ROLA WITAMINY D_3 W FIZJOLOGII I PATOLOGII JAJNIKA

THE ROLE OF VITAMIN D_3 IN OVARIAN PHYSIOLOGY AND PATHOLOGY

Małgorzata GRZESIAK[1], Martyna STANKIEWICZ[2]

[1]Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
[2]Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Streszczenie: Najnowsze badania dowodzą, że witamina D_3, poza swoją podstawową rolą w utrzymaniu homeostazy wapniowo-fosforanowej, wpływa również na funkcjonowanie żeńskiego układu rozrodczego. Dotychczas wykazano, że jajnik ludzi i zwierząt jest lokalnym miejscem metabolizmu i działania witaminy D_3. Reguluje ona folikulogenezę, steroidogenezę oraz proliferację, a więc procesy fizjologiczne zachodzące w jajniku. Ponadto podkreśla się, że jej niedobór występuje w stanach patologicznych takich jak zespół policystycznych jajników, przedwczesne wygasanie czynności jajników czy nowotwór jajnika. Liczne badania potwierdzają pozytywny wpływ podawania witaminy D_3 na funkcje rozrodcze kobiet, chociaż brak jest szczegółowych informacji na temat mechanizmu jej działania w patogenezie chorób jajnika. W niniejszej pracy przedstawiono rolę witaminy D_3 w fizjologii i patologii jajnika ze szczególnym uwzględnieniem działania na poziomie komórkowym.

Słowa kluczowe: witamina D_3, jajnik, folikulogeneza, steroidogeneza, PCOS

Summary: Recent research provides that vitamin D_3, apart from its predominant role in maintaining calcium-phosphorus homeostasis, also affects functions of the female reproductive system. It has so far been shown that the ovary of humans and animals is the local site of vitamin D_3 metabolism and action. It regulates folliculogenesis, steroidogenesis and proliferation, thus physiological processes in the ovary. In addition, it is stressed that vitamin D_3 deficiency occurs in pathological conditions, such as polycystic ovarian syndrome, premature ovarian failure or ovarian cancer. Numerous studies confirm the positive effect of vitamin D_3 supplementation on the reproductive functions in women, although there is no detailed information about its mechanism of action in the pathogenesis of ovarian diseases. This paper presents the role of vitamin D_3 in the physiology and pathology of the ovary with particular emphasis on its action at the cellular level.

Keywords: vitamin D_3, ovary, folliculogenesis, steroidogenesis, PCOS

WSTĘP

Powszechnie znaną funkcją witaminy D_3 jest regulacja gospodarki wapniowo-fosforanowej oraz mineralizacja kości. Jednak coraz większa liczba badań wskazuje, że jej właściwy poziom ma wpływ na różnorodne procesy fizjologiczne i patologiczne zachodzące w organizmie. Klasycznymi tkankami docelowymi dla witaminy D_3 są jelita, nerki oraz kości. Natomiast wśród nieklasycznych miejsc działania witaminy D_3 znajdują się tkanki żeńskiego układu rozrodczego. Receptor witaminy D_3 (ang. *Vitamin D Receptor,* VDR) oraz enzymy związane z jej metabolizmem występują w jajniku, macicy, jajowodzie, pochwie i łożysku u ludzi i zwierząt, co świadczy o bezpośredniej roli witaminy D_3 w regulacji funkcjonowania tych narządów [28]. Ponadto w ostatnich latach wzrosła gwałtownie liczba prac naukowych, które sugerują korelację pomiędzy niskim poziomem witaminy D_3 a obniżoną płodnością, zaburzeniami metabolizmu i gospodarki hormonalnej, zespołem policystycznych jajników (ang. *Polycystic Ovary Syndrome,* PCOS), przedwczesnym wygasaniem czynności jajników (ang. *Premature Ovarian Failure,* POF) czy nowotworem jajnika [37]. W niniejszej pracy przedstawione zostaną dane literaturowe na temat znaczenia witaminy D_3 w regulacji procesów fizjologicznych w jajniku oraz skutki jej niedoboru mające związek z patologiami jajnika.

STRUKTURA I METABOLIZM WITAMINY D_3

Witamina D została odkryta w roku 1922 przez McColluma jako czwarta witamina. Następnie w roku 1930, dzięki badaniom Windausa, poznano jej chemiczną strukturę i włączono do związków steroidowych [14]. Pojęcie witamina D odnosi się do grupy związków chemicznych, których wspólną cechą jest obecność cząsteczki zbudowanej z czterech pierścieni (A, B, C, D) oraz łańcucha bocznego. Z tego względu zaliczane są one do sekosteroidów charakteryzujących się rozerwanym pierścieniem B. Witamina D występuje w dwóch postaciach: witaminy D_2 (ergokalcyferol), której naturalnym źródłem są rośliny oraz grzyby, a także witaminy D_3 (cholekalcyferol) powstającej w organizmach zwierzęcych [5].

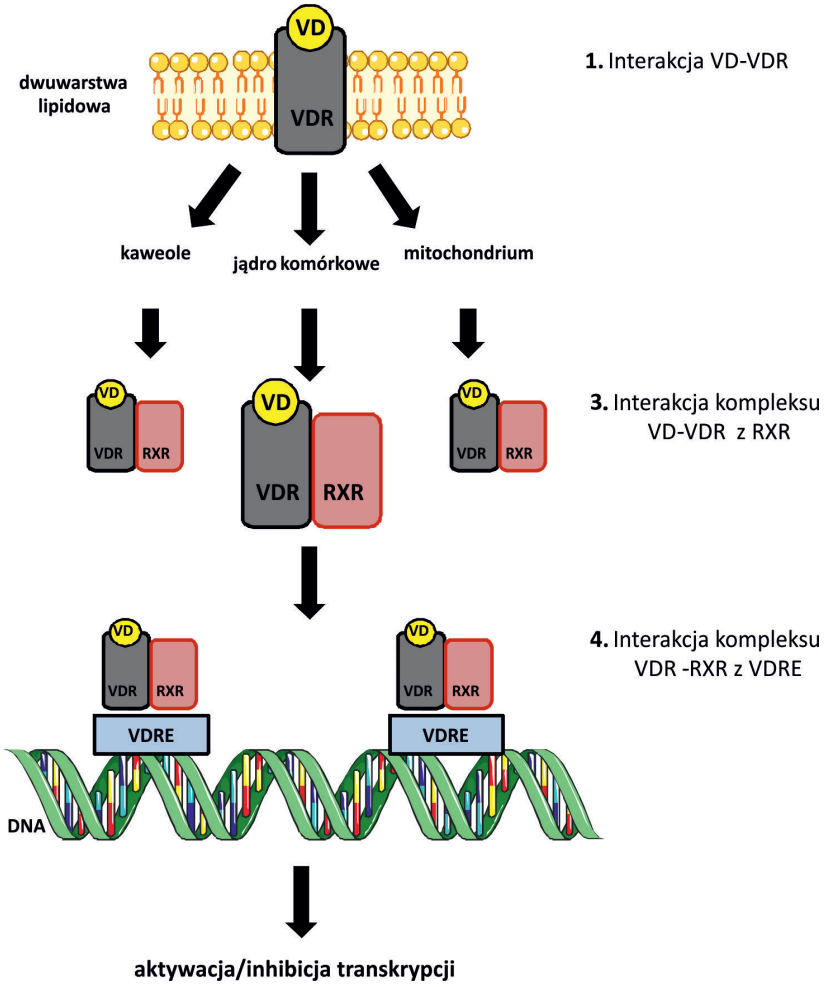
Synteza witaminy D_3 odbywa się w skórze i zależy od natężenia promieniowania ultrafioletowego (UVB). Jest to najważniejsze źródło zaopatrujące organizm w ten związek. Ponadto oprócz endogennej syntezy, witamina D_3 może być przyswajana z diety (tłuste ryby, tran, mleko, jaja) [11]. Prekursorem witaminy D_3 jest 7-dehydrocholesterol obecny w keratynocytach warstwy podstawnej i kolczystej naskórka oraz w komórkach skóry właściwej. Pod wpływem promieniowania UVB o długości fali 290-315 nm dochodzi do rozerwania pierścienia B i powstania prewitaminy D_3, która dalej ulega izomeryzacji pod wpływem energii cieplnej ciała tworząc cząsteczkę witaminy D_3 (cholekalcyferol). Jest ona uwalniana z błon

keratynocytów do przestrzeni międzykomórkowej, a stąd do krwi. W krwiobiegu witamina D_3 łączy się z białkami wiążącymi witaminę D (ang. *Vitamin D Binding Protein,* VDBP) i w takiej formie zostaje dostarczona do wątroby. W hepatocytach odbywa się pierwszy etap boaktywacji polegający na hydroksylacji do 25(OH) D_3 (25-hydroksykalcyferol, kalcydiol) w obecności 25-hydroksylaz, wśród których największe znaczenie ma CYP2R1. Miejscem drugiej hydroksylacji są nerki, w których działa 1α-hydroksylaza (CYP27B1) katalizująca syntezę aktywnej biologicznie witaminy D_3, czyli 1α,25$(OH)_2D_3$ (1α,25-dihydroksycholekalcyferol, kalcytriol). Zarówno kalcydiol i kalcytriol mogą ulegać rozkładowi w wyniku dalszej hydroksylacji przez enzym CYP24A1 w pozycji węgla 24, tworząc nieaktywne 24-hydroksylowe pochodne (np. kwas kalcytrionowy). Jest to mechanizm regulujący poziom witaminy D_3 [2, 5]. Stężenie krążącego we krwi kalcytriolu nie jest miarodajnym wskaźnikiem poziomu witaminy D_3 w organizmie, ponieważ jego zawartość i metabolizm są kontrolowane przez parathormon oraz zależą od stężenia wapnia i fosforu. Za najlepszy wskaźnik uważa się kalcydiol ze względu na jego długi okres półtrwania i brak mechanizmów regulujących jego poziom [6].

MECHANIZM DZIAŁANIA WITAMINY D_3

Biologiczny efekt 1α,25$(OH)_2D_3$ na komórki docelowe wywierany jest za pośrednictwem VDR. VDR należy do nadrodziny receptorów hormonów steroidowych aktywowanych ligandem i pełni funkcję czynnika transkrypcyjnego regulującego ekspresję ponad 200 genów. VDR zbudowany jest z krótkiej N-terminalnej domeny, wysoce konserwatywnej domeny wiążącej DNA, regionu zawiasowego oraz α-helikalnej C-terminalnej domeny wiążącej ligand [5]. Kalcytriol związując się z domeną wiążącą ligand powoduje heterodimeryzację VDR z receptorem kwasu 9-cis retinowego (ang. *Retinoid X Receptor,* RXR). Powstały kompleks ligand-VDR-RXR ulega translokacji do jądra komórkowego i wiąże się z elementem odpowiedzi na witaminę D_3 (ang. *Vitamin D Response Elements,* VDRE). Aktywacja lub hamowanie transkrypcji genów docelowych wymaga dodatkowo rekrutacji białek koregulatorowych wykazujących aktywność biologiczną (białka enzymatyczne, ATPazy, fosfatazy, kinazy), indukując tym samym zmiany epigenetyczne tj. acetylacja i deacetylacja histonów oraz metylacja DNA. Odpowiednia strukturalna konformacja VDR determinuje rodzaj rekrutowanych koregulatorów, a w konsekwencji ostateczny efekt wywierany na genom [21]. Badania nad strukturą VDR wykazały obecność dwóch zachodzących na siebie miejsc wiążących ligand w domenie C-końcowej. Zostały one określone jako kieszeń genomowa (ang. *VDR-Genomic Pocket,* VDR-GP) oraz kieszeń alternatywna (ang. *VDR-Alternative Pocket,* VDR-AP). Pierwsza z nich inicjuje klasyczną odpowiedź genomową, a druga może wywoływać zarówno efekt genomowy i niegenomowy [35].

Ostateczna droga sygnalizacyjna uruchamiana po związaniu kalcytriolu lub jego syntetycznych analogów do VDR zależy także od jego lokalizacji w komórce. Obecność VDR stwierdzono w cytoplazmie (lub jadrze komórkowym po związaniu liganda), mitochondriach, a także w zagłębieniach błony komórkowej, czyli kaweolach. VDR zlokalizowany w kaweolach uruchamia szybką, czyli niegenomową odpowiedź komórki poprzez aktywację receptorów związanych z białkami G, fosfataz, kinaz i kanałów jonowych [21] (ryc. 1).



RYCINA 1. Komórkowy mechanizm działania witaminy D_3 po związaniu do receptora (wg. [21]). VD – witamina D_3, VDR – receptor witaminy D_3, VDRE – element odpowiedzi na VDR, RXR – receptor kwasu 9-cis retinowego

FIGURE 1. Cellular mechanism of vitamin D_3 action after binding to receptor [21]. VD – vitamin D_3, VDR – vitamin D_3 receptor, VDRE – vitamin D response elements, RXR – retinoid X receptor

Ostatnio dowiedziono, że 1α,25$(OH)_2D_3$ może działać na drodze niegenomowej również po interakcji z białkiem MARRS (ang. *Membrane-Associated Rapid Response Steroid*). Występuje ono w zagłębieniach błon komórkowych wspólnie z VDR i wiąże się z kaweoliną 1. Ten typ receptora witaminy D_3 jest znany także pod nazwami GRP58 (ang. *Glucose Responsive Protein, 58 kDa*), ERp57 lub ERp60 (ang. *Endoplasmic Reticulum Protein 57/60 kDa*) oraz Pdia3 (ang. *Protein Disulfide Isomerase Family A, Member 3*) [13]. Dotychczasowe badania prowadzone na komórkach żeńskiego układu rozrodczego, w tym jajnika, skupiają się na działaniu witaminy D_3 poprzez VDR. Brak jest natomiast informacji na temat ekspresji i roli MARRS.

WITAMINA D_3 A PROCESY FIZJOLOGICZNE W JAJNIKU

Ekspresja VDR oraz enzymów zaangażowanych w metabolizm witaminy D_3 w żeńskim układzie rozrodczym świadczy, że jest ona ważnym regulatorem funkcji rozrodczych samicy. Obecność transkryptu i/lub białka dla VDR wykazano dotychczas w jajniku człowieka [46], makaka [51], szczura [19], kozy [52], świni [12] i psa [4], a także kury [49]. Dowodzi to, że jajnik jest tkanką docelową dla witaminy D_3.

TABELA 1. Ekspresja receptora witaminy D_3 w jajniku ssaków i wpływ witaminy D_3 na procesy fizjologiczne w jajniku. VDR – receptor witaminy D_3, P4 – progesteron, E2 – estradiol, bd – brak danych, + obecny, ↑ podwyższenie, → brak zmian

TABLE 1. Expression of vitamin D_3 receptor in mammalian ovary and effects of vitamin D_3 on ovarian physiology.VDR –vitamin D_3 receptor, P4 – progesterone, E2 – estradiol, bd – no study, + present, ↑ increase, → no changes

Gatunek	Ekspresja VDR	Cytacja	Wpływ witaminy D_3 na funkcje jajnika			Cytacja
			Folikulogeneza	Proliferacja	Steroidogeneza	
człowiek	+	[46]	↑	bd	↑P4 ↑E2	[33, 39]
makak	+	[51]	↑	bd	→P4, E2	[50, 51]
szczur	+	[19]	bd	bd	↑E2	[27]
koza	+	[52]	bd	↑	↑P4 ↑E2	[52]
świnia	+	[12]	bd	bd	↑P4 lub →P4 ↑E2	[15, 16, 42]
pies	+	[4]	bd	bd	bd	-
kura	+	[49]	↑	↑	bd	[49]

Ponadto ekspresja enzymu CYP27B1 w komórkach ziarnistych pęcherzyka jajnikowego naczelnych [9, 51] świadczy o ich potencjale do syntezy aktywnej formy witaminy D_3 działającej prawdopodobnie lokalnie na drodze auto-/parakrynowej. Wskazuje na to również obecność $1\alpha,25(OH)_2D_3$ w płynie pęcherzykowym [1]. Biorąc pod uwagę przytoczone dane literaturowe można postawić hipotezę, że witamina D_3 odgrywa istotną rolę w regulacji procesów zachodzących w jajniku, które warunkują potencjał rozrodczy samicy oraz płodność (tab. 1).

DOJRZEWANIE PŁCIOWE

Doświadczenia przeprowadzone na zwierzętach dowodzą, że witamina D_3 wpływa na osiągnięcie dojrzałości płciowej oraz ustalenie regularnych cykli estralnych. W badaniach Dicken i wsp. [7] wykorzystano myszy z knockoutem genu dla enzymu Cyp27b, które podzielono na dwie grupy – suplementowaną witaminą D_3 oraz z niedoborem witaminy D_3 w diecie. Oceniano markery dojrzewania tj. czas otwarcia pochwy i pierwszej rui oraz stężenie gonadotropin w osoczu krwi, histologię jajnika, wrażliwość jajników na egzogenne gonadotropiny i cykliczność występowania rui. Niedobór witaminy D_3 w wieku przed pierwszą rują znacząco opóźniał otwarcie pochwy. Natomiast dojrzałe płciowo samice, u których utrzymywano niedobór witaminy D_3 po okresie dojrzewania wykazywały dłuższe cykle płciowe. Autorzy sugerują, że witamina D_3 jest kluczowym regulatorem neuroendokrynnym, a jej niedobór w okresie przedpokwitaniowym zaburza oś hormonalną podwzgórze-przysadka mózgowa-jajnik. W konsekwencji prowadzi to do opóźnienia dojrzewania płciowego, zahamowania rozwoju pęcherzyków jajnikowych, zmniejszenia liczby owulacji i zakłócenia cykliczność występowania rui. Badania te wskazują, że odpowiedni poziom witaminy D_3 jest ważny dla prawidłowego dojrzewania płciowego i utrzymania zdolności reprodukcyjnych samicy.

REZERWA JAJNIKOWA

Potencjał reprodukcyjny samicy wyraża się liczbą pęcherzyków pierwotnych obecnych w jajniku w momencie urodzenia, które stanowią rezerwę jajnikową. Ulega ona zmniejszaniu w czasie życia postnatalnego, a szczególnie po osiągnięciu dojrzałości płciowej, w wyniku rekrutacji do wzrostu pęcherzyków pierwotnych (wstępna rekrutacja). Proces ten jest kontrolowany przez czynniki wzrostu oraz hormony, które mogą działać stymulująco lub hamująco [36]. Jednym z ważnych regulatorów jest hormon anty-Mülleryjny (ang. *Anti-Müllerian Hormone,* AMH) będący glikoproteiną należącą do nadrodziny transformujących czynników wzrostu β. Jest produkowany przez komórki ziarniste pęcherzyków przedantralnych oraz wczesnych antralnych i uwalniany do krwi. AMH hamuje wstępną rekrutację, a więc utrzymuje rezerwę jajnikową i jest obecnie uważany

za jeden z ważniejszych jej wskaźników. Wraz z wiekiem rozrodczym stężenie AMH maleje, co jest związane ze zmniejszającą się pulą pęcherzyków w jajniku. Najbardziej widoczne jest to przed menopauzą, natomiast później poziom AMH jest prawie niewykrywalny [17, 47].

W ostatnim czasie intensywnie dyskutuje się o wpływie witaminy D_3 na stężenie AMH, a tym samym na rezerwę jajnikową. Badania przeprowadzone na grupie kobiet będących w wieku przedmenopauzalnym oraz posiadających regularne cykle miesiączkowe wykazały pozytywną korelację między stężeniem 25(OH) D_3 i AMH w surowicy krwi [34]. Ponadto obserwowano spadek poziomu obu badanych hormonów w surowicy krwi kobiet zimą, a efekt ten był odwracany po podaniu witaminy D_3 [17]. Świadczy to niewątpliwie o wpływie witaminy D_3 na poziom AMH, który może wynikać z obecności sekwencji VDRE w promotorze genu dla AMH, co zostało potwierdzone w komórkach linii nowotworowej prostaty [31]. Co ciekawe, Merhi i wsp. [33] zaobserwowali, że niedobór 25(OH)D_3 w płynie pęcherzyków jajnikowych koreluje ze zwiększoną ekspresją transkryptu dla receptora AMH typu II (ang. *Anti-Müllerian Hormone Receptor type II,* AMHR-II) w ludzkich komórkach ziarnistych. Dowiedziono również, że witamina D_3 zmniejsza fosforylację białka Smad 1/5/8, poprzez które przekazywany jest sygnał od AMHR-II. A zatem witamina D_3 może nie tylko zwiększać syntezę AMH, ale także modulować jego wpływ na komórki pęcherzyka jajnikowego poprzez regulację wewnątrzkomórkowych szlaków sygnalizacyjnych [33]. Pomimo braku danych literaturowych wskazujących na bezpośrednią rolę witaminy D_3 w utrzymywaniu rezerwy jajnikowej, jej wpływ na poziom AMH pozwala zakładać synergistyczne działanie obu hormonów.

FOLIKULOGENEZA

Podstawową funkcją jajnika jest produkcja żeńskich komórek rozrodczych, które dojrzewają w pęcherzykach jajnikowych. Proces ich wzrostu i rozwoju od stadium pęcherzyka pierwotnego, poprzez pęcherzyk przedantralny i antralny, aż do przedowulacyjnego nazywamy folikulogenezą [45]. Wpływ witaminy D_3 na przebieg procesu folikulogenezy wykazano po raz pierwszy w badaniach *in vivo* przeprowadzonych na myszach z knockoutem genów dla VDR i Cyp27b1. Obserwowano u nich rozrost tkanki interstycjalnej jajnika, osłabiony rozwój pęcherzyków jajnikowych oraz brak ciałek żółtych wskazujący na zaburzenia owulacji [23, 38]. Dodatkowo samice myszy pozbawionych genu Cyp27b1, utrzymujące dietę z niedoborem witaminy D_3 po okresie dojrzewania, wykazywały zahamowanie folikulogenezy i wydłużone cykle płciowe. Ponadto pozyskiwano od nich mniejszą liczbę komórek jajowych z jajowodów po stymulacji gonadotropinami [7].

Wpływ witaminy D_3 na rozwój pęcherzyków jajnikowych *in vitro* został zbadany u naczelnych przez grupę Xu i wsp. [50]. Izolowali oni pęcherzyki przedan-

tralne, a następnie utrzymywali je do stadium antralnego w hodowli trójwymiarowej z dodatkiem niskiej (25 pg/ml) lub wysokiej (100 pg/ml) dawki 1α,25$(OH)_2D_3$. Niska dawka pozytywnie wpływała na wzrost oocytów oraz przeżywalność i rozwój pęcherzyków przedantralnych poprzez zwiększanie ich wrażliwość na folikulotropinę (ang. *Follicle-stimulating Hormone,* FSH), jak sugerują autorzy. U naczelnych FSH jest czynnikiem sprzyjającym przeżywalności pęcherzyków przedantralnych [50], a wzrost ekspresji receptora FSH pod wpływem witaminy D_3 potwierdzono w ludzkich [33] i ptasich [49] komórkach ziarnistych. Natomiast po osiągnięciu stadium antralnego bardziej efektywna była wyższa dawka witaminy D_3, która promowała wzrost pęcherzyków. Otrzymane wyniki badań dowodzą, że witamina D_3 wpływa zarówno na wczesne i późne etapy follikulogenezy, a jej efekt jest zależny od dawki.

Wzrost i rozwój pęcherzyków jajnikowych związany jest z proliferacją i różnicowaniem komórek ziarnistych. Yao i wsp. [52] wykazali wpływ witaminy D_3 na proliferację komórek ziarnistych kozy poprzez regulację stresu oksydacyjnego oraz zmianę ekspresji genów cyklu komórkowego. Intensywne podziały komórek ziarnistych *in vitro* pod wpływem witaminy D_3 obserwowano również u kury [49].

STEROIDOGENEZA

Oprócz produkcji komórek rozrodczych, jajnik pełni również funkcję gruczołu dokrewnego, w którym syntetyzowane są hormony steroidowe (progesteron, androgeny i estrogeny). Biosynteza steroidów, czyli proces steroidogenezy, zachodzi w komórkach ziarnistych oraz osłonki wewnętrznej pęcherzyka jajnikowego pod kontrolą gonadotropin przysadkowych oraz w obecności specyficznych enzymów [45]. Przeprowadzone dotychczas badania wskazują, że witamina D_3 reguluje ekspresję i aktywność enzymów szlaku steroidogenezy, a wywierany efekt jest tkankowo specyficzny [30]. W ludzkich komórkach ziarnistych obserwowano zwiększenie ekspresji i aktywności enzymu dehydrogenazy 3β-hydroksysteroidowej (3β-HSD) odpowiedzialnej za syntezę progesteronu, a także wzrost produkcji samego hormonu [33], co jest zgodne z badaniami Parikh i wsp. [39]. Odmienne wyniki otrzymano natomiast na modelu *in vitro* komórek ziarnistych świni. Smolikova i wsp. [42] nie wykazali wpływu 1α,25$(OH)_2D_3$ na podstawową produkcję progesteronu, ale zanotowali wzrost jego syntezy po stymulacji insuliną oraz FSH. Kolejne doświadczenia na komórkach ziarnistych świni prezentują obniżoną produkcję progesteronu po zastosowaniu 1α,25$(OH)_2D_3$ przy jednoczesnym zmniejszeniu ekspresji mRNA i białka dla desmolazy cholesterolowej (CYP11A1) i zwiększeniu ekspresji mRNA i białka dla 3β-HSD [16]. Wyniki badań dotyczące wpływu witaminy D_3 na syntezę estrogenów w jajniku są bardziej jednoznaczne. Doświadczenia przeprowadzone na komórkach ziarnistych człowieka [39], świni [15] i kozy [52] wskazują na stymulujący wpływ 1α,25$(OH)_2D_3$ na

produkcję estradiolu i estronu oraz ekspresję enzymu aromatazy (CYP19A1), który konwertuje androgeny do estrogenów. W ludzkich komórkach łożyska stwierdzono obecność elementu VDRE w promotorze genu kodującego CYP19A1 [43], co sugeruje bezpośredni udział witaminy D_3 w regulacji ekspresji tego enzymu i może wyjaśniać przedstawione powyżej wyniki badań. Rola witaminy D_3 w modulowaniu syntezy androgenów w jajniku nie była dotąd intensywnie badana. Parikh i wsp. [39] stwierdzili brak jej wpływu na syntezę androgenów u człowieka. Zaobserwowano jednak, że testosteron wpływa na aktywność transkrypcyjną VDR w komórkach ziarnistych świni poprzez hamowanie tworzenia kompleksów VDR-RXR [12]. Przytoczone dane literaturowe sugerują, że witamina D_3 jest ważnym modulatorem syntezy steroidów w jajniku człowieka i ssaków.

WITAMINA D_3 A PROCESY PATOLOGICZNE W JAJNIKU

Niedobór witaminy D_3 jest obecnie uznawany za poważny problem cywilizacyjny prowadzący do naruszenia równowagi fizjologicznej organizmu i zwiększający ryzyko występowania wielu przewlekłych chorób. Prawidłowy status witaminy D_3 jest warunkowany stopniem nasłonecznienia, dietą, spożywaniem suplementów witaminy D_3, stylem życia oraz czynnikami genetycznymi [29]. Optymalny poziom witaminy D_3 zależy przede wszystkim od wieku, jednak według najbardziej klasycznych rekomendacji za niedobór uznaje się poziom klacydiolu w surowicy krwi <50 nmol/L (20 ng/mL), zaś za niedomiar <75 nmol/L (30 ng/mL) [41]. Niedobór witaminy D_3 ma niekorzystne działanie nie tylko na układ kostno-szkieletowy, ale także przyczynia się do upośledzenia funkcji rozrodczych. Liczne dane pochodzące z badań klinicznych wskazują, że u kobiet niedobór witaminy D_3 ma związek z patologiami jajnika tj. PCOS, POF czy nowotwór jajnika [11].

PCOS

PCOS jest jedną z najczęstszych endokrynopatii u kobiet w wieku rozrodczym. Charakteryzuje się ona zaburzeniami owulacji, nieregularnymi miesiączkami, obecnością cyst w jajniku, hiperandrogenizmem, nieprawidłowym poziomem gonadotropin oraz zmianami metabolicznymi (hiperinsulinemia, insulinooporność, dyslipidemia), które prowadzą najczęściej do niepłodności. Badania na przestrzeni ostatnich lat pokazują obniżony poziom kalcydiolu poniżej 20 ng/mL u kobiet cierpiących na PCOS oraz sugerują, że istnieje związek pomiędzy niedoborem witaminy D_3 a występowaniem wielu objawów PCOS [3].

Niedobór witaminy D_3 jest często związany z zaburzeniem metabolizmu wapnia, który u kobiet z PCOS może powodować zahamowanie dojrzewania pęcherzyków jajnikowych, a w efekcie zaburzenia owulacji, miesiączkowania i płod-

ności. Zbyt niskie stężenie witaminy D_3 we krwi obniża aktywność i ekspresję genu aromatazy, co prowadzi do zaburzenia konwersji androgenów do estrogenów. Wzrost stężenia androgenów blokuje dojrzewanie pęcherzyka jajnikowego przed owulacją i prowadzi do powstawania cyst jajnikowych [3].

Jednym z objawów metabolicznych występujących u 60-80% kobiet z PCOS jest insulinooporność. Badania dowodzą, że czynnikiem odpowiedzialnym za rozwój insulinooporności u tych pacjentek mogą być defekty postreceptorowe wiązania insuliny. Ponadto stwierdzono u nich również zwiększenie występowania nietolerancji glukozy i cukrzycy typu 2 [25]. Wykazano, że kalcytriol zwiększa syntezę i sekrecję insuliny oraz ekspresję jej receptora. Dodatkowo podnosi on wrażliwość komórek na insulinę poprzez ograniczenie produkcji prozapalnych cytokin [44]. Bezpośrednie działanie witaminy D_3 na wydzielanie insuliny i w efekcie na metabolizm glukozy wynika z ekspresji VDR w komórkach β trzustki oraz obecności sekwencji VDRE w promotorze genu dla insuliny [3]. Uważa się także, że pośredni wpływ witaminy D_3 na wrażliwość komórek na insulinę zależy od regulacji poziomu wewnątrzkomórkowego wapnia, który jest niezbędny do prawidłowej sygnalizacji komórkowej w tkankach insulinozależnych (tkanka mięśniowa i tłuszczowa), szczególnie po obciążeniu glukozą [40].

Insulinooporność skutkuje wzrostem stężenia glukozy w surowicy krwi, która w konsekwencji może nieenzymatycznie modyfikować białka, tłuszcze i kwasy nukleinowe, prowadząc do powstania AGEs (ang. *Advanced Gycation End-products*). Obserwuje się wzrost ich stężenia w surowicy krwi oraz akumulację w komórkach ziarnistych i osłonki pęcherzyków jajnikowych w PCOS. Związki te wiążą się ze swoimi receptorami sRAGE (ang. *Soluble Receptor AGEs*) i indukują powstawanie reaktywnych form tlenu oraz cytokin o właściwościach prozapalnych. Zaangażowanie AGEs i ich receptorów w patogenezę PCOS polega głównie na zaburzeniu wzrostu pęcherzyków jajnikowych. Efekt ten może być osłabiany po zastosowaniu $1\alpha,25(OH)_2D_3$, która ma działanie przeciwzapalne [32].

POF

POF określa się jako utratę funkcji jajnika przed 40-tym rokiem życia. Dochodzi wówczas do przedwczesnego wyczerpywania puli pęcherzyków jajnikowych na skutek autoimmunologicznych uszkodzeń jajnika lub predyspozycji genetycznych [18]. Do typowych objawów POF należą brak miesiączki, podwyższony poziom gonadotropin i obniżony poziom estradiolu, a także bardzo niski poziom AMH w osoczu krwi [24]. Biorąc pod uwagę opisany powyżej wpływ witaminy D_3 na syntezę AMH jako hormonu utrzymującego rezerwę jajnikową, możliwy jest jej udział w etiologii POF. Badania Kebapcilar i wsp. [22] na populacji kobiet z POF wykazały u nich niedobór $25(OH)D_3$, który negatywnie korelował z poziomem FSH. Podobną zależność obserwowano u kobiet przed menopauzą

[20], co sugeruje, że niski poziom witaminy D_3 jest związany z patologicznym i fizjologicznym wygasaniem czynności jajników. W kolejnej pracy u pacjentek z POF potwierdzono charakterystyczny profil hormonalny (wysokie stężenie FSH i LH, niskie stężenie estradiolu), jednak nie zaobserwowano różnic w poziomie $25(OH)D_3$ w porównaniu z grupą kontrolną [8]. Przytoczone badania nie pozwalają jednoznacznie potwierdzić udziału witaminy D_3 w patogenezie POF. Sugeruje się jednak, że niedobór witaminy D_3 może powodować obniżenie poziomu AMH, co skutkuje wzrostem stężenia FSH i w konsekwencji występowaniem POF [8].

NOWOTWÓR JANIKA

Nowotwór jajnika jest wśród nowotworów ginekologicznych główną przyczyną zgonów u kobiet. Bezobjawowy przebieg choroby w jej początkowych stadiach, a także nieswoistość pojawiających się później objawów powoduje, że do jej wykrycia dochodzi najczęściej w późnym stadium rozwoju. Prawdopodobieństwo wystąpienia nowotworu jajnika zależy od liczby przebytych owulacji w życiu kobiety, uszkodzeń DNA oraz predyspozycji genetycznych [26]. Badania epidemiologiczne wykazały, że występowanie nowotworu jajnika jest odwrotnie skorelowane z ekspozycją na promieniowanie UVB, które jest niezbędne do syntezy witaminy D_3 w skórze, sugerując tym samym jej zaangażowanie w patogenezę nowotworu jajnika [10]. Obecnie uważa się, że polimorfizmy genu *VDR* zwiększają ryzyko wystąpienia nowotworu jajnika. Do najczęstszych należy polimorfizm pojedynczego nukleotydu FokI zlokalizowany na końcu 5', który prowadzi do syntezy białka receptorowego o dłuższej sekwencji aminokwasów. Kolejne zidentyfikowane polimorfizmy – BsmI, ApaI i TaqI – zlokalizowane są na końcu 3' i nie wpływają na syntezę funkcjonalnego białka VDR, ale regulują stabilność mRNA dla VDR [10].

Analiza stężenia kalcydiolu przeprowadzona wśród pacjentek z nowotworem jajnika dowiodła, że jego poziom w surowicy krwi był istotnie statystycznie niższy niż w grupie kontrolnej. Kobiety z nowotworem jajnika posiadały najczęściej poziom kalcydiolu poniżej 20 ng/ml. Ponadto w podgrupie pacjentek z poziomem witaminy D_3 poniżej 10 ng/ml stwierdzono statystycznie niższy odsetek przeżyć. Na podstawie przedstawionych wyników badań stwierdzono, iż niedobór witaminy D_3 może mieć wpływ na bardziej agresywny przebieg choroby nowotworowej. Przypuszcza się, że rutynowe oznaczanie stężenia witaminy D_3 u pacjentek z nowotworem jajnika pozwoliłoby wybrać grupę chorych w najwyższym stadium progresji nowotworu [48].

Antynowotworowy mechanizm działania witaminy D_3 polega na hamowaniu proliferacji komórek poprzez wpływ na białka regulatorowe cyklu komórkowego (p21, p27, cykliny). Ponadto odnotowano zahamowanie cyklu komórkowego w fazach G2/M oraz indukcję śmierci komórek nowotworowych jajnika poprzez

zwiększanie ekspresji mRNA i białka czynnika GADD45α. Kolejne badania wskazują, że witamina D_3 hamuje tworzenie naczyń krwionośnych (angiogeneza) w obszarze nowotworu oraz przerzutów do innych tkanek (metastaza). Dowiedziono także, że wpływa ona na metabolizm glukozy i kwasów tłuszczowych w komórkach nowotworowych [10]. Dotychczasowe badania potwierdzają, że podawanie witaminy D_3 lub jej analogów nie jest skuteczną metodą leczenia nowotworu jajnika. Z drugiej jednak strony, odpowiednia suplementacja witaminą D_3 może zmniejszać ryzyko zachorowania [10].

PODSUMOWANIE

Liczne dane epidemiologiczne oraz wyniki badań przeprowadzonych *in vitro*, bądź *in vivo* na modelach zwierzęcych potwierdzają, że witamina D_3 odgrywa kluczową rolę w prawidłowym funkcjonowaniu jajnika. Wpływa ona pozytywnie na przebieg folikulogenezy i utrzymanie rezerwy jajnikowej, a także stymuluje steroidogenezę. Niedobór witaminy D_3 zaburza procesy fizjologiczne w jajniku, ale coraz częściej jest także łączony z patogenezą PCOS, POF oraz nowotworu jajnika. Suplementacja witaminą D_3 wydaje się być ogromną szansą dla leczenia patologii jajnika, ale również innych schorzeń żeńskiego układu rozrodczego. Monitorowanie poziomu kalcydiolu we krwi powinno stać się badaniem profilaktycznym zapewniającym zachowanie zdrowia kobiety.

PODZIĘKOWANIA

Praca finansowana z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową (K/ZDS/008061).

LITERATURA

[1] Antunes RA, Mancebo ACA, Reginatto MW, Deriquehem VAS, Areas P, Bloise E, Chiamolera MI, Ribeiro GCM, Carvalho ARS, Souza MCB, Ortiga-Carvalho TM. Lower follicular fluid vitamin D concentration is related to a higher number of large ovarian follicles. *Reprod Biomed Online* 2018; **36(3)**: 277-284.

[2] Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol* 2014; **21(3)**: 319-329.

[3] Brzozowska M, Karowicz-Bilińska A. Rola niedoboru witaminy D w patofizjologii zaburzeń występujących w zespole policystycznych jajników. *Ginekol Pol* 2013; **84**: 456-460.

[4] Cartwright JA, Gow AG, Milne E, Drummond D, Smith S, Handel I, Mellanby RJ. Vitamin D receptor expression in dogs. *J Vet Intern Med* 2018; **32(2)**: 764-774.

[5] 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.
[6] DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 2004; **80**: 1689-1696.
[7] Dicken CL, Israel DD, Davis JB, Sun Y, Shu J, Hardin J, Neal-Perry G. Peripubertal vitamin D_3 deficiency delays puberty and disrupts the estrous cycle in adult female mice. *Biol Reprod* 2012; **87**: 1-12.
[8] Ersoy E, Ersoy AO, YildimiR G, Buyukkagnici U, Tokmak A, Yilmaz N. Vitamin D levels in patients with premature ovarian failure. *Ginekol Pol* 2016; **87**: 32-36.
[9] Fischer D, Thomé M, Becker S, Cordes T, Diedrich K, Friedrich M, Thill M. 25-Hydroxyvitamin D3 1alpha-hydroxylase splice variants in benign and malignant ovarian cell lines and tissue. *Anticancer Res* 2009; **29(9)**: 3627-3633.
[10] Guo H, Guo J, Xie W, Yuan L, Sheng X. The role of vitamin D in ovarian cancer: epidemiology, molecular mechanism and prevention. *J Ovarian Res* 2018; **11(1)**: 71.
[11] Herian M, Grzesiak M. Rola witaminy D_3 i jej receptora w żeńskim układzie rozrodczym. *KOSMOS* 2017; **66(3)**: 389-399.
[12] Herian M, Luck MR, Grzesiak M. The influence of testosterone on the expression and function of vitamin D(3) receptor (VDR) protein in the porcine ovarian follicle. *Physiol Res* 2018; **67(3)**: 515-519.
[13] Hii CS, Ferrante A. The non-genomic actions of vitamin D. *Nutrients* 2016; **8(3)**: 135.
[14] Holick M. Sunlight and vitamin D for bone, health and prevention of autoimmune diseases, cancers and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004; **80**: 1678-1688.
[15] Hong SH, Lee JE, An SM, Shin YY, Hwang DY, Yang SY, Cho SK, An BS. Effect of vitamin D3 on biosynthesis of estrogen in porcine granulosa cells via modulation of steroidogenic enzymes. *Toxicol Res* 2017; **33(1)**: 49-54.
[16] Hong SH, Lee JE, Kim HS, Jung YJ, Hwang D, Lee JH, Yang SY, Kim SC, Cho SK, An BS. Effect of vitamin D3 on production of progesterone in porcine granulosa cells by regulation of steroidogenic enzymes. *J Biomed Res* 2016; 30(3): 203-208.
[17] Irani M, Merhi Z. Role of vitamin D in ovarian physiology and its implication in reproduction: a systematic review. *Fertil Steril* 2014; **102(2)**: 460-468.
[18] Jankowska K. Przedwczesne wygasanie czynności jajników. *Post Nauk Med* 2014; **12(XXVII)**: 860-864.
[19] Johnson JA, Grande JP, Roche PC, Kumar R. Immunohistochemical detection and distribution of the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in rat reproductive tissues. *Histochem Cell Biol* 1996; **105(1)**: 7-15.
[20] Jukic AM, Steiner AZ, Baird DD. Association between serum 25-hydroxyvitamin D and ovarian reserve in premenopausal women. *Menopause* 2015; **22(3)**: 312-316.
[21] Keane KN, Cruzat VF, Calton EK, Hart PH, Soares MJ, Newsholme P, Yovich JL. Molecular actions of vitamin D in reproductive cell biology. *Reproduction* 2017; **153(1)**: R29-R42.
[22] Kebapcilar AG, Kulaksizoglu M, Kebapcilar L, Gonen MS, Unlü A, Topcu A, Demirci F, Taner CE. Is there a link between premature ovarian failure and serum concentrations of vitamin D, zinc, and copper? *Menopause* 2013; **20(1)**: 94-99.
[23] Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, Seino Y. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology* 2000; **141**: 1317-1324.
[24] Knauff EA, Eijkemans MJ, Lambalk CB, Ten Kate-Booij MJ, Hoek A, BeerenDonk CC, Laven JS, Goverde AJ, Broekmans FJ, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BC. Anti-Mullerian hormone, inhibin B, and antral follicle count in young women with ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; **94(3)**: 786-792.
[25] Krul-Poel YHM, Koenders PP, Steegers-Theunissen RP, Ten BOekel E, Wee MMT, Louwers Y, Lips P, Laven JSE, Simsek S. Vitamin D and metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome (PCOS): A cross-sectional study. *PLoS One* 2018; **13(12)**: e0204748.

[26] Kujawa KA, Lisowska KM. Rak jajnika – od biologii do kliniki. *Post Hig Med Dośw* 2015; **69**: 1275-1290.
[27] Lee Ct, Wang Jy, Chou Ky, Hsu Mi. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 increases testosterone-induced 17beta-estradiol secretion and reverses testosterone-reduced connexin 43 in rat granulosa cells. *Reprod Biol Endocrinol* 2014; **12**: 90.
[28] Lerchbaum E, Obermayer-Pietsch B. Vitamin D and fertility: a systematic review. *Eur J Endocrinol* 2012; **166**: 765-778.
[29] Lorenzen M, Boisen IM, Mortensen LJ, Lanske B, Juul A, Blomberg Jensen M. Reproductive endocrinology of vitamin D. *Mol Cell Endocrinol* 2017; **453**: 103-112.
[30] Lundqvist J. Vitamin D as a regulator of steroidogenic enzymes. *F1000Research* 2014; **3**: 155.
[31] Malloy PJ, Peng L, Wang J, Feldman D. Interaction of the vitamin D receptor with a vitamin D response element in the mullerian-inhibiting substance (MIS) promoter: regulation of MIS expression by calcitriol in prostate cancer cells. *Endocrinology* 2009; **150**: 1580-1587.
[32] Merhi Z. Crosstalk between advanced glycation end products and vitamin D: A compelling paradigm for the treatment of ovarian dysfunction in PCOS. *Mol Cell Endocrinol* 2019; **479**: 20-26.
[33] Merhi Z, Doswell A, Krebs K, Cipolla M. Vitamin D alters genes involved in follicular development and steroidogenesis in human cumulus granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; **99(6)**: E1137-E1145.
[34] Merhi ZO, Seifer DB, Weedon J, Adeyemi O, Holman S, Anastos K, Golub ET, Young M, Karim R, GreenblaTT R, Minkoff H. Circulating vitamin D correlates with serum antimüllerian hormone levels in late-reproductive-aged women: Women's Interagency HIV Study. *Fertil Steril* 2012; **98(1)**: 228-234.
[35] Mizwicki MT, Keidel D, Bula CM, Bishop JE, Zanello LP, Wurtz JM, Moras D, Norman AW. Identification of an alternative ligand-binding pocket in the nuclear vitamin D receptor and its functional importance in 1α,25$(OH)_2$-vitamin D_3 signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; **101(35)**: 12876-12881.
[36] Monniaux D, Clément F, Dalbiès-Tran R, Estienne A, Fabre S, Mansanet C, Monget P. The ovarian reserve of primordial follicles and the dynamic reserve of antral growing follicles: what is the link? *Biol Reprod* 2014; **90(4)**: 85.
[37] Muscogiuri G, Altieri B, De Angelis C, Palomba S, Pivonello R, Colao A, Orio F. Shedding new light on female fertility: The role of vitamin D. *Rev Endocr Metab Disord* 2017; **18(3):** 273-283.
[38] Panda DK, MIao D, Tremblay ML, Sirois J, Farookhi R, Hendy GN, Goltzman D. Targeted ablation of the 25-hydroxyvitamin D 1alpha -hydroxylase enzyme: evidence for skeletal, reproductive, and immune dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; **98(13)**: 7498-7503.
[39] Parikh G, Varadinova M, Suwandhi P, Araki T, Rosenwaks Z, Poretsky L, Seto-Young D. Vitamin D regulates steroidogenesis and insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) production in human ovarian cells. *Horm Metab Res* 2010; **42(10)**: 754-757.
[40] Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; **92(6)**: 2017-2029.
[41] Płudowski P, Karczmarewicz E, Bayer M, Carter G, Chlebna-Sokół D, Czech-Kowalska J, Dębski R, Decsi T, Dobrzańska A, Franek E, Głuszko P, Grant WB, Holick MF, Yankovskaya L, Konstantynowicz J, Książyk JB, Księżopolska-Orłowska K, Lewiński A, Litwin M, Lohner S, Lorenc RS, Lukaszkiewicz J, MarciNowska-Suchowierska E, Milewicz A, Misiorowski W, Nowicki M, Povoroznyuk V, Rozentryt P, Rudenka E, Shoenfeld Y, Socha P, Solnica B, Szalecki M, Tałałaj M, Varbiro S, Żmijewski MA. Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe – recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynol Pol* 2013; **64(4)**: 319-327.
[42] Smolikova K., Mlynarcikova A., Scsukova S. Effect of 1α,25-dihydroxyvitamin D3 on progesterone secretion by porcine ovarian granulosa cells. *Endocr Regul* 2013; **47**: 123-131.

[43] Sun T, Zhao Y, Mangelsdorf DJ, Simpson ER. Characterization of a region upstream of exon I.1 of the human CYP19 (aromatase) gene that mediates regulation by retinoids in human choriocarcinoma cells. *Endocrinology* 1998; **139(4)**: 1684-1691.
[44] Sung CC, Liao MT, Lu KC, Wu CC. Role of vitamin D in insulin resistance. *J Biomed Biotechnol* 2012; **2012**: 634195.
[45] Szołtys M. Struktura i funkcje pęcherzyków jajnikowych ssaków. *Post Biol Kom* 1992; **19(3)**: 221-238.
[46] Thill M, Becker S, Fischer D, Cordes T, Hornemann A, Diedrich K, Salehin D, Friedrich M. Expression of prostaglandin metabolising enzymes COX-2 and 15-PGDH and VDR in human granulosa cells. *Anticancer Res* 2009; **29(9)**: 3611-3618.
[47] Visser JA, De Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 2006; **131(1)**: 1-9.
[48] Walentowicz-Sadłecka M., Sadłecki P., Walentowicz P., Grabiec M. Rola witaminy D w karcynogenezie raka piersi i raka jajnika. *Ginekol Pol* 2013; **84**: 305-308.
[49] Wojtusik J, Johnson PA. Vitamin D regulates anti-Mullerian hormone expression in granulosa cells of the hen. *Biol Reprod* 2012; **86(3)**: 91.
[50] Xu J, Hennebold JD, Seifer DB. Direct vitamin D3 actions on rhesus macaque follicles in three-dimensional culture: assessment of follicle survival, growth, steroid, and antimüllerian hormone production. *Fertil Steril* 2016; **106(7)**: 1815-1820.
[51] Xu J, Lawson MS, Xu F, Du Y, Tkachenko OY, Bishop CV, Pejovic-Nezhat L, Seifer DB, Hennebold JD. Vitamin D3 regulates follicular development and intrafollicular vitamin d biosynthesis and signaling in the primate ovary. *Front Physiol* 2018; **9**:1600.
[52] Yao X, Zhang G, Guo Y, Ei-Samahy M, Wang S, Wan Y, Han L, Liu Z, Wang F, Zhang Y. Vitamin D receptor expression and potential role of vitamin D on cell proliferation and steroidogenesis in goat ovarian granulosa cells. *Theriogenology* 2017; **102**: 162-173.

Redaktor prowadzący − Maciej Zabel

Otrzymano: 28.08.2019
Przyjęto: 01.10.2019
Małgorzata Grzesiak
Zakład Endokrynologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych,
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
ul. Gronostajowa 9, 30-387 Kraków
e-mail: m.e.grzesiak@uj.edu.pl
tel.: 12 664 50 30
fax: 12 664 50 98