi della BPCO e connesso alle proteine di legame (VDBP), che svolgono un ruolo cruciale per il tra-

sporto e la regolazione dei metaboliti della Vitamina D. La presenza dell'allele omozigote Gc2 delle VDBP avrebbe infatti effetto protettivo dallo sviluppo di BPCO (47, 48), mentre la presenza dell'allele omozigote 1F determinerebbe un incremento del rischio (49).

Inoltre, è stata di recente dimostrata l'associazione fra varianti polimorfe del gene per il recettore della Vitamina D e la forza del muscolo quadricipite in pazienti affetti da BPCO (50), ed è noto come l'atrofia muscolare sia una delle principali componenti "sistemiche" della BPCO, e come essa

Figura 4 - Grafico della vitamina D nel siero (25(OH)D, ng/mL) versus espressione di MKP-1 (chinasi fosfatasi-1 MAP) indotta da DEX in cellule mononucleari del sangue periferico (PBMCs), che presenta un incremento di MKP-1 di $0,03 \pm 0,01$ volte per ciascun incremento di nanogrammo per millilitro di vitamina D ($p = 0,04$, r corretto = 0,4)



possa influenzare negativamente la prognosi della malattia.

Nei pazienti con BPCO prevale significativamente la carenza di Vitamina D rispetto ai soggetti sani fumatori. In una recentissima casistica di 414 pazienti BPCO ex-fumatori sono stati trovati livelli di Vitamina D <20 ng/ml nel 60% dei soggetti classificati GOLD stadio 3, e nel 77% dei GOLD stadio 4 (classificazione di gravità della *Global initiative on Obstructive Lung Disease*), rispetto al 30% osservato in un gruppo di controllo di fumatori con normale funzione respiratoria. Inoltre i li-

velli sierici di 25(OH)D correlavano significativamente con il FEV₁ ($p < 0,0001$) e il 76% e 100% dei soggetti rispettivamente GOLD3 e GOLD4 omozigoti per l'allele "a rischio" del recettore per la Vitamina D presentava livelli sierici di 25(OH)D <20 ng/ml (51).

Vitamina D e Fibrosi Cistica

Nel caso della Fibrosi Cistica (CF) non vi sono studi che mettono in relazione su basi genetiche la malattia col difetto di Vitamina D. Cionondimeno nei pazienti con CF è molto comune il riscon-

tro di deficienza di Vitamina D (52). Vi è inoltre uno studio abbastanza datato che ha dimostrato che i pazienti con CF e bassi livelli sierici di 25(OH)D hanno una funzione respiratoria significativamente peggiore degli altri pazienti con CF (53). Anche in questo caso, come nella BPCO, la peggiore funzione respiratoria potrebbe essere spiegata con il maggiore rimodellamento delle pareti bronchiali per la presenza di più elevati livelli di MMP-9 nei soggetti con deficienza di Vitamina D, visto che anche in corso di CF questo meccanismo sembra svolgere un ruolo di primo piano (54).

Vitamina D e Fibrosi Polmonare

Solo di recente si è acceso l'interesse sui rapporti fra Vitamina D e Fibrosi Polmonare. Un studio pubblicato nel 2009 e condotto sul modello sperimentale della fibrosi polmonare indotta da bleomicina ha dimostrato che nei polmoni di ratti cui era stato somministrato il farmaco vi erano livelli significativamente inferiori ($p < 0,001$) rispetto a quelli degli animali che avevano ricevuto il placebo (55). Un secondo studio ancor più recente ha poi dimostrato la presenza di recettori per la Vitamina D sui fibroblasti polmonari umani, e che la Vitamina D, ed in particolare il suo metabolita 1,25(OH)₂D₃, è in grado di inibire in vitro gli effetti del *trans-*

forming growth factor β -1 (TGF β 1) sui fibroblasti e le cellule epiteliali del polmone, e che tale inibizione è dose-dipendente. I predetti effetti consistono in stimolazione della proliferazione ed attivazione dei fibroblasti, nella stimolazione della espressione e polimerizzazione della actina delle cellule muscolari lisce, nell'aumento della produzione di fibronectina e collagene da parte dei fibroblasti, nella trasformazione mesenchimale delle cellule epiteliali. È noto come questi siano i meccanismi patogenetici fondamentali alla base della fibrosi polmonare, e gli autori concludono che il metabolita 1,25(OH)₂D₃ è in grado di inibire il fenotipo pro-fibrotico dei fibroblasti e delle cellule epiteliali polmonari (56).

Sul piano clinico, è stato suggerito che le variazioni stagionali dei tassi di mortalità per fibrosi polmonare, che ricalcano quelli della BPCO con la massima incidenza in inverno, possano essere in relazione con le variazioni stagionali dei tassi sierici di Vitamina D (57).

Conclusioni

Vi sono evidenze sperimentali che dimostrano l'azione della Vitamina D sulle risposte immunitarie a livello dell'apparato respiratorio. Essa interviene infatti nella stimolazione e regolazione delle difese immunitarie antinfettive, sia inna-

te che acquisite, modula la flogosi bronchiale e la sensibilità all'azione degli steroidi inalatori nell'asma, inibisce la produzione di metalloproteinasi e difende dallo sviluppo e da alcuni effetti sistemici della BPCO, inibisce i principali meccanismi pro-fibrosanti nel parenchima polmonare. A bassi livelli sierici di Vitamina D si associano forme più gravi delle malattie croniche polmonari ed in particolare un maggiore deterioramento della funzione respiratoria (58). Nonostante ciò rimangono molti aspetti da chiarire, in particolare modo riguardo alla utilità ed ai dosaggi della supplementazione con Vitamina D. Se per gli adulti sani è infatti raccomandato un apporto giornaliero compreso fra le 600 e le 800 UI (59) per mantenere livelli adeguati di Vitamina D, in caso di deficienza le dosi devono essere di gran lunga più elevate, in relazione al grado di carenza. Di certo la supplementazione con Vitamina D, chiarito definitivamente il ruolo svolto dalla sua carenza nella patogenesi delle principali malattie croniche polmonari (60) e stabilite con certezza le corrette modalità del trattamento, rappresenterebbe un intervento terapeutico a basso costo ed elevata sicurezza per malattie che da sole rappresentano la terza causa di morte nel mondo.

Bibliografia

1. Mellanby T. The part played by an "accessory factor" in the production of experimental rickets. A further demonstration of the part played by accessory food factors in the aetiology of rickets. *J Physiology* 1918; 52: 11.
2. Goldblatt H, Soames KM. A Study of Rats on a Normal Diet Irradiated daily by the Mercury Vapour Quartz Lamp or kept in Darkness. *Biochem J* 1923; 17: 294.
3. Windaus A, Schenck F, Von Werder F. About the antirachitic irradiation product of 7-dehydrocholesterol. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 1936; 241: 100.
4. Gordon CM, DePeter KC, Feldman HA, et al. Prevalence of vitamin D deficiency among healthy adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004; 158: 531.
5. Das G, Crocombe S, McGrath M, et al. Hypovitaminosis D among healthy adolescent girls attending an inner city school. *Arch Dis Child* 2006; 91: 569.
6. Lips P, Hosking D, Lippuner K, et al. The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis: an international epidemiological investigation. *J Intern Med* 2006; 260: 245.
7. Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 353.
8. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266.
9. Henry HL, Norman AW. Studies on calciferol metabolism. IX. Renal 25-hydroxy-vitamin D₃-1 hydroxylase. Involvement of cytochrome P-450 and other properties. *J Biol Chem* 1974; 249: 7529.
10. Holick MF. Vitamin D: Biosynthesis, metabolism, and mode of action. In: *Endocrinology*, DeGroot, LJ (Ed), Grune & Stratton, New York 1989, p. 902.

11. Kime ZR. Sunshine and infectious disease. In: Sunlight. Penryn: World Health Publications, 1980; 157-89.
12. Adams JS, Hewison M. Unespicted actions of Vitamin D: new perspectives on the regulation of the innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008; 4: 80-90.
13. Medzhitov R, Janeway C Jr. Innate immunity. *N Engl J Med* 2000; 343: 338-44.
14. Ooi EH, Wormald PJ, Tan LW. Innate immunity in the paranasal sinuses: a review of host defences. *Am J Rhinol* 2008; 22: 13-9.
15. Boucher RC. Molecular insights into the physiology of the "thin film" of airway liquid. *J Physiol* 1999; 516: 631-8.
16. Diamond G, Legarda D, Ryan LK. The innate immune response of the respiratory epithelium. *Immunol Rev* 2000; 173: 27-38.
17. Medzhitov R, Janeway C Jr. Innate immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunol Rev* 2000; 173: 89-97.
18. Ganz T. Antimicrobial polypeptides. *J Leukoc Biol* 2004; 75: 34-8.
19. Brogden KA. Antimicrobial peptides: pore inhibitors or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat Rev Microbiol* 2005; 3: 238-50.
20. Bals R, Wang X, Zasloff M, Wilson JM. The peptide antibiotic LL-37/hCAP-18 is expressed in epithelia of the human lung where it has broad antimicrobial activity at the airway surface. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9541-6.
21. Zhao R, Wang I, Lehrer RI. Widespread expression of beta-defensin hBD-1 in human secretory glands and epithelial cells. *FEBS Lett* 1996; 396: 319-22.
22. Harder J, Bartels H, Christophers E, Schroder JM. Isolation and characterization of human beta defensin 3 a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem* 2001; 276: 5707-13.
23. Garcia J-R, Krause A, Schulz S, et al. Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity *FASEB J* 2001; 15: 1819-21.
24. Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V, et al. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol* 2004; 173: 2909-12.
25. Gombart AF, Borregaard N, Koeffler HP. Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly upregulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *FASEB J* 2005; 19: 1067-77.
26. Liu PT, Stenger S, Li H, Tang DH, Modlin RL. Toll-like receptor triggering of a vitamin D mediated human antimicrobial response. *Science* 2006; 311: 1770-3.
27. Yim S, Dhawan P, Ragunath C, Christakos S, Diamond G. Induction of cathelicidin in normal and CF bronchial epithelial cells by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *J Cyst Fibros* 2007; 6: 403-10.
28. Weber G, Heilborn JD, Chamorro Jimenez CI, Hammarsjo A, Torma H, Stahle M. Vitamin D induces the antimicrobial protein hCAP18 in human skin. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 1080-2.
29. Adams JS, Ren S, Liu PT, et al. Vitamin D-directed rheostatic regulation of monocyte antibacterial responses. *J Immunol* 2009; 182: 4289-95.
30. Bartley J. Vitamin D, innate immunity and upper respiratory tract infection. *J Laryngol Otol*. 2010; 124 (5): 465-9.
31. Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA Jr, Association between serum 25-Hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 2009; 169 (4): 384-90.
32. Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, et al. Epidemic Influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect* 2006; 134, 1129-40.
33. Li-Ng M, Aloia JF, Pollack S, et al. A randomized controlled trial of vitamin D3 supplementation for the prevention of symptomatic upper respiratory tract infections. *Epidemiol Infect* 2009; 137: 1396-404.
34. Kamen DL, Tangpricha V. Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity. *J Mol Med* 2010; 88 (5): 441-50.
35. Yamshchikov AV, Kurbatova EV, Kumari M, et al. Vitamin D status and antimicrobial peptide cathelicidin (LL-37) concentrations in patients with active pulmonary tuberculosis. *Am J Clin Nutr* 2010; 92 (3): 603-11.
36. Lange C, Wilkinson RJ. Vitamin D and Active Tuberculosis: A Futile Quest? *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181 (1): 95-5.
37. Wilkinson RJ, Lange C. Vitamin D and tuberculosis: new light on a potent biologic therapy? *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179 (9): 740-2.
38. Martineau AR, Leandro ACCS, Anderson ST, et al. Association between Gc genotype and susceptibility to TB is dependent on vitamin D status. *Eur Respir J* 2010; 35 (5): 1106-12.
39. Wejse C, Gomes VF, Rabna P, et al. Vitamin D as Supplementary Treatment for Tuberculosis: A Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179 (9): 843-50.
40. Xystrakis E, Kusumakar S, Boswell S, et al. Reversing the defective induction of IL-10-secreting regulatory T cells in glucocorticoid-resistant asthma patients. *J Clin Invest* 2006; 116 (1): 146-55.
41. Brehm JM, Celedón JC, Soto-Quiros ME, et al. Serum vitamin D levels and markers of severity of childhood asthma in Costa Rica. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179 (9): 765-71.
42. Sutherland ER, Goleva E, Jackson LP, et al. Vitamin D levels, lung function, and steroid response in adult asthma.

- Am J Respir Crit Care Med 2010; 181 (7): 699-704.
43. Timms PM, Mannan M, Hitman GA, et al. Circulating MMP9, vitamin D and variation in the TIMP-1 response with VDR genotype: mechanisms for inflammatory damage in chronic disorders? *QJM* 2002; 95: 787-96.
 44. Sampsonas F, Karkoudias K, Spiropoulos K. Genetics of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, beyond α 1-antitrypsin deficiency. *Curr Med Chem* 2006; 13: 2857-73.
 45. Song Y, Qi H, Wu C. Effect of 1,25-(OH)₂D₃ (a vitamin D analogue) on passively sensitized human airway smooth muscle cells. *Respirology* 2007; 12: 486-94.
 46. Mercer PF, Shute JK, Bhowmik A, Donaldson GC, Wedzicha JA, Warner JA. MMP-9, TIMP-1 and inflammatory cells in sputum from COPD patients during exacerbation. *Respir Res* 2005; 6: 151.
 47. Safadi FF, Thornton P, Magiera H, et al. Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *J Clin Invest* 1999; 103 (2): 239-51.
 48. Kueppers F, Miller RD, Gordon H, Hepper NG, Offord K. Familial prevalence of chronic obstructive pulmonary disease in a matched pair study. *Am J Med* 1977; 63 (3): 336-42.
 49. Ishii T, Keicho N, Teramoto S, et al. Association of Gc-globulin variation with susceptibility to COPD and diffuse panbronchiolitis. *Eur Respir J* 2001; 18 (5): 753-7.
 50. Hopkinson NS, Li KW, Kehoe A, et al. Vitamin D receptor genotypes influence quadriceps strength in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Clin Nutr* 2008; 87 (2): 385-90.
 51. Jannsens W, Bouillon R, Claes B, et al. Vitamin D deficiency is highly prevalent in COPD and correlates with variants in the vitamin D-binding gene. *Thorax* 2010; 65: 215-20.
 52. Aris RM, Merkel PA, Bachrach LK, et al. Guide to bone health and disease in cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90 (3): 1888-96.
 53. Stead RJ, Houlder S, Agnew J, et al. Vitamin D and parathyroid hormone and bone mineralisation in adults with cystic fibrosis. *Thorax* 1988; 43 (3): 190-4. Erratum in: *Thorax* 1988; 43 (5): 424.
 54. Gaggar A, Li Y, Weathington N, et al. Matrix metalloproteinase-9 dysregulation in lower airway secretions of cystic fibrosis patients. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 293 (1): L96-L104.
 55. Mert H, Yoruk I, Ertekin A, et al. Vitamin levels in lung tissue of rats with bleomycin induced pulmonary fibrosis. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2009; 55 (2): 186-90.
 56. Ramirez AM, Wongtrakool C, Welch T, Steinmeyer A, Zügel U, Roman J. Vitamin D inhibition of pro-fibrotic effects of transforming growth factor beta1 in lung fibroblasts and epithelial cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 118 (3): 142-50.
 57. Mascitelli L, Pezzetta F, Goldstein MR. Vitamin D and mortality from pulmonary fibrosis. *Chest* 2010; 137 (2): 495-6.
 58. Gilbert CR, Arum SM, Smith CM. Vitamin D deficiency and chronic lung disease. *Can Respir J* 2009; 16 (3): 75-80.
 59. Manson JAE. New IOM report on Vitamin D intakes: what clinicians need to know. *Medscape Ob/Gyn & Women's Health*, December 2010.
 60. Quint JK, Wedzicha JA. Is vitamin D deficiency important in the natural history of COPD? *Thorax* 2010; 65 (3): 192-4.