

Ελληνικό Ανοιχτό Πανεπιστήμιο
Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα σπουδών
Χημική και Βιομοριακή Ανάλυση

Διπλωματική Εργασία
**ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D ΚΑΙ
COVID-19**

Ναταλία Δ. Παπαδοπούλου

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Σουλτάνα Μαρκοπούλου

Πάτρα, Ιανουάριος, 2025

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του/της φοιτητή/φοιτήτριας («συγγραφέας/δημιουργός») που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.

Γενετικοί Πολυμορφισμοί Βιταμίνης D και COVID-19

Ναταλία Παπαδοπούλου

Επιτροπή Επίβλεψης Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Σουλτάνα Μαρκοπούλου

Μέλος ΣΕΠ, ΕΑΠ

Συν-Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Αικατερίνη Κωνσταντίνου

Μέλος ΕΑΠ

Πάτρα, Ιανουάριος 2025

Ευχαριστίες

Ολοκληρώνοντας την διπλωματική μου εργασία, θέλω να ευχαριστήσω από καρδιάς, όλους τους εκπαιδευτικούς του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Χημική & Βιομοριακή Ανάλυση», για την πολύτιμη βοήθειά τους και την προθυμία τους να βοηθήσουν με οποιαδήποτε απορία υπήρξε κατά την διάρκεια του μεταπτυχιακού.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα την κα Μαρκοπούλου Σουλτάνα, για την πολύτιμη καθοδήγησή της όσον αφορά την συγγραφή της παρούσας διπλωματικής.

Τέλος θα ήθελα να αφιερώσω αυτήν την εργασία στους ανθρώπους μου, για την υποστήριξη, την κατανόηση και την υπομονή τους καθ' όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Περίληψη

Το ξέσπασμα την πανδημίας του ιού SARS-CoV-2 αποτέλεσε σημαντικό κομμάτι της ιατρικής και βιοχημικής έρευνας τα τελευταία χρόνια. Στην παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση μελετάται ο πιθανός συσχετισμός που μπορεί να υπάρξει ανάμεσα στους γενετικούς πολυμορφισμούς της βιταμίνης D και της COVID-19.

Η βιταμίνη D εμφανίζεται σε δύο μορφές D₂ και D₃ και αποτελεί μια από τις σημαντικότερες βιταμίνες για τον ανθρώπινο οργανισμό. Συντίθεται στο δέρμα με επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας και μπορεί να ληφθεί επίσης από ορισμένα τρόφιμα. Οι πιο συχνοί πολυμορφισμοί που εμφανίζει η βιταμίνη D (VDR, VDBP, CYP24A1 κ.α.) φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στα επίπεδα της βιταμίνης στον ορό του αίματος, επηρεάζοντας χιλιάδες γονίδια, ενώ το μεταβολικό μονοπάτι της βιταμίνης έχει πολλαπλές αλληλεπιδράσεις με το έμφυτο αμυντικό σύστημα αλλά και την προσαρμοστική ανοσία. Δεδομένου αυτού η βιταμίνη D έχει μελετηθεί για την επιρροή της σε ένα σύνολο ασθενειών, όπως και της COVID-19.

Τα τελευταία χρόνια η έλλειψη της βιταμίνης D έχει γίνει ολοένα και συχνότερη και η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση επικεντρώνεται στους πολυμορφισμούς που ενδεχομένως να σχετίζονται με τα χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D στο ορό του αίματος αλλά και τον συσχετισμό που μπορεί να έχουν αυτά με την κακή έκβαση της COVID-19.

Ένα σύνολο μελετών υποστηρίζουν ότι τα επαρκή επίπεδα βιταμίνης D στο ορό συνδέονται στατιστικά σημαντικά με μειωμένη πιθανότητα για βαριά νόσηση από την COVID-19, γεγονός που εγείρει το ενδιαφέρον για την χρήση της βιταμίνης D ως ενδεχόμενης θεραπευτικής στρατηγικής. Παρόλα αυτά δεν είναι λίγες οι έρευνες των τελευταίων χρόνων που υποστηρίζουν ότι δεν γίνεται φανερή κάποια αιτιακή σχέση και πως ενδεχομένως η βαριά νόσηση από τον ιό και η έλλειψη βιταμίνης D να συμβαίνουν ταυτόχρονα για έναν ασθενή χωρίς όμως να συσχετίζονται. Πολλοί συγγραφείς επίσης ισχυρίζονται ότι η λοίμωξη του ανώτερου αναπνευστικού ίσως μειώνει τα επίπεδα της βιταμίνης. Οι απόψεις δίστανται ανάμεσα στους ερευνητές ανά τον κόσμο και παρατηρείται ότι οι μελέτες μικρότερου βεληνεκούς στις περισσότερες περιπτώσεις βρίσκουν κάποια θετική συσχέτιση, ενώ στις τυχαιοποιημένες έρευνες μεγαλύτερου εύρους δεν φαίνεται να εμφανίζεται κάποια αιτιακή σχέση.

Λέξεις – Κλειδιά

Βιταμίνη D, γενετικοί πολυμορφισμοί βιταμίνης D, COVID-19

«Genetic Polymorphisms of Vitamin D and COVID-19»

«Natalia Papadopoulou»

Abstract

The outbreak of the SARS-CoV-2 pandemic has been an important part of medical and biochemical research in recent years. In this literature review, we study the possible association that may exist between genetic polymorphisms of vitamin D and COVID-19.

Vitamin D occurs in both D₂ and D₃ forms and is one of the most important vitamins for the human body. It is synthesized in the skin by the effect of ultraviolet radiation and can also be obtained from certain foods. The most frequent polymorphisms that vitamin D displays (VDR, VDBP, CYP24A1, etc.) seem to play an important role in blood serum levels of the vitamin, affecting thousands of genes, and the vitamin's metabolic pathway has multiple interactions with the innate defense system and adaptive immunity. Given this vitamin D has been studied for its influence on several diseases, including COVID-19.

Over the past few years, vitamin D deficiency has become increasingly common and this literature review focuses on polymorphisms that may be associated with low serum vitamin D levels and the association that these may have with poor outcome in COVID-19.

Several studies suggest that adequate serum vitamin D levels are statistically significantly associated with a reduced likelihood of severe COVID-19 disease outcome, raising interest in the use of vitamin D as a potential therapeutic strategy. However, there have been quite a few studies in recent years that argue that no causal relationship is evident and that it is possible that severe viral disease and vitamin D deficiency may occur simultaneously for a patient without being correlated. Many authors also claim that upper respiratory infection may reduce vitamin D levels. Opinions are divided among researchers around the world and it is observed that smaller scale studies in most cases find some positive association, while in larger scale randomized trials no causal relationship seems to appear.

Keywords

Vitamin D, genetic polymorphisms of vitamin D, COVID-19

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	i
Περίληψη	ii
Abstract	iii
Κατάλογος εικόνων	vi
Συντομογραφίες & Ακρωνύμια	vii
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή	
1.1. Βιταμίνη D	
1.1.1. Ιστορική αναδρομή και ανακάλυψη	1
1.1.2. Κύριο μεταβολικό μονοπάτι	5
1.1.3. Σύνθεση στο δέρμα	8
1.1.4. Διατροφικές πηγές βιταμίνης D	9
1.1.5. Ρόλος βιταμίνης D στον μεταβολισμό του ασβεστίου	10
1.1.6. Έλλειψη και ανεπάρκεια	11
1.1.7. Αμυντικό σύστημα και βιταμίνη D	13
1.1.8. Γενετικοί πολυμορφισμοί βιταμίνης D	19
1.2. COVID-19	
1.2.1. Επιδημιολογικά δεδομένα	30
1.2.2. Μηχανισμός λοίμωξης και παθοφυσιολογία	32
1.2.3. Ανοσολογική απόκριση	35
1.2.4. Σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκινών	38
1.2.5. RAS αναστολείς	39
1.2.6. Παθοφυσιολογία	41
1.2.7. Μεταλλάξεις	42
Κεφάλαιο 2: Βιταμίνη D και COVID-19	
2.1. Γενικότερη συσχέτιση βιταμίνης D και COVID-19	
2.1.1. ACE2	45
2.1.2. Μελέτες που εντοπίζουν θετική συσχέτιση	46
2.1.3. Μελέτες που δεν εντοπίζουν θετική συσχέτιση	51
2.2. Συσχέτιση με πολυμορφισμούς	
2.2.1. VDR	57
2.2.2. VDBP	68
2.2.3. Άλλοι πολυμορφισμοί	71
2.2.4. Συσχετισμός με θεραπεία και εμβόλια	74

2.2.5. Συσχετισμός με συμπτώματα μακράς διάρκειας.....	75
Συμπεράσματα	76
Βιβλιογραφικές Αναφορές	78

Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων

Εικόνα 1-1 Μεταβολικό μονοπάτι βιταμίνης D.....

Εικόνα 1-2 Επίδραση βιταμίνης D στα T-λεμφοκύτταρα

Εικόνα 1-3 Πολυμορφισμοί Βιταμίνης D

Συντομογραφίες & Ακρωνύμια

1,25(OH) ₂ D	1,25-δεϋδροξυ-χοληκαλσιφεράση ή καλσιτριόλη
25(OH)D	25-υδροξυ-χοληκαλσιφεράση ή καλσιδιόλη
7-DHC	7-δεϋδροξυχοληστερόλη
ACE	Angiotensin-converting enzyme
ACE2	Angiotensin-converting Enzyme 2
AGTR1A	Angiotensin II receptor, type 1a
ALI	Acute Lung Injury
Ang	Angiotensin
AngII	Angiotensin II
ARBs	Angiotensin II Type I Receptor Blockers
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
CAMP	Cathelicidin Antimicrobial Peptide
CASR	Calcium Sensing Receptor
CCR5	Chemokine Receptor
CD	Cluster Differentiation
CD4+	T-helper (T βοηθητικά λεμφοκύτταρα)
CDX2	Caudal type homeobox 2
COX-2	Cyclooxygenase 2 (κυκλοοξυγενάση-2)
CTD	C-terminal Domain
DEC205	Antigen-Uptake Receptor
ECaC	Epithelial Calcium Channel
EcoRV	Escherichia coli Restriction Endonuclease V
FGF-23	Fibroblast growth factor 23
GC	Group-specific component globulin
GCL	Glutamate-Cysteine ligase
GR	Glutathione Reductase
GWAS	Genome-wide association studies
hVDRp	human Vitamin D Receptor gene promoter
IDBP	Intercellular D-Binding Protein
IFN-γ	Ιντερφερόνη γάμμα (γ)
ILI	International Units
ILT-3	Immunoglobulin-Like Transcript
IRCCS	Humanitas Research Hospital
LD	Linkage Disequilibrium
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MDAS	Melanoma Differentiation Associated Protein 5
MED	Minimal Erythematous Dose
MHC-II	Major Histocompatibility Complex
MIS-C	Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (Πολυσυστημικό Φλεγμονώδες Σύνδρομο στα Παιδιά)
MKP-1	Mitogen Activated Protein Kinase Phosphatase-1
MODS	Multiple Organ Dysfunction Syndrome (Σύνδρομο Πολυοργανικής Ανεπάρκειας)
MR study	Mendelian Randomization Study
NBCs	White Blood Cells (λευκά αιμοσφαίρια)
NETs	Neutrophil Extracellular Traps

NLS	Nuclear Localization Signal
NTD	N-terminal Domain
OR	Odds Ratio
PP-L1	Programmed Death-Ligand
PTH	Parathyroid hormone
RANKL	Receptor Activator of the NF-kB ligand
RAS	Renin Angiotensin System
RBD	Receptor Binding Protein
RCTs	Randomized Controlled Trials
ROS	Reactive Oxygen Species
RXR	Retinoid X Receptor
SNP	Single Nucleotide Polymorphisms
ssRNA+	single-stranded positive-sense RNA
TGF-β	Trans Forming Growth Factor - β
Th	T Helpers (T βοηθητικά κύτταρα)
TMR2/1	Toll-like Receptor 2/1
TRL	Toll-like Receptor
UF	University of Florida
UK Biobank	United Kingdom Biobank
UTR	Untranslated Region
UVB	υπεριώδης ακτινοβολία
VDBP	Vitamin D Binding Protein
VDR	Vitamin D Receptor
VDREs	Vitamin D Response Elements
VitD	βιταμίνη D
ΜΕΘ	Μονάδα Εντατικής Θεραπείας

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΒΙΤΑΜΙΝΗ D

1.1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΚΑΙ ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ

Η βιταμίνη του ήλιου, η αλλιώς η βιταμίνη D είναι από τις πιο αρχαίες ορμόνες που παράγεται σε ζωντανούς οργανισμούς, χρονολογικά τοποθετημένη στην εποχή που οι πρώτοι ευκαρυώτες αναπτύχθηκαν στους ωκεανούς. Το είδος «Emiliania huxleyi» (είδος φυτοπλαγκτόν), με ηλικία περίπου 750 τρισεκατομμύρια χρόνια περιείχε το πρώιμο στάδιο της βιταμίνης D₂, την εργοστερόλη, και παρήγαγε προβιταμίνη D₂ όταν ερχόταν σε επαφή με την υπεριώδη ακτινοβολία του ήλιου (Holick, 2023).

Η βιταμίνη D ανακαλύφθηκε από τον Elmer McCollum το 1918 (McCOLLUM, 1918). Οι δύο κύριες μορφές της βιταμίνης D είναι η βιταμίνη D₂ και η βιταμίνη D₃. Η βιταμίνη D₃ είναι αυτή που δημιουργείται με έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία και βρίσκεται σε κάποια ιχθυέλαια από λιπαρά ψάρια. Την δεκαετία του 1930, με έκθεση υπεριώδους ακτινοβολίας σε εκχύλισμα μαγιάς, ταυτοποιήθηκε η δομή μιας ουσίας που φαινόταν πως θεράπευε την ασθένεια της ραχίτιδας και ονομάστηκε βιταμίνη D₂. Την συναντάμε στα μανιτάρια μακράς έκθεσης στον ήλιο (ή σε υπεριώδη ακτινοβολία) ή σε άλλες ποικιλίες που φυτρώνουν και αναπτύσσονται κάτω από τον ήλιο (sun-dried mushrooms). Στην συνέχεια η βιταμίνη D₃ ανακαλύφθηκε με έκθεση της 7-δεϋδροξυχοληστερόλης (7-DHC) σε ακτινοβολία (Holick, 2009, 2017).

Η ανακάλυψη της βιταμίνης, συνδέεται άμεσα με την ασθένεια της ραχίτιδας. Η νόσος αυτή επηρεάζει την ανάπτυξη των οστών και ήταν διαδεδομένη πολύ πριν κατονομαστεί και γίνει κατανοητός ο μηχανισμός λειτουργίας της, γεγονός που γίνεται γνωστό από αναφορές σε βιβλία ως απλά μια ασθένεια που προκαλεί θάνατο από το 1634. Η ασθένεια της ραχίτιδας στα παιδιά και η οστεομαλακία στους ενήλικες περιεγράφηκε πλήρως το 1645 από τον ολλανδό Daniel Whistler ως ασθένεια που παραμορφώνει τον ανθρώπινο σκελετό. Στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, ο Edward Mellanby (1921) ανακάλυψε ότι η εν λόγω ασθένεια προκαλείται από έλλειψη κάποιας χημικής ουσίας που έχει σχέση με τις διατροφικές συνήθειες του ασθενούς (Jones, 2022).

Στην πορεία των ετών η ανεπάρκεια της βιταμίνης αποδείχθηκε ως η έλλειψη ανοργανοποίησης των οστών αλλά και η ελλαττωματική διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων. Η ασθένεια της ραχίτιδας είχε ως κύρια χαρακτηριστικά της την

παραμόρφωση και το λανθασμένο σχήμα του σκελετού, την κάμψη και υπόκλιση των μακρικών οστών, την πάχυνση των αρθρώσεων του θώρακα, των χεριών, των ποδιών και του λαιμού. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα οι ασθενείς να έχουν δυσκολία κινήσεων, πόνο καθώς και δυσκολία στην αναπνοή, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις που η ραχίτιδα συνοδευόταν από πνευμονία. Η ίδια η ασθένεια δεν ήταν άμεσα θανατηφόρα, αλλά υποβίβαζε το βιοτικό επίπεδο των πασχόντων (Jones, 2022).

Το 1924 έγινε κατανοητή η αντίληψη ότι μια βιταμίνη που παράγεται απευθείας από το ηλιακό φως ή προσλαμβάνεται από κάποια λιπαρά ψάρια με την μορφή του μωρουνέλαιου, μπορεί να αποτελέσει θεραπεία για την ραχίτιδα (Hess και Weinstock – Πανεπιστήμιο Columbia). Έτσι λοιπόν πολλά τρόφιμα, τόσο ζωικά όσο και φυτικά ακτινοβολήθηκαν με UVB ώστε να αποκτήσουν αντιραχιτικές ιδιότητες. Το 1930 αναφέρθηκε η απομόνωση της εργοκαλσιφερόλης (βιταμίνης D₂) από ακτινοβολούμενο με UVB δείγμα. Στην συνέχεια με κρυσταλλογραφία ακτίνων X έγινε αντιληπτό ότι η χοληστερόλη αποτελείται από 4 δακτυλίους, ανακαλύπτοντας την δομή της βιταμίνης D. Έπειτα αποδείχθηκε ότι η βιταμίνη D₂ παράγεται με έκθεση της εργοστερόλης σε υπεριώδη ακτινοβολία ενώ η D₃ ομοίως παράγεται από την 7-δεϋδροξυ – χοληστερόλη. Έγινε σαφές εν τέλει ότι το αντιραχιτικό συστατικό του μωρουνέλαιου, αποτελούσε η βιταμίνη D (Askew et al. 1930, Miller & Imel, 2022).

Στα επόμενα χρόνια και δεδομένου ότι η ραχίτιδα ήταν το έναυσμα για την ανακάλυψη της βιταμίνης, χρησιμοποιήθηκε σε μεγάλες δόσεις για να εξαλειφθεί η ασθένεια, χωρίς όμως πάντα να έχει επιτυχία. Σε κάποιες περιπτώσεις η βιταμίνη D δεν είχε αποτέλεσμα και έτσι η ίδια η ασθένεια μετονομαζόταν σε «ραχίτιδα ανθεκτική στην βιταμίνη D». Μέσω αυτής της ασυμφωνίας, δηλαδή του γεγονότος ότι υπήρχαν πειράματα που επιβεβαίωναν την δραστικότητα και άλλα που την απέρριπταν, γεννήθηκε η αρχική αντίληψη ότι η βιταμίνη έχει τόσο ενεργή όσο και ανενεργή μορφή. Από το 1969 έως το 1971 πολλές ομάδες αναγνώρισαν την βιταμίνη 1,25(OH)₂D₃ (καλσιτριόλη) ως τον ενεργό μεταβολίτη εντοπισμένο στα νεφρά. Η διαδικασία αναγνώρισης και των υπόλοιπων μεταβολιτών υπέδειξε ότι και οι δύο βιταμίνες D₂ και D₃ είναι υδροξυλιωμένες στο ήπαρ (25(OH)D) και ότι αυτή είναι και η μορφή της βιταμίνης που κυκλοφορεί στο αίμα, με την ενεργό μορφή επιβεβαιωμένα να εντοπίζεται στα νεφρά (Miller & Imel, 2022).

Στις αρχές της δεκαετίας του 1890, η περιβαλλοντική θεωρία, δηλαδή η αντίληψη ότι η ραχίτιδα προκαλείται από έλλειψη ηλιακής ακτινοβολίας και καθαρού αέρα άνθιζε, ενώ στις

ΗΠΑ την δεκαετία του 1900 διάφοροι ερευνητές όπως ο Buchholtz (1904), ο Racynski (1913), ο Huldshinsky (1919), ο Chick (1922) και οι Hess και Weinstovk (1924), πραγματοποιούσαν πειράματα με παιδιά και ζώα που απέδειξαν ότι η ραχίτιδα μπορεί να θεραπευτεί είτε με το ηλιακό φως, είτε με λαμπτήρες τόξου υδραργύρου (Jones, 2022).

Ο Sir Edward Mellanby στην Αγγλία πίστευε πως η ραχίτιδα οφείλετε σε διατροφικούς παράγοντες, και δοκίμασε αυτή τη θεωρία, παράγοντας σκύλους με ραχίτιδα, την οποία στην συνέχεια θεράπευε με μουρουνέλαιο. Το μουρουνέλαιο ωστόσο είναι πλούσιο σε λιπίδια και βιταμίνη A, και δεν ήταν σαφές ποιο συστατικό ήταν το θεραπευτικό για την ασθένεια. Έτσι ο McCollum θέρμανε και διοχέτευσε οξυγόνο στο μουρουνέλαιο, καταστρέφοντας την βιταμίνη A και διαπιστώνοντας ότι το τρόφιμο παρέμενε και πάλι δραστική θεραπεία κατά της ασθένειας. Έτσι ονόμασε την νέα ουσία βιταμίνη D (Jones, 2022).

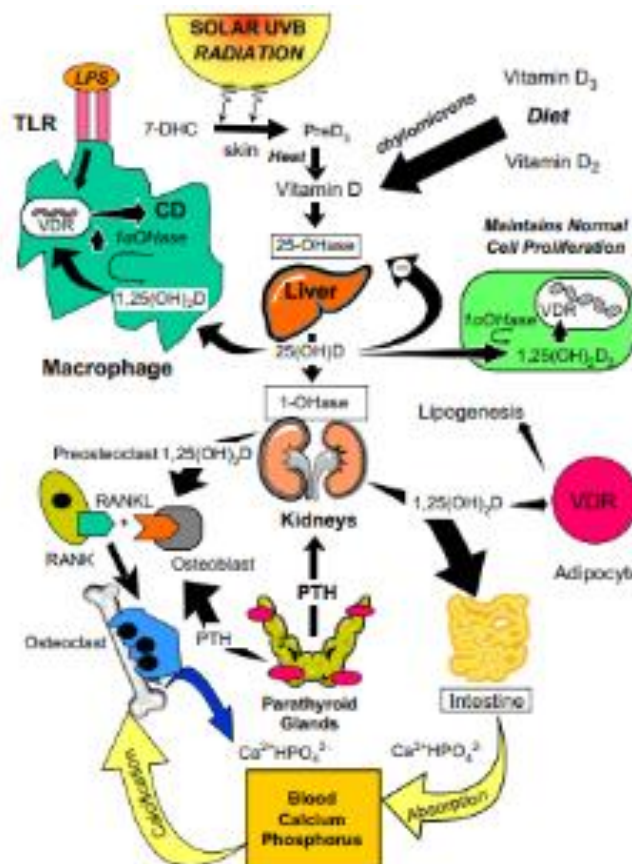
Στην πορεία, ο Steenbock απέδειξε ότι αν η μαγιά ακτινοβοληθεί, περιέχει σημαντικές ποσότητες βιταμίνης D, η οποία στην συνέχεια ονομάστηκε D₂ και αποτέλεσε το πρόσθετο βιταμίνης D στο γάλα. Έτσι ο εμπλουτισμός διαφόρων τροφών όπως το γάλα, το ψωμί, της μαργαρίνης αλλά ακόμη και της μπίρας έγινε το σε παγκόσμια κλίμακα το όπλο απέναντι στην ραχίτιδα και στην οστεομαλακία. Στην συνέχεια η ομάδα του Windaus επιβεβαίωσε την δομή της βιταμίνης D₂ και απομόνωσε και αναγνώρισε την βιταμίνη D₃ ή χοληκαλσιφεράση, όπως επίσης και το πρόδρομο μόριο της στο δέρμα 7-δεϋδροξυ-χοληστερόλη (7-DHC) (Jones, 2022).

Οι βιταμίνες D₂ και D₃ από το 1930 έθεσαν την αρχή ενός ανεξερεύνητου και πολλά υποσχόμενου επιστημονικού πεδίου. Για τον λόγο αυτό ξεκίνησαν να μελετώνται εκτενώς οι μεταβολίτες τους. Οι κύριοι ρόλοι της βιταμίνης D περιελάμβαναν μέχρι στιγμής την απορρόφηση του ασβεστίου και των φωσφορικών αλάτων. Την περίοδο 1930-1960 έγινε σαφής η σύνδεση της βιταμίνης και με άλλες ορμόνες όπως η παραθυρεοειδής ορμόνη (PTH) και η καλσιτονίνη (Jones, 2022).

Η ανάγκη για ανακάλυψη της λειτουργίας των μεταβολιτών της βιταμίνης D ήταν έντονη, και την δεκαετία του 1960, χρησιμοποιήθηκαν ραδιενεργά σημασμένες εκδόσεις της βιταμίνης D (D₂ και D₃), ώστε να γίνει σαφής ο μεταβολισμός της. Μετά από ένα σύνολο προσπαθειών ταυτοποιήθηκε η ο πρώτος μεταβολίτης, η 25(OH)D. Μέχρι σήμερα χρησιμοποιούμε αυτόν τον μεταβολίτη για την μέτρηση της βιταμίνης στο αίμα. Στην συνέχεια ανακαλύφθηκε ο μεταβολίτης 1,25-(OH)₂D, που είναι πλέον αποδεκτός ως η κύρια ορμονική μορφή της. Η

ανακάλυψη αυτό κατέστησε σαφές ότι ο τομέας δύναται να ερευνηθεί περαιτέρω και έτσι ταυτοποιήθηκαν και άλλοι μεταβολίτες όπως οι: $25(\text{OH})\text{D}_2$, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_2$ και $24,25(\text{OH})_2\text{D}_2$. Συν τις άλλους έγιναν γνωστοί και ανενεργοί μεταβολίτες όπως οι: $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, $25,26(\text{OH})_2\text{D}_3$, $25(\text{OH})\text{D}_3$, 23-λακτόνη, $1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$ και καλσιτροϊκό οξύ (Jones, 2022).

Η έρευνα της βιταμίνης D συνεχίστηκε. Δεδομένου ότι η βιταμίνη D αποτελεί το εναρκτήριο σήμα για ποικίλους μηχανισμούς μεταγωγής σήματος στον οργανισμό, είναι σε θέση να προάγει πολλές διαφορετικές βιολογικές επιδράσεις. Έτσι η αναζήτηση έγινε ακόμη πιο συγκεκριμένη, και μελετήθηκαν περαιτέρω τόσο τα ένζυμα που συμμετέχουν στον μεταβολισμό της, όσο και η σαφής πορεία της ενδοκρινούς της μοίρας. Ανακαλύφθηκε η λειτουργία των υποδοχέων της VDR (vitamin D receptor), ο ρόλος που διαδραματίζει στον καταβολισμό του ασβεστίου και του φωσφόρου κ.α. Τα τελευταία χρόνια ολοένα και περισσότερο γίνεται κατανοητό ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ μεταβολίζεται μέσω ενός μηχανισμού που περιλαμβάνει τους VDR υποδοχείς αλλά και ένα πλούσιο σύνολο από ενεργοποιητές και καταστολείς που αλληλεπιδρούν, στρατολογούν ή καταστέλλουν εκατοντάδες γονίδια στο



Εικόνα 1-1: Μεταβολικό μονοπάτι βιταμίνης D (Holick, 2009)

ανθρώπινο σώμα. Στην δεκαετία του 1970 μελετήθηκαν οι σφαιρίνες που μεταφέρουν την βιταμίνη DBP καθώς και το τα ένζυμα που περιέχουν το κυτόχρωμα P450 (Jones, 2022).

1.1.2. ΚΥΡΙΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ

Η εργοκαλσιφερόλη, γνωστή και ως βιταμίνη D₂ δημιουργείται από την δράση της υπεριώδους ακτινοβολίας στην εργοστερόλη, η οποία είναι ένα στεροειδές που βρίσκεται σε ορισμένα φυτά και σε κάποιο βαθμό συναντάται και στους μύκητες. Η χοληκαλσιφερόλη, βιταμίνη D₃, συντίθεται μέσω της ακτινοβολίας της 7-DHC στο δέρμα. Έτσι λοιπόν στο σώμα των ανθρώπων βρίσκεται ένας συνδυασμός και των δύο αναλόγων, τόσο από την ακτινοβολία του περιβάλλοντος όσο και από την πρόσληψη μέσω διατροφής (κρόκοι αυγών, λιπαρά ψάρια ή εμπλουτισμένες τροφές) ή τα διατροφικά βιταμινούχα συμπληρώματα. Και οι δύο μορφές αποτελούν τα πρώιμα στάδια του μεταβολισμού, επομένως είναι ανενεργές και η διαφοροποίησή τους αφορά την δομή των πλευρικών τους αλυσίδων. Θεωρητικά λοιπόν χρησιμοποιούνται από το σώμα με τον ίδιο τρόπο. Η μετατροπή τους απαιτεί ενζυμική υδροξυλίωση σε δύο στάδια, ένα στο ήπαρ και ένα στα νεφρά. Στην πρώτη φάση, στο ήπαρ, γίνεται μετατροπή σε 25(OH)D μέσω του ενζύμου 25-υδροξυλάση (μικροσωμικό κυτόχρωμα P450 2R1 και μιτοχονδριακό κυτόχρωμα P450 27A1). Στο δεύτερο στάδιο, στους νεφρούς, η 1α -υδροξυλάση (κυτόχρωμα P450 27B1) μετατρέπει την 25(OH)D σε 1,25(OH)₂D (καλσιτριόλη). Ο ρυθμός μετατροπής ωστόσο εξαρτάται και από τις συγκεντρώσεις της παραθυρεοειδούς ορμόνης. Όταν η καλσιτριόλη είναι διαθέσιμη, επιδρά και ελέγχει τις συγκεντρώσεις του ασβεστίου και του φωσφόρου στον ορό, ρυθμίζοντας την εντερική απορρόφηση και την απελευθέρωση των ιόντων στον σκελετό. Αν και φαινομενικά ο μεταβολισμός των δύο αναλόγων είναι παρόμοιος, οι έρευνες των τελευταίων χρόνων υποδεικνύουν πως έχουν διαφορετική χημική συγγένεια απέναντι στον υποδοχέα VDR, ο οποίος συνδέεται με την απενεργοποίηση της καλσιτριόλης μέσω ενός επιπλέον σταδίου υδροξυλίωσης. Επιπρόσθετα, είναι πιθανό η βιταμίνη D₃ να είναι προτιμότερο υπόστρωμα για την ηπατική 25-υδροξυλάση. Η συμβολή και των δύο παραγόντων, χρήζει έρευνας ώστε να γίνει σαφές αν οι μεταβολικές διαφορές επηρεάζουν την υγεία. Σε μετα-αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν φαίνεται να εμφανίζεται σαφώς μεγαλύτερη αύξηση της βιταμίνης D₃ στον ορό όταν αυτή συμπληρώνεται σε ημερήσια δόση στην διατροφή, σε σχέση με την D₂. Το στάδιο όμως στο οποίο εμφανίζεται η μεγαλύτερη διαφορά είναι η προσθήκη ενός ακόμη υδροξυλίου στα νεφρά για να σχηματιστεί η 1,24,25(OH)₃D. Η διαφορά αυτή έγκειται στο γεγονός ότι η εργοκαλσιφεράση 1,24,25(OH)₃D₂ είναι απενεργοποιημένη ενώ η χοληκαλσιφεράση 1,24,25(OH)₃D₃ είναι ακόμα ικανή να συνδεθεί στον VDR και έτσι απαιτεί ακόμη μια οξείδωση την πλευρικής ομάδας για να απενεργοποιηθεί. Έτσι η D₃ παραμένει

βιολογικά ενεργή και αποδεικνύεται ότι η αύξησή της στον ορό είναι πιο άμεση και διαρκεί για περισσότερο χρονικό διάστημα. Σε πειράματα που έγιναν αποδείχθηκε ότι η D₂, παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερη αποικοδόμηση στον ορό σε ένα χρονικό όριο περίπου έξι εβδομάδων (Tripkovic et al., 2012).

Μέσω του ηλιακού φωτός η 7-δεϋδροξυ-χοληστερόλη στο δέρμα μετατρέπεται σε προβιταμίνη D₃. Αυτή είναι μια αντίδραση που απαιτεί θέρμανση για να συμβεί, και έτσι αμέσως μετατρέπεται στην βιταμίνη D₃. Ωστόσο η υπερβολική έκθεση σε ηλιακή ακτινοβολία έχει ως αποτέλεσμα ανενεργά φωτοπροϊόντα. Η βιταμίνη D προερχόμενη από διατροφικές πηγές αποθηκεύεται στα χυλομικρά και μεταφέρεται στο λεμφικό σύστημα. Από εκεί συνεχίζει την πορεία της προς τις φλέβες. Η βιταμίνη D (είτε από το δέρμα είτε από πρόσληψη) μπορεί να αποθηκευτεί και να απελευθερωθεί στην συνέχεια από τα λιπώδη κύτταρα. Στην κυκλοφορία συνδέεται με την βιταμίνη DBP (D-binding protein), που είναι υπεύθυνη για την μεταφορά της στο ήπαρ. Εκεί πραγματοποιείται η μετατροπή της από χοληκαλσιφερόλη σε 25-υδροξυ-χοληκαλσιφερόλη (25(OH)D), μέσω του ενζύμου 25-υδροξυλάση. Αυτή είναι και η μορφή που υπολογίζεται σε κλινικές δοκιμές και βιοχημικές εξετάσεις για τον έλεγχο των επιπέδων της. Επόμενο βήμα της μετατροπής θα γίνει στα νεφρά όπου από 25-υδροξυ-χοληκαλσιφερόλη (25(OH)D) θα παραχθεί η 1,25-δεϋδροξυ-χοληκαλσιφερόλη, με το ένζυμο 1-υδροξυλάση να καταλύει την αντίδραση (Holick, 2023).

Στην συνέχεια της διαδρομής η ενεργός πλέον μορφή παραλαμβάνεται από τα κύτταρα με σκοπό να συνδεθεί σε ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες δέσμησης (IDBP-intracellular D-binding proteins), στο ένζυμο 24-υδροξυλάση του μιτοχονδρίου ή στον υποδοχέα της βιταμίνης D (VDR – vitamin D receptor). Το σύμπλοκο υποδοχέα-ενεργός μορφή, σχηματίζει διμερές με τον υποδοχέα ρετινοϊκού οξέος (RXR – retinoic acid receptor) και εκ νέου συνδέεται με ειδικές περιοχές (promoter regions) του γονιδίου στόχου. Στην συνέχεια το ετεροδιμερές συνδεδεμένο με το DNA, στρατολογεί ενώσεις του συμπλόκου της RNA πολυμεράσης II και αλλά μόρια υπεύθυνα για την ρύθμιση της μεταγραφής στον πυρήνα. Έτσι οι παράγοντες όπως ο αυξητικός παράγοντας ασβεστίου (FGF-23) μπορούν να αυξήσουν ή και να μειώσουν την παραγωγή της ενεργής μορφής στα νεφρά. Στην ουσία η διαδικασία μεταβολισμού της βιταμίνης ακολουθεί έναν κύκλο όπου η ίδια η βιταμίνη ρυθμίζει την δική της σύνθεση αυξάνοντας ή μειώνοντας αντίστοιχα και την έκκριση της παραθυρεοειδούς ορμόνης (PTH) στους παραθυρεοειδείς αδένες (Holick, 2023).

Η ύπαρξη της ενεργή μορφής, αυξάνει και την έκφραση του ενζύμου 24-υδροξυλάση που σχετίζεται με τον καταβολισμό της. Ο καταβολισμός αυτός έχει ως αποτέλεσμα την μετατροπή της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στο ασβεστοϊκό οξύ (καλσιτροϊκό οξύ – calcitroic acid), το οποίο είναι βιολογικά ανενεργό και απεκκρίνεται στην χολή (Holick, 2023).

Το $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ είναι υπεύθυνο για την αύξηση της εντερικής απορρόφησης σε ασβέστιο, η οποία διαδραματίζεται στο λεπτό έντερο, με διέγερση του καναλιού ασβεστίου ECaC (epithelial calcium channel) στο επιθήλιο του εντέρου καθώς και διέγερση της πρωτεΐνης 9K (calbindin 9K – calcium – binding protein, CaBP). Το $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ αναγνωρίζεται επίσης από τον αντίστοιχο υποδοχέα του στους οστεοβλάστες, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η έκφραση του ενεργοποιητή του υποδοχέα του συνδέτη NF-kB (RANKL-receptor activator of the NF-kB ligand). Ο υποδοχέας του, RANK, στον προστεοκλάστη προσδένει στον RANKL μετατρέποντας έτσι τον προστεοκλάστη σε ώριμο οστεοκλάστη. Αυτός είναι που ρυθμίζει την συγκέντρωση φωσφόρου και ασβεστίου στο αίμα, απομακρύνοντας τα από τα οστά, ώστε να είναι επαρκή για την τροφοδότηση του σκελετού (Holick, 2023).

Ένα ακόμη μεταβολικό μονοπάτι (αυτοκρινές) που ακολουθεί η βιταμίνη D, όταν η συγκέντρωσή της είναι πάνω από 30 ng/mL είναι η διαδρομή προς τα μακροφάγα. Ένας μολυσματικός παράγοντας όπως αυτός της φυματίωσης (mycobacterium tuberculosis), συνδέεται στον υποδοχέα του μακροφάγου TMR2/1 (toll-like receptor 2/1). Το σήμα που δίνεται αυξάνει την έκφραση του VDR και του ενζύμου 1-υδροξυλάσης, η οποία μετατρέπει την $25(\text{OH})\text{D}$ σε $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ εντός του μιτοχονδρίου. Η ενεργός μορφή μεταφέρεται στον πυρήνα και αυξάνει την έκφραση της καθελικιδίνης (cathelicidin). Η καθελικιδίνη είναι ένα πεπτίδιο ικανό αμύνεται κατά τον μολυσματικών παραγόντων, προκαλώντας την καταστροφή τους (Holick, 2023).

Επιπρόσθετα η ενεργή μορφή της βιταμίνης που παράγεται σε μονοκύτταρα ή μακροφάγα μπορεί να απελευθερώνεται για να δράσει σε ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα, τα οποία στην συνέχεια ρυθμίζουν την σύνθεση κυτοκίνης, καθώς και σε ενεργοποιημένα B λεμφοκύτταρα, τα οποία ρυθμίζουν την σύνθεση της ανοσοσφαιρίνης (Holick, 2023).

Απ' όλα τα παραπάνω εξάγεται το συμπέρασμα ότι οι συγκεντρώσεις άνω των 30 ng/mL, αποτελούν πρόληψη για πολλά είδη καρκίνων, όπως στον μαστό, στο έντερο, στον προστάτη, κ.α. (Holick, 2023).

1.1.3. ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ

Ανέκαθεν τα σπονδυλωτά εξαρτώνταν από την παραγωγή βιταμίνης D που πραγματοποιείται στην επιφάνεια του δέρματος. Η βιταμίνη D₃ που παράγεται στο δέρμα διαρκεί έως και τρεις φορές περισσότερο από την βιταμίνη D που προσλαμβάνεται διατροφικά. Ένας ενήλικας με μαγίο εκτεθειμένος στην ελάχιστη ερυθρηματώδη δόση (Minimal Erythematol Dose – MED), φαίνεται να παράγει αρκετή βιταμίνη D ώστε τα επίπεδα της στο αίμα να φτάσουν τις 15.000-20.000 μονάδες (Juzeniene et al., 2011).

Η ενεργός μορφή της βιταμίνης D δημιουργείται στο σώμα από μια σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων οι οποίες πυροδοτούνται από την δράση της υπεριώδους ακτινοβολίας UVB πάνω στην 7-δεϋδροξυχοληστερόλη (7-DHC). Η 7-DHC είναι παρούσα σε όλους τους τύπους δέρματος και όταν τα φωτόνια της υπεριώδους ακτινοβολίας επεμβαίνουν στην δομή της, μετατρέπεται σε προβιταμίνη D ή αλλιώς προβιταμίνη D₃ (pre VitD). Στην συνέχεια με έκθεση στους 37 βαθμούς κελσίου για περίπου εικοσιτέσσερις ώρες, παράγεται η ανενεργή μορφή της βιταμίνης D (χοληκαλσιφεράση). Αυτή με την σειρά της θα συνδεθεί με τους υποδοχείς BDP (D-binding protein), θα εισαχθεί στο αίμα και θα καταλήξει στο ήπαρ. Η διαδικασία του μεταβολισμού της συνεχίζεται εντός του ήπατος όπου πραγματοποιείται η μετατροπή της στην μορφή 25-υδροξυ-χοληκαλσιφεράση ή καλσιδιόλη (calcidiol – 25(OH)D). Οι υποδοχείς DBP και πάλι συμμετέχουν στην εκ νέου μεταφορά της στα νεφρά όπου η μορφή της και πάλι θα αλλάξει αφού θα υποστεί ακόμη μία υδροξυλίωση, σχηματίζοντας την 1,25-δεϋδροξυ-χοληκαλσιφεράση ή αλλιώς καλσιτριόλη (1,25(OH)₂D). Αυτή πλέον αποτελεί την ενεργό μορφή της βιταμίνης D και διαδραματίζει βασικό ρόλο στην απορρόφηση ασβεστίου, στην δομή καθώς και στην διατήρηση των οστών, σε ένα σύνολο ασθενειών από το κοινό κρυολόγημα έως και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου I και τύπου II, διάφορες μορφές καρκίνου όπως και ένα σύνολο ψυχιατρικών και ψυχολογικών διαταραχών (Holick, 2017; Juzeniene et al., 2011).

Για να μπορέσουμε να υπολογίσουμε τον σχηματισμό της βιταμίνης D in vivo, οφείλουμε να λάβουμε υπόψιν την διείσδυση της UV ακτινοβολίας στο δέρμα. Οι ακτίνες UVB έχουν μήκος κύματος από 280 έως περίπου 320 νανόμετρα ενώ οι ακτίνες UVA κυμαίνονται από τα 320 έως και τα 400. Η αύξηση αυτή του μήκους κύματος επηρεάζει την διείσδυση της ακτινοβολίας στο δέρμα, καθιστώντας την UVA ικανή να φτάσει βαθύτερα από την μικρότερου μήκους κύματος UVB. Ένας άλλος παράγοντας που θα έπρεπε να υπολογίζεται είναι το κατά πόσο η μετατροπή της βιταμίνης D σε preVitD εξαρτάται από την θερμοκρασία δεδομένου ότι θερμοκρασία αυξάνεται όσο κινούμαστε βαθύτερα στο δέρμα. Τέλος ουσιώδης είναι και η

μεταφορά της βιταμίνης μέσα στα αιμοφόρα αγγεία. Φαίνεται μάλιστα πως αν η βιταμίνη σχηματιστεί βαθύτερα στο δέρμα, θα μεταφερθεί στα αιμοφόρα αγγεία μέσα του βαθύ χορίου (εσωτερικό στρώμα του δέρματος που βρίσκεται κάτω από την επιδερμίδα και το επιφανειακό της στρώμα), (Juzeniene et al., 2011).

Το φάσμα των μηκών κύματος της ακτινοβολίας του ηλίου είναι αρκετά ευρύ. Δεδομένου λοιπόν ότι τα περισσότερα πρόδρομα μόρια της βιταμίνης D είναι φωτοευαίσθητα (συμμετέχουν δηλαδή σε χημικές αντιδράσεις που επηρεάζονται άμεσα ή έμμεσα από την επίδραση κάποιου συγκεκριμένου μήκους κύματος), οι περισσότερες αντιδράσεις στο βιοσυνθετικό της μονοπάτι καθίστανται αντιστρεπτές. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η παραγωγή της βιταμίνης να είναι περιορισμένη και έτσι μόνο το 20% της 7-DHC του δέρματος μπορεί πράγματι να μετατραπεί στην ενεργό μορφή (Juzeniene et al., 2011).

1.1.4. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D

Η βιταμίνη D είναι δυνατόν είτε να παραχθεί στο δέρμα, είτε να ληφθεί από την τροφή. Στα τρόφιμα υπάρχει τόσο η D₃ (λιπαρά ψάρια) όσο και η D₂. Τα τρόφιμα με την υψηλότερη περιεκτικότητα είναι συνήθως ο σολομός, το σκουμπρί, η ρέγγα, ο μπακαλιάρος και ορισμένα είδη μανιταριών με μακρά έκθεση σε ηλιακή ακτινοβολία. Δεδομένου ότι η έλλειψή της οδηγεί σε μία πληθώρα ασθενειών, όπως αυτή της ραχίτιδας, πολλά τρόφιμα εν καιρό εμπλουτίστηκαν με πρόσθετη βιταμίνη D (συγκεκριμένο με το ανάλογο D₂) όπως το γάλα, τα δημητριακά και το ψωμί. Σε συνέχεια αυτής της προσθήκης, την δεκαετία του 1950 η βιταμίνη D₂ έγινε ένθετη ακόμη και σε αναψυκτικά και μύτερες τόσο στην Αμερική όσο και στην Ευρώπη. Εξαιτίας όμως των περιστατικών υπερασβεστιαμίας που παρουσιάστηκαν στο Ηνωμένο Βασίλειο, οι περισσότερες ευρωπαϊκές χώρες απαγόρευσαν την προσθήκη βιταμίνης D στα περισσότερα προϊόντα τους (Holick, 2009, 2017; Juzeniene et al., 2011). Τα τελευταία χρόνια φαίνεται να είναι αυξημένη η βιταμίνη D και στους μύες ορισμένων ζώων όπως τα κοτόπουλα, τα γουρούνια και οι αγελάδες, αφού η βιταμίνη έχει προστεθεί πλέον σε πολλές από τις ζωοτροφές. Σε πολιτισμούς τους κόσμου που καταναλώνουν και ακόμη μεγαλύτερα θηλαστικά του βυθού, η βιταμίνη D πολύ συχνά προσλαμβάνεται και από ιχθυέλαια είτε φάλαινας, είτε ήπατος πολικής αρκούδας (Holick, 2017).

Εκτός της καθημερινής διατροφής, τα τελευταία χρόνια η βιταμίνη D λαμβάνεται κυρίως από συμπληρώματα διατροφής. Τα συμπληρώματα αυτά περιέχουν ένα από τα δύο ανάλογα της βιταμίνης, είτε D₂ είτε D₃, με πολλαπλές έρευνες να εξετάζουν ποιο από τα δύο θα έχει

υψηλότερη διατροφική αξία. Τα τελικά συμπεράσματα είναι σε γενικές γραμμές τα ίδια και οι περισσότεροι ειδικοί θεωρούν εξίσου αποτελεσματικά και τα δύο συμπληρώματα. Κάποιοι ωστόσο προτείνουν σε ασθενείς που απέχουν συνειδητά από την βρώση ζώων (vegan) να επιλέγουν εκείνα που περιέχει D₂, δεδομένου ότι παρασκευάζονται από φυτική πρώτη ύλη (Holick, 2017).

1.1.5. ΡΟΛΟΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D ΣΤΟΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ

Η ιστορία της βιταμίνης D στα σπονδυλωτά φαίνεται να πηγαίνει 500 εκατομμύρια χρόνια πίσω. Οι πιο πανάρχαιες και απλές μορφές ζωής συνθέταν και χρησιμοποιούσαν την βιταμίνη D για την καθημερινή επιβίωσή τους. Η δημιουργία της στους μονοκύτταρους οργανισμούς φαίνεται να δημιουργούσε ένα παροδικό άνοιγμα από το οποίο υπήρχε η δυνατότητα να εισέλθει το ασβέστιο στον οργανισμό. Σταδιακά η βιταμίνη D έγινε απαραίτητη για τα σπονδυλωτά καθώς αποτελούσε προϋπόθεση για να γίνει η απορρόφηση του ασβεστίου στο έντερο. Ο ρόλος του ασβεστίου ήταν αφενός να διατηρεί τον σκελετό των σπονδυλωτών και αφετέρου να δρα ως σηματοδότης για αλλοστερικές τροποποιήσεις στην διαδικασία μεταγωγής σήματος (Juzeniene et al., 2011).

Η διαδρομή από την ηλιακή ακτινοβολία, μέχρι την σύνθεση της βιταμίνης D και την απορρόφηση ασβεστίου είναι ουσιώδης. Αρχικό της στάδιο φυσικά είναι η παραγωγή της στο δέρμα, όπου υφίσταται στην ανενεργή της μορφή, έπειτα η μεταφορά της στο ήπαρ όπου μετατρέπεται σε 25(OH)D και στην συνέχεια η μεταφορά της στα νεφρά όπου παίρνει την μορφή 1,25(OH)₂D. Στην συνέχεια αλληλεπιδρά με τους υποδοχείς VDR στο λεπτό έντερο και η απορρόφηση του ασβεστίου ξεκινά (Juzeniene et al., 2011).

Πολλά είδη κυττάρων είναι εμπλουτισμένα με υποδοχέα βιταμίνης D (vitamin D receptor – VDR). Ο ίδιος ο υποδοχέας αποτελεί μεταγραφικό παράγοντα και έτσι ο ρόλος του είναι εξαιρετικά σημαντικός στην πορεία που ακολουθεί η βιταμίνη στο σώμα, καθώς και τις δράσεις της. Ένα από τα βήματα που στάδια της μεταβολικής διαδικασίας είναι η μετατροπή από την 25(OH)D στην 1,25(OH)₂D μέσω ενός ενζύμου που ονομάζεται 1-υδροξυλάση ή αλλιώς 1α-25-υδροξυλάση. Το ένζυμο αυτό κωδικοποιείται από το γονίδιο CYP27B1, και η μετατροπή συμβαίνει κυρίως στα νεφρά (ωστόσο όπως ήδη αναφέρθηκε συμβαίνει και σε άλλους ιστούς). Το ένζυμο αυτό ρυθμίζεται έντονα από το ελεύθερο ιόν του ασβεστίου Ca²⁺ και την παραθυρεοειδή ορμόνη (PTH), καθώς επίσης και από την ίδια την 1,25(OH)₂D. Ωστόσο η δραστηριότητα του ενζύμου στα υπόλοιπα κύτταρα εκτός των νεφρών δεν

επηρεάζεται από το ασβέστιο ή την παραθυρεοειδή ορμόνη, αλλά από τα επίπεδα της παρακείμενης 25(OH)D. Συμπερασματικά λοιπόν προκύπτει ότι πολλές από τις ασθένειες των οστών, αλλά και πολλές μορφές καρκίνων συνδέονται περισσότερο με τα επίπεδα χαμηλής 25(OH)D παρά με τα επίπεδα χαμηλής 1,25(OH)₂D (Peterlik & Cross, 2009).

Το 1953 οι Nicolaysen et al. διαπίστωσαν την πολύ ουσιώδη λειτουργία της βιταμίνης όσον αφορά την διέγερση της εντερικής απορρόφησης ασβεστίου. Αντίθετα σε ότι περιμέναμε, η βιταμίνη D δεν συμβάλλει στην άμεση απορρόφηση του ασβεστίου στα οστά, αλλά διεγείρει την κίνηση του ασβεστίου από τον σκελετό. Αργότερα έγινε κατανοητό ότι η βιταμίνη D είναι στο σύνολο υπεύθυνη για την ρύθμιση του ασβεστίου και του φωσφόρου στο αίμα, ώστε αυτά με την σειρά τους πιθανά να ρυθμίζουν και άλλες μεταβολικές διεργασίες νευρομυϊκής ή καρδιακής φύσης. Δεδομένου της φυσιολογικής αυτής συγκέντρωσης το ασβέστιο εναποτίθεται στον σκελετό στην μορφή του υδροξυαπατίτη (Holick, 2023).

1.1.6. ΕΛΛΕΙΨΗ ΚΑΙ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

Η μέτρηση και σωστή ανίχνευση των επιπέδων στον ορό είναι μείζονος σημασίας για την αντιμετώπιση της έλλειψης ή της ανεπάρκειας βιταμίνης D. Κατά κύριο λόγο οι μετρήσεις αφορούν τον μεταβολίτη 25(OH)D. Η μέτρηση πραγματοποιείται με ένα σύνολο μεθόδων όπως η φασματομετρία υγρής χρωματογραφίας LC-MS/MS. Αν και είναι μια εξαιρετικά ακριβής μέθοδος, η αξιοπιστία της μπορεί να παρεμποδιστεί από ισοβαρείς ενώσεις ή ιόντα. Άλλη μέθοδος μέτρησης είναι η δοκιμασία ανοσοπροσρόφησης ELISA, η οποία ωστόσο δεν προσφέρει την επιθυμητή ακρίβεια. Στα κλινικά εργαστήρια χρησιμοποιούνται ευρέως αυτοματοποιημένες μέθοδοι ανοσοδοκιμής που όμως είναι ευαίσθητες σε ανταγωνιστικότητα από άλλους μεταβολίτες που μπορεί να οδηγήσει σε ανακριβή μέτρηση (Stokes et al., 2018).

Η ανεπάρκεια βιταμίνης D είναι απόρροια τόσο της χαμηλής σύνθεσης στο δέρμα, όσο και την φτώχης σε βιταμίνη D διατροφής. Λόγω της βιομηχανικής επανάστασης στην Ευρώπη, ένα μεγάλο ποσοστό ατμοσφαιρικής ρύπανσης από καύσεις ορυκτών καυσίμων, μείωσε σημαντικά την ποσότητα υπεριώδους ακτινοβολίας που προσπίπτει στο έδαφος. Εξαιτίας της ανάγκης για μετακίνηση των εργαζομένων από τις αγροτικές κατοικίες σε πόλεις, η έκθεση στο ηλιακό φως μειώθηκε και κατ' επέκταση και η παραγωγή βιταμίνης D (Jones, 2022).

Από όλα τα ανάλογα και τα στάδια της βιταμίνης D, η ανεπάρκεια και η έλλειψη της καθορίζεται από την 25-υδροξυ-χοληκαλσιφεράση (25(OH)D) ή αλλιώς καλσιδιόλη. Είναι η μορφή της βιταμίνης που κυκλοφορεί στο αίμα και έχει χρόνο ημιζωής περίπου 2-3 εβδομάδες

Αποτελεί σύνολο τόσο της διατροφικής βιταμίνης που προσλαμβάνουμε, όσο και της βιταμίνης που παράγεται στην επιδερμίδα. Παρότι η δραστική μορφή της βιταμίνης είναι η 1,25-δεϋδροξυ-χοληκαλσιφεράση ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) ή αλλιώς καλσιτριόλη, η μέτρησή της δεν είναι ενδεικτική των επιπέδων στο σώμα. Ο χρόνος ημιζωής της είναι πολύ μικρός και όταν ένας ασθενής έχει έλλειψη σε βιταμίνη D, λόγω της έλλειψης ασβεστίου, ενεργοποιείται ο παραθυρεοειδής αδένας και παράγοντας παραθυρεοειδή ορμόνη (PTH), ελέγχει τα επίπεδα του ασβεστίου καθώς και τα επίπεδα παραγωγής βιταμίνης $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στα νεφρά. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η μέτρησή της να μην είναι αξιόπιστη για να χαρακτηριστεί ένας ασθενής επαρκής ή ανεπαρκής σε βιταμίνη D (Holick, 2009, 2017; Peterlik & Cross, 2009).

Αν και η μέτρηση της βιταμίνης D, δεδομένης της έντονης σύνδεσης που έχει με την απορρόφηση του ασβεστίου και την παραθυρεοειδή ορμόνη, καθίσταται δύσκολη, οι έρευνες συγκλίνουν πως η έλλειψη ορίζεται στον άνθρωπο ως συγκέντρωση της $25(\text{OH})\text{D}$ κάτω των 20 ng/mL . Αν τα επίπεδα της είναι από 21 έως και 29 ng/mL πρόκειται για ανεπάρκεια, και έτσι το κατώτερο όριο της επάρκειας είναι πλέον από 30 ng/mL και πάνω (Holick, 2009).

Η Endocrine Society υποστηρίζει ότι η έλλειψη έγκειται σε συγκεντρώσεις μικρότερες του 20 ng/mL και η ανεπάρκεια από $21\text{-}29 \text{ ng/mL}$. Αυτά τα όρια όμως σχετίζονται και με τα επίπεδα της παραθυρεοειδούς ορμόνης PTH και την απορρόφηση του εντέρου σε ασβέστιο, που φαίνεται να είναι ικανοποιητική όταν τα επίπεδα είναι άνω των 30 ng/mL . Το ινστιτούτο ιατρικής από την άλλη παρατηρεί πως δεν υπάρχουν ουσιώδη οφέλη από 20 ng/mL και πάνω και επομένως θεωρεί έλλειψη βιταμίνης D την συγκέντρωση ορού κάτω των 12 ng/mL και ανεπάρκεια από $12\text{-}20 \text{ ng/mL}$. Αν και οι διαφωνίες παραμένουν πολλές μια ημερήσια πρόσληψη των 1000-2000 μονάδων IU (international units) δηλαδή $25\text{-}20 \mu\text{g}$, φαίνεται να είναι αρκετή, ενώ οι υψηλότερες ποσότητες δεν έχουν σημαντικό όφελος (Martens et al., 2020).

Η ημερήσια δόση ενός και ενός εφήβου είναι περίπου 2000 μονάδες (International Units – IU) ανά ημέρα ενώ για τα παιδιά είναι 600-1000 IU ανά ημέρα. Χωρίς έκθεση στον ήλιο, μόνο η διατροφική πρόσληψη δεν επαρκεί για να καλύψει τις ημερήσιες δόσεις, έχοντας ως αποτέλεσμα ένα τεράστιο μέρος του πληθυσμού να παρουσιάζει είτε έλλειψη είτε ανεπάρκεια σε βιταμίνη D (Juzeniene et al., 2011).

Η έλλειψη και η ανεπάρκεια βιταμίνης D αποτελούν παγκόσμιο φαινόμενο και οι ομάδες με υψηλές πιθανότητες έλλειψης είναι οι έγκυες γυναίκες, υπέρβαρα παιδιά όπως επίσης ενήλικες και παιδιά που δεν έρχονται καθόλου σε επαφή με την ηλιακή ακτινοβολία. Έντονες ελλείψεις

έχουν παρουσιαστεί κυρίως σε περιοχές στην Ευρώπη, την Κίνα, την Ινδία, την Αυστραλία και την κεντρική ανατολική και νότια Αμερική. Οι ανεπάρκειες στην εγκυμοσύνη μπορούν να προκαλέσουν προεκλαμψία ή και προβλήματα στην στοματική και οδοντική κοιλότητα στο νεογνό (Holick, 2017).

Η έλλειψη και η ανεπάρκεια την βιταμίνης D συνδέεται με ασθένειες όπως η ραχίτιδα, ο καρκίνος, καρδιαγγειακά προβλήματα, μολυσματικές ασθένειες, καρδιακή ανεπάρκεια, διαβήτη τύπου I και II, αυτοάνοσα νοσήματα, προεκλαμψία, περιοδοντίτιδες καθώς και ψυχικές διαταραχές (Holick, 2017; Juzeniene et al., 2011).

Αξίζει να σημειωθεί ότι μερικές έρευνες αναφέρονται και στο ανώτατο όριο της βιταμίνης D στο οργανισμό καθώς τα υψηλά επίπεδα της βιταμίνης συνδέονται με υπερασβεστιαμία, υπερασβεστιουρία και υπερφωσφαταιμία. Αν και αρχικά φαινόταν να υπάρχει κίνδυνος σε επίπεδα άνω των 55 ng/mL, διαπιστώθηκε ότι άνθρωποι με μακρά έκθεση σε ηλιακή ακτινοβολία (π.χ. ναυαγοσώστες) δεν παρουσίαζαν κάποια τοξικότητα λόγω της βιταμίνης αν και τα επίπεδα τους ήταν υψηλά. Η ίδια η έκθεση στον ήλιο δεν παρουσιάζει επικίνδυνα υψηλά επίπεδα, αφού το ίδιο το περίσσειμα διασπάται και πάλι από τον ήλιο. Η περίπτωση λοιπόν της υπερβολικής δόσης προκύπτει από ακούσια ή εκούσια μεγάλη πρόσληψη της βιταμίνης κι μάλιστα για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα. Δεν παρουσιάζονται σημαντικά περιστατικά τοξικότητας σε επίπεδα κάτω των 150-200 ng/mL και έτσι το ανώτατο όριο έχει καθιερωθεί να είναι τα 150 ng/mL (Holick, 2009, 2017).

1.1.7. ΑΜΥΝΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΒΙΤΑΜΙΝΗ D

Η βιταμίνη D μπορεί να θεωρηθεί και ορμόνη καθώς οι άνθρωποι δεν την λαμβάνουν μόνο μέσω της τροφής αλλά και με έκθεση στον ήλιο. Η υδροξυλίωση του πρώτου σταδίου συμβαίνει στο ήπαρ από τουλάχιστον πέντε ένζυμα: CYP2DII, CYP2D25, CYP3A4, CYR2R1, CYP27A1 και το επόμενο βήμα γίνεται στα νεφρά από την υδροξυλάση CYP27B1 όπως προαναφέρθηκε. Αυτό το ένζυμο υπάρχει σε πολλούς ιστούς αλλά συναντάται σε υψηλότερη συγκέντρωση στα εγγύς νεφρικά σωληνάκια. Τέλος η διάσπαση τόσο της 25(OH)D όσο και της 1,25(OH)₂D₃ γίνεται από το ίδιο ένζυμο CYP24A1. Για να μεταφερθεί, η βιταμίνη και οι μεταβολίτες της στο αίμα συνδέονται με την πρωτεΐνη DBP, η οποία εκτός αυτού λειτουργεί ως ρυθμιστής των φλεγμονών και ανάπτυξης οστών (Martens et al., 2020).

Ο υποδοχέας βιταμίνης VDR μόλις η βιταμίνη D συνδεθεί, ετεροδιμερίζεται με τον ρετινοϊκό υποδοχέα X (RXR) και μεταφέρεται στον πυρήνα και ενώνονται με συγκεκριμένες περιοχές

του DNA που ονομάζονται VDRE. Έτσι συνδέεται με τον «promoter» του γονιδίου στόχου, ώστε να ξεκινήσει η μεταγραφή και έτσι να παραχθούν όλες οι γενωμικές επιδράσεις της βιταμίνης (Martens et al., 2020).

Μια άλλη διαδρομή που ακολουθεί η βιταμίνη είναι οι μη γενωμικές επιδράσεις. Η βιταμίνη D συνδέεται σε έναν VDR υποδοχέα που όμως βρίσκεται στην μεμβράνη του κυττάρου και έχει σχηματίσει σύμπλοκο με την καβεολίνη-1 (caveolin-1) (Martens et al., 2020).

Η σημασία της βιταμίνης D στο ανοσοποιητικό σύστημα, έγινε αντιληπτή όταν ανακαλύφθηκε ότι σχεδόν όλα τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος διαθέτουν έναν υποδοχέα VDR καθώς και ανάλογα της βιταμίνης. Συν τις άλλους οι VDR στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου είναι σημαντικά για την προστασία του εντέρου και την ρύθμιση της έμφυτης ανοσίας του. Η επίδραση της βιταμίνης D στο αμυντικό σύστημα ρυθμίζεται από την έκφραση που θα έχουν οι υποδοχείς VDR στο εκάστοτε ανοσοκύτταρο. Στα T-κύτταρα η συγκέντρωση των υποδοχέων αυξάνεται όταν ενεργοποιούνται ενώ στα μονοκύτταρα μειώνεται όταν αυτά διαφοροποιούνται είτε σε μακροφάγα είτε σε δενδριτικά κύτταρα. Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού όπως και τα νεφρικά σωληνάρια έχουν το ένζυμο 1α- υδροξυλάση, αλλά η ρύθμιση του δεν εξαρτάται από την ίδια την $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ όπως και στα νεφρά. Επιπλέον τα κύτταρα αυτά εκφράζουν και την 24-υδροξυλάση, η οποία επίσης ρυθμίζεται από την κατάσταση στην οποία βρίσκονται τα ανοσοποιητικά κύτταρα (Martens et al., 2020).

ΕΜΦΥΤΟ ΑΜΥΝΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ:

ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ

Τόσο τα μονοκύτταρα όσο και τα μακροφάγα εκφράζουν την πρωτεΐνη VDR, αλλά καθώς τα μονοκύτταρα μετατρέπονται σε μακροφάγα υπάρχει μείωση έκφρασης. Η έκφραση του ενζύμου 1 α-υδροξυλάση αυξάνεται και στα δύο είδη κυττάρων όταν δέχονται ερεθίσματα του ανοσοποιητικού συστήματος. Η μετατροπή σε $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ από την υδροξυλάση μειώνει την αντιφλεγμονώδη δράση καθώς αυξάνει την ιντερλευκίνη IL-10 και μειώνει τα φλεγμονώδη ερεθίσματα (IL-1β, IL-6, TNF-α, RANKL και COX-2). Οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες μειώνονται λόγω της αύξησης της φωσφατάσης MPK-1 (mitogen-activated protein kinase phosphatase – 1), η οποία είναι αρνητικός ρυθμιστής της MAPK (mitogen-activated protein kinase). Έτσι αναστέλλεται η ενεργοποίηση της MAPK p38, μιας κινάσης που συμμετέχει στην διαδικασία της φλεγμονής, και ενεργοποιείται από την αλληλουχία NLS που διαθέτει. Η αλληλουχία NLS (Nuclear Localization Signal) που βρίσκεται σε μία πρωτεΐνη, αλληλεπιδρά

με υποδοχείς του πυρηνικού πόρου και έτσι η πρωτεΐνη μπορεί να εισαχθεί στον πυρήνα και να επηρεάσει την γονιδιακή έκφραση (Martens et al., 2020).

Επιπλέον αναστολή φλεγμονωδών κυτοκινών πραγματοποιείται και μέσω αναστολής της έκφρασης του COX-2 (κυκλοοξυγανάση – 2). Η COX-2 είναι ένα ένζυμο που συμμετέχει στον σχηματισμό φλεγμονής, παράγοντας προσταγλανδίνες που προκαλούν πόνο, πυρετό και φλεγμονή. Ακόμη η ενεργοποίηση των υποδοχέων TRL (toll like receptors), που είναι υπεύθυνοι για την αναγνώριση παθογόνων, αυξάνει την έκφραση των υποδοχέων VDR, ενώ ο έλεγχος των TRL υποδοχέων γίνεται από την $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Η ενεργοποιημένη αυτή μορφή έχει αντιμικροβιακό ρόλο καθώς προκαλεί την δημιουργία του πεπτιδίου CAMP (cathelicidin antimicrobial peptide), αφού αυξάνει την παράγοντα hCAP18 και IL-37. Συν τις άλλους η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ έχει και αντιοξειδωτική δράση καθώς ρυθμίζει ανοδικά την GR (glutathione reductase) και την GCL (glutamate-cysteine ligase), με αποτέλεσμα να μειώνονται οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου όπως οι ROS (reactive oxygen species), (Delrue & Speeckaert, 2023; Martens et al., 2020).

Τα μακροφάγα παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην άμυνα του οργανισμού, παράγοντας κυτοκίνες. Συστατικά των ιών και των βακτηρίων που εισέρχονται στο οργανισμό αναγνωρίζονται από υποδοχείς TLR, οι οποίοι εκφράζονται στην επιφάνεια των μακροφάγων και έτσι αυξάνεται η έκφραση των VDR και CYP27B1. Όταν η ενεργή μορφή μεταφέρεται στα νεφρά συνδέεται στους VDR οι οποίοι όπως ήδη αναφέρθηκε ετεροδιμερίζονται με τον RXR. Το ετεροδιμερές αυτό συνδέεται με το DNA και προάγει την παραγωγή αντιβιοτικών πεπτιδίων, όπως η καθελιδίνη και οι β -defensins (Ao et al., 2021).

Το γονίδιο που κωδικοποιεί την β – αμυνσίνη (β -defensin), είναι το DEFB4, και απαιτεί για την έκφρασή του τον μεταγραφικό παράγοντα NF- κ B. Η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ προωθεί την παραγωγή του NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2), μιας πρωτεΐνης που αναγνωρίζει παθογόνα. Ο NOD2 με την σειρά του εγείρει την μεταγραφή του DEFB4 μέσω του NF- κ B. Επίσης η ενεργή μορφή προκαλεί μεταγραφή των πρωτεϊνών που προωθούν την αυτοφαγία των κυττάρων, μέσω της παραγωγής καθελιδίνης και β -αμυνσινών (Ao et al., 2021; Delrue & Speeckaert, 2023).

ΔΕΝΔΡΙΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (DCs)

Η βιταμίνη D προκαλεί μια αλλαγή στην μορφολογία των δένδριτικών κυττάρων και πιο συγκεκριμένα στην παραγωγή κυτοκίνης και στους επιφανειακούς δείκτες. Ακολουθώς

υπάρχει μικρότερη έκφραση του συμπλέγματος MHC-II (major histocompatibility complex), και των συμπαραγόντων του CD80 (cluster of differentiation), CD86 και του CD54. Επιπλέον υπάρχει αύξηση έκφρασης του CCR5 (chemokine receptor), DEC205 (antigen-uptake receptor), F4/80 (macrophage marker) και CD40. Οι κυτοκίνες IL-6 και IL-12 μειώνονται ενώ η IL-10 αυξάνεται. Η ενεργή μορφή ρυθμίζει ανοδικά τον ILT-3 (immunoglobulin-like transcript) και τον PD-L1 (programmed death-ligand 1). Έτσι ο PD-L1 προάγει την ρύθμιση των T-κυττάρων (Charoenngam & Holick, 2020; Martens et al., 2020; Sirbe et al., 2022).

Ένα δενδριτικό κύτταρο παρουσιάζει το αντιγόνο στα T κύτταρα, δρα δηλαδή σαν APC (αντιγονο-παρουσιαστικό κύτταρο, antigen-presenting cell) ενεργοποιώντας την προσαρμοστική ανοσοαπόκριση. Η ενεργή μορφή της βιταμίνης D μειώνει το MHC κατηγορίας II και τα μόρια που συνεργάζονται με αυτό όπως το CD40, CD80 και CD86, τα οποία εκφράζονται στα δενδριτικά κύτταρα, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των T κυττάρων. Τα ανάλογα της βιταμίνης μειώνουν την παραγωγή κυτοκινών από τα δενδριτικά κύτταρα, και κυρίως των ιντερλευκινών IL-12, που επηρεάζει την διαφοροποίηση των T-βοηθητικών κυττάρων (Th – T helpers) σε Th1 και των IL-23 που επηρεάζει την διαφοροποίηση των βοηθητικών σε Th17. Εκτός των άλλων η βιταμίνη ενισχύει την έκφραση της κυτοκίνης IL-10 (Ao et al., 2021; Charoenngam & Holick, 2020).

ΑΛΛΟΙ ΤΥΠΟΙ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Σε γενικές γραμμές η ενεργή μορφή έχει την δυνατότητα να ενισχύει τα ουδετερόφιλα απέναντι στην βλάβη από παθογόνα. Επίσης αυξάνει την άμυνα έναντι των παθογόνων ενεργοποιώντας την αυξημένη έκφραση της καθελιδίνης και των α και β αμυνσινών (α and β-defensins). Έχει επίσης την δυνατότητα να βοηθά στην μείωση της προφλεγμονώδους απόκρισης και της μετανάστευσης των ουδετερόφιλων. Έχει αποδειχθεί επίσης πως μειώνει τον σχηματισμό εξωκυττάρων παγίδων ουδετερόφιλων (NETs – neutrophil extracellular traps), μειώνοντας την απόκριση απέναντι στα παθογόνα αλλά και τον κίνδυνο αυτοανοσίας (Charoenngam & Holick, 2020; Martens et al., 2020).

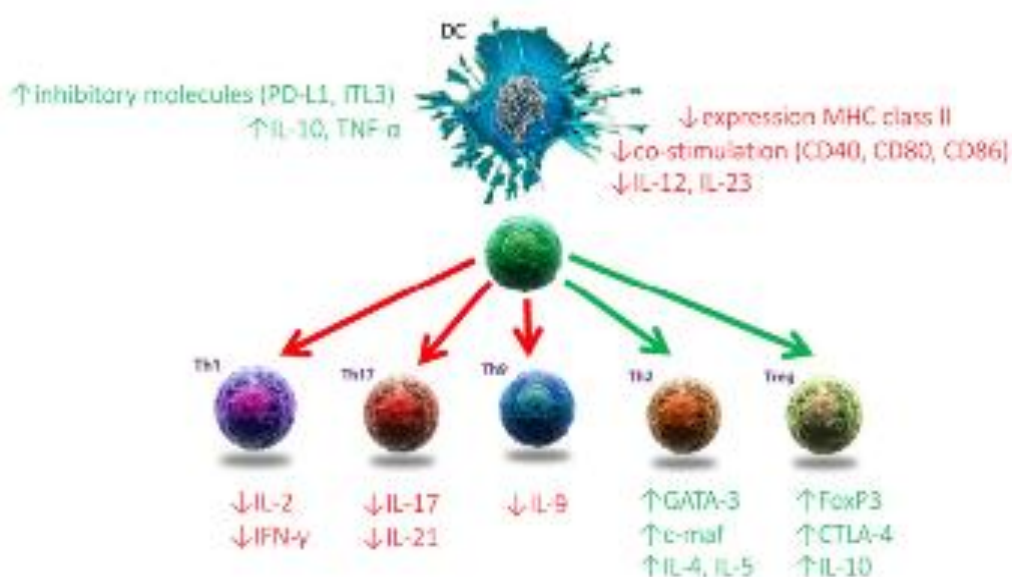
ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ

T- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ:

Η ενεργή μορφή της βιταμίνης μπορεί είτε άμεσα είτε έμμεσα να επηρεάσει τα T-λεμφοκύτταρα. Δεδομένου ότι στα μακροφάγα ρυθμίζει την επιφανειακή έκφραση του MHC-II και των συνεργατικών μορίων του και στα δενδριτικά κύτταρα αναστέλλει την παραγωγή

IL-12 και IL-23, εκτός της IL-10, έχει και έμμεση επίδραση στα T-λεμφοκύτταρα. Θα υπάρξει μείωση στον πολλαπλασιασμό των αυτοαντιδραστικών T-λεμφοκυττάρων και αύξηση των ρυθμιστικών Tregs (regulatory T-cells). Η άμεση δράση της ενεργής μορφής εξαρτάται από την κατάσταση ενεργοποίησης των T λεμφοκυττάρων καθώς αποκτούν υψηλότερη συγκέντρωση VDR όταν ενεργοποιούνται (Martens et al., 2020).

Τα T-κύτταρα αλληλεπιδρούν με δενδριτικά κύτταρα που δρουν ως αντιγονοπαρουσιαστικά ώστε να προκληθεί μια ανοσολογική απόκριση. Τα T-κύτταρα εκφράζουν τόσο VDR υποδοχείς όσο και CYP27B1. Η ενεργή μορφή της βιταμίνης, μέσω της έκκρισης κυτοκινών, σταματά την διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των CD4⁺ (θετικών βοηθητικών T-κυττάρων). Συγκεκριμένα μειώνεται η διαφοροποίηση Th1 και η έκκριση των φλεγμονωδών κυτοκινών IL-2, IFN γ και TNF- α , ενώ αυξάνεται η διαφοροποίηση τύπου Th2 και η έκκριση αντιφλεγμονωδών κυτοκινών IL-4, IL-5 και IL-10. Επιπλέον αναστέλλεται η έκκριση κυτοκινών που σχετίζονται με το Th17 όπως οι IL-17, IFN γ , IL-21 και IL-22. Αντίθετα προάγεται μια προστασία απέναντι στην αυξημένη αυτοάνοση απόκριση, αφού αυξάνεται η αντιφλεγμονώδης κυτοκίνη IL-10 και ο μεταγραφικός παράγοντας FoxP3 (Ao et al., 2021; Sîrbe et al., 2022).



Εικόνα 1-2: Επίδραση βιταμίνης D στα T-λεμφοκύτταρα (Martens et al., 2020)

Β-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ:

Στα ανθρώπινα Β-λεμφοκύτταρα υπάρχουν υποδοχείς VDR καθώς και 1 α -υδροξυλάση. Η βιταμίνη D προκαλεί απόπτωση των ενεργοποιημένων T-λεμφοκυττάρων και εμποδίζει την παραγωγή των πλασμοκυττάρων (αναστέλλοντας τον CD40 και NF- κ B) (Delrue & Speeckaert, 2023; Martens et al., 2020).

Η βιταμίνη D μειώνει τον κίνδυνο ασθενειών κυρίως ενεργοποιώντας τους υποδοχείς VDR (vitamin D receptor) από την 1,25(OH) $_2$ D ή αλλιώς καλσιτριόλη. Η ενεργοποίηση των VDR μειώνει την έκφραση γονιδίων δημιουργώντας διμερή με τον υποδοχέα ρετινοειδών X (retinoid X receptor – RXR) και έπειτα στρατολόγηση συμπαραγόντων ή καταστολέων. Αν και το μεγαλύτερο μέρος της κυκλοφορούσας στο αίμα βιταμίνης παράγεται από τα νεφρά, πολλά όργανα έχουν το ένζυμο 1-υδροξυλάση ή αλλιώς 1- α -25-υδροξυλάση που επιτρέπει την παραγωγή της ενεργής μορφής (1,25(OH) $_2$ D) από την 25(OH)D (Delrue & Speeckaert, 2023; Juzeniene et al., 2011).

Είναι σαφές πως τα Β-λεμφοκύτταρα παίζουν βασικό ρόλο στις αυτοάνοσες νόσους αφού γίνονται εργαλεία παραγωγής αντισωμάτων, εκφράζουν τους VDR υποδοχείς και το γονίδιο CYP27B1. Η ενεργή μορφή αντιδρώντας με τα βοηθητικά T κύτταρα καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση και την παραγωγή αντισωμάτων των Β – λεμφοκυττάρων (Ao et al., 2021).

1.1.8. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D

Οι γενετικοί πολυμορφισμοί ορίζονται ως κληρονομικές αλλαγές σε κάποιες αλληλουχίες του γονιδιώματος, οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση γονιδίων και άρα την λειτουργία ενζύμων, συμπλόκων και γενικότερα του μεταβολισμού. Οι SNPs (single nucleotide polymorphisms), είναι απλά αλλαγές μία και μόνο βάσης σε μια αλληλουχία ή ένα γονίδιο, οι οποίες παρουσιάζονται περίπου κάθε 1900 ζευγάρια βάσεων και μάλιστα σε όλο σχεδόν το γονιδίωμα εκτός των φυλετικών χρωμοσωμάτων. Διακρίνονται συνήθως σε αντικαταστάσεις πουρινών με πουρίνες (δηλαδή αδενίνες A ή γουανίνες G), πυριμιδών με πυριμιδίνες (δηλαδή κυτοσίνες C ή θυμίνες T) ή μετατροπές μιας πουρίνης με μια πυριμιδίνη και αντιστρόφως. Οι αλλαγές ανάμεσα σε πουρίνες ή πυριμιδίνες είναι συχνότερες. Ένας γενετικός πολυμορφισμός μπορεί να συνδεθεί με μία ασθένεια, ενώ ταυτόχρονα το άλλο αλληλόμορφο που δημιουργεί να παραμένει αρνητικό στην ίδια ασθένεια (Ruiz-Ballesteros et al., 2020).

Η επίδραση που έχουν οι γενετικοί πολυμορφισμοί στον ανθρώπινο οργανισμό ποικίλει και συνδέεται έντονα με την θέση που εντοπίζονται πάνω στο γονιδίωμα. Είναι ζωτικής σημασίας αν βρίσκονται στο 5' άκρο ή στο 3' άκρο μιας μη μεταγραφικής περιοχής (UTR-untranslated region) του προαγωγού (promoter), σε ιντρόνιο (εσώνιο) ή σε εξόνιο. Οι προαγωγοί (promoters) είναι τα γονίδια που δίνουν το σήμα για την έναρξη της μεταγραφής μιας περιοχής και επομένως μια μετάλλαξη στον προαγωγό μπορεί να επηρεάσει την έκφραση ενός γονιδίου έως και 50%. Αυτό συνεπάγεται ότι υπάρχει περίπτωση τόσο να κατασταλεί εντελώς η έκφρασή του όσο και να γίνει με πολύ μεγαλύτερο ρυθμό από τον φυσιολογικό. Πολλοί πολυμορφισμοί μπορούν να είναι τόσο συχνοί που να μεταφερθούν από γενιά σε γενιά (linkage disequilibrium – LD) και επομένως πολλές ασθένειες καθίστανται κληρονομικές (Ruiz-Ballesteros et al., 2020).

Για να γίνουν κατανοητοί οι λόγοι που μπορεί να προκληθεί ανεπάρκεια, έλλειψη ή και τοξικότητα από την βιταμίνη D, είναι μείζονος σημασίας να γίνουν κατανοητοί οι γενετικοί παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα της στο αίμα. Ένας από τους πρώτους παράγοντες που εξετάζεται είναι η κληρονομικότητα, που όμως στην περίπτωση της βιταμίνης D δεν φαίνεται να δίνει σαφή αποτελέσματα. Τόσο σε μονοζυγωτικά δίδυμα, όσο και σε εκατοντάδες άλλες μελέτες που αφορούν γονείς και απογόνους, σε ποικίλα σημεία της υφής αλλά και σε διάφορες εποχές του χρόνου, οι έρευνες δεν φαίνεται να αποδίδουν καρπούς και να συνδέουν επαρκώς την κληρονομικότητα με την βιταμίνη. Η κληρονομικότητα που εμφανίζεται είναι αρκετά διαφορετική σε κάθε περίπτωση χωρίς να παρουσιάζει κάποιο μοτίβο, συνοχή ή περιοδικότητα, γεγονός που εν μέρει ίσως οφείλεται και στην διαφορά των εποχών, την μέτρηση του εκάστοτε εργαστηρίου καθώς και τον σχεδιασμό του ίδιου του πειράματος που πραγματοποιήθηκε (Bahrami et al., 2018).

Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα η βιταμίνη D δημιουργείται κατά κύριο λόγο στο δέρμα όπου η 7-DHC θα μετατραπεί στο 25(OH)D. Αυτή με την σειρά της θα υδροξυλιωθεί στο ήπαρ παρουσίας του ενζύμου 25-υδροξυλάση που κωδικοποιείται από το γονίδιο CYP2R1. Στην συνέχεια θα δεχτεί μια επιπλέον υδροξυλομάδα στα νεφρά από το ένζυμο 1-υδροξυλάση που κωδικοποιείται από το γονίδιο CYP27B1. Η ενεργή της πλέον μορφή 1,25(OH)₂D αποτελεί μια εξαιρετικά δραστική ορμόνη. Δεδομένου αυτού γίνεται κατανοητό ότι τα γονίδια που σχετίζονται με την βιταμίνη μπορούν χονδρικά να χωριστούν σε εκείνα που σχετίζονται με την αρχική παραγωγή της 25(OH)D, εκείνα που βοηθούν στην παραγωγή της ενεργής μορφής, στα γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες μεταφοράς των μεταβολιτών στα γονίδια που

κωδικοποιούν τους υποδοχείς και τους ενεργοποιητές και τέλος σε εκείνα τα γονίδια που ελέγχουν δευτερεύοντα μονοπάτια στον μεταβολισμό της βιταμίνης, όπως η συγκέντρωση των ιόντων ασβεστίου και της παραθυροειδούς ορμόνης (Arguelles et al., 2009; Bahrami et al., 2018).

CYP27B1

Το γονίδιο CYP27B1 (κυτόχρωμα P-450) βρίσκεται στο χρωμόσωμα 12 και είναι ένα τμήμα 6.66 κιλοβάσεων (kb). Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί το ένζυμο 1α – υδροξυλάση, το οποίο είναι υπεύθυνο για την μετατροπή της 25(OH)D στην 1,25(OH)₂D, δηλαδή στην ενεργό μορφή. Μερικές παραλλαγές συνδέονται με τα επίπεδα της βιταμίνης D, όπως αυτή της αλλαγής ενός μόνο νουκλεοτιδίου (SNP - single nucleotide polymorphism), rs10877012 (C/A). Αυτή η αλλαγή βάσης έγινε αντιληπτή σε έρευνα που αφορούσε Αφροαμερικανούς (Signorello et al., 2011) καθώς και σε διαβητικούς ασθενείς στην Βρετανία (Ramos-Lopez et al., 2008). Επίσης σε μελέτες που αφορούσαν την σκλήρυνση κατά πλάκας (Engelman et al., 2008), εντοπίστηκαν και δύο ακόμα SNPs: η rs464536 (C/T) και η rs703842 (C/T) που συνδέονται με τα ποσοστά της βιταμίνης D στο ορό του αίματος. Ωστόσο αυτές οι αλλαγές δεν εντοπίστηκαν και σε αντίστοιχα πειράματα που αφορούσαν ασθενείς με αντίσταση στην ινσουλίνη, γεγονός που ενδεχομένως και πάλι να οφείλεται στην διαφορά της μεθόδου, το μέγεθος των δειγμάτων, τον τρόπο ανάλυσης τους, ακόμη και την εθνικότητα των συμμετεχόντων (Bahrami et al., 2018; Berry & Hyppönen, 2011).

Ο πολυμορφισμός rs10877012 του γονιδίου CYP27B1 που βρίσκεται στην μη κωδικοποιούσα περιοχή και χαρακτηρίζεται από μία αλλαγή G > T. Η ενδονουκλεάση περιορισμού για τον εντοπισμό του είναι η HinfI (*Haemophilus influenza*). Εφόσον βρίσκεται στο 3' άκρο ίσως επηρεάσει τον τρόπο που το γονίδιο μεταφράζεται (Ruiz-Ballesteros et al., 2020).

Μελέτες σε πληθυσμό της Γερμανίας με ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο του θυροειδούς αδένος με γονότυπο GG, παρουσίασαν μικρότερη συγκέντρωση καλσιτριόλης στον ορό σε σχέση με τους ασθενείς με γονότυπο TT. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και από έρευνες σε διαβητικούς ασθενείς αλλά και σε υγιή πληθυσμό στην Γερμανία και στην Αγγλία. Συν τις άλλος υπάρχει και σύνδεση του γονιδίου με αυτοάνοσα και κληρονομικά νοσήματα (McCullough et al., 2009; Ruiz-Ballesteros et al., 2020).

CYP2R1

4 κυτοχρώματα έχουν βρεθεί υπεύθυνα για την υδροξυλίωση της βιταμίνης D, αλλά το CYP2R1 έχει την μεγαλύτερη συγγένεια και εξειδίκευση στους ανθρώπους. Το γονίδιο CYP2R1 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 11p15.2 και εκτείνεται σε πάνω από 14.29 kb (κιλοβάσεις). Κωδικοποιεί το ένζυμο της 25-υδροξυλάσης, το οποίο έχει μεγάλη χημική συγγένεια με την βιταμίνη D. Συμβάλει στην διαδικασία του μεταβολισμού της, καταλύοντας την μετατροπή της από χοληκαλσιφερόλη στην 25(OH)D (25-υδροξυ-χοληκαλσιφερόλη) ή αλλιώς καλσιδιόλη. Τα επίπεδα της βιταμίνης D φαίνεται να συνδέονται με μια μετάλλαξη στο εξόνιο 2 του γονιδίου, την rs10741657 όπως δείχνουν μελέτες σύνδεσης (Linkage Disequilibrium – LD) σε οικογένειες με διαβήτη τύπου I, δεδομένο που δεν συνδέεται όμως πάντα με περιστατικά διαβήτη της κύησης. Δυο ακόμη μεταλλάξεις που συνδέονται με τα υψηλά επίπεδα βιταμίνης D είναι οι SNP rs12794714 και rs10766197 (5' άκρο του γονιδίου). Η γενετική ανάλυση δείχνει πως οι ασθενείς χωρίς κίνδυνο για χαμηλά επίπεδα φέρουν συνήθως τα εν λόγω αλληλόμορφα (Bahrami et al., 2018; Cheng et al., 2004; Ramos-Lopez et al., 2007).

Στο ήπαρ, μετά την μετατροπή της βιταμίνης στην ενεργή μορφή εκείνη συνδέεται και πάλι σε VDBPs ώστε να μεταφερθεί στα νεφρά. Η μετάλλαξη CYP2R1, rs10741657, εντοπίζεται στο 5' άκρο UTR περιοχής και επηρεάζει την μεταγραφή και την μετάφραση του γονιδίου. Το ένζυμο της 25-υδροξυλάσης είναι μια πρωτεΐνη που αποτελείται περίπου από 500 αμινοξέα και έχει μοριακό βάθος 50-55 kDa (kilo-Daltons). Η μετάλλαξη CYP2R1 είναι στις θέσεις 14, 893, 332 pb και πρόκειται για αλλαγή A > G στην 5' UTR. Για να γίνει φανερός ο πολυμορφισμός συχνά χρησιμοποιείται η περιοριστική ενδονουκλεάση MnII (*Moraxella nonliquefaciens*). Δεδομένου ότι βρίσκεται στο 5' άκρο του UTR πιθανόν να είναι υπεύθυνο για ρυθμίσεις στην έκφραση του γονιδίου καθώς και τον ρυθμό δράσης του (Ruiz-Ballesteros et al., 2020; Wjst et al., 2006).

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε Ιρανούς έφηβους αναφέρθηκαν οι επιπτώσεις της μετάλλαξης rs10741657, A>G στο γονίδιο CYP2R1. Με δεδομένο ότι όλοι οι συμμετέχοντες λάμβαναν εβδομαδιαία 50.000 UI (International Units) βιταμίνης D, εκείνοι με τον γονότυπο AA είχαν 2,5 φορές πιο υψηλή καλσιτριόλη στο αίμα του σε σύγκριση με εκείνους με γονότυπο GG (Khayyatadeh et al., 2019).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε 218 ηλικιωμένες γυναίκες στον Λίβανο, πριν και μετά από έναν χρόνο λήψης συμπληρώματος, βρέθηκαν διαφορές από 3 έως 8 ng/mL της ανενεργής μορφής της βιταμίνης στον ορό του αίματος. Οι μεταλλάξεις εντοπίστηκαν με την μέθοδο της real-time PCR και η συγκέντρωση στον ορό μετρήθηκε με υγρή χρωματογραφία. Οι

ομοζυγώτες στην σπάνια παραλλαγή (HLV) με πολυμορφισμούς rs1562902 και rs19741657 είχαν υψηλότερο μέσο όρο 7.6 ng/mL και 5.9 ng/mL αντίστοιχα σε σχέση με του ομοζυγώτες στους κύριους πολυμορφισμούς. Αντίθετα τα άτομα με κύριους πολυμορφισμούς (HMP) είχαν υψηλότερα επίπεδα βιταμίνης, 6 ng/mL και 4,8 ng/mL για το rs10766197 και rs12794714 σε σύγκριση με τα άτομα της σπάνια παραλλαγής (Arabi et al., 2017).

Οι συνώνυμες αλλαγές δεν αλλάζουν την αλληλουχία της πρωτεΐνης σε αμινοξέα ενώ οι μη συνώνυμες την αλλάζουν. Υπάρχουν τουλάχιστον 7 πολυμορφισμοί που εξηγούν τα επίπεδα βιταμίνης D στους ανθρώπους. Σε έρευνες που πραγματοποιήθηκαν σε παιδιά με ραχίτιδα, βρέθηκαν ομόζυγοι στην αλλαγή μιας θυμίνης με μία κυτοσίνη στο εξόνιο 2 του γονιδίου CYP2R1. Πρόκειται για μία αντικατάσταση προλίνης με λευκίνη στην θέση 99 της κωδικοποιημένης πρωτεΐνης που ονομάστηκε L99P. Ωστόσο επειδή δεν επιβεβαιώθηκε από όλες τις υπόλοιπες έρευνες, η L99P θεωρήθηκε περισσότερο σπάνια μετάλλαξη, παρά πολυμορφισμός (Thacher & Levine, 2017).

Έρευνα σε παιδιά στην Δανία που αφορούσε τους πολυμορφισμούς του γονιδίου CYP2R1: rs1562902, rs7116978, rs10741657, rs10766197, έδειξε πως τα επίπεδα της 25(OH)D ήταν στατιστικά σημαντικά συνδεδεμένα με του εν λόγω πολυμορφισμούς (Nissen et al., 2014).

Μετά αναλύσεις σχετικά με το γονίδιο που πραγματοποιήθηκαν, καθιστούν σαφές πως ο πολυμορφισμός rs10741657 με γονότυπο GG συνδέεται άμεσα με μείωση της ανενεργής μορφής στον ορό, σε σύγκριση με τον γονότυπο AA, σε πολλούς πληθυσμούς της υφελίου. Γενικότερα η σύνδεση της ανεπάρκειας με το επικρατές αλληλόμορφο G είτε σε ομοζυγώτες είτε σε ετεροζυγώτες είναι έντονη σε σχέση με εκείνη του υπολειπόμενου αλληλόμορφου A (Duan et al., 2018).

Vitamin D binding protein (VDBP) – GC (group-specific component)

Η GC σφαιρίνη ή αλλιώς VDBP (vitamin D-binding protein) είναι μια πρωτεΐνη που βρίσκεται στο πλάσμα και υπεύθυνη για την δέσμευση και την μεταφορά της βιταμίνης D στο αίμα. Βρίσκεται στο χρωμόσωμα 4q12-q13 με μήκος περίπου 63.84kb. Στην αρχή ονομάστηκε Gc (group-specific component) από τον Hirschfeld το 1959, ενώ στην συνέχεια επειδή συνδέεται με τα ανάλογα της βιταμίνης D στο αίμα ονομάστηκε DBP. Η πρωτεΐνη VDBP έχει δύο βασικούς πολυμορφισμούς: rs7041 και rs4588, που βρίσκονται στο εξόνιο 11 (Rozmus et al., 2022).

Το μεγαλύτερο ποσοστό της κυκλοφορούσας πρωτεΐνης είναι συνδεδεμένο με την VDBP, ένα μικρό ποσοστό της τάξεως του 15% είναι με την αλβουμίνη και ένα ακόμη μικρότερο περίπου

0,04% είναι ελεύθερο. Τα ζώα που παρουσιάζουν μετάλλαξη στο GC είναι πιο πιθανό να παρουσιάσουν δευτερεύοντα υπερθυρεοειδισμό και υποασβεστιαμία, αν έχουν διατροφή με χαμηλή βιταμίνη D, και ως αποτέλεσμα είναι πιο ανθεκτικά στην τοξικότητα της βιταμίνης και την υπερασβεστιαμία. Οι μεταβολίτες της VDBP έχουν μεγάλο χρόνο ημιζωής στην κυκλοφορία του αίματος καθώς είναι ανθεκτικοί στην υδροξυλίωση. Συμπερασματικά προκύπτει ότι οι VDBPs είναι υπεύθυνοι για την διατήρηση της κυκλοφορούσας 25(OH)D. Υπάρχουν τρεις ισομορφές της βιταμίνης VDBP: GC1F, GC1S, GC2, ο οποίες προκύπτουν από εναλλαγή των αλληλόμορφων από τους SNPs rs4588 και rs7041. Φαίνεται μάλιστα ότι οι συγκεντρώσεις τείνουν να είναι χαμηλότερες όταν χρησιμοποιηθεί η ισομορφή GC2 αντί για την GC1. Οι έρευνες δείχνουν ότι το GC1F είναι πιο συχνό στους ανθρώπους με σκούρο δέρμα, ενώ τα GC1S και GC2 είναι πιο συχνά στα ανοιχτόχρωμα δέρματα. Έτσι διατυπώνεται η υπόθεση ότι οι πληθυσμοί με GC1, σε σύγκριση με εκείνους με GC2, έχουν μεγαλύτερη συγγένεια με την βιταμίνη, και άρα πιθανόν να υπάρχουν διακυμάνσεις μεταξύ των διαφόρων εθνικοτήτων (Berry & Hyppönen, 2011).

Στο αίμα και τα δύο ανάλογα της βιταμίνης (χοληκαλσιφερόλη και εργοκαλσιφερόλη) συνδέονται με τους υποδοχείς VDBP. Το γονίδιο GC αποτελείται από 13 εξόνια και ο πολυμορφισμός rs2282679 βρίσκεται στην θέση 71.742 με αλλαγή A>C στο ιντρόνιο 12. Η θέση αυτή βρίσκεται κοντά στην υπομονάδα III της ακτίνης και η ενδονουκλεάση που συχνά χρησιμοποιείται για να ταυτοποιηθεί αυτός ο πολυμορφισμός είναι η FokI (Flavobacterium okeanoikoites). Λόγω της θέσης του στο γονιδίωμα μπορεί να προκαλέσουν είτε λάθος μάτισμα (κόψιμο του DNA) είτε παράλειψη εξονίου (exon skipping) με αποτέλεσμα την δημιουργία μεταλλαγμένου ώριμου mRNA. Απόρροια αυτής της μετάλλαξης είναι η μειωμένη καλσιτριόλη στο αίμα και πολλές φορές συνδέεται με πλήθος κληρονομικών και αυτοάνοσων νοσημάτων (Ruiz-Ballesteros et al., 2020).

Οι SNPs που δέχεται η GC είναι αρκετές, με τις δύο βασικές να είναι οι rs7041(G/T) και rs4588(C/A) στο εξόνιο 11. Οι πολυμορφισμοί αυτοί προκαλούν αλλαγές των αμινοξέων γλουταμίνης με ασπαραγινικό οξύ (Glu/Asp – κωδικόνιο 416) και των αμινοξέων θρεονίνη με λυσίνη (Thr/Lys – κωδικόνιο 420) αντίστοιχα. Η αλλαγή rs4588 συνδέεται από ένα πλήθος ερευνών με χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D στον ορό. Παρατηρούνται στην συνέχεια πολυμορφισμοί με υψηλή ανισορροπία σύνδεσης (high linkage disequilibrium – LD) με το rs4588. Τέτοιες μεταλλάξεις είναι γενετικές παραλλαγές που μεταφέρονται συνήθως μαζί από γενιά σε γενιά και στην προκειμένη περίπτωση είναι η rs2282679 στο ιντρόνιο 12 του γονιδίου GC και η rs1155563. Ωστόσο ταυτοποιήθηκαν και πολυμορφισμοί που δεν έχουν άμεση

σύνδεση ούτε με την rs7041, ούτε με την rs4588 όπως η rs16846876 και η rs222020. Το γεγονός ότι οι πολυμορφισμοί αυτοί δεν εντοπίζονται πάντα μαζί, δεν αποκλείει το γεγονός να υπάρχει αλληλική ετερογένεια, δηλαδή διαφορετικοί πολυμορφισμοί που δημιουργούν την ίδια ασθένεια ή χαρακτηριστικό. Άλλοι πολυμορφισμοί που εντοπίστηκαν είναι ο rs222035 και rs842999 που σχετίζονται με τον rs7041, και ο rs1155563 που σχετίζεται με τον rs17467825. Ωστόσο βρέθηκαν και κάποιοι συνδεδεμένοι με τον rs4588, οι rs1155563 και rs1746782. Σε οικογένειες της Δανίας παρουσιάστηκαν επίσης οι πολυμορφισμοί rs4588, rs16846876, rs228279, rs12512631, rs842999, με τον τελευταίο να έχει στενή σύνδεση με τον rs4588. Η παρουσία αυτών των αλληλόμορφων είχε ως αποτέλεσμα χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης D (Bahrami et al., 2018).

Οι πολυμορφισμοί rs2298849, rs2282679 και 10877012 έχουν ισχυρή σύνδεση μεταξύ τους και σε έρευνες που πραγματοποιήθηκαν σε πληθυσμό Καυκάσιων και Αφροαμερικανών. Όταν και οι τρεις συνυπάρχουν, τα επίπεδα του rs2298849 φαίνεται να διατηρούνται σημαντικά και ο γονότυπος AA παρουσιάζει μείωση της ανενεργής μορφής της βιταμίνης στο αίμα, συγκριτικά με τον GG γονότυπο (Signorello et al., 2011).

Σε έρευνα που έγινε σε παιδιά στην Δανία στους πολυμορφισμούς rs4588, rs222020, rs842999-triallelic, rs2882679, rs2298849, rs12512631, rs16846876, rs17467825, διαπιστώθηκε έντονη σύνδεση τους με τα επίπεδα της ανενεργούς μορφής στο αίμα (εκτός των rs222020 και rs2298849) (Nissen et al., 2014).

Vitamin D receptor (VDR)

Ο VDR είναι ένας υποδοχέας της οικογένειας των στεροειδών – θυρεοειδών ορμονών και κωδικοποιείται από ένα γονίδιο με το ίδιο όνομα που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 12. Αποτελείται από περίπου 100.000 βάσεις αλλά μόνο 4.600 κωδικοποιούν στην πρωτεΐνη VDR. Πρόκειται για έναν μεταγραφικό παράγοντα που ρυθμίζεται από τον ρυθμό σύνδεσης του προσδέτη του (βιταμίνη D) και κάποιες φωσφορυλιώσεις. Η πρωτεΐνη VDR αποτελείται από 427 αμινοξέα και βρίσκεται στον πυρήνα, στο κυτταρόπλασμα και στην μεμβράνη του κυττάρου. Μεταφέρεται στον πυρήνα όταν αλληλεπιδράσει με αυτήν η βιταμίνη D και συνδεθεί και υπάρχουν τρεις ισομορφές του (Ruiz-Ballesteros et al., 2020).

Η πιο συχνή μορφή του είναι ο VDRA αποτελείται από 427 αμινοξέα και έχει βάρος 48 kDa, Η αμέσως μεγαλύτερη μορφή είναι η VDRB1 με 477 αμινοξέα και βάρος 54 kDa, η οποία εκθέτει 50 αμινοξέα περισσότερα στο άμινοτελικό άκρο στο εξόνιο 1d. Στον ανθρώπινο οργανισμό εντοπίζεται στα νεφρά, στον επιθηλιακό ιστό των νεφρικών σωληναρίων και

κυττάρων του εντέρου. Το τρίτο ισομερές VDRA που αποτελείται από 424 αμινοξέα, έχει την μεγαλύτερη μεταγραφική ικανότητα. Η μορφή αυτή προκύπτει όταν δημιουργείται ο πολυμορφισμός FokI στο δεύτερο εξόνιο (Ruiz-Ballesteros et al., 2020).

Το γονίδιο του υποδοχέα της βιταμίνης D (VDR) βρίσκεται στο χρωμόσωμα 12q12-q14 (63.49 kb) του ανθρώπινου γονιδιώματος. Το ίδιο το VDR έχει κομμάτια μη μεταγραφικών περιοχών, δηλαδή των εξονίων 1F-1C και 2-9, που κωδικοποιούν την VDR πρωτεΐνη. Ο πιο συχνός και μελετημένος πολυμορφισμός είναι ο rs2228570 (FokI). Ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός έχει ως αποτέλεσμα η VDR να εμφανίζεται με τρία επιπλέον αμινοξέα, αφού εισάγει ένα διαφορετικό κωδικόνιο στην αρχή της μεταγραφόμενης αλυσίδας. Έτσι επηρεάζει την δραστικότητα του υποδοχέα, μειώνοντας την μεταγραφική του ικανότητα. Το αλληλόμορφο T αυτής της μετάλλαξης έχει συνδεθεί έντονα με υψηλά επίπεδα βιταμίνης D σε ασθενείς με αυτισμό και άλλα προβλήματα υγείας. Επιπλέον, δύο γειτονικές μεταλλάξεις που εντοπίζονται μπροστά από το εξόνιο 1A (rs7139166 και rs4516035) είναι συνδεδεμένες με την συγκέντρωση της βιταμίνης στο αίμα και συγκεκριμένα η μετάλλαξη rs7139166-rs4516035 (G-A) είχε αυξημένη δράση υποδοχέα, ενώ η μετάλλαξη rs7139166-rs4516035 (C-G) συνδέεται με μειωμένα επίπεδα 25(OH)D (Bahrami et al., 2018).

Ο FokI (rs2228570), ο οποίος βρίσκεται στο εξόνιο 2, ανακαλύφθηκε με την χρήση του περιοριστικού ενζύμου FokI (*Flavobacterium okeanoikoites*), δημιουργεί έναν μη συνώνυμο πολυμορφισμό με αλλαγή C>T και έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της θρεονίνης με μεθειονίνη. Η παρουσία του αλληλόμορφου FokI C (F αλληλόμορφο), δημιουργεί ένα καινούργιο εναρκτήριο κωδικόνιο ATG, περίπου 9 βάσεις μετά το ήδη υπάρχων κωδικόνιο έναρξης, που μεταφράζεται σε έναν πιο βραχύ VDR υποδοχέα με 424 αμινοξέα, με μεγαλύτερη μεταγραφική ικανότητα από τον κανονικού μήκους VDRA που έχει 427 αμινοξέα (Ruiz-Ballesteros et al., 2020; Sunn et al., 2001).

Ο BsmI (rs1544410) βρίσκεται στο ιντρόνιο 8, προσδιορίστηκε με την χρήση του ενζύμου BsmI (*Bacillus stearothermophilus*) και πρόκειται για μια αλλαγή A>G, που μπορεί να επηρεάζει την σταθερότητα του mRNA και την έκφραση του VDR υποδοχέα, αλλά και να δημιουργεί αλλαγές στο κόψιμο του μετάγραφου. Ο ApaI (rs7975232) εντοπίζεται επίσης στο ιντρόνιο 8, προσδιορίστηκε με το ένζυμο ApaI (*Acetobacter pasteurianus*) και είναι μία αλλαγή A>C, δεν αλλάζει την αλληλουχία των αμινοξέων, αλλά επηρεάζει την σταθερότητα του mRNA και άρα της έκφρασης του VDR. Και οι δύο πολυμορφισμοί εντοπίζονται στο 3' άκρο του VDR και δεν αλλάζουν την αλληλουχία των αμινοξέων αλλά μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση του γονιδίου της VDR (Ruiz-Ballesteros et al., 2020; Triantos et al., 2018).

Τέλος, ο TaqI (rs731236), προσδιορίστηκε με χρήση του ενζύμου TaqI (*Thermus aquaticus*), βρίσκεται στο εξόνιο 9 του VDR γονιδίου και είναι αλλαγή C>T. Η αλλαγή αυτή προκαλεί μία συνώνυμη μετάλλαξη της ισολευκίνης στην κωδική αλληλουχία και έτσι δεν επηρεάζει την πρωτεΐνη αλλά επηρεάζει την σταθερότητα του mRNA (Goswami, 2016).

Η σύνδεση των μεταλλάξεων αυτών συνδέεται έντονα με την κληρονομικότητα. Πιο συγκεκριμένα οι τρεις πρώτες μεταλλάξεις συνυπάρχουν σε ασθένειες όπως η φυματίωση ή η ρευματοειδής αρθρίτιδα, ενώ το σύνολο αυτών των μεταλλάξεων οδηγούν στα μειωμένα επίπεδα βιταμίνης D στο ορό του αίματος (Ruiz-Ballesteros et al., 2020).

Μετά τον σχηματισμό της ενεργής μορφής η βιταμίνη συνδέεται στον υποδοχέα στα κύτταρα στόχους με σκοπό από το κυτταρόπλασμα να εισαχθεί στον πυρήνα και να συνδεθεί με τον RXR για να σχηματίσει το ετεροδιμερές. Στην συνέχεια το ετεροδιμερές θα στοχεύσει στις VDRE (περιοχές του γονιδιώματος που ανταποκρίνονται στην βιταμίνη D) και έτσι στα βοηθητικά Th κύτταρα θα κατασταλεί η ιντερλευκίνη IL-17A ή θα ενεργοποιηθεί η FOXP3 (Ruiz-Ballesteros et al., 2020).

Με PCR του VDR προαγωγού (promoter) που βρίσκεται πριν το εξόνιο 1 α, έγιναν φανεροί δύο πολυμορφισμοί, 1012 και 1521 βάσεις πριν τον προαγωγό, ο οποίο ρυθμίζει την έναρξη της μεταγραφής. Η συγκεκριμένη έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε κορίτσια στην εφηβική ηλικία, έδειξε ότι υπήρχε υψηλή συχνότητα στο ομόζυγο αλληλόμορφο στην θέση 1521 (CC: 18.9%, GG: 21.1%) και στην θέση 1012 (AA: 23.2%, GG: 18.7%). Ως αποτέλεσμα βρέθηκαν δύο βασικοί απλότυποι στα 370 χρωμοσώματα που μελετήθηκαν: 1521G/1012A (στο 50.5% όλων των μελετημένων χρωμοσωμάτων) και 1521C/1012G (στο 47.1%). Έτσι προκύπτουν τρεις γονότυποι στα 177 από τα 185 κορίτσια. Ομόζυγος για το 1521G/1012A (21%), ομόζυγος για το 1521C/1012G (18%) και ετερόζυγος για το 1521CG/1012GA (57%). Υπήρχαν ωστόσο άλλα 8 κορίτσια που παρουσίασαν 1521CG/1012GG, 1521CG/1012AA και 1521CC/1012AA ομόζυγο στον γονότυπό τους. Η έρευνα έδειξε ότι ακόμη και μία αλλαγή βάσης είχε δραματική αλλαγή στην φύση του προαγωγού της VDR και ότι ο απλότυπος του εκάστοτε ατόμου σχετίζεται με την δράση που θα έχει το γονίδιο του προαγωγού της VDR (hVDRp – human Vitamin D receptor, gene promoter) (d'Alésio et al., 2005).

CYP24A1 (Vitamin D 24-υδροξυλάση)

Το γονίδιο CYP24A1 εμφανίζεται στο χρωμόσωμα 20q13.2-q13.3 (20.53 kb) και κωδικοποιεί την 24-υδροξυλάση, που είναι υπεύθυνη για την καταστολή της ενεργούς μορφής της, μέσω

της αποδόμησής της. Οι μεταλλάξεις που παρουσιάζονται είναι η SNP rs17219315, rs2209314 και η rs2762939 (Berry & Hyppönen, 2011; Wjst et al., 2006).

DHCR7 (7-δεϋδρόξυ-χοληστερόλη αναγωγή)

Το γονίδιο της DHCR7 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 11q12-q13 (14.02 kb) και κωδικοποιεί μια αναγωγή η οποία είναι υπεύθυνη για την μετατροπή της 7-DHC σε χοληστερόλη. Το ίδιο υπόστρωμα, δηλαδή η 7-DHC, μετατρέπεται σε προβιταμίνη D₃ μέσω έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία UVB. Μια μετάλλαξη στην αναγωγή μειώνει την δραστηριότητα της και ακολούθως προκαλεί αυξημένη συγκέντρωση του υποστρώματος που δεν μετατράπηκε. Έτσι δημιουργείται το σύνδρομο SLOS (Smith-Lemli-Opitz), (Tint et al., 1994). Οι μεταλλάξεις που έχουν ταυτοποιηθεί είναι οι rs11234027 και rs12785878 (Bahrami et al., 2018; Zhang et al., 2013).

Το γονίδιο DHCR7 εκφράζει ένα ένζυμο που καταλύει την μετατροπή της 7-DHC σε χοληστερόλη, οδηγώντας την 7-δεϋδρόξυχοληστερόλη σε ένα μονοπάτι που δεν μετατρέπεται σε προβιταμίνη D₃, η οποία με την σειρά της θα γινόταν 25(OH)D. Η μετάλλαξη στο γονίδιο 7-DHC, εμποδίζει την μετατροπή σε χοληστερόλη με αποτέλεσμα την συσσώρευση της DHCR7 και την έλλειψη της χοληστερόλης (Berry & Hyppönen, 2011; Wang & Perlman, 2024).

FGF23(Fibroblast growth factor-23)

Ο παράγοντας FGF23 (Fibroblast growth factor-23) είναι μια πρωτεΐνη που ρυθμίζει τον μεταβολισμό της βιταμίνης D και του φωσφόρου. Ρυθμίζει την επαναρρόφηση του φωσφόρου στα νεφρά αυξάνοντας την ποσότητα του στα ούρα (Saito et al., 2003).

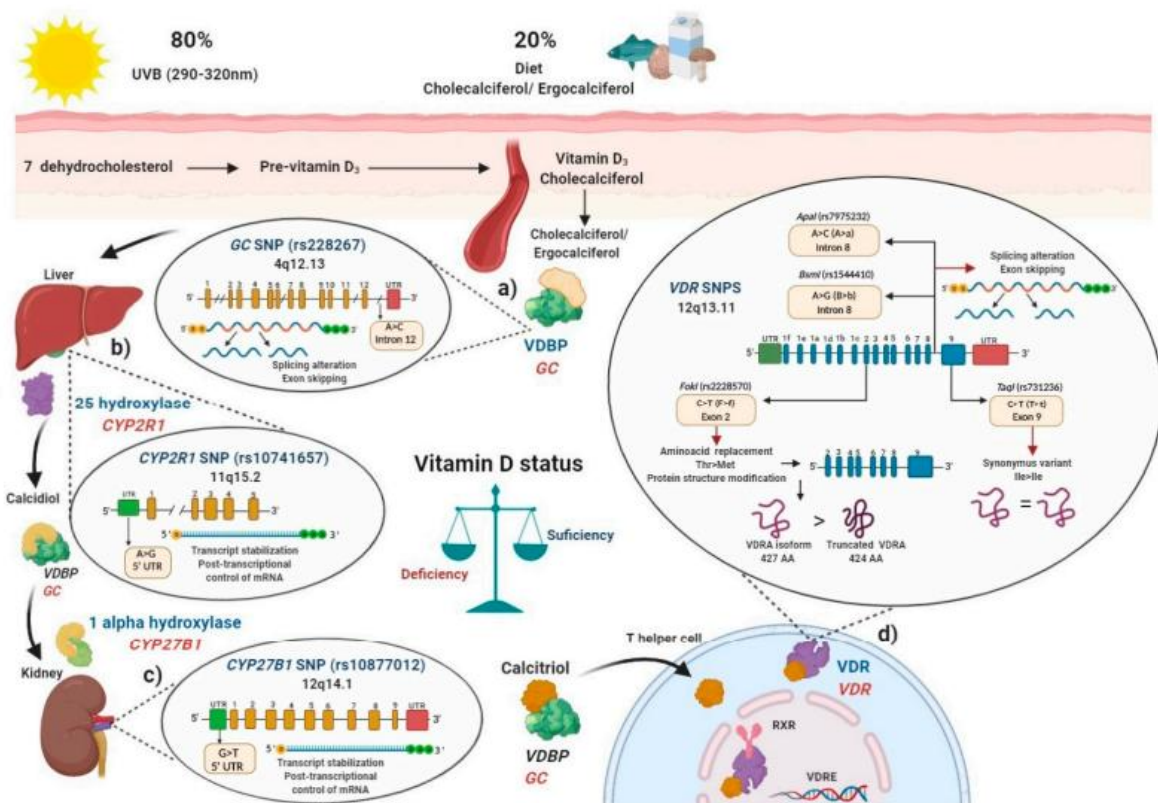
Αυτό επιτυγχάνεται με την αναστολή του γονιδίου CYP27B1 και άρα την παύση και απενεργοποίηση της 1,25(OH)₂D μορφής. Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν εντοπίστηκαν τουλάχιστον εννιά μεταλλάξεις του γονιδίου, μεταξύ άλλων οι πιο συχνές είναι οι: rs3832879, rs7955866 και rs11063112 (Pekkinen et al., 2015).

RXR (retinoid X receptor)

Μετά την μεταφορά της ενεργής μορφής (καλσιτριόλης) στον πυρήνα, σχηματίζεται ετεροδιμερές του VDR και τον υποδοχέα X ρετινοειδών, RXR (retinoid X receptor) και στην συνέχεια στοχεύει σε συγκεκριμένες περιοχές του DNA που ονομάζονται VDREs (vitamin D response elements) (Ruiz-Ballesteros et al., 2020).

Οι ρετινοειδείς υποδοχείς, όπως οι ρενιοειδείς υποδοχείς οξέος (RARs) και οι ρετινοειδείς X υποδοχείς (RXRs) ανήκουν στην οικογένεια των πυρηνικών ορμονικών υποδοχέων. Υπάρχουν τρεις ισομορφές του RXR: α, β και γ. Το 9-cis ρετονοϊκό οξύ είναι ο κύριος συνδέτης του RXR, του οποίου η σύνδεση προκαλεί αλλαγές στην διαμόρφωση του RXR και έτσι επιτρέπεται η σύνδεσή του μέσω ομοδιμερών ή ετεροδιμερών με διάφορους υποδοχείς. Η σύνδεση της ενεργούς μορφής της βιταμίνης D στον VDR υποδοχέα προκαλεί αλλοστερικές αλλαγές στον υποδοχέα RXR, οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα την διευκόλυνση της αλληλεπίδρασης με τους υπόλοιπους ρυθμιστές της βιταμίνης. Αυτοί είναι συνήθως γονίδια στα οποία θα στοχεύει το ετεροδιμερές και οι δράσεις τους ποικίλουν, με μια από τις βασικότερες να είναι η ρύθμιση των επιπέδων της βιταμίνης D (Hibler et al., 2010).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2010 σε 415 άτομα φάνηκε πως η γενετική ποικιλομορφία του VDR δεν σχετίζεται άμεσα με τα επίπεδα της 25(OH)D ή της 1,25(OH)₂D και η γενετική ποικιλομορφία του RXRA δεν σχετίζεται επίσης άμεσα με τις συγκεντρώσεις της ανενεργούς μορφής, ενώ σχετίζεται σημαντικά με εκείνες της ενεργούς μορφής 1,25(OH)₂D. Συν τις άλλους έγινε εμφανές ότι ο πολυμορφισμός rs9409929 ήταν έντονα συνδεδεμένος με τα επίπεδα της ενεργούς μορφής. Μάλιστα παρατηρήθηκε μια σημαντική



Εικόνα 1-3: Πολυμορφισμοί Βιταμίνης D (Ruiz-Ballesteros et al., 2020)

τάση για αύξηση όσο αυξάνονταν τα αντίγραφα του αλληλόμορφου A του πολυμορφισμού SNP rs9409929 (Hibler et al., 2010).

1.2. COVID-19

1.2.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η COVID-19 είναι μια πολύ μεταδοτική μολυσματική ασθένεια που προέρχεται από την οικογένεια των κορονοϊών. Το αρχικό βασίλειο από το οποίο προέρχεται είναι το nidorivales, και ανήκει στην οικογένεια coronaviridae, στην συνέχεια στην οικογένεια ortocoronavirinae και τέλος στο γένος betacoronavirus. Τα πρώτα κρούσματα του ιού εμφανίστηκαν στην πόλη της Κίνας, Γουχάν (Wuhan) τον Δεκέμβριο του 2019 και συνδέθηκαν έντονα με τις επονομαζόμενες «υγρές αγορές» της πόλης. Η μόλυνση πολύ σύντομα μεταδόθηκε σε 216 χώρες, με αποτέλεσμα ο παγκόσμιος οργανισμός υγείας (World Health Organization – WHO) να κηρύξει τον ιό επιδημία τον Ιανουάριο του 2020 και στην συνέχεια να τον αναγνωρίσει επίσημα ως πανδημία τον Μάρτιο το 2020. Έως τον Δεκέμβριο του 2020, έχουν καταγραφεί περισσότερα από 80.500.000 κρούσματα παγκοσμίως, με τα περίπου 1.700.000 να σχετίζονται με θανάτους. Με το ξέσπασμα της πανδημίας όλες οι κυβερνητικές επικράτειες πήραν τα ανάλογα μέτρα για την μείωση της μετάδοσης του ιού, παρόλα αυτά οι περισσότερες χώρες και πολιτείες του κόσμου πέρασαν δεύτερο και ίσως τρίτο κύμα έξαρσης του ιού έως και σήμερα. Η COVID-19 θεωρείται ζωνοσογόνος νόσος. Φαίνεται να ξεκίνησε από τις νυχτερίδες, στην συνέχεια να μεταδόθηκε στους παγκολίνους και από εκεί να πέρασε το φράγμα των ειδών και να έφτασε μέχρι τον άνθρωπο. Η μετάδοσή της σήμερα έχει ρυθμό αναπαραγωγής, R_0 , 2.2, δηλαδή είναι εύκολο να μεταδοθεί από οργανισμό σε οργανισμό όπως η εποχιακή γρίπη και το κοινό κρυολόγημα (Rahman et al., 2021).

Επτά κορονοϊοί έχουν περάσει το φράγμα των ειδών μέχρι στιγμής με τους κυριότερους να είναι ο SARS-CoV που προήλθε από νυχτερίδες και πρωτοεμφανίστηκε στην Κίνα το 2002 και διαδόθηκε το 2003 με ποσοστό θνησιμότητας 10%. Ο MERS-CoV που προήλθε από καμήλες, αναφέρθηκε για πρώτη φορά στην Σαουδική Αραβία τον Ιούνιο του 2012 και εξαπλώθηκε σταδιακά σε 27 χώρες και τέλος ο SARS-CoV-2 (Kumar & Khodor., 2020).

Η σοβαρότητα των περιστατικών ποικίλει στην ασθένεια COVID-19. Υπάρχουν ασθενείς εντελώς ασυμπτωματικοί, ασθενείς ελαφρά συμπτωματικοί και άλλοι που νοσηλεύονται μέχρι και σε μονάδες εντατικής θεραπείας για μήνες. Το 80% των ασθενών είναι ήπια περιστατικά και παραμένουν στο σπίτι, ενώ περίπου το 15% εμφανίζει έντονη δύσπνοια, υποξαιμία, αλλαγή στην εικόνα των πνευμόνων και το 5% είναι σε κρίσιμες συνθήκες με οξεία λοίμωξη του ανώτερου αναπνευστικού (ARDS – acute respiratory distress syndrome), σοκ ή και πολυοργανική ανεπάρκεια. Τα παιδιά είναι συνήθως ασυμπτωματικά ή έχουν ελαφρά

συμπτώματα όπως βήχα και πυρετό. Οι άντρες και οι γυναίκες έχουν την ίδια πιθανότητα να νοσήσουν, ωστόσο περισσότερο οι άντρες παρουσιάζουν βαριές λοιμώξεις. Τα ποσοστά θανάτων αυξάνονται κυρίως σε ασθενείς άνω των 80ετών και συνδέονται επίσης με υποκείμενα νοσήματα όπως ο διαβήτης, οι καρδιοπάθειες, οι νεφρικές ανεπάρκειες ή οι χρόνιες πνευμονοπάθειες (Kumar & Al Khodor, 2020; Rahman et al., 2021).

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η άμεση διάγνωση του ιού ήταν μείζονος σημασίας στο ξέσπασμα της πανδημίας. Ο στόχος ήταν η εύκολη και γρήγορη διαπίστωση θετικών κρουσμάτων και η απομόνωσή τους ώστε η εξάπλωση να γίνει όσο το δυνατόν πιο σταδιακά στο σύνολο του πληθυσμού. Η ανίχνευση του ιού γίνεται είτε με μοριακό έλεγχο είτε με εντοπισμό αντιγόνου και αντισωμάτων. Ο μοριακός έλεγχος πραγματοποιείται με αντίδραση αντίστροφης μεταγραφάσης πραγματικού χρόνου, RT-qPCR (real time quantitative PCR), που στοχεύει διάφορα γονίδια όπως το γονίδιο της πρωτεΐνης του νουκλεοκαψιδίου N, του φακέλου ή της ακίδας του ιού (αναλύονται παρακάτω), όπως επίσης και τις περιοχές ανάγνωσης ORF1b και ORF8. Η ανίχνευση αντισωμάτων είναι μια μέθοδος πιο εύκολη, ταχύτερη και δεν απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό. Αρχή της μεθόδου είναι ο εντοπισμός των αντισωμάτων IgM και IgG του ιού ή του ιικού αντιγόνου. Στην πορεία της εξάπλωσης ο εντοπισμός των αντισωμάτων έγινε ακόμη πιο εύκολος και μπορεί να πραγματοποιηθεί και από τον ίδιο τον ασθενή με τις κατάλληλες οδηγίες. Τα επανομαζόμενα «rapid test» (γρήγορος έλεγχος), έγιναν ο σημαντικότερος σύμμαχος κατά της πανδημίας γιατί προσέφεραν την ευκαιρία για οικιακό έλεγχο και βασίζονται στον εντοπισμό αντιγόνων όπως η πρωτεΐνη της ακίδας S. Αναπτύχθηκαν φυσικά και άλλες διαγνωστικές στρατηγικές όπως η ELISA, η RT-LAMP και η αξονική τομογραφία στα πρώιμα στάδια της πανδημίας, οι οποίες όμως δεν χρησιμοποιήθηκαν ευρέως στην πορεία (Rahman et al., 2021; Rai et al., 2021).

ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

Τα περισσότερα συμπτώματα των κορονοϊών συμπίπτουν με εκείνα της γρίπης και του κοινού κρυολογήματος. Κατά κύριο λόγο προκαλούν ιογενή λοίμωξη του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος (viral upper respiratory tract infection – UTRI). Οι ασθενείς παρουσιάζουν συνήθως πυρετό, βήχα, έντονη κόπωση και δύσπνοια, ενώ σπανιότερα προκύπτουν και γαστρεντερικά συμπτώματα όπως η διάρροια και ο εμετός (Kumar & Al Khodor, 2020; Rahman et al., 2021).

Η COVID-19 μετράει πλέον πάνω από μισό δισεκατομμύριο καταγεγραμμένα κρούσματα παγκοσμίως. Στην πλειοψηφία των ασθενών η λοίμωξη ήταν ελαφριά με συμπτώματα όπως βήχας, πυρετός, ρινική καταρροή, απώλεια γεύσης και όσφρησης, πόνο στους μύες και τα κόκκαλα, πονόλαιμο, πονοκέφαλο και σπανιότερα εντερικά προβλήματα και κοιλιακά άλγη (Q. Li et al., 2022).

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

Η μετάδοση ενός ιού εκφράζεται με τον δείκτη R_0 (ρυθμός αναπαραγωγής). Οι ιοί που παρουσιάζουν R_0 μεγαλύτερο του 1 κρίνονται ως ιδιαίτερα μεταδοτικοί από άνθρωπο σε άνθρωπο. Ο COVID-19 έχει R_0 από 1.4 έως 2.4. Οι κύριοι οδοί μετάδοσης είναι τα σταγονίδια, οι αναπνευστικές εκκρίσεις καθώς και η άμεση επαφή. Ο ιός μπορεί να βρίσκεται ήδη στο σώμα πριν ο ασθενής εμφανίσει συμπτώματα, και επομένως η ανίχνευσή του είναι ακόμη δυσκολότερη. Οι ασυμπτωματικοί ασθενείς μεταδίδουν την νόσο πριν εκείνη γίνει αντιληπτή καθώς ο χρόνος επώασής της είναι από 1 έως και 14 ημέρες (Kumar & Al Khodor, 2020; Rahman et al., 2021).

1.2.2. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Ο SARS-CoV-2 δεν είναι ο πρώτος κορονοϊός που ανιχνεύτηκε στον άνθρωπο. Υπάρχουν 4 είδη κορονοϊών: α, β, γ και δ. Ο πρώτος εξ αυτών εντοπίστηκε στα μέσα της δεκαετίας του 1960. Τα τρία πιο διαδεδομένα είδη είναι: ο SARS-CoV-2 (που προκαλεί στον COVID-19), ο SARS-CoV (β-κορονοϊός που προκαλεί οξεία λοίμωξη του αναπνευστικού) και ο MERS-CoV (β-κορονοϊός που προκαλεί το αναπνευστικό σύνδρομο της Μέσης Ανατολής) (Kumar & Al Khodor, 2020; Rahman et al., 2021).

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΙΟΥ

Ο ιός του COVID-19 είναι ένας RNA ιός με μονόκλωνο θετικό ssRNA⁺ (single-stranded, positive-sense). Περιλαμβάνει στο γονιδίωμά του τέσσερις πρωτεΐνες: S (spike), E (envelope), M (membrane) και N (nucleocapsid). Η S αποτελεί την ακίδα, η E τον φάκελο, η M την μεμβράνη και η N το νουκλεοκαψίδιο που κρατά το RNA. Το χαρακτηριστικό όνομά τους προέρχεται από την πρωτεΐνη S, που βρίσκεται μεμβρανικά και δίνει το σχήμα της κορώνας. Η πρωτεΐνη N μαζί με το ssRNA⁺ δημιουργούν ένα ελικοειδές νουκλεοκαψίδιο και ο λιπιδικός φάκελος E τα συγκρατεί. Η πρωτεΐνη N παίζει βασικό ρόλο στην αναπαραγωγή του ιού. Εκτός

του λιπιδικού φακέλου, οι κορονοϊοί έχουν μια μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη στην εξωτερική μεμβράνη τους, την S πρωτεΐνη. Υπάρχει ένα καρβοξυλικό άκρο στην πρωτεΐνη S (C-terminal domain), μέσω του οποίου η ακίδα μπορεί να έρθει σε επαφή με την N πρωτεΐνη (Kumar & Al Khodor, 2020; Rahman et al., 2021).

Η πρωτεΐνη ακίδας S που περιέχουν στην εξωτερική τους μεμβράνη είναι υπεύθυνη τόσο για την επίθεση στον ξενιστή όσο και για την σύντηξη των δύο κυττάρων και γι' αυτό τον λόγο είναι έντονα γλυκοζυλιωμένη. Πρόκειται για μια τριμερή πρωτεΐνη, αποτελούμενη από 3 παρόμοιες αλληλουχίες αμινοξέων, που όμως δεν έχουν ίδια τριτοταγή δομή, μπλεγμένες μεταξύ τους, και η καθεμία ονομάζεται επαγωγός (promoter). Η κάθε αλυσίδα έχει περίπου 180 kDa βάρος και αποτελείται από τις διακριτές υπομονάδες S1 και S2. Το τμήμα S1 αποτελείται από δύο ανεξάρτητες περιοχές: την NTD (N-terminal domain) και την CTD (C-terminal domain), πάνω στις οποίες υπάρχει το τμήμα δέσμευσης RBD (receptor-binding domain). Το τμήμα RBD της S πρωτεΐνης είναι αυτό που συνήθως ποικίλλει από ιό σε ιό, καθώς και αυτό που δέχεται τις περισσότερες μεταλλάξεις. Η S συνδέεται με τον ξενιστή αρχικά μέσω της RBD που βρίσκεται στο τμήμα της S1. Στην συνέχεια το τμήμα S2 βοηθάει στην σύντηξη του ιού με το κύτταρο του ξενιστή (Kumar & Al Khodor, 2020; Rahman et al., 2021).

Οι πρωτεάσες είναι απαραίτητα ένζυμα για την είσοδο του ιού στα κύτταρα του αναπνευστικού. Οι περισσότερες έρευνες σχετικά με την είσοδο του ιού στα κύτταρα του αναπνευστικού έχουν βασιστεί στην σύγκρισή του με τον προηγούμενο κορονοϊό που εμφανίστηκε το 2002, τον SARS-CoV. Δεδομένου ότι το γονιδίωμά τους δεν απέχει τρομερά, και έχουν ένα σύνολο κοινών περιοχών, είναι εύλογο η σύνδεσή τους στα κύτταρα να είναι πανομοιότυπη. Ο SARS-CoV-2, όπως και ο SARS-CoV, χρησιμοποιεί πρωτεάσες TMPRSS2 (transmembrane protease, serine 2), αφού πρώτα η φουρίνη διασπάσει προτεολυτικά στην θέση S1/S2 στα κύτταρα στόχους (Hoffmann et al., 2020).

Για να πραγματοποιηθεί η σύντηξη των δύο κυττάρων και έτσι να ολοκληρωθεί η επίθεση στον ξενιστή, ο ιός χρησιμοποιεί πρωτεάσες του ξενιστή. Έτσι προστίθενται σάκχαρα ομοιοπολικά στις πλευρικές αλυσίδες της ασπαραγίνης, δίπλα στην επιφάνεια της S πρωτεΐνης. Η πρωτεΐνη S διασπάται και πραγματοποιείται το πρώτο βήμα για την επίθεση στον ξενιστή. Η διαδικασία της επεξεργασίας με πρωτεάσες είναι ουσιώδης καθώς επιτρέπει να αποκαλυφθούν οι ακολουθίες που είναι υπεύθυνη για την σύντηξη. Η αφθονία των πρωτεασών αποτελεί καθοριστικό παράγοντα επιλογής του τρόπου με τον οποίο ο ιός θα εισέλθει στο κύτταρο ξενιστή (από την σύντηξη των κυττάρων ή με ενδοκύττωση). Ανάλογα το είδος του κορονοϊού, διαφέρουν και οι πρωτεάσες που θα επέμβουν (Rahman et al., 2021).

Η διάσπαση της S πρωτεΐνης πραγματοποιείται γενικά από την ένα ένζυμο που ονομάζεται φουρίνη. Στόχος της είναι η θέση διάσπασης S1/S2 ενώ ταυτόχρονα η θέση RBD της υπομονάδας S1 συνδέεται με το ένζυμο μετατροπής αγγειτανσίνης II (angiotensin-converting enzyme 2 – ACE2) (Kumar & Al Khodor, 2020; Q. Wang et al., 2020).

Η παρουσία φουρίνης στο αναπνευστικό σύστημα, είναι αυτή που εκμεταλλεύονται οι ιοί για να ενεργοποιήσουν τις γλυκοπρωτεΐνες τους και να επιτεθούν. Η σύνδεση αυτή και η διαθεσιμότητα της φουρίνης καθορίζει την μεταδοτικότητα ενός ιού και ποικίλει ανάλογα την αλληλουχία του. Παραδείγματος χάριν ο ιός SARS-CoV που ταυτοποιήθηκε το 2003, δεν παρουσίαζε τόσο καλή αλληλεπίδραση με το ACE2, όσο ο SARS-CoV-2 (Kumar & Al Khodor, 2020; Lan et al., 2020).

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΛΟΙΜΩΣΗΣ

Όπως αναφέρθηκε για να μπορέσει ο ιός να εισέλθει στο κύτταρο πρέπει η πρωτεΐνη ακίδας να συνδεθεί με τον υποδοχέα ACE2. Οι Lan et al., μελέτησαν εκτενώς την αλληλεπίδραση του RBD με τον ACE2 με την μέθοδο κρυσταλλογραφίας ακτίνων X, εκφράζοντας RBD (υπολείμματα Arg319-Phe541) και την πεπτιδάση τερματικής περιοχής N (N-terminal peptidase) του ACE2. Η περιοχή RBD έχει μια τριτοταγή δομή περιστραμένου πενταμερούς αντιπαράλληλου β' φύλλου με έλικες και βρόχους ($\beta 1, \beta 2, \beta 3, \beta 4, \beta 7$). Τα μονομερή είναι μπλεγμένα το ένα εντός του άλλου και αποτελούν τον πυρήνα της RBD. Οι αλυσίδες $\beta 4$ και $\beta 7$ περιέχουν τις πιο βραχείς αλυσίδες $\beta 5$ και $\beta 6$ ανάμεσά τους καθώς επίσης και τις $\alpha 4$ και $\alpha 5$ έλικες. Το τμήμα αυτό ονομάζεται RBM, και είναι εκείνο με την περισσότερη συγγένεια ως προς το ACE2. Συν τις άλλους υπάρχουν εννέα κυστεΐνες στον RBM, εκ των οποίων οι οκτώ σχηματίζουν τέσσερα ζευγάρια ενωμένα με δισουλφιδικούς δεσμούς. Η σταθεροποίηση της δομής β' φύλου επιτυγχάνεται εξαιτίας τριών ζευγαριών κυστεΐνης. Το τέταρτο ζεύγος κυστεϊνών είναι υπεύθυνο για την ένωση του βρόχου στην επάνω πλευρά του RBM (Lan et al., 2020).

Το N-άκρο του ACE2 αποτελείται από δύο λοβούς. Το τμήμα RBM του SARS-CoV-2 ενώνεται με την κάτω πλευρά του λοβού του ACE2, και συγκεκριμένα με μια κοίλη περιοχή που αποτελεί το N-τελικό άκρο του. Με την ένωση των δύο περιοχών αποκαλύπτονται τμήματα τόσο του RBD όσο και του ACE2, με αποτέλεσμα περίπου 17 κατάλοιπα του RBD και 20 κατάλοιπα του ACE2 να έρχονται σε επαφή. Δημιουργούνται 13 δεσμοί υδρογόνου και 2 γέφυρες άλατος στην διεπιφάνεια RBD-ACE2 (Lan et al., 2020; Theodorakopoulou et al., 2022).

1.2.3. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ

❖ ΕΜΦΥΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Στους περισσότερους ασθενείς η λοίμωξη προκαλεί την διέγερση του έμφυτου αμυντικού συστήματος και ο ιός αντιμετωπίζεται άμεσα χωρίς να προκαλέσει περαιτέρω επιπλοκές. Το έμφυτο αμυντικό σύστημα ενεργοποιείται με την εισαγωγή του ιού στο σώμα. Περιλαμβάνει μεταξύ άλλων το μονοπάτι IFN (ιντερφερονών) που ξεκινά με την αναγνώριση του ιϊκού παθογόνου από ειδικούς υποδοχείς. Οι υποδοχείς των πλασμοκυτοειδών δενδριτικών κυττάρων TLR7 (toll-like receptor 7), και των συμβατικών δενδριτικών κυττάρων TLR8 (toll-like receptor 8), ενεργοποιούν την σύνθεση του IFN και την ανεξέλεγκτη φλεγμονή. Επιπλέον ο ιός αναγνωρίζεται και από υποδοχείς στα κυτοσόλια, RIG-I (retinoic acid inducible gene I), που ενεργοποιούνται από το ρετινοϊκό οξύ (Q. Li et al., 2022).

Τα υψηλά επίπεδα υποδοχέων ACE2 είναι ο κύριος παράγοντας μετάδοσης και αναπαραγωγής του ιού στον οργανισμό. Τα προφλεγμονώδη μακροφάγα είναι ο κύριος τύπος κυττάρων του ανοσοποιητικού που εκφράζουν αυτό το είδος των υποδοχέων και μόλις ο SARS-CoV-2 εισέλθει, αυτά τα κύτταρα απελευθερώνουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες και χημειοκίνες για να στρατολογηθούν τα T λεμφοκύτταρα. Στην συνέχεια τα T λεμφοκύτταρα παράγουν IFN-γ και επιπλέον κυτοκίνες και οδηγούν σε ένα σηματοδοτικό μονοπάτι περαιτέρω ενεργοποίησης των μακροφάγων. Ως αποτέλεσμα αυξάνεται σε μεγάλο ποσοστό η φλεγμονώδης απόκριση. Δεδομένου ότι με την γήρανση και ορισμένα υποκείμενα νοσήματα τα φλεγμονώδη φαγοκύτταρα αυξάνονται, είναι εύλογο ο ιός να έχει μεγαλύτερα ποσοστά θνησιμότητας σε προχωρημένες ηλικίες ή σε ανθρώπους με χρόνιες φλεγμονώδους νόσους.

Είναι γεγονός ότι η απόκριση ασθενών διαφέρει ανάλογα με την σοβαρότητα της νόσησης. Σε περιστατικά βαριάς νόσησης τόσο τα κοκκιοκύτταρα όσο και τα μονοκύτταρα αυξάνονται και μεταβάλλονται σε πολύ σημαντικό βαθμό, ενώ οι ήπιες περιπτώσεις έδειξαν υψηλά επίπεδα τακτικής φλεγμονώδους απόκρισης με υψηλά επίπεδα HLA-DR (human leukocyte antigen-DR) και έκφραση του CD11c. Σε σοβαρή νόσο αυξάνεται η έκφραση των αλαρμινών και του CD163 ενώ τα κύρια μόρια του συμπλέγματος MHC είναι μειωμένα και ενεργοποιείται ο σχηματισμός των εξωκυτταρικών παγίδων ουδετερόφιλων (NET) (Q. Li et al., 2022).

Ένα από τα κυριότερα προβλήματα της λοίμωξης COVID-19 και από τις κύριες αιτίες θνησιμότητας, είναι το σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (acute respiratory distress syndrome – ARDS). Σε αυτές τις περιπτώσεις συσσωρεύονται μακροφάγα, από μονοκύτταρα

που διαφοροποιήθηκαν και εκφράζουν τον CD163, τα οποία αποκτούν προϊβρωτικό μεταγραφικό φαινότυπο. Ο προϊβρωτικός μεταγραφικός φαινότυπος είναι ένα πρότυπο έκφρασης γονιδίων που συμβάλλει στην παραγωγή και την συσσώρευση ECM (εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας), και έχει ως αποτέλεσμα την σκλήρυνση των ιστών. Η συνολική κλινική εικόνα των μακροφάγων προσομοιάζει αυτή της πνευμονικής ίνωσης.

Άλλα έμφυτα κύτταρα όπως τα NK (natural killers) εκφράζονται σε μεγαλύτερο βαθμό από γονίδια που διεγείρονται από τον IFN σε σοβαρά περιστατικά, ενώ σε ήπια παρατηρούνται γονίδια που προκαλούνται από τον TNF (παράγοντας νέκρωσης όγκου). Επιπρόσθετα ο ιός ενεργοποιεί την λειτουργία και μερικών ακόμη T λεμφοκυττάρων όπως τα CD16+. Αυτά επίσης φαίνεται να αυξάνονται σε σοβαρή νόσο και βρίσκονται στα διαμερίσματα CD4,CD8 (Q. Li et al., 2022).

Το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα ενεργοποιείται όταν ο ιός μπει στο σώμα. Για να ανταποκριθεί ενεργοποιεί την παραγωγή ιντερφερόνης IFN και την έκφραση κυτοκινών και χημειοκινών. Τα δενδριτικά κύτταρα μπορούν είτε άμεσα να μολυνθούν είτε καταπίνοντας ιικά υπολείμματα μολυσμένων κυττάρων και στην συνέχεια να μεταφερθούν σε λεμφοειδή όργανα. Εκεί προκαλούν αποκρίσεις της προσαρμοστικής ανοσίας και δημιουργούν προστατευτική ανοσολογική μνήμη. Τα κύτταρα CD4 εγείρουν την παραγωγή κυτοκινών μέσω κυττάρων όπως τα Th1 (T helpers1). Έτσι περιορίζεται η αντιγραφή του ιού και διευκολύνεται η διαφοροποίηση των CD8 κυττάρων. Επιπλέον τα CD4 κύτταρα διαφοροποιούνται σε βοηθητικά T θυλακικά κύτταρα (Tfh – T follicular helper cells) που βοηθούν στην ισοτυπική αλλαγή αντισωμάτων και την ανάπτυξη πλασματοκυττάρων και κυττάρων μνήμης, που παράγουν αντισώματα υψηλής συγγένειας. Τα CD8 T κύτταρα παράγουν κυτοκίνες για να σταματήσουν την αντιγραφή του ιού και να καταστρέψουν άμεσα τα μολυσμένα κύτταρα. Συμπερασματικά προκύπτει ότι η ανοσοαπόκριση είναι μια συνεργασία μεταξύ έμφυτου και προσαρμοστικού αμυντικού συστήματος (Y. Wang & Perlman, 2024).

❖ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ

Μετά από μόλυνση με SARS-CoV-2 τα IgD και IgM είναι οι πρώτοι τύποι αντισωμάτων που παράγονται. Η ύπαρξη αντισωμάτων στον οργανισμό δείχνει είτε ότι ο ιός είναι ενεργός είτε ότι ο ασθενής νόσησε πρόσφατα και πλέον ξεκίνησε η ειδική ανοσοαπόκριση. Ο οργανισμός ξεκινά να παράγει αντισώματα περίπου στην έβδομη ημέρα μετά την μόλυνση. Υπάρχουν πολλών τύπων αντισώματα που συμμετέχουν στην αντιμετώπιση ενός ιού και αποτελούν μέρος της προσαρμοστικής ανοσίας. Τα IgG αντισώματα εμφανίζονται συνήθως αργότερα γιατί

απαιτούν χρόνο για να αναπτύξουν την κατάλληλη συγγένεια ώστε να μπορούν να συνδεθούν με το αντιγόνο μέσω μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων. Έτσι αποκτούν μεγαλύτερη δυνατότητα εξουδετέρωσης των παθογόνων και θανάτωσης μολυσμένων κυττάρων μέσω της κυτταροτοξικότητας (ADCC – antibody-dependent cellular cytotoxicity). Τα IgG αντισώματα έχουν μεγάλο χρόνο ημιζωής στον ορό και σχετίζονται με την μνήμη των B κυττάρων. Συγκεκριμένα τα αντισώματα για της νόσου COVID-19 αναπτύσσονται περίπου 14 ημέρες μετά την μόλυνση του οργανισμού (Q. Li et al., 2022).

Επιπλέον αντισώματα που συμβάλλουν στην καταπολέμηση της νόσου είναι και τα IgA τα οποία παράγονται μετά τα IgM και είναι η κύρια κατηγορία αντισωμάτων του βλεννογόνου. Τα αντισώματα IgA έχουν την δυνατότητα να δημιουργούν διμερή ώστε να αυξήσουν την συγγένεια και εκκρίνονται στην αναπνευστική οδό αυξάνοντας την ανοσία του βλεννογόνου. Τα αντισώματα αυτού του τύπου μειώνονται περίπου 3 μήνες μετά από ήπια νόσηση. Η ειδική ανοσία προέρχεται από τα T κύτταρα, τα οποία κυκλοφορούν στο αίμα μέχρι να συναντήσουν το ειδικό πεπτίδιο αντιγόνου. Για να ενεργοποιηθούν πρέπει το σύμπλεγμα MHC να τους παρουσιάσει το αντιγόνο. Τα πεπτίδια της COVID-19 έχουν υψηλή συγγένεια με τον MHC και άρα ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των T κυττάρων ενεργοποιείται. Το MHC – I παρουσιάζει πεπτίδια ενδογενούς αντιγόνου που ενεργοποιούν τα CD8+ T κύτταρα και το MHC – II παρουσιάζει πεπτίδια εξωγενούς αντιγόνου που ενεργοποιούν τα CD4+ T κύτταρα. Τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα δενδριτικά εκφράζουν τον υποδοχέα ACE2 που επιτρέπει την είσοδο του ιού στο σώμα και έτσι ενεργοποιούνται τα T κύτταρα. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι λοιμώξεις δεν προκαλούν έντονη φλεγμονώδη απόκριση. Η IL-6 είναι μη ανιχνεύσιμη και άλλες κυτοκίνες όπως η IL-1 είναι πολύ χαμηλές (Li et al., 2022).

Οι ασθενείς με βαριά νόσηση COVID-19 έχουν μειωμένα λεμφοκύτταρα (λεμφοπενία). Αυτό προκαλείται από ενισχυμένο αυτόνομο θάνατο των κυττάρων (απόπτωση) και από αυξημένα επίπεδα των TNF – α και IFN – γ, φαινόμενο που ονομάζεται καταιγίδα κυτοκινών. Ένας άλλος λόγος μειωμένων λεμφοκυττάρων είναι ο σχηματισμός συγκυτίων. Οι συγκυτίες αποτελούν μεγάλα πολυπύρρηνα κύτταρα που σχηματίζονται όταν πολλά κύτταρα συγχωνεύονται. Η πρωτεΐνη S του ιού προκαλεί συγχώνευση μολυσματικών κυττάρων με τα διπλανά τους. Αυτά τα πολυπύρρηνα κύτταρα θανατώνουν τα CD8+ λεμφοκύτταρα. Έτσι τα T κύτταρα μειώνονται και επιδεινώνεται η βλάβη των ιστών. Τα T κύτταρα παρουσιάζουν παρατεταμένη μνήμη και αντιδρούν σε τουλάχιστον υποπεριοχές πρωτεϊνών του ιού. Είναι εξαιρετικά σημαντικό η λεμφοπενία να αντιμετωπιστεί τόσο για τον περιορισμό της

παθογένειας κατά την μόλυνση όσο και για την αποφυγή των μακροπρόθεσμων επακόλουθων (Li et al., 2022).

1.2.4. ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗΣ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ

Το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκινών CRS (Cytokine release syndrome) είναι γνωστό και ως καταιγίδα κυτοκινών. Χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα κυτοκινών και αυξημένη ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού. Το έναυσμα του συνδρόμου μπορεί να είναι παθογόνοι μικροοργανισμοί, καρκίνοι, αυτοάνοσα νοσήματα ή ακόμη και θεραπευτικές στρατηγικές που βασίζονται σε T κύτταρα. Δεν υπάρχουν ωστόσο συγκεκριμένες κυτοκίνες που προκαλούν το σύνδρομο, αφού οι ίδιες κυτοκίνες που βοηθούν στην αντιμετώπιση μιας μόλυνσης μπορούν να είναι επιβλαβής σε αυξημένες ποσότητες. Είναι γεγονός όμως ότι οι κυτοκίνες που ενεργοποιούνται είναι διαφορετικές από εκείνες της κοινής γρίπης.

Όλοι οι κορονοϊοί μπλοκάρουν το μονοπάτι IFN-I. Ρυθμίζουν αυξητικά αρκετές προφλεγμονώδεις κυτοκίνες και χημειοκίνες όπως: την ιντερλευκίνη (IL)-1β, την IL-6, τον παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF), τον συνδέτη CCL20, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL2 και CXCL16 (Jiang et al., 2022; Y. Wang & Perlman, 2024; Zanza et al., 2022).

Για να αντιμετωπιστεί ο ιός είναι σημαντική η έναρξη απόκρισης του μονοπατιού IFN-I, που εκφράζεται μετά την αναγνώριση του ιικού RNA ή άλλων μορίων από υποδοχείς τύπου Toll, ενδοκυτταρικούς RIG-I (retinoic acid – inducible gene I) και MDA5 (melanoma differentiation – associated protein 5). Μόλις ο IFN-I παραχθεί και απελευθερωθεί από ένα μολυσμένο κύτταρο συνδέεται με τον υποδοχέα IFN-α ή IFN-β για να ξεκινήσει ένα μακροσκελές μονοπάτι σηματοδότησης. Το μονοπάτι αυτό έχει ως στόχο να ενεργοποιήσει ένα πλήθος κυττάρων υπεύθυνων για την αντιμετώπιση του ιού όπως π.χ. τα μακροφάγα. Όσον αφορά την εξέλιξη του SARS-CoV-2, το μονοπάτι IFN-I είναι ενεργοποιημένο σε ασθενείς με ελαφρά νόσο, απενεργοποιημένο σε εκείνους με βαριά νόσηση και πιο σπάνια υπερβολικά ενεργοποιημένο σε ορισμένους με βαριά νόσηση. Τα γενικότερα συμπεράσματα ωστόσο είναι ότι στα σοβαρά περιστατικά το μονοπάτι αργεί να αποκριθεί. Γι' αυτόν τον λόγο παραμένει σημαντικό να χορηγείται η IFN-I στα πρώιμα στάδια ώστε να αποφεύγεται η σοβαρή έκβαση. Αντιθέτως δεν είναι ευεργετική όταν χορηγείται σε μετέπειτα στάδια, γεγονός που καθιστά σαφές ότι η αποτελεσματικότητα του μονοπατιού IFN-I συνδέεται με τον σωστό χρόνο ενεργοποίησης (Jiang et al., 2022; Y. Wang & Perlman, 2024; Zanza et al., 2022).

Ο ρόλος της IFN-II (IFN- γ) δεν είναι τόσο ξεκάθαρος. Εκφράζεται από φυσικά φονικά κύτταρα (natural killers) ή από ειδικά για τον ιό T κύτταρα. Η ιντερφορόνη τύπου III από την άλλη εμφανίζεται αυξημένη σε βρογχικές αναρροφήσεις, αλλά συσχετίζεται με χαμηλότερα ιϊκά φορτία στους ασθενείς με COVID-19. Συμπερασματικά προκύπτει ότι είναι σημαντικό να υπάρχει μια ισορροπία IFN-I και IFN-III (Y. Wang & Perlman, 2024).

Η ιντερλευκίνη IL-6 είναι επίσης αυξημένες σε επίπεδα βαριάς νόσησης και σχετίζεται συνήθως με την εξέλιξη σε βαριά πνευμονία. Παράγεται σε ένα πλήθος κυττάρων του αμυντικού συστήματος (π.χ. μακροφάγα, δένδριτικά κ.α.) και είναι ο κύριος στόχος αντιμετώπισης του ιού σε περιστατικά με σοβαρή πνευμονική βλάβη. Μια άλλη κυτοκίνη που εγείρεται σχεδόν στις περισσότερες οξείες φλεγμονώδεις αποκρίσεις και είναι υψηλή και στην σοβαρή περίπτωση της COVID-19 είναι ο TNF παράγοντας (Y. Wang & Perlman, 2024).

Επιπλέον οδός ρύθμισης φλεγμονής που έχει συνδεθεί με την οξεία αναπνευστική βλάβη καθώς και την δυσλειτουργία του μυοκαρδίου είναι η MAPK p38 (p38 mitogen-activated protein kinase). Δρα ως ρυθμιστής προφλεγμονώδους κυτοκίνης (IL-6, TNF- α και IL-1 β). Η απεριόριστη ενεργοποίηση της MAPK της p38 συμβάλλει στην φλεγμονή, την αγγειοσυστολή και την θρόμβωση. Η ενεργοποίηση της MAPK του p38 μπορεί να γίνει ευκολότερη όταν ο SARS-CoV-2 εισέρχεται στο σώμα και μειώνονται οι υποδοχείς ACE2 στην κυτταρική επιφάνεια και η αγγειοτενσίνη II (Y. Wang & Perlman, 2024).

Ο παράγοντας NF- κ B (nuclear factor κ light chain enhancer of activated B cells) προωθεί την έκφραση διάφορων προφλεγμονωδών γονιδίων και συμβάλει έτσι στην ενεργοποίηση κυτοκινών, χημειοκινών και φλεγμονωδών σωμάτων. Η πρωτεΐνη N έχει αποδειχθεί ότι ενεργοποιεί τον NF- κ B, καθώς επίσης και η πρωτεΐνη ακίδας που μπορεί να γίνει συνδέτης του TLR2. Έτσι επάγεται εκ νέου η έκφραση κυτοκινών όπως οι: IL-8,

IL-6, IL-1 β και MIP-1 β (φλεγμονώδης πρωτεΐνη μακροφάγου) (Y. Wang & Perlman, 2024).

1.2.5. RAS ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ

Καθώς ο ιός χρησιμοποιεί το ένζυμο ACE2 για να εισαχθεί στο σώμα, το σύστημα ρενίνης αγγειοτενσίνης έχει μελετηθεί εκτενώς εν μέσω της πανδημίας. Το ένζυμο ACE2 είναι βασικός ρυθμιστής του RAS (renin-angiotensin system), δηλαδή του συστήματος ρενίνης – αγγειοτενσίνης. Στο RAS, το ένζυμο ACE (μεταλλοπρωτεΐνη) μετατρέπει την αγγειοτενσίνη I (Ang I) σε αγγειοτενσίνη II (Ang II), η οποία δρα μέσω του υποδοχέα αγγειοτενσίνης II (AT1R) και προκαλεί αγγειοσυστολή (αύξηση αρτηριακής πίεσης), φλεγμονή, αυξημένη

κατακράτηση νατρίου και υγρών (προάγοντας την υπέρταση). Από την άλλη το ένζυμο ACE2 (διαμεμβρανινή μονοκαρβοξυπεπτιδάση) μετατρέπει την αγγειοτενσίνη II σε αγγειοτενσίνη 1-7. Η τελευταία δρα μέσω του υποδοχέα Mas (MasR) και έχει τις αντίθετες δράσεις από εκείνες της αγγειοτενσίνης II (αγγειοδιαστολή, αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα και αντι-ινωτικές ιδιότητες). Έτσι το σύστημα παραμένει σε ισορροπία και αποφεύγονται οι φλεγμονώδεις δράσεις τα αγγειοτενσίνης II. Το ACE2 εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα της καρδιάς, στους ινοβλάστες, στα αιμοφόρα αγγεία, στα επιθηλιακά κύτταρα των βρόγχων στους πνεύμονες, στα σωληνωτά επιθηλιακά κύτταρα στους νεφρούς καθώς και στο έντερο. Στην διάρκεια την πανδημίας τα φάρμακα με αναστολείς RAS, εξετάστηκαν σε βάθος. Τέτοιου τύπου φάρμακα παίρνουν οι ασθενείς με καρδιοπάθειας ή νεφροπάθειες ώστε να ανασταλούν οι υποδοχείς της αγγειοτενσίνης II (ARBs – angiotensin II type 1 receptor blockers), και έτσι να μειωθεί η αρτηριακή πίεση. Το ζήτημα είναι ότι τα φάρμακα αυτού του τύπου αυξάνουν τις ποσότητες του ACE2, του υποδοχέα που χρησιμοποιεί ο ιός του SARS-CoV-2 για να εισέλθει στο σώμα. Είναι ωστόσο πλέον γνωστό ότι ο ιός προκαλεί μείωση της ρύθμισης του ACE2 επηρεάζοντας την μετατροπή του Ang II σε Ang 1-7. Έτσι μειώνονται οι αγγειοδιασταλτικές, αντιφλεγμονώδεις δράσεις και το αντίκτυπο είναι η νοσηρότητα και η αυξημένη θνησιμότητα για τον COVID-19 (Calò et al., 2022; Theodorakopoulou et al., 2022).

Εκτός των υποδοχέων ACE2 που βρίσκονται τοποθετημένοι διαμεμβρανικά στα κύτταρα του αναπνευστικού, ένα ποσοστό του παραμένει διαλυτό στην κυκλοφορία, με την χρήση φαρμάκων τύπου αναστολέων RAS. Το διαλυτό ACE2 είναι δυνατόν να περιορίσει την σύνδεση του ιού στη μεμβράνη λειτουργώντας ως δόλωμα και επομένως πολλές έρευνες ασχολήθηκαν με την χρησιμότητά του ως αναστολέας. Ωστόσο στην συνέχεια έγινε αντιληπτό ότι ο SARS-CoV-2 μπορεί να σχηματίζει συσσωματώματα μέσω της S πρωτεΐνης, με το διαλυτό ACE2 και έτσι να συνδέεται στον υποδοχέα AT1R ή να ενώνεται με την βαζοπρεσίνη και να εισέρχεται στο κύτταρο μέσω ενδοκυττάρωσης χρησιμοποιώντας τον υποδοχέα AVPR1B. Παρόλα αυτά τα φάρμακα τέτοιου τύπου δεν φαίνεται να έχουν άμεση συσχέτιση ούτε με την μεταδοτικότητα του ιού στους εν λόγω ασθενείς, ούτε με κακή έκβαση της ασθένειας (Theodorakopoulou et al., 2022).

1.2.6. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Η S πρωτεΐνη του COVID-19 συνδέεται με το ένζυμο ACE2, ένα ένζυμο που βρίσκεται στα κυψελιδικά (ή αλλιώς πνευμονοκύτταρα) κύτταρα τύπου II. Το ένζυμο προκαλεί αλλοστερικές

αλλαγές στην S πρωτεΐνη και έτσι ξεκινά η διαδικασία της σύντηξης. Οι πρωτεάσες του κυττάρου ξενιστή (TMPRSS2 και φουρίνη) συμβάλλουν άμεσα στην διαμόρφωση της γλυκοπρωτεΐνης που οδηγεί στην σύνδεση του ιού. Το RNA του ιού μετά την σύνδεση μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα του ξενιστή και μετατρέπεται απευθείας από το ριβόσωμα σε πρωτεΐνες της RNA πολυμεράσης. Η RNA πολυμεράση θα χρησιμοποιήσει στην συνέχεια τον θετικό κλώνο για να δημιουργήσει και τον αντίστοιχο αρνητικό. Η διαδικασία συνεχίζεται με την παραγωγή θετικών κλώνων από τους αρνητικούς, ο οποίοι παραλαμβάνονται από τα ριβοσώματα και έτσι δημιουργούνται και τα επιμέρους χρήσιμα για τον ιό δομικά συστατικά. Εν συνεχεία γίνεται μεταφορά των δομικών αυτών συστατικών στο σύστημα Golgi όπου από τις θετικές αλυσίδες RNA παράγονται νέα ιικά σωματίδια, τα οποία θα βγουν από το κυψελιδικό κύτταρο για να συνεχίσουν την προσβολή σε νέους ξενιστές (Kumar & Al Khodor, 2020; Rahman et al., 2021; Shah Alam et al., 2021).

Η μόλυνση των κυψελιδικών κυττάρων από τον ιό αυξάνει την φλεγμονώδη απόκριση στους ιστούς, στρατολογώντας T βοηθητικά λεμφοκύτταρα (CD4+), που παράγουν ιντερφερόνη IFN-γ (IFN-gamma) και ιντερλευκίνες (IL)-2 και IL-12. Σταδιακά και με ενεργοποίηση και άλλων φλεγμονωδών παραγόντων δημιουργείται ο «καταρράκτης κυτοκινών», που συμβάλει σε πολλές αρρώστιες στην πολυοργανική βλάβη. Οι ιντερφερόνες προετοιμάζουν τα κύτταρα για ιϊκή εισβολή και τα μακροφάγα πνευμονοκύτταρα εντοπίζουν την μόλυνση και απαντούν με κυτοκίνες. Η φλεγμονώδης αυτές διεργασίες διεγείρουν τις απολήξεις των νεύρων των πνευμόνων και οδηγεί στον σύμπτωμα του ξηρού βήχα. Ο παράγοντας νέκρωσης όγκων TNF-α και η ιντερλευκίνη IL-1β προκαλούν την διέγερση επιπλέον αμυντικών κυττάρων όπως τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα, διευρύνοντας τα αιμοφόρα αγγεία. Η IL-8 διεγείρει τα ουδετερόφιλα και άλλες χημειοκίνες στρατολογούν τα μονοκύτταρα. Ωστόσο η διεύρυνση των αγγείων έχει ως αποτέλεσμα να δημιουργηθεί στον ενδιάμεσο των κυψελίδων πνευμονικό οίδημα, οδηγώντας σε δύσπνοια και υποξαιμία. Στην συνέχεια τα λευκά αιμοσφαίρια (white blood cells -WBCs) επίσης στρατολογούν προσταγλανδίνες και λευκοτριένια που προκαλούν βρογχοσυστολή και αυξάνουν επιπλέον την υποξαιμία. Το σύμπτωμα του πυρετού προκαλείται από τις προσταγλανδίνες και τα IL-6, IL-1 και TNF-α. Τα συνολικά μειωμένα επίπεδα οξυγόνου προκαλούν ταχύτερη αναπνοή και ταχυκαρδία, αφού η αντλία της καρδιάς επιταχύνει για να φτάσει περισσότερο οξυγόνο στους ιστούς. Δεδομένου ότι το ένζυμο ACE2 βρίσκεται στους πνεύμονες, στο νεφρικό επιθήλιο, στην καρδιά, στο εντερικό επιθήλιο αλλά και στο πάγκρεας ο ιός έχει την δυνατότητα να προκαλέσει βλάβη σε αυτούς τους ιστούς και

να καταστρέψει τα όργανα προκαλώντας σύνδρομο πολυοργανικής ανεπάρκειας (MODS-multiple organ dysfunction syndrome), (Kumar & Al Khodor, 2020; Rahman et al., 2021).

1.2.7. ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ

❖ Παραλλαγή Α

Η παραλλαγή Α εντοπίστηκε πρώτη φορά στο Ηνωμένο Βασίλειο τον Νοέμβριο του 2020 από έναν άνδρα 58 ετών, παρουσιάζοντας από 40 έως και 80% αύξηση στην μετάδοση. Συνολικά υπάρχουν 23 μεταλλάξεις σε αυτήν παραλλαγή, εκ των οποίων 14 είναι μη συνώνυμες, 3 είναι αφαιρέσεις νουκλεοτιδίου και 6 είναι συνώνυμες (π.χ. H69del, V70del, Y145del, E484K, S494P, N501Y, A570D, D614G, T72A, P614G, P681, D1118H και K1191N. Πολλές από αυτές τις μεταλλάξεις βρίσκονται κοντά στην περιοχή της διάσπασης S1/S2 και προκαλούν διαμορφωτικές αλλαγές που ενισχύουν την μεταδοτικότητα (π.χ. N501Y στο RBD και P681H) (Hillary & Ceasar, 2023; Thakur et al., 2022).

❖ Παραλλαγή Β

Εντοπίστηκε στην επαρχία Cape της Νότιας Αφρικής τον Οκτώβριο του 2020 παρουσιάζοντας 50% αύξηση στην μετάδοση. Περιέχει και αυτή τρεις διαγραφές στο τμήμα N5 (241del, 242del, 243del) και επτά υποκαταστάσεις στην πρωτεΐνη ακίδας S (D80A, D215G, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V). Ανάμεσα στις μεταλλάξεις που αναφέρθηκαν φαίνεται ότι οι K417N, E484K, N501Y στο RBD μπορούν να ξεφύγουν από τα αντισώματα και έτσι να έχουν περισσότερες πιθανότητες επιβίωσης (Hillary & Ceasar, 2023; Thakur et al., 2022).

❖ Παραλλαγή Γ

Εντοπίστηκε πρώτη φορά στην περιοχή Μάνους της Βραζιλίας και έχει 11 κρίσιμες μεταλλάξεις στην S πρωτεΐνη. Πέντε από αυτές είναι μέσα στην περιοχή NTD (L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S), τρεις στην περιοχή του RBD (K417T, E484K, N501Y), δύο στην C-τερματική περιοχή του S1 και κοντά στη φουρίνη (Hillary & Ceasar, 2023; Thakur et al., 2022).

❖ Παραλλαγή Δ

Εντοπίστηκε για πρώτη φορά στην Μαχαράστρα της Ινδίας τον Οκτώβριο του 2020, και είναι η κυρίαρχη παραλλαγή σε πάνω από 100 έθνη. Η παραλλαγή Δ έχει υπάρξει κύριος λόγος

ύπαρξης δεύτερον κυμάτων διάφορες χώρες όπως η Ινδία και το Ηνωμένο Βασίλειο. Είναι περίπου 60% πιο μεταδοτική από την παραλλαγή A, και έχει περίπου 13 μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη ακίδας (T19R, G142D, 156del, 157del, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R, D950R, P871R, T95I, A222V7N*, και K4). Λόγω της μετάλλαξης P681R όπου ένα αμινοξύ αλλάζει σε ένα σημείο ακριβώς δίπλα στην θέση διάσπασης της φουρίνης, η ανοσία απέναντι στο αντίσωμα αυξάνεται και συμβάλει στην περαιτέρω επιβίωση του ιού. Η παραλλαγή Δ σαφώς είχε υψηλότερη μεταδοτικότητα έως και 20 φορές και μάλιστα ήταν ανθεκτική σε συγκεκριμένα αντισώματα των εμβολίων (Hillary & Ceasar, 2023; Thakur et al., 2022).

❖ Παραλλαγή O

Η παραλλαγή O εντοπίστηκε πρώτη φορά τον Νοέμβριο του 2021 στην Νότια Αφρική και έχει μεταλλάξεις στην κωδικοποιούσα αλλά και στην μη κωδικοποιούσα περιοχή. Μερικές από αυτές ανιχνεύθηκαν στην πρωτεΐνη S κυρίως στην περιοχή RBD (T91, E31del, S33del, R203K, P13L, G204R, Q19E, A63T, Y145del, Y143del, T95I, G142D, H69del, A67V, N501Y, N440K, K417 N, S371L, S373P, G339D, D796Y, N969K, L981F, Q954H και S375F) (Hillary & Ceasar, 2023).

❖ Άλλες παραλλαγές

Η παραλλαγή E (epsilon – GH/452R.V1) εντοπίστηκε πρώτη φορά στην Καλιφόρνια το 2021 και ήταν 20% πιο μεταδοτική πιθανώς λόγω των υποκαταστάσεων L452R και D614G της πρωτεΐνης ακίδας. Φυσικά στην συνέχεια εμφανίστηκε και σε άλλες περιοχές της υφελίου όπως ο Καναδάς, το Μεξικό, η Νότια Κορέα, η Αργεντινή, η Κολομβία κ.α.. Για την E αναγνωρίστηκαν δύο διαφορετικές αλλαγές: η B.1.427, η οποία έχει δύο μεταλλάξεις στην S πρωτεΐνη, την L452R και την D614G και την B.1.429, η οποία περιλαμβάνει τέσσερις μεταλλάξεις S13I, W152C, L452R και D614G. Όλες οι παραπάνω είναι σημειακές μεταλλάξεις. Το κοινό τμήμα των δύο αλλαγών είναι ανησυχητικό και προάγει την σταθεροποίηση στην αλληλεπίδραση μεταξύ ιού και πρωτεΐνης ακίδας (Thakur et al., 2022).

Υπήρξαν επίσης οι παραλλαγές K (kappa), Z (Zeta), Θ (Theta), I (Iota), Λ (Lambda) και Η (Eta). Η παραλλαγή Η έχει υποκαταστάσεις στην γλυκοπρωτεΐνη ακίδας (A67V, E484K, D614G, Q677H και F888L με τρεις διαγραφές στα 69Hdel, 70Vdel και 144del). Η I έχει υποκαταστάσεις ακίδας (L5F, T95I, D253G, (L452R*), E484K, D614G και A701V) όπως και η K (T95I, G142D, E154K, D614G, P681R, Q1071H και L452R, E484Q) στην περιοχή RBD. Η Z έχει υποκαταστάσεις S (E484K, F565L, D614G, V1176F). Η Θ έχει υποκαταστάσεις

D614G, P681H, E1092K, H1101Y, V1176F στην S πρωτεΐνη και στην RBD περιοχή έχει E484K και N501. Τέλος η παραλλαγή Λ έχει επτά σημειακές μεταλλάξεις G75V, T76I, del247/253, L452Q, F490S, D614G και T859N στην πρωτεΐνη ακίδας. Οι περισσότερες εξ αυτών έχει αποδειχθεί ότι αυξάνουν την μολυσματικότητα, κάνοντας τον ιό ικανό να αντιστέκεται στην δράση των αντισωμάτων (Hillary & Ceasar, 2023; Thakur et al., 2022).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: BITAMINH D ΚΑΙ COVID-19

2.1. ΓΕΝΙΚΟΤΕΡΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ BITAMINH D και COVID-19

Η COVID-19 έχει ως βασικότερη επιπλοκή της αυξημένη ποσότητα κυτοκινών στο σώμα που ονομάζεται αλλιώς καταιγίδα κυτοκινών. Η σύνδεση της S πρωτεΐνης στον NF-κΒ προκαλεί απελευθέρωση ιντερλευκινών και TNF-α. Αντίστοιχα η σύνδεση του ιού με TLR υποδοχείς απελευθερώνει από τα ανοσοκύτταρα τις προ-IL-1β (έτσι προκαλείται ο πυρετός και η φλεγμονή). Με την ενεργοποίηση των γονιδίων COX-2, απελευθερώνεται και η ιντερλευκίνη IL-8. Συνολικά, η COVID-19 είναι μια νόσος που χειραγωγεί τα επίπεδα κυτοκινών όπως η IL-6, IL-1 και ο TNF-α, τα οποία μπορούν να προκαλέσουν σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (Saxena et al., 2022).

Οι ασθενείς του πνεύμονα όπως το οξύ αναπνευστικό σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) και η οξεία αναπνευστική βλάβη (ALI – Acute lung injury) σχετίζονται σε γενικές γραμμές με υψηλή θνησιμότητα. Οι Xu et al. στην προσπάθεια του να διερευνήσουν με ποιον μηχανισμό η βιταμίνη D ανακουφίζει και μειώνει το ALI, διαπίστωσαν ότι η καλσιτριόλη δρα ευεργετικά στις πνευμονικές βλάβες που προκαλούνται από λιποπολυσακχαρίτες σε αρουραίους. Η χορήγηση καλσιτριόλης έδειξε να βελτιώνει την διαπερατότητα των πνευμόνων και να ρυθμίζει την έκφραση του συστήματος RAS, μέσω ρύθμισης των ενζύμων ACE και ACE2. Έτσι προέκυψε συμπερασματικά ότι η καλσιτριόλη μπορεί να ρυθμίσει την έκφραση των μελών του RAS προστατεύοντας τους πνεύμονες από τραυματισμούς. Επίσης όπως έχει ήδη αναφερθεί η 1,25(OH)₂D διεγείρει την ανάπτυξη των T ρυθμιστικών κυττάρων (Treg), τα οποία βοηθούν την ALI. Ταυτόχρονα ο υποδοχέας VDR, προστατεύει τον τραυματισμό του πνεύμονα αναστέλλοντας την οδό κινάσης ελαφριάς αλυσίδας αγγειοποιητίνης-2-TEK (Xu et al., 2017).

2.1.1. ACE2

Σημαντικό ρόλο διαδραματίζει και ο ρόλος της βιταμίνης D στο σύστημα ρενίνης αγγειοτενσίνης. Όπως έχει ήδη αναφερθεί το ένζυμο ACE μετατρέπει την αγγειοτενσίνη I σε αγγειοτενσίνη II, και έτσι προκαλείται αύξηση της αρτηριακής πίεσης, ενώ το ομόλογό του ACE2 ευνοεί την αντίθετη μετατροπή της αγγειοτενσίνης II σε αγγειοτενσίνη I που δρα ως αντιρρυθμιστικός παράγοντας. Το ένζυμο ACE2 συνδέεται στενά με το σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας. Δείγματα ποντικού με έλλειψη ACE2 παρουσίασαν αυξημένα σοβαρή πνευμονική νόσο, με αύξηση αγγειακής διαπερατότητας και πνευμονικό οίδημα.

Αναφορικά με τα παραπάνω προκύπτει ότι η ανεπάρκεια βιταμίνης D μπορεί να προκαλέσει ενεργοποίηση του RAS και πνευμονική ίνωση (Xu et al., 2017).

Η COVID-19 συνδέεται στον υποδοχέα ένζυμο ACE2 μειώνοντας την έκφρασή του. Έτσι υπάρχει αφθονία της αγγειοτενσίνης II. Αυτή προκαλεί πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών του πνεύμονα και αυξάνει την έκφραση του παράγοντα TGF-β (transforming growth factor-β), ενός παράγοντα που αυξάνει την διαφοροποίηση των ινοβλαστών. Επίσης η αγγειοτενσίνη II προκαλεί δραστικά είδη οξυγόνου και απελευθέρωση κυτοκινών και ενισχύει την απόπτωση των κυψελιδικών κυττάρων. Έτσι εκκινείται η διαδικασία της ίνωσης και ένα σύνολο προπηκτικών παραγόντων. Αντίστοιχα η αύξηση του υποδοχέα αγγειοτενσίνης II (AGTR1A) ενισχύει την πνευμονική διαπερατότητα των αγγείων και επομένως οι πνεύμονες τραυματίζονται (Malek Mahdavi, 2020).

2.1.2. ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΟΥ ΕΝΤΟΠΙΖΟΥΝ ΘΕΤΙΚΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ

Οι Meltzer et al. προσπαθώντας να αναζητήσουν την απάντηση στην ερώτηση αν τα επίπεδα της βιταμίνης D σχετίζονται με τα θετικά αποτελέσματα στις εξετάσεις για τον ιό SARS-CoV-2, πραγματοποίησαν μια μελέτη κοόρτης με δείγμα 489 ασθενείς, περίπου ηλικίας 40 ετών. Από τους εν λόγω ασθενείς 366 ήταν γυναίκες και 331 ήταν άνδρες ενώ και στις δύο ομάδες οι ασθενείς ήταν διαφόρων φυλών πλην λευκών. Βασική προϋπόθεση για την συμμετοχή των ασθενών στην έρευνα ήταν να έχουν μετρηθεί τα επίπεδα βιταμίνης D το ένα χρόνο πριν την πραγματοποίηση του ελέγχου για SARS-CoV-2, ώστε να γίνει φανερό αν τα χαμηλά επίπεδα συνδέονται με τα θετικά αποτελέσματα. Η ανεπάρκεια ορίστηκε κάτω από 20 ng/mL της 25(OH)D ή κάτω από 18 ng/mL για την 1,25(OH)₂D. Για 124 εξ αυτών υπήρχε σαφής έλλειψη, για 287 πιθανή επάρκεια και για 78 άτομα υπήρχε αβέβαιη επάρκεια. Συνολικά 71 συμμετέχοντες βρέθηκαν θετικοί στην COVID-19, με αυξητική τάση όσο η ηλικία έφτανε τα 50 έτη και συνδυαζόταν με έλλειψη βιταμίνης D. Από τους 172 συμμετέχοντες τα αποτελέσματα που λήφθηκαν είναι ότι οι ασθενείς με έλλειψη βιταμίνης D είχαν 1.77 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να βρεθούν θετικοί. Εκτός των άλλων στους ασθενείς που διαπιστώθηκε έλλειψη και δέχτηκαν θεραπεία με βιταμίνη D εντοπίστηκε μικρότερο ποσοστό θετικών αποτελεσμάτων σε σχέση με εκείνους που δεν ακολούθησαν κάποια θεραπεία. Παρόλα αυτά οι ίδιοι οι συγγραφείς κατέστησαν σαφές ότι πρόκειται για μια συσχέτιση και όχι για μια άμεση αιτιολογική σύνδεση. Υπάρχουν άλλοι παράγοντες της υγείας, μερικοί εκ των οποίων είναι χρόνιοι που σχετίζονται με χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D, και η συνολική

κλινική συνθήκη ίσως να διευκολύνει εύλογα και την μόλυνση από COVID-19 (Meltzer et al., 2020).

Οι Radujkovic et al., σε έρευνα με 185 ασθενείς με διαγνωσμένο κορονοϊό SARS-CoV-2, ανακάλυψαν μια έντονη σύνδεση της έλλειψης βιταμίνης D με την κακή έκβαση της νόσου. Από τους 185 συνολικά ασθενείς σε διάστημα 66 ημερών 28 ασθενείς χρειάστηκαν μηχανική υποστήριξη για αναπνευστικούς σκοπούς, συμπεριλαμβανομένων 16 θανάτων. Σε γενικές γραμμές 93 ασθενείς χρειάστηκαν νοσηλεία και οι 41 εξ αυτών παρουσίασαν έλλειψη σε βιταμίνη D ($< 12 \text{ ng/mL}$). Η ηλικία, το φύλο και οι υποκείμενες νόσοι λήφθηκαν υπόψιν και η έλλειψη συνδέθηκε με μεγαλύτερο κίνδυνο μηχανικής υποστήριξης και θανάτου. Παρατήρησαν επίσης ότι τα επίπεδα IL-6 ήταν σημαντικά μεγαλύτερα σε ασθενείς με επιδεινωμένη νοσηλεία. Ωστόσο σε ασθενείς που δεν χρειάστηκαν νοσηλεία τα επίπεδα βιταμίνης D δεν φάνηκε να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην έκβαση (Radujkovic et al., 2020).

Οι Munshi et al. το 2020, προτείνουν ότι οι ασθενείς με βαριά νόσηση COVID-19, έχουν μικρότερα επίπεδα κυκλοφορούσας βιταμίνης D στο ορό του αίματος καθώς και ότι η διάγνωση των επιπέδων της βιταμίνης πολύ πιθανό να βοηθήσει στην θεραπεία των ασθενών με κακή έκβαση (Munshi et al., 2021). Παρόμοια συμπεράσματα προέκυψαν και από τους Faul et al. όταν εξέτασαν συνολικά 33 ενήλικες άνδρες άνω των 40 ετών σε νοσοκομείο του Δουβλίνου που νοσούσαν με πνευμονία σχετιζόμενη με την COVID-19, τον Μάρτιο του 2020. Δεδομένης σύνδεσης με υποκείμενα νοσήματα, εξετάστηκαν ασθενείς χωρίς καρκίνο, σακχαρώδη διαβήτη, καρδιαγγειακές νόσους κ.α. Δώδεκα από τους ασθενείς παρουσίασαν σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας και χρειάστηκαν διασωλήνωση ενώ τελικά υπήρξαν 4 θάνατοι. Μετά τις μετρήσεις της 25(OH)D στο ορό του αίματος, διαπιστώθηκε ότι οι 12 ασθενείς με βαριά νόσηση είχαν μικρότερα επίπεδα βιταμίνης. Η εν λόγω μελέτη επίσης αναφέρει ότι η έλλειψη της βιταμίνης D είναι συχνό φαινόμενο στην περιοχή της Ιρλανδίας όπου η ηλιοφάνεια δεν είναι συνηθισμένη (Faul et al., n.d.).

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ελβετία σε 107 ασθενείς με μέση ηλικία 73 έτη, 27 εξ αυτών βρέθηκαν θετικοί στην COVID-19 με PCR έλεγχο. Εντοπίστηκαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα 25(OH)D σε ασθενείς με θετικό έλεγχο το 2020, τα οποία συσχετίστηκαν με τα επίπεδα της βιταμίνης D των ίδιων ασθενών το 2019. Οι ασθενείς που από το 2019 παρουσίασαν χαμηλές συγκεντρώσεις της βιταμίνης είχαν στατιστικά περισσότερα θετικά αποτελέσματα PCR, τονίζοντας ότι η έκθεση στον ήλιο είναι σημαντικός παράγοντας (D'Avolio et al., 2020).

Οι Teama et al. σε μια μελέτη με 124 ασθενείς διαγνωσμένους με COVID-19 που επιλέχθηκαν από νοσοκομείο στο Κάιρο υπήρξε φανερός συσχετισμός μεταξύ των χαμηλότερων επιπέδων της βιταμίνης D και της σοβαρής έκβασης του ιού. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες: ασθενείς με ήπια νόσηση (58) και ασθενείς με σοβαρά συμπτώματα (66), ενώ εκείνοι με υποκείμενα νοσήματα εξαιρέθηκαν από την μελέτη. Ο αριθμός των ασθενών με υποβιταμίνωση ήταν πολύ υψηλός, ενώ μόλις το 2.4% των ασθενών της μελέτης δεν είχαν λιγότερη του φυσιολογικού βιταμίνη D, ενώ το 97.6% των περιπτώσεων εμφάνισαν είτε έλλειψη είτε ανεπάρκεια. Η έλλειψη της βιταμίνης συνδέθηκε από τους συγγραφείς όχι μόνο με την σοβαρότερη έκβαση του ιού αλλά και με την αύξηση προφλεγμονωδών παραγόντων όπως ο CRP, η φερίτίνη κ.α. καθώς και με την διάρκεια της νόσησης. Έτσι κατέληξαν στον ισχυρισμό ότι η συσχέτιση των χαμηλών επιπέδων με την σοβαρή έκβαση είναι υψηλή και σχολίασαν το ενδεχόμενο τα συμπληρώματα βιταμίνης D να βοηθούν στην κακή εξέλιξη της νόσου. Ωστόσο γίνεται σαφές ότι το δείγμα της μελέτης παραμένει περιορισμένο (Teama et al., 2021).

Μια συστηματική ανασκόπηση και μέτα-ανάλυση των Hariyanto et al., με 11 έρευνες και συνολικά δεδομένα από 2.265 θετικούς ασθενείς πραγματοποιήθηκε το 2022. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν υποδεικνύουν πως η λήψη συμπληρωμάτων συνδέεται με την μείωση του ποσοστού εισόδου σε μονάδες εντατικής θεραπείας και την μείωση θνητότητας από τον ιό, λαμβάνοντας υπόψιν τον παράγοντα της ηλικίας. Προτείνονται 3 μηχανισμοί που ενδεχομένως η βιταμίνη D να προστατεύει από την σοβαρή έκβαση. Αρχικά η βιταμίνη D ενισχύει την κυτταρική ανοσία μέσω επαγωγής καθελιδίνης IL-37, που έχει άμεση αντιμικροβιακή δράση σε μια μεγάλη ποικιλία παθογόνων μικροοργανισμών. Επιπλέον διεγείρει τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που σχηματίζουν τις συναπτικές συνδέσεις μεταξύ γειτονικών κυττάρων (gap junction genes), ώστε να εξασφαλίζεται η ακεραιότητα των κυτταρικών συνδέσεων και η πρόληψη εισβολής μικροοργανισμών που μπορεί να οδηγήσουν σε φλεγμονή. Τέλος η βιταμίνη D μπορεί να αναστείλει το σύστημα RAS και τον υποδοχέα NF-κΒ. Παρόλα αυτά οι συγγραφείς τόνισαν ότι περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη (Hariyanto et al., 2022).

Μια εξίσου σημαντική βιβλιογραφική ανασκόπηση πραγματοποιήθηκε από τους Engin και Ozdemir το 2024. Οι συγγραφείς ισχυρίζονται πως η ανάλυση μελετών παρατήρησης υποδεικνύει ότι η ανεπάρκεια βιταμίνης D συνδέεται με αυξημένη θνησιμότητα και επιδείνωση της νόσου, ενώ η λήψη συμπληρωμάτων μειώνει τον κίνδυνο για κακή έκβαση της

νόσου. Οι συντάκτες μέσω της ανασκόπησης κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ενεργός μορφή βιταμίνης D φαίνεται να αναστέλλει την δημιουργία της ρενίνης, του ACE ενζύμου και της Ang II (αγγειοτενσίνης II), ενώ αυξάνει την έκφραση του ACE2. Έτσι το σύστημα RAS ρυθμίζεται αρνητικά και εφόσον ενισχύεται η δραστηριότητα του ACE2/Ang-(1-7) συστήματος, μειώνει και την δραστηριότητα του ACE/Ang II μονοπατιού. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ποντίκια υπέδειξαν πως η ανεπάρκεια βιταμίνης D προκαλεί αυξημένη έκφραση ρενίνης και η λήψη συμπληρωμάτων $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ αναστέλλει αυτή την έκφραση. Έτσι υφίσταται μια περίπλοκη σχέση μεταξύ βιταμίνης D και του RAS συστήματος που ίσως έχει επιπτώσεις σε διάφορες πτυχές της υγείας. Έτσι οι συγγραφείς της ανασκόπησης τονίζουν ότι είναι επιτακτική ανάγκη να μελετηθεί εκτενέστερα η συσχέτιση μεταξύ της βιταμίνης D και του RAS και προτείνουν ότι τα συμπληρώματα βιταμίνης D ενδεχομένως να αποτελούν θεραπευτική στρατηγική όχι μόνο κατά του SARS-CoV-2 αλλά και άλλων ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού (Engin & Özdemir, 2024).

Σε νοσοκομείο της Ιταλίας, πραγματοποιήθηκε το 2020 έρευνα με 42 ασθενείς με οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια προκαλούμενη από την νόσο της COVID-19. Στην εν λόγω έρευνα ο καταρράκτης κυτοκινών συνδέεται με την σοβαρή έκβαση του ιού στο ανθρώπινο σώμα. Χρησιμοποιήθηκαν ασθενείς νοσηλεύόμενοι με COVID-19 εκ των οποίων 71% ήταν άντρες και το 29% ήταν γυναίκες με μέση ηλικία 65 έτη. Με εξαίρεση 2 ασθενείς, οι υπόλοιποι ήταν μη καπνίζοντες και οι περισσότεροι είχαν τουλάχιστον ένα υποκείμενο νόσημα όπως υπέρταση, νεφρική νόσο ή διαβήτη. Πέντε ασθενείς είχαν χρόνια αναπνευστική πνευμονοπάθεια, ενώ μόνο δύο είχαν άσθμα. Το 81% των ασθενών είχαν βιταμίνη D κάτω από 30 ng/mL. Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε 4 ομάδες, ανάλογα με τα επίπεδα της βιταμίνης στον ορό, και υπήρξε ένα ποσοστό 24% με σοβαρή ανεπάρκεια ($<10\text{ng/mL}$). Οι ασθενείς με αυξημένη ανεπάρκεια είχαν αυξημένη πιθανότητα θνησιμότητας έως και 50% μετά από 10 ημέρες, σε σύγκριση με άτομα με επίπεδα άνω των 10ng/mL . Παρόλα αυτά κύριος περιορισμός της μελέτης φαίνεται αν είναι το μικρό δείγμα ασθενών (Carpagnano et al., 2021). Επιπλέον βιβλιογραφική ανασκόπηση πραγματοποιήθηκε από τους Bae et al, το 2022, με σκοπό την συλλογή των έως τώρα πληροφοριών γύρω από το θέμα. Οι συγγραφείς σε αυτήν την ανασκόπηση τονίζουν τον ρόλο που παίζει η βιταμίνη D στην άμυνα του οργανισμού και στην εισαγωγή του ιού στο σώμα. Ορίζουν ως έλλειψη την συγκέντρωση κάτω από 20ng/mL και αναφέρουν ότι αυτή εντοπίζεται κυρίως σε υπερήλικες και ενήλικες με παχυσαρκία ή σκουρόχρωμη επιδερμίδα. Το σύνολο των μελετών της ανασκόπησης που χρησιμοποιήθηκαν εντοπίζουν ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων $25(\text{OH})\text{D}$ και της βιταμίνης D. Τονίζουν

ότι η βιταμίνη μπορεί να επηρεάσει έντονα την φλεγμονώδη απόκριση και το σύστημα ρενίνης αγγειοτενσίνης, όπως επίσης να ρυθμίσει την έμφυτη και προσαρμοστική ανοσία στον οργανισμό. Δεδομένου ότι η βιταμίνη μειώνει τον καταρράκτη κυτοκινών και την φλεγμονώδη απόκριση, οι συγγραφείς προτείνουν ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο απέναντι στην εξέλιξη του ιού. Έτσι προτείνουν ότι η διατήρηση των επιπέδων είναι ζωτικής σημασίας και ότι η λήψη συμπληρωμάτων είναι βασικό όπλο για την πρόληψη της σοβαρής έκβασης. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην ανασκόπηση συμμετείχαν τόσο μελέτες περίπτωσης όσο και τυχαιοποιημένες μελέτες (Bae et al., 2022).

Οι Bychinin et al. εξέτασαν την αξιολόγηση της συγκέντρωσης της 25(OH)D σε ασθενείς που εισήχθησαν σε ΜΕΘ σε συνάρτηση με την θνησιμότητα της COVID-19, σε μια παρατηρησιακή μελέτη. Η μελέτη συμπεριέλαβε 40 ενήλικες ασθενείς (50% άνδρες), στους οποίους τα επίπεδα της βιταμίνης D βρέθηκαν κατά μέσο όρο 12ng/mL, ενώ παρατηρήθηκαν πιο χαμηλά επίπεδα στους μη επιζώντες σε σχέση με τους επιζώντες. Οι συγγραφείς προτείνουν οι συγκεντρώσεις κάτω των 9,9 ng/mL να χρησιμοποιηθούν ως πρόβλεψη για την ενδονοσοκομιακή θνησιμότητα (Bychinin et al., 2021).

Οι Petrelli et al. σε μια βιβλιογραφική ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε το 2023, υποστήριξαν επίσης ότι η συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης D₃ αποτελεί προστατευτική στρατηγική κατά της COVID-19. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν 74 μελέτες αναδρομικής φύσης και 27 μέτα – αναλύσεις. Στο σύνολο λήφθηκαν δεδομένα από 12.767.045 ασθενείς (Petrelli et al., 2023).

Οι Dissanayake et al. σε βιβλιογραφική ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε το 2022, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ανεπάρκεια της βιταμίνης D αυξάνει την ευαισθησία ενάντια στον ιό, καθώς και ότι υπάρχει μια σύνδεση με την θνητότητα. Οι συγγραφείς χρησιμοποίησαν μηχανές αναζήτησης και συμπεριέλαβαν 76 μελέτες στο σύνολο. Εβδομήντα δύο εξ αυτών συμπεριλήφθηκαν και στην μετα-ανάλυση. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν έδειξαν ότι η ανεπάρκεια ή η έλλειψη βιταμίνης D αυξάνει τις πιθανότητες εμφάνισης COVID-19, τις πιθανότητες βαριάς νόσησης αλλά και τις πιθανότητες θανάτου. Οι συγκεντρώσεις της 25(OH)D εντοπίστηκαν μικρότερες σε νοσούντες ασθενείς, σε ασθενείς με βαριά νόσηση και σε μη επιζώντες, σε σχέση με τους ασθενείς που ήταν υγιείς. Ωστόσο οι ερευνητές τονίζουν ότι υπήρχε έντονη ετερογένεια στις δημοσιεύσεις που χρησιμοποιήθηκαν στην ανασκόπηση. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι μελέτες που συμπεριλήφθηκαν ήταν κατά κύριο λόγο μελέτες παρατήρησης, κοορτής και μελέτες περίπτωσης. Συμπεριλήφθηκαν επίσης τυχαιοποιημένες

ελεγχόμενες μελέτες (RTCs) που συνέκριναν την θεραπεία με βιταμίνη D με την χρήση ενός εικονικού φαρμάκου (Dissanayake et al., 2022).

Στην Αμερική το 2020, οι Kaufman et al. πραγματοποίησαν μια μελέτη με πάνω από 190.000 ασθενείς από τις 50 πολιτείες με θετικά τεστ από τα μέσα του Μαρτίου έως και τα μέσα του Ιουνίου και τα συσχέτισαν με τα επίπεδα της βιταμίνης D σε μετρήσεις των ασθενών έως και δώδεκα μήνες πριν. Συμμετείχαν συνολικά 191.779 ασθενείς με ηλικίες από 40 έως 65 έτη, εκ των οποίων 68% γυναίκες. Ο βαθμός θετικότητας των ασθενών ήταν υψηλότερος στους ασθενείς που παρουσίασαν έλλειψη στην 25(OH)D (τιμές κάτω των 20 ng/mL) σε σχέση με εκείνους που είχαν επαρκή επίπεδα (30-34 ng/mL), (Kaufman et al., 2020).

Ένα πλήθος ερευνών που βασίστηκαν στην στατιστική ανάλυση, επίσης έλαβε χώρα για να εξεταστεί εάν η βιταμίνη D σχετίζεται με τον ιό SARS-CoV-2. Στο πανεπιστήμιο της Florida (University of Florida – UF) το 2021 οι Katz et al. πραγματοποίησαν μια στατιστική μελέτη βασιζόμενοι στην πλατφόρμα «UF i2b2», που χρησιμοποιείται ως μητρώο των ασθενών από ιατρικές επισκέψεις σε διάφορα κέντρα υγείας στην Φλόριντα. Με την χρήση 987.849 ασθενών, εκ των οποίων 887 ήταν θετικοί, 31.950 είχαν έλλειψη σε βιταμίνη D και 87 εξ αυτών είχαν και θετικό τεστ και έλλειψη βιταμίνης. Οι ασθενείς με έλλειψη βιταμίνης D είχαν 4.6 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν θετικό τεστ. Η προσαρμογή κάποιων παραγόντων όπως το φύλο, η φυλή, η δυσσαπορρόφηση, τον διαβήτη, την παχυσαρκία μετέβαλε ελαφρώς το ποσοστό, χωρίς όμως να αποκλίνει πολύ από την ήδη υπάρχουσα τιμή. Μετά την προσαρμογή και του ηλικιακού εύρους που είναι αρκετά σημαντική στον εν λόγω ιό, έγινε σαφές ότι οι ασθενείς με έλλειψη είναι πέντε φορές πιο πιθανό να μολυνθούν από τον ιό. Η μελέτη τονίζει ότι δεν υπάρχει απαραίτητα αιτιακή σχέση μεταξύ των δύο μεταβλητών και η περαιτέρω έρευνα κρίνεται απαραίτητη (Katz et al., 2021).

2.1.3. ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΟΥ ΔΕΝ ΕΝΤΟΠΙΖΟΥΝ ΘΕΤΙΚΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ

Μια έρευνα Μενδελιακής Τυχαιοποίησης πραγματοποιήθηκε με δεδομένα από την «UK Biobank» (μια από τις μεγαλύτερες και πιο γνωστές βιοτράπεζες παγκοσμίως), από τους Li et al. το 2021, με δεδομένα από 471.342 ασθενείς, ώστε να γίνει φανερή κάποια πιθανή αιτιακή σχέση ανάμεσα στον ιό και την βιταμίνη D. Συνολικά καταγράφηκαν 1746 θετικοί ασθενείς (εκ των οποίων 399 θάνατοι) από τον Μάρτιο έως τον Ιούνιο του 2020. Οι συγγραφείς δεν διέκριναν σημαντική συσχέτιση μεταξύ της μόλυνσης του ιού και των επιπέδων της 25(OH)D που μετρήθηκαν, τα οποία όμως τονίζουν ότι μετρήθηκαν κατά μέσο όρο έντεκα χρόνια πριν την πανδημία. Ωστόσο η έκθεση σε UVB ήταν συνυφασμένη με την νοσηλεία και τον θάνατο

σε γενικότερα πλαίσια. Επίσης παρατηρήθηκε αυξημένη προστατευτική τάση της βιταμίνης όταν η ακτινοβολία UVB ήταν πιο έντονη. Η γενετική ανάλυση όμως δεν έδειξε αιτιακή σχέση μεταξύ των επιπέδων της βιταμίνης D και της του κινδύνου για μόλυνση από τον ιό, χωρίς αυτό να απορρίπτει ότι ενδεχομένως υπάρχει συσχέτιση (X. Li et al., 2021).

Οι Ma et al. χρησιμοποιώντας δεδομένα από την UK Biobank, με συνολικά 8297 συμμετέχοντες αναζήτησαν την σχέση μεταξύ της τακτικής λήψης συμπληρώματος βιταμίνης D και της πιθανότητας μόλυνσης από τον ιό. Σε ερωτηματολόγια που δόθηκαν στους ασθενείς, έγινε σαφές ότι μόνο το 4.4% εξ αυτών έπαιρναν καθημερινά βιταμίνη D ως διατροφικό συμπλήρωμα και είχαν αυξημένη 25(OH)D. Από το σύνολο των ασθενών οι περισσότεροι έτειναν να έχουν συνολικά καλές διατροφικές συνήθειες, να παίρνουν και άλλα συμπληρώματα, να μην παρουσιάζουν παχυσαρκία και καρδιαγγειακές νόσους, ενώ είχαν υψηλότερα ποσοστά εμφάνισης καρκίνου. Παρόλα αυτά η γενετική ανάλυση έδειξε ίδιες προβλέψεις (που αφορούν τους πολυμορφισμούς), τόσο στους τακτικούς χρήστες όσο και στους ασθενείς που δεν λαμβάνουν συμπλήρωμα. Το συμπέρασμα των συγγραφέων ωστόσο δείχνει ότι στο μη προσαρμοσμένο μοντέλο (ηλικία, φύλο, φυλή, ερευνητικά κέντρα, απλότυπος, κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ, φυσική δραστηριότητα, καλή διατροφή και χρήση άλλων συμπληρωμάτων), οι ασθενείς κάνουν λήψη συμπληρώματος δεν φαίνεται να διατρέχουν σημαντικά μικρότερο κίνδυνο μόλυνσης από τον ιό σε σχέση με εκείνους που δεν λαμβάνουν βιταμίνη D. Ωστόσο μετά την προσαρμογή των παραπάνω παραγόντων παρατηρήθηκε μια σημαντική αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ των δύο παραγόντων, γεγονός όμως που μπορεί να οφείλεται στο μικρό δείγμα ασθενών. Επίσης οι συγγραφείς τονίζουν ότι δεν διέκριναν συσχέτιση μεταξύ των γενετικών παραγόντων και του κινδύνου για μόλυνση από τον ιό, και προτείνουν ότι αυτή η διαπίστωση ίσως οφείλεται στο γεγονός ότι η γενετικοί παράγοντες ρυθμίζουν μόνο ένα ποσοστό της κυκλοφορούσας βιταμίνης στο σώμα (Ma et al., 2021).

Οι Butler - Laporte et al. σε μία μελέτη Μεντελιανής τυχαιοποίησης (MR Mendelian Randomization) προσπάθησαν να βρουν τον συσχετισμό που έχει η εισαγωγή του ιού στο σώμα και η εξέλιξη της νόσου με τα επίπεδα της βιταμίνης στον ορό του αίματος. Στην μελέτη μεγάλης κλίμακας που πραγματοποίησαν δεν διαπιστώθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των γενετικά αυξημένων επιπέδων βιταμίνης D και της προστασίας από τον ιό SARS-CoV-2. Τα αποτελέσματα αυτά αφορούσαν το σύνολο των φαινότυπων που εξετάστηκαν και ήταν συνεπή ανεξάρτητα από την ανάλυση ή τα εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν. Οι συγγραφείς προτείνουν ότι η συσχέτιση μεταξύ του ιού και της βιταμίνης D ίσως είναι συγκεχυμένη λόγω

διαφορετικών παραγόντων που δεν μπορούν με κάποια προηγμένη στατιστική μέθοδο να απορριφθούν. Παραδείγματος χάριν η ηλικία και πολλές συννοσηρότητες συνδέονται με τα χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D, και είναι αρκετά πιθανές συνθήκες και στην κακή έκβαση ενός θετικού ασθενούς. Πιο συγκεκριμένα υποστηρίζουν ότι οι παρατηρησιακές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί επηρεάζονται από τέτοιους παράγοντες και οδηγούν σε λανθασμένες αιτιακές σχέσεις. Οι ίδιοι χρησιμοποιούν την γενετική τυχαιοποίηση ως κύριο όπλο για την αποφυγή αυτών των παραγόντων και τονίζουν ότι τα αποτελέσματά τους ομοιάζουν με εκείνα των RCTs (Randomized Controlled Trials) μεγάλης κλίμακας. Οι μελέτες αυτού του είδους είναι πειράματα όπου οι συμμετέχοντες τυχαιοποιούνται σε ομάδες και λαμβάνει χώρα μία παρέμβαση (π.χ. λήψη φαρμάκου στην μία ομάδα και λήψη εικονικού φαρμάκου στην άλλη), ώστε να γίνει φανερή μια πιθανή αιτιακή σχέση. Έτσι η μελέτη δεν προτείνει τη χορήγηση συμπληρώματος διατροφής ώστε να αποφευχθούν οι χειρότερες εκβάσεις του ιού. Ωστόσο η εν λόγω ανασκόπηση δεν λαμβάνει υπόψιν τις πραγματικές τιμές βιταμίνης D, και αναφέρει ότι οι ασθενείς που είναι πραγματικά ανεπαρκείς μπορεί να βοηθηθούν από την χορήγηση συμπληρωμάτων έναντι του ιού. Επίσης δεν εξετάζει καθόλου ασθενείς εκτός Ευρώπης και δεν λαμβάνει υπόψιν την εποχικότητα, χωρίς όμως να θεωρείται πιθανό από τους συγγραφείς ότι θα παραχθούν σημαντικά διαφορετικά αποτελέσματα (Butler-Laporte et al., 2020).

Μια ακόμη MR μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2021 διερεύνησε την αιτιακή σχέση μεταξύ των συγκεντρώσεων βιταμίνης D και την ευαισθησίας ή της σοβαρότητας του ιού. Η έρευνα χρησιμοποίησε δεδομένα από την μεγαλύτερη βάση δεδομένων γενετικής της Covid-19 (UK Biobank) και ανέλυσε συνολικά δύο φαινότυπους. Έγινε σύγκριση μεταξύ των ασθενών με τον ιό και του γενικού πληθυσμού χωρίς τον φαινότυπο, ασθενείς θετικούς σε σύγκριση με αρνητικούς και τέλος σύγκριση σοβαρών περιστατικών έναντι του γενικού πληθυσμού. Επιλέχθηκαν πολυμορφισμοί προς μελέτη αλλά δεν βρέθηκε αιτιακή σχέση μεταξύ γενετικής προδιάθεσης συγκεντρώσεων βιταμίνης D και κινδύνου λοίμωξης από τον ιό ή την επικίνδυνη έκβασή του. Οι συγγραφείς προτείνουν ότι οι μηδενικοί συσχετισμοί που εντόπισαν είναι δυνατόν να οφείλονται είτε στις λίγες γενετικές παραλλαγές που χρησιμοποιήθηκαν, είτε σε σφάλμα αντίστροφης αιτιότητας και σύγχυσης. Η βιταμίνη D είτε διατροφικά είτε μέσω το ηλιακού φωτός μεταβολίζεται στο ήπαρ σε 25(OH)D. Ο μεταβολίτης αυτός είναι που προσδιορίζεται βιοχημικά για γίνει σαφές αν ο ασθενής έχει επάρκεια σε βιταμίνη D. Είναι γεγονός ότι η ανεπάρκεια είναι συχνή σε ασθενείς θετικούς στο ιό, γεγονός όμως που μπορεί να εξηγηθεί και από τον εγκλεισμό και την μειωμένη δραστηριότητα εκτός σπιτιού ή την οξεία λοίμωξη του ανώτερου αναπνευστικού. Οι συγγραφείς τονίζουν επιπρόσθετα ότι η μελέτη

τυχαιοποίησης εξετάζει την δια βίου γενετική τροποποίηση του COVID-19, αλλά η επίδρασή του πιθανόν να μεταβάλλεται σε βάθος χρόνου. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν δεν έδειξαν μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων 25(OH)D και του κινδύνου για μόλυνση από COVID-19 (Di et al., 2021).

Οι Patchen et al. σχεδίασαν μια μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης, στην οποία δεν βρέθηκε αιτιακή σχέση μεταξύ των επιπέδων βιταμίνης D και της έκβασης της νοσηλείας με COVID-19. Πιο συγκεκριμένα εξέτασαν την επίδραση των επιπέδων της βιταμίνης στον ορό ως παράγοντα κινδύνου μόλυνσης από COVID-19 με MR δύο δειγμάτων με συνολικό πληθυσμιακό δείγμα 17.965 ασθενείς και 38 μελέτες κοορτής. Χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από την UK Biobank, από μελέτη GWAS μέτρησης της βιταμίνης στον ορό καθώς και από την διεθνή ερευνητική συνεργασία SUNLIGHT Consortium. Κατά κύριο λόγο οι συμμετέχοντες ήταν Βρετανικής καταγωγής από την UK Biobank, ενώ χρησιμοποιήθηκαν Ευρωπαϊκής καταγωγής άτομα από την SUNLIGHT Consortium. Στα αποτελέσματα που λήφθηκαν μετά από στατιστική ανάλυση δεν βρέθηκαν επαρκή στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι υφίσταται σχέση αιτιότητας μεταξύ της βιταμίνης D και του COVID-19. Εξετάστηκε τόσο η γενετικά προβλεπόμενη ανεπάρκεια όσο και η πραγματική ανεπάρκεια και δεν εντοπίστηκε συσχέτιση ούτε με την λοίμωξη, ούτε με την έκβαση, ούτε με την σοβαρότητα της νοσηλείας. Οι πολυμορφισμοί που εξετάστηκαν ήταν οι: GC, DHCR7, CYP2R1 και CYP24A1 (Patchen et al., 2021).

Οι Cui & Tian, πραγματοποίησαν μια μελέτη MR για να εξετάσουν την αιτιακή σχέση μεταξύ ευαισθησίας, σοβαρότητας και κλινικών χαρακτηριστικών του ιού και των πολυμορφισμών της βιταμίνης D. Η έρευνα επίσης παρείχε πληροφορίες για την χορήγηση συμπληρώματος βιταμίνης D στην πρόληψη και θεραπεία κατά του COVID-19. Πραγματοποιήθηκε μια MR δύο δειγμάτων με αποτελέσματα από έρευνα τύπου GWAS. Τα δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν λήφθηκαν από την UK Biobank για περίπου 417.580 άτομα ευρωπαϊκής καταγωγής (από 40 έως 60 ετών). Το συμπέρασμα στο οποίο καταλήγουν οι συγγραφείς μετά από ένα σύνολο στατιστικών αναλύσεων είναι ότι οι γενετικά μειωμένες συγκεντρώσεις 25(OH)D στο ορό δεν σχετίζονται αιτιωδώς με την σοβαρότητα της νόσου ή την ευαισθησία της μόλυνσης. Επιπλέον δεν συνιστούν την χορήγηση των συμπληρωμάτων για την αντιμετώπιση της νόσου ή για την μείωση της ευαισθησίας απέναντι στον ιό του COVID-19 (Cui & Tian, 2021).

Οι Hastie et al. σε MR study που πραγματοποιήθηκε το 2020, επίσης δεν εντόπισαν πιθανή σύνδεση μεταξύ των συγκεντρώσεων βιταμίνης D και του COVID-19. Η έρευνα τους

χρησιμοποιεί δεδομένα από την UK Biobank και αναφέρει ότι υπάρχει ανάγκη για έρευνα της επιρροής του ιού σε μη λευκούς πληθυσμούς. Αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι το ένα τρίτο των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων που νοσηλεύονται σε μονάδα εντατικής θεραπείας στην Αγγλία είναι μη λευκοί. Λήφθηκαν δεδομένα από 348.598 κατοίκους της Αγγλίας, της Σκωτίας και της Ουαλίας, ηλικίας από 37-73 έτη, από το 2006 έως το 2010. Οι συγγραφείς αναφέρουν μελέτες που έχει εντοπιστεί συσχετισμός μεταξύ της βιταμίνης D και του ιού και τονίζουν πως με την δική τους έρευνα δεν διαπιστώνουν κάποια σημαντική συσχέτιση. Επισημαίνουν ότι σε γενικές γραμμές τα επίπεδα της 25(OH)D ήταν χαμηλότερα σε μειονότητες κυρίως αποτελούμενες από πληθυσμούς με σκουρόχρωμες επιδερμίδες, χωρίς όμως να επιβεβαιώνουν αιτιακή σχέση με τον COVID-19 (Hastie et al., 2020)

Οι Amin & Drenos, πραγματοποίησαν μια MR μελέτη (δύο δειγμάτων) με σκοπό να ανακαλύψουν την συσχέτιση μεταξύ της βιταμίνης D και του ιού. Ασχολήθηκαν επίσης με την πραγματοποίηση μιας ανάλυσης σε όλο το γονιδίωμα (GWA) για την έλλειψη της βιταμίνης D στην UK Biobank, χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα αυτά στην MR μελέτη. Η ανάλυση GWA είχε σαφείς ενδείξεις ότι 17 ανεξάρτητες παραλλαγές σχετίζονται με την ανεπάρκεια της βιταμίνης D, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση MR. Τα τελικά αποτελέσματα που ελήφθησαν δεν αποδεικνύουν σημαντική σχέση αιτιότητας ανάμεσα στην ανεπάρκεια της βιταμίνης και τον κίνδυνο λοίμωξης ή την σοβαρότητα της έκβασης του ιού. Οι ερευνητές δεν προτείνουν ότι η βιταμίνη έχει κάποια προστατευτική δράση απέναντι στον ιό, ούτε αναφέρουν ότι θα έπρεπε να μελετηθεί ως πιθανή θεραπευτική στρατηγική (Amin & Drenos, 2021).

Οι Jordan et al. επίσης πραγματοποίησαν μια συστηματική ανασκόπηση με σκοπό την συσχέτιση της βιταμίνης D και της COVID-19, το 2021, προσπαθώντας να συλλέξουν την συνολική βιβλιογραφία γύρω από το θέμα. Η ανασκόπηση περιελάμβανε 28 μελέτες που δημοσιεύτηκαν στην Αγγλία το 2020. Εξετάστηκαν μελέτες που αφορούσαν την σοβαρότητα της νόσου, την θνησιμότητα καθώς και την συχνότητα της μόλυνσης. Από το σύνολο των 28 μελετών, οι 26 έδειξαν θετική συσχέτιση της βιταμίνης D με την καλή πρόγνωση για την εξέλιξη της νόσου, ενώ υπήρξαν και δύο μελέτες που δεν επιβεβαίωσαν κάποια συσχέτιση. Οι ίδιοι οι συγγραφείς αναγνώρισαν τους περιορισμούς της μελέτης, αναφέροντας πως η μελέτη είχε περιορισμένο αριθμό μελετών, λόγω περιορισμένου χρόνου, οι περισσότερες μελέτες ήταν μη τυχαιοποιημένες και έτσι τόνισαν ότι απαιτείται επιπλέον έλεγχος (Jordan et al., 2022).

Στην Ιταλία, οι Mazziiotti et al. χρησιμοποιώντας 348 ασθενείς που νοσηλεύτηκαν με θετικό τεστ στον ιό στο νοσοκομείο «IRCCS Humanitas Research Hospital, Rozzano-Milan» ερεύνησαν την συσχέτιση της υποβιταμίνωσης D με την κατάσταση του αναπνευστικού

συστήματος των ασθενών με COVID-19. Οι συγγραφείς έλαβαν επίσης υπόψιν την υποασβεστιαμία και τον δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό. Οι ασθενείς που χρειάστηκαν διασωλήνωση και μηχανική υποστήριξη εξαιρέθηκαν από την μελέτη. Στην αρχή της μελέτης έγινε η μέτρηση της 25(OH)D στον ορό των ασθενών και ο μέσος όρος ήταν 12.1 ng/mL. Στο σύνολο των ασθενών, 161 από αυτούς είχαν βιταμίνη D κάτω των 12 ng/mL, ενώ μόνο 36 είχαν επάρκεια (άνω των 30 ng/mL). Κατά την εισαγωγή στο νοσοκομείο υπήρχαν 28 ασθενείς που λάμβαναν συμπλήρωμα βιταμίνης D, εκ των οποίων μόνο οι 10 είχαν επάρκεια. Τα αποτελέσματα της έρευνας δείχνουν ότι το 90% των ασθενών που εισήχθησαν στο νοσοκομείο θετικοί στο ιό έχουν έλλειψη βιταμίνης D και οι συγγραφείς προτείνουν ότι ίσως υπάρχει μια συσχέτιση μεταξύ των δύο παραγόντων. Παρόλα αυτά δεν προτείνουν να υπάρχει κάποια σύνδεση με την ηλικία ή τα υποκείμενα νοσήματα των ασθενών και δεν αποκλείουν ότι οι χαμηλές τιμές βιταμίνης D στους ασθενείς με COVID-19 ίσως να είναι επιπτώσεις της ίδιας της φλεγμονής (Mazziotti et al., 2021).

Σε βιβλιογραφική ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε από τους Ferrari et al. το 2020, έγινε σαφές ότι η λήψη συμπληρωμάτων βιταμίνης D, φαίνεται να είναι προστατευτική κατά των αναπνευστικών λοιμώξεων. Η ανασκόπηση τονίζει ότι υπάρχει ποικιλία μελετών που συσχετίζει την έλλειψη της βιταμίνης με την μόλυνση και την πορεία της νόσου, ενώ υπάρχουν και μελέτες που η σύνδεση δεν διακρίνεται. Επισημαίνεται ότι σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε τον Οκτώβριο του 2020, οι ασθενείς που νοσούσαν από τον ιό είχαν πιο χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D σε σχέση με τους αρνητικούς ασθενείς, αλλά και πιο χαμηλά επίπεδα φωσφόρου. Προτείνουν πως ίσως η συσχέτιση μεταξύ των χαμηλών επιπέδων της βιταμίνης και του ιού γίνεται φανερό περισσότερο σε ασθενείς μεγάλης ηλικίας, οι οποίοι όμως έχουν σε γενικότερα πλαίσια υποβιταμίνωση βιταμίνης D και περισσότερες πιθανότητες για δυσάρεστη έκβαση της νοσηλείας τους. Επιπλέον μια εικασία που αναφέρουν είναι πως λόγω του εγκλεισμού κατά την διάρκεια της πανδημίας, η έκθεση στο ηλιακό φως είναι σημαντικά μικρότερη, με αποτέλεσμα τα επίπεδα βιταμίνης να είναι εκ των πραγμάτων μειωμένα στον γενικότερο πληθυσμό και τονίζουν ότι συνίσταται τα επίπεδα να διατηρούνται φυσιολογικά ώστε να αποφεύγονται οι ενδεχόμενες δυσάρεστες επιπλοκές κατά την νόσηση από COVID-19 και άλλους ιούς (Ferrari et al., 2021)..

2.2. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥΣ

2.2.1. VDR

Πολλές ερευνητικές ομάδες ανά στον κόσμο με αφορμή την πανδημία του COVID-19, πραγματοποιούν μια σειρά από έρευνες για την κατανόηση των μηχανισμών τόσο του ιού όσο και των παραγόντων που μπορούν να δράσουν δυνητικά ως φαρμακευτικές αγωγές. Δεδομένων των παραπάνω, δηλαδή του ότι η βιταμίνη D έχει παίξει πολύ σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη άλλων πνευμονοδών λοιμώξεων, είναι εύκολο να είναι πιθανή θεραπεία και για την κορονοϊό. Εφόσον οι κύριες αιτίες της ανεπάρκειας στην βιταμίνη D είναι οι πολυμορφισμοί της βιταμίνης, η εξέταση της συσχέτισής του με την έκβαση του ιού είναι απαραίτητη. Επί σειρά ετών και με την έναρξη της πανδημίας μελετώνται διεξοδικά τόσο οι επιρροές που έχουν οι γενετικοί πολυμορφισμοί της βιταμίνης στην μεταδοτικότητα του ιού όσο και η επιδείνωση που ενδεχομένως να συνδέεται με αυτήν την έλλειψη.

Οι Abdollahzadeh et al., προσπάθησαν να αξιολογήσουν το ποσοστό συσχέτισης των πολυμορφισμών του γονιδίου VDR με τα αποτελέσματα του COVID-19. Οι περισσότερες προσπάθειες κατανόησης έχουν επικεντρωθεί στο μονοπάτι που ακολουθεί ο υποδοχέας VDR. Φαίνεται λοιπόν πως η καταγίδα κυτοκινών και χημειοκινών, όπως επίσης και η ρύθμιση του συστήματος ρενίνης αγγειοτενσίνης μπορεί να παρέχει ευεργετικές επιδράσεις στην έκβαση της νόσου. Αυτό γιατί το επιθήλιο του πνεύμονα δεν θα αλλοιωθεί και μειώνονται οι πιθανότητες για πύξη ή θρόμβωση. Οι πολυμορφισμοί που αποτελούν αλλαγές ενός νουκλεοτιδίου μπορούν να επηρεάσουν το μονοπάτι σηματοδότησης των VDR υποδοχέων και επομένως να διαταράξουν τις ανοσορυθμιστικές λειτουργίες της βιταμίνης. Οι πολυμορφισμοί που είναι περισσότερο γνωστοί στον VDR υποδοχέα και εμφανίζουν προδιάθεση για ποικίλες παθολογικές καταστάσεις είναι οι: ApaI (rs7975232; ιντρόνιο 8; C > A), BsmI (rs1544410; ιντρόνιο 8; G > A), Tru9I (rs757343; εσώνιο 8, G > A), TaqI (rs731236, εξόνιο 9, A > G), BglI (rs739837, 3'UTR περιοχή, C > T), FokI (rs2228570, εξόνιο 2, C > T), CDX2 (rs11568820; προαγωγέας G > A), και EcoRV ή A-1012G/GATA (rs4516035, προαγωγέας, T > C), και είναι και αυτοί που μελετήθηκαν στην εν λόγω έρευνα. Οι FokI, CDX2 και EcoRV εδράζονται στο 5' άκρο ενώ οι ApaI, BsmI, Tru9I, TaqI και BglI εδράζονται στο 3' άκρο. Για τον μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 500 Ιρανοί ασθενείς θετικοί στον ιό που νοσηλεύτηκαν σε διάφορα νοσοκομεία του Ιράν από τον Μάιο έως τον Σεπτέμβριο του 2020. Βάση της κλινικής του εικόνας κατηγοριοποιήθηκαν σε τρεις ομάδες εκ των οποίων η ομάδα I αποτέλεσαν 160 ασυμπτωματικά άτομα (90 άντρες, 70 γυναίκες), η ομάδα II περιλάμβανε 250 ήπια νοσούντες (142 άντρες, 108 γυναίκες) με ποικίλα συμπτώματα όπως πυρετό, πονόλαιμο, βήχα, διάρροια,

κόπωση, ναυτία και παραγευσία και η ομάδα III αποτελούνταν από 90 άτομα με σοβαρή νόσηση σε κρίσιμη κατάσταση (61 άντρες, 29 γυναίκες). Λήφθηκαν υπόψιν για κάθε ασθενή οι υποκείμενες νόσοι όπως υπέρταση, διαβήτης, άσθμα, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια κ.α. Το περιφερειακό αίμα που λήφθηκε από τους ασθενείς εξετάστηκε με την μέθοδο PCR και αναλύθηκαν οι SNPs με την χρήση περιοριστικών ενζύμων και ηλεκτροφόρηση σε γέλη αгарόζης. Τα αποτελέσματα δεν ήταν σημαντικά διαφορετικά όσον αφορά τον φύλο, αλλά η ηλικία και τα υποκείμενα νοσήματα είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Οι ασθενείς με διαβήτη εμφάνιζαν μεγαλύτερη τάση να νοσούν πιο βαριά όπως και οι ασθενείς με υπέρταση. Ενδιαφέρον ήταν ότι οι ασθενείς με άσθμα ήταν σε μεγάλο ποσοστό ήπια νοσούντες. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν δείχνουν ότι υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές μεταξύ των συμπτωματικών και των ασυμπτωματικών ασθενών στη γονοτυπική κατανομή του FokI SNP. Παρατηρήθηκε λιγότερο συχνή γονοτυπική έκφραση του FF σε σχέση με τα ff και Ff αλληλόμορφα σε συμπτωματικούς ασθενείς (ομάδες II και III) σε σχέση με τους ασυμπτωματικούς. Συν τις άλλους η σοβαρότητα της νόσου ήταν έντονη σε ασθενείς με υπολειπόμενα ή συνεπικρατή αλληλόμορφα. Στον SNP του 5' άκρου, CDX2, η συχνότητα εμφάνισης του C (wild type) και c (mutated) ήταν πολύ διαφορετική ανάμεσα σε ασθενείς βαριάς νόσησης και ασυμπτωματικούς, με σημαντικές αποκλίσεις στο υπολειπόμενο γενετικό μοντέλο. Δεν εντοπίστηκαν ωστόσο διαφορές που αφορούν το επικρατές μοντέλο ανάμεσα στους συμπτωματικούς και του ήπια νοσούντες. Στον πολυμορφισμό EcoRV (5' άκρο) οι διαφορές ανάμεσα στους ασυμπτωματικούς σε σχέση τόσο με τους ήπια νοσούντες όσο και με τους ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση ήταν σημαντικές για τρία γενετικά μοντέλα: υπολειπόμενο, υπερκυρίαρχο και συνεπικρατές. Στην συνέχεια οι σοβαρά νοσούντες σε σχέση με τους ήπια νοσούντες εμφάνισαν διαφορές στα υπερκυρίαρχα και συνεπικρατή γενετικά μοντέλα. Οι πολυμορφισμοί στο 3' άκρο όπως ο ApaI εμφάνισαν σημαντικές διαφορές επίσης. Οι συμπτωματικοί και οι ασυμπτωματικοί εμφάνισαν διαφορές στο υπερκυρίαρχο και συνεπικρατές μοντέλο. Δεν εντοπίστηκαν όμως σημαντικές αποκλίσεις στην ομάδα III για κανένα από τα γενετικά μοντέλα. Για τον πολυμορφισμό BsmI βρέθηκαν αποκλίσεις μόνο στην ομάδα III σε σύγκριση με την II για τα υπολειπόμενα και υπερκυρίαρχα μοντέλα, στα οποία το αλληλόμορφο άγριου τύπου B είναι υπολειπόμενο έναντι του μεταλλαγμένου αλληλόμορφου β. Όσον αφορά τον Tru9I οι γονοτυπικές κατανομές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές στην σύγκριση των τριών ομάδων. Τέλος, για τον πολυμορφισμό TaqI και τον πολυμορφισμό BglII δεν παρουσιάστηκαν αξιοσημείωτες αποκλίσεις μεταξύ των τριών ομάδων (Abdollahzadeh et al., 2021).

Κομμάτι της έρευνας αποτέλεσε και η σύνδεση των πολυμορφισμών με δημογραφικά στοιχεία, κλινικά χαρακτηριστικά όπως το φύλο, ο πυρετός, ο πονόλαιμος, ο πονοκέφαλος, η δύσπνοια, η διάρροια, η μυαλγία, η κόπωση, ο εμετός και η παραγευσία και υποκείμενες νόσους όπως η υπέρταση, ο διαβήτης, το άσθμα, η καρδιαγγειακή νόσος, η χρόνια νεφρική νόσο και η κακοήθεια. Δεν φάνηκε έντονη συσχέτιση μεταξύ των παραπάνω και των ασθενών χωρίς συμπτώματα ή με ήπια συμπτώματα. Όσον αφορά τις υποκείμενες νόσους βρέθηκαν συσχετίσεις με τα SNPs EcoRV και BsmI με τον διαβήτη και την χρόνια νεφρική νόσο αντίστοιχα. Σημαντικές συνδέσεις με συννοσηρότητες ωστόσο παρουσιάστηκαν στην ομάδα III. Αυτές περιλαμβάνουν τους πολυμορφισμούς ApaI (άσθμα), BsmI (χρόνια νεφρική νόσος), FokI (υπέρταση), CDX2 (υπέρταση και διαβήτη) και EcoRV (διαβήτη). Σε σχέση με τα συμπτώματα βρέθηκαν συσχετίσεις με τους ApaI και CDX2 με την δύσπνοια και του Tru9I με εμετό. Ο πολυμορφισμός CDX2 φαίνεται να είχε έντονη συσχέτιση με κεφαλαλγία, υπέρταση και διαβήτη (Abdollahzadeh et al., 2021).

Συμπερασματικά προέκυψε ότι ο πολυμορφισμός FokI στο 5' άκρο του VDR αναφέρεται ως πολυμορφισμός κωδικονίου έναρξης όπου η παρουσία αλληλόμορφου T (δηλαδή μεταλλαγμένου f) έχει ως αποτέλεσμα την μετάφραση μιας πρωτεΐνης VDR κατά τρία αμινοξέα μεγαλύτερη ενώ παρουσία του αλληλόμορφου C (δηλαδή του άγριου τύπου F) παράγεται μικρότερη VDR με αυξημένη έκφραση (Abdollahzadeh et al., 2021).

Οι Araydin et al., σε έρευνα που πραγματοποίησαν με 297 ασθενείς, το 2021, προσπάθησαν να συσχετίσουν τους πολυμορφισμούς με την πορεία της ασθένειας σε ενήλικες θετικούς στον ιό. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν κάνουν λόγο για συσχέτιση της σοβαρότητας των περιστατικών με τον γονότυπο FokI Ef, ενώ η εισαγωγή σε μονάδα εντατικής θεραπείας συνήθως σχετιζόταν με τον γονότυπο Taq TT. Επιπλέον ο γονότυπος ApaI aa ήταν συχνός σε ασθενείς που κατέληγαν σε θάνατο, ενώ κανένας δεν είχε γονότυπο Fok I FF. Τα ίδια τα επίπεδα δεν ταυτίστηκαν ούτε συνδέθηκαν με την σοβαρότητα ή την θνησιμότητα της νόσου, οι πολυμορφισμοί του VDR συγκεκριμένα συνδέθηκαν τα ποσοστά επιβίωσης των ασθενών (Araydin et al., 2022).

Οι Zeidan et al. κατέληξαν επίσης στο συμπέρασμα ότι η ανεπάρκεια βιταμίνης D συσχετίστηκε με 2,6 φορές αυξημένο κίνδυνο για COVID-19 και ο γονότυπος FF του FokI εντοπίστηκε στο μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών. Οι ασθενείς που συμμετείχαν στην έρευνα ήταν 180. Όλοι τους ήταν θετικοί στον ιό με ηλικία από 8,3 έως 18,9 έτη (110 εξ αυτών ήταν γυναίκες). Δεν συμμετείχαν στη μελέτη ασθενείς χωρίς συμπτώματα ή με ήπια συμπτώματα, αλλά μόνο με βαρύτερη έως και πολύ σοβαρή νόσηση. Εκτός των άλλων

χρησιμοποιήθηκαν και 200 υγιή παιδιά και ενήλικες αντίστοιχων ηλικιών και φύλων (Zeidan et al., 2022).

Οι Tentolouris et al., επίσης μελέτησαν την συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών VDR και της σοβαρότητας της COVID-19, ανεξάρτητα όμως από τα επίπεδα βιταμίνης D στο ορό. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Λαϊκό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Αθηνών στην Ελλάδα από τον Ιούλιο του 2021 έως τις 30 Ιουνίου του 2022 και οι συμμετέχοντες ήταν ενήλικες που δεν είχαν κάποια κακοήθεια, δεν βρίσκονταν σε ανοσοκατασταλτική θεραπεία, δεν έκανα αιμοκάθαρση ή δεν είχαν κάποια προχωρημένη ηπατική νόσο. Φυσικά λήφθηκαν υπόψιν συννοσηρότητες όπως στεφανιαία νόσος, υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης κ.α. Συνολικά έλαβαν μέρος 137 ασθενείς θετικοί στον ιό εκ των οποίων 51 είχαν ήπια συμπτώματα και 86 είχαν σοβαρή λοίμωξη και νοσηλεύτηκαν. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης και 72 ασθενείς αρνητικοί στον ιό ως μάρτυρες. Η συγκέντρωση της βιταμίνης D, ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων. Η αιμοσφαιρίνη και η κρεατινίνη δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των τριών ομάδων, ενώ ο σακχαρώδης διαβήτης και η υπέρταση ήταν οι πιο συχνές συννοσηρότητες. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν δείχνουν πως όσον αφορά τον πολυμορφισμό TaqI σύμφωνα με το προσθετικό μοντέλο (δηλαδή την σύγκριση του αλληλόμορφου TT, TC και CC) παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά, ενώ σύμφωνα με το υπολειπόμενο μοντέλο ο γονότυπος CC είναι έντονα συσχετισμένος με υψηλό κίνδυνο για βαριά νόσηση με COVID-19. Το άρθρο επίσης αναφέρει ότι δεν βρέθηκαν έντονες συσχετίσεις των FokI, ApaI, BsmI πολυμορφισμών (Tentolouris et al., 2024).

Υπάρχουν επίσης και άλλες έρευνες που προτείνουν ότι ο γονότυπος TT για τον πολυμορφισμό rs7975232 και ο CC για τον πολυμορφισμό rs2228570 συνδυάζονται συνήθως με μειωμένο κίνδυνο για επιδείνωση της νόσου (Al Saba et al., 2024).

Σε έρευνα που διεξήχθη στο νοσοκομείο Tanta (Tanta University Hospital, Egypt), στην Αίγυπτο από τον Αύγουστο του 2021 μέχρι τον Φεβρουάριο του 2022, συμμετείχαν 107 ασθενείς ηλικίας άνω των 25 ετών που ήταν θετικοί στο ιό εντός του νοσοκομείου. Επίσης χρησιμοποιήθηκαν και 107 ασθενείς αρνητικοί στον ιό, οι οποίοι όμως δέχτηκαν την ίδια αγωγή εντός του ιδρύματος. Η ανάλυση του αίματος των ασθενών επικεντρώθηκε στον πολυμορφισμό FokI (rs2228570 C/T) όπως επίσης και στον BsmI (rs1544410). Ο πολυμορφισμός BsmI με γονότυπο AA εμφανίστηκε με συχνότητα 12.6% στην ομάδα των θετικών ασθενών (19.6% στους αρνητικούς) και το AG εμφανίστηκε σε ποσοστό 15.9% (24.8% στους αρνητικούς). Τέλος ο γονότυπος GG εμφανίστηκε σε ποσοστό 21.5% (5.6% στους αρνητικούς). Εμφανίζεται διαφορά των δύο ομάδων στα ποσοστά GG και AG, και έτσι

η μελέτη συνιστά ότι οι γονότυποι αυτοί είναι πιο συχνά συνδυασμένοι με θετικό αποτέλεσμα για τον ιό. Όσον αφορά τον πολυμορφισμό FokI, το αλληλόμορφο TC εμφανίζονταν συχνότερα στους θετικούς ασθενείς. Επίσης ήταν συχνός και ο γονότυπος GG του rs1544410 σε ασθενείς με COVID-19. Γενικότερα φαίνεται το αλληλόμορφο G και C να απαντάται σε μεγαλύτερο ποσοστό σε θετικούς ασθενείς ενώ τα αλληλόμορφα A,T,C έχουν κατά πάσα πιθανότητα πιο προστατευτικό ρόλο κατά του ιού. Το αλληλόμορφο C που εμφανίζεται και στις δύο περιπτώσεις φαίνεται να έχει διττή φύση ανάλογα το γενικότερο γενετικό περιβάλλον στο οποίο βρίσκεται. Σε γενικές γραμμές η έρευνα τόνισε ότι δεν βρέθηκε άμεση συσχέτιση της σοβαρότητας της νόσησης με τον πολυμορφισμό BsmI, αλλά υπήρξε μια μικρή συσχέτιση με εκείνον της FokI rs2228750 (Mohamed et al., 2024).

Οι Shawi et al. μελέτησαν την συσχέτιση των πολυμορφισμών Tru9I (rs757343) και FokI (rs2228570) με την θνησιμότητα του ιού. Λήφθηκαν υπόψιν και οι μεταλλάξεις του ιού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο πολυμορφισμός FokI rs2228570 και συγκεκριμένα ο γονότυπος TT έχει μεγαλύτερη συσχέτιση με την θνησιμότητα σε όλες τις μεταλλάξεις και ειδικότερα στην Όμικρον (O) B4.5, σε σχέση με την Άλφα (A) και την Δέλτα (Δ). Στους ασθενείς με μετάλλαξη Δ, ο γονότυπος CT (του FokI) είναι συνδεδεμένος με υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας. Επίσης η υψηλή πιθανότητα θανάτου υποδεικνύεται από τον πολυμορφισμό Tru9I (rs757343), με AA γονότυπο στην μετάλλαξη Όμικρον B4.5. Συνολικά προτείνεται ότι ο απλότυπος T-A μπορεί να προμηνύει θνησιμότητα και στις τρεις περιπτώσεις μετάλλαξης όπως και ο απλότυπος T-G. Ωστόσο ο T-A εμφανίζεται περισσότερο στην A μετάλλαξη. Η έρευνα περιελάμβανε 3.184 ασθενείς από το Ιράν εκ των οποίων 1.022 είχαν την A μετάλλαξη, 1.026 είχαν την Δ μετάλλαξη και 1.136 είχαν την O B4.5 μετάλλαξη. Σαφώς λήφθηκαν υπόψιν και μετρήθηκαν και άλλες παράμετροι όπως τα λευκά αιμοσφαίρια, η χοληστερόλη, η κατάσταση των νεφρών, το ουρικό οξύ, το φύλο κλπ. Πιο αναλυτικά φάνηκε πως οι γονότυποι AA και GA του πολυμορφισμού Tru9I σε σχέση με τον GG γονότυπο. Αντίστοιχα οι ασθενείς με TT γονότυπο του πολυμορφισμού FokI έδειξαν μεγαλύτερη τάση για θνησιμότητα. Επιπλέον, ασθενείς που ανάρρωσαν από την νόσηση είχαν γονότυπο CC (FokI). Αξίζει να σημειωθεί ότι ο πολυμορφισμός Tru9I δεν επηρεάζει την σειρά των αμινοξέων στην πρωτεΐνη αλλά την έκφραση της βιταμίνης μέσω ελέγχου της μετάφρασης του mRNA (Shawi et al., 2023).

Ο SNP BgII (rs739837) βρίσκεται στην 3'UTR και είναι μία αλλαγή C με T. Ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός επηρεάζει την έκφραση του υποδοχέα, με αποτέλεσμα να μειώνονται οι θέσεις σύνδεσης του ιού. Από την άλλη ο TaqI (rs731236) που βρίσκεται στο εξώνιο 9 του VDR

γονιδίου παράγει μια συνώνυμη αλλαγή στην αλληλουχία, επηρεάζει την σταθερότητα του mRNA. Οι Albu-Mohammed et al. το 2022 στο Ιράν μελέτησαν την συσχέτιση των δύο αυτών πολυμορφισμών με τις μεταλλάξεις άλφα, δέλτα και όμικρον BA.5 σε ένα δείγμα περίπου 3184 θετικών ασθενών χωρίς υποκείμενα νοσήματα. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες: μία ομάδα με ελαφριά και μία με βαριά νόσηση. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν έδειξαν ότι οι ασθενείς με TaqI CC γονότυπο είχαν σημαντικά υψηλότερη θνησιμότητα από εκείνους με άλλους γονότυπους, ενώ οι ασθενείς με γονότυπο TT ήταν σε διαδικασία ανάρρωσης. Επιπλέον στον πολυμορφισμό BgII οι ασθενείς με γονότυπο TT παρουσίασαν υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας. Και στις τρεις μεταλλάξεις ο γονότυπος TT (TaqI) ήταν συχνότερος σε σχέση με τους CC και CT. Στην μετάλλαξη α η θνησιμότητα συνδέθηκε με γονότυπο TC και CC και στην μετάλλαξη δ με CC, ενώ δεν υπήρξε σύνδεση με την μετάλλαξη όμικρον B4.5. Όσον αφορά την μετάλλαξη BgII ο γονότυπος GG φαίνεται να είναι συχνότερος των GT και TT. Η θνησιμότητα ωστόσο εμφανίζεται υψηλότερη στον γονότυπο GT και TT στην μετάλλαξη όμικρον, ενώ δεν φάνηκε να είναι σημαντική κάποια σύνδεση με τις μεταλλάξεις άλφα και δέλτα. Συν τις άλλους οι ερευνητές υποστηρίζουν πως είναι μείζονος σημασίας ο συσχετισμός των δύο μεταλλάξεων και η κοινή παρουσία τους στο ανθρώπινο γονιδίωμα η οποία μάλιστα συνδέεται και με υψηλή κληρονομικότητα. Ο απλότυπος TG ήταν πιο συχνός μεταξύ ασθενών θετικών στον ιό ανεξαρτήτως μετάλλαξης ενώ ο απλότυπος CT συσχετίστηκε με θνησιμότητα στις μεταλλάξεις δέλτα και όμικρον (Albu-Mohammed et al., 2022).

Οι Al-Gharrawi et al. το 2023 μελέτησαν τους πολυμορφισμούς ApaI rs7975232 και BsmI rs1544410 για να διαπιστώσουν την επιρροή τους στην έκβαση του ιού σε σχέση με τις διάφορες μεταλλάξεις. Συμμετείχαν 3184 ασθενείς εκ των οποίων 1022 είχαν άλφα μετάλλαξη, 1026 είχαν δέλτα μετάλλαξη και 1132 όμικρον μετάλλαξη, συμπεριλαμβανομένων ανδρών και γυναικών με μέσο όρο ηλικίας τα 58 έτη. Τα αποτελέσματα της μελέτης υποδεικνύουν ότι οι ασθενείς με την μετάλλαξη ApaI rs7975232 και γονότυπο AA είχαν πιο υψηλά ποσοστά θνησιμότητας σε σύγκριση με τους άλλους γονότυπους ενώ ασθενείς που ανάρρωσαν από τον ιό συχνά παρουσίαζαν γονότυπο CC. Στον πολυμορφισμό BsmI rs1544410 οι ασθενείς με γονότυπο GG και GA παρουσίασαν υψηλότερη θνησιμότητα. Συνολικά προέκυψε ότι το αλληλόμορφο A για τον ApaI και το G για τον BsmI ήταν ευθέως συσχετισμένα με την θνησιμότητα του ιού. Πιο συγκεκριμένα για την μετάλλαξη άλφα πιο υψηλά ποσοστά θνησιμότητας παρουσίασε ο πολυμορφισμός ApaI με γονότυπο CA ενώ για τις μεταλλάξεις δέλτα οι γονότυποι ήταν AA και CA. Για την μετάλλαξη όμικρον ο επικρατών γονότυπος ήταν ο AA. Όσον αφορά τον πολυμορφισμό BsmI ο γονότυπος με τα υψηλότερα ποσοστά

θησιμότητας ήταν ο GA για την μετάλλαξη Άλφα, GG και GA για την Δέλτα και GG για την Όμικρον B4.5 (Al-Gharrawi et al., 2023).

Οι Peralta et al. επίσης μελέτησαν τον πολυμορφισμό TaqI με 104 Κουβανούς ασθενείς με ποικίλα συμπτώματα, θετικούς στον ιό. Ο γονότυπος tt του πολυμορφισμού (ομόζυγο για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο) εμφανίζεται σπάνια στον ανθρώπινο πληθυσμό και συνδέθηκε έντονα με υψηλότερη πιθανότητα να αναπτύξουν οι ασθενείς συμπτωματική νόσηση έως και πολύ βαριά νόσηση. Αντιθέτως οι ασθενείς με γονότυπο Tt εμφάνισαν πιο έντονη τάση για ασυμπτωματική νόσηση. Ωστόσο έγινε σαφές από τους συγγραφείς ότι το δείγμα της έρευνας ήταν αρκετά μικρό για να μπορεί να θεωρηθεί αυτή η υπόθεση ισχυρή (Peralta et al., 2021).

Το 2022 οι Balzanelli et al. μελετώντας ένα πλήθος πολυμορφισμών που αφορούν διάφορες ιντερλευκίνες, τον υποδοχέα VDR, τον παράγοντα νέκρωσης TNFα, την CRP (c-reactive protein) κ.α. κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο υποδοχέας VDR είναι από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση της βιταμίνης D. Δεδομένου αυτού ισχυρίστηκαν ότι οι αλλαγές που προκαλούνται στο μεταβολικό μονοπάτι του VDR από την υπερέκκριση των κυτοκινών και ιντερλευκινών όπως η IL-6 μειώνει την παρουσία της βιταμίνης και συχνά εντοπίζεται σε συνδυασμό με λανθασμένη νεφρική λειτουργία. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η σοβαρότητα της νοσηλείας να αυξάνεται σε ασθενείς με ήδη υπάρχουσες πνευμονικές διαταραχές ή καρδιαγγειακά νοσήματα. Πιο συγκεκριμένα στην έρευνα φάνηκε πως ο γονότυπος TC στον FokI συνδέθηκε με υψηλότερη πιθανότητα μόλυνσης ενώ ο γονότυπος TT με προστατευτικό ρόλο. Στον πολυμορφισμό BsmI ο γονότυπος CC εμφάνισε μεγαλύτερη συχνότητα στους θετικούς ασθενείς. Ο γονότυπος GG του Tak1 έδειξε προστασία απέναντι στην μόλυνση (Balzanelli et al., 2022).

Οι Mamurova et al. μελέτησαν την σύνδεση που μπορεί να έχουν οι πολυμορφισμοί της βιταμίνης D με τις μεταλλάξεις του κορονοϊού. Καθώς το γονιδίωμα του ιού αλλάζει με την πάροδο του χρόνου, προσαρμόζεται σε περιβαλλοντικές συνθήκες και επηρεάζεται από ένα σύνολο γονιδιακών αλλαγών που καθιστούν εν τέλει μια μετάλλαξή του, όπως οι Δέλτα, Βήτα, Γάμμα, Δέλτα και Όμικρον. Συγκεκριμένα ισχυρίστηκαν στην μελέτη τους ότι το T αλληλόμορφο για τον πολυμορφισμό FokI και το C για τον πολυμορφισμό TaqI βρέθηκαν να είναι στατιστικά σημαντικά συνδεδεμένα με θετικούς ασθενείς σε σχέση με αρνητικούς ασθενείς (control group), γεγονός που υποδεικνύει ότι οι ασθενείς με FokI και TaqI πολυμορφισμούς ίσως παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία στην μόλυνση και στήριξαν αυτόν τον ισχυρισμό με το γεγονός ότι ένα μεγάλο πλήθος ερευνών επιβεβαιώνει τα ευρήματά τους. Παρόλα αυτά τόνισαν ότι οι εν λόγω έρευνες δεν αποδεικνύουν την επίδραση που έχουν

οι πολυμορφισμοί στις μεταλλάξεις του ιού και την έκβαση των ασθενών. Επίσης δήλωσαν ότι δεν είχαν πρόσβαση στο ιστορικό των ασθενών, και επομένως δεν μπορούν να θεμελιώσουν τους ισχυρισμούς τους, παρά μόνο να τους θεωρήσουν άξιους περαιτέρω μελέτης (Mamurova et al., 2022).

Οι Manca et al. πραγματοποίησαν μια μελέτη με σκοπό την κατανόηση της επιρροής της βιταμίνης D σε μερικά κλινικά συμπτώματα εγκύων που νόσησαν με COVID-19. Οι συγγραφείς όρισαν την έλλειψη βιταμίνης D σε επίπεδα κάτω των 30 ng/mL. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε νοσοκομείο της πόλης Τορίνο στην Ιταλία, με 130 συμμετέχουσες, εκ των οποίων οι 23 είχαν τουλάχιστον ένα θετικό τεστ (είτε μοριακό έλεγχο, είτε έλεγχο αντισωμάτων τύπου «rapid»). Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν έδειξαν ότι όλες οι ασθενείς με τον πολυμορφισμό TaqI (VDR) και γονότυπο CC είχαν αρνητικό έλεγχο για τον ιό (Manca et al., 2022).

Πολλά κύτταρα που αποτελούν μέρος της έμφυτης και προσαρμοστικής ανοσίας εκφράζουν τον VDR. Ορισμένα από αυτά εκφράζουν το CYP27B1 για την παραγωγή της ενεργά βιολογικής βιταμίνης D. Η σηματοδότηση της βιταμίνης D και του υποδοχέα VDR φαίνεται να ρυθμίζει τις αυτοάνοσες αποκρίσεις των T-κυττάρων και τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις, καθιστώντας τον ρόλο του VDR σημαντικό για διερεύνηση στο μέλλον (Hashemi et al., 2021). Οι Dobrijevic et al. σε μια βιβλιογραφική ανασκόπηση και μετά – ανάλυση, αναζήτησαν την συσχέτιση ποικίλων πολυμορφισμών που πιθανόν να σχετίζονται με την έκβαση του ιού. Οι μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν είχαν συνολικά 8247 συμμετέχοντες θετικούς στον ιό, ενώ στην μετά-ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από 5939 άτομα. Η μετά-ανάλυση της εν λόγω μελέτης εξέτασε τους πολυμορφισμούς rs2228570 και rs731236. Το αποτέλεσμα της ανασκόπησης των συγγραφέων υποδεικνύει ότι ο πολυμορφισμός rs2228570 με ετερόζυγο γονότυπο σχετίζεται με αύξηση σοβαρότητας της νόσου ενώ για τον πολυμορφισμό rs731236 δεν βρέθηκε κάποια συσχέτιση. Σε κάποιες έρευνες εμφανίζεται και η σύνδεση του πολυμορφισμού rs2228570 με συμπτωματική λοίμωξη. Οι ίδιοι οι συγγραφείς επισημαίνουν ότι ο αριθμός των αναφορών που εξετάστηκαν δεν είναι ικανός να αποκαλύψει ή να απορρίψει μια σχέση αιτιότητας και προτείνουν η έρευνα του πεδίου να επεκταθεί (Dobrijevic et al., 2022).

Η σύγκριση των πολυμορφισμών VDR σε ασθενείς με σοβαρή και ήπια νόσο COVID-19 έγινε και σε μια μελέτη περίπτωσης από τους Mohammadifard et al. με δείγμα 85 ασθενείς που νοσηλεύτηκαν και 91 ασθενείς ήπιας νόσησης (46% και 48% ήταν άντρες αντίστοιχα). Η έρευνα υπέδειξε ότι ο γονότυπος TT (rs11568820) ήταν λιγότερο συχνός στην ομάδα

νοσηλεύομενων σε σχέση με την ομάδα των μη νοσηλεύομενων. Επίσης δεν σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές για τους γονότυπους rs7970314 και rs4334089 και στις δύο ομάδες. Κατά την προσαρμογή των υποκείμενων νοσημάτων εντοπίστηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ του rs11568820 και των ασθενών με COVID-19. Τέλος δεν παρουσιάστηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ των γονότυπων για τους πολυμορφισμούς rs7970314 και rs4334089 και της νοσηλείας, ενώ ο γονότυπος TT του rs11568820 φάνηκε να κατέχει προστατευτικό ρόλο στη σοβαρή νόσηση από τον ιό. Οι συγγραφείς έλαβαν υπόψιν την δημογραφική και κοινωνικοοικονομική κατάσταση, το κάπνισμα, την σωματική άσκηση, την χρήση ναρκωτικών, τον δείκτη μάζας σώματος και την αρτηριακή πίεση. Επιπλέον λήφθηκε πλήρες ιστορικό για την ιατρική κατάσταση και τις συννοσηρότητες των ασθενών όπως καρδιαγγειακά νοσήματα, υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης και χρόνια νεφρική νόσος (Mohammadifard et al., 2024).

Οι Protas et al. σε μια πιλοτική μελέτη με 119 πολίτες του Καζακστάν άνω των 18 ετών (γυναίκες και άνδρες), ερεύνησαν την συσχέτιση του πολυμορφισμού rs2228570 και του COVID-19. Στο συνολικό δείγμα των συμμετεχόντων δεν είχαν πραγματοποιήσει όλοι εμβολιασμό κατά του ιού τους τελευταίους 12 με 18 μήνες, ούτε λάμβαναν συμπληρώματα βιταμίνης D. Η σύγκριση επιπέδων βιταμίνης D στους θετικούς και τους αρνητικούς ασθενείς υπέδειξε ότι οι ασθενείς θετικοί στον ιό είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης D στον ορό. Οι συντάκτες επισημαίνουν ότι και στις δύο ομάδες οι ασθενείς ήταν ανεπαρκείς σε βιταμίνη D, ωστόσο στην ομάδα των κρουσμάτων με θετικό έλεγχο αντισωμάτων η έλλειψη συνέβαινε 1.5 φορές πιο συχνά. Επιπρόσθετα η έλλειψη παρουσιάστηκε κατά 22,7% περισσότερο στους θετικούς ασθενείς σε σχέση με τους αρνητικούς. Λήφθηκε υπόψιν και η ηλικία των ασθενών, ενώ δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά που να σχετίζεται με την ηλικία των ασθενών. Στα αποτελέσματα που λήφθηκαν επισημαίνεται ότι το αλληλόμορφο C του rs2228570 είναι αρνητικά συσχετιζόμενο με την πιθανότητα εμφάνισης COVID-19. Επιπλέον οι γονότυποι AC και CG σχετίζονται με χαμηλότερη πιθανότητα μόλυνσης. Ο γονότυπος CC δεν συσχετίστηκε με κάποια προστατευτική δραστηριότητα ενώ τονίζεται ότι παραμένει σπάνιος γονότυπος. Εν κατακλείδι, ο γονότυπος GG εμφάνισε συσχέτιση με πιθανότητα μόλυνσης έως και 4,131 φορές μεγαλύτερη. Οι συντάκτες τονίζουν τους περιορισμούς της μελέτης και κυρίως το μικρό δείγμα σθενών που χρησιμοποιήθηκε (Protas et al., 2023).

Οι πολυμορφισμοί του VDR, ApaI, FokI, TaqI μελετήθηκαν επίσης και από τους Alhammadin et al. Οι συμμετέχοντες ήταν στο σύνολο 100 Ιορδανοί ασθενείς (68 γυναίκες και 32 άνδρες) με θετικό τεστ COVID-19 που γονοτυπήθηκαν για παραλλαγές ApaI, FokI και TaqI και είχαν

ήδη εμβολιαστεί από τον Δεκέμβριο του 2021 έως και τον Φεβρουάριο του 2022. Τα δείγματα αίματος για την ανάλυση των γονότυπων ελήφθησαν από την 1^η Δεκεμβρίου του 2022 έως και τις 25 Φεβρουαρίου του 2023, ενώ κανένας ασθενής δεν είχε νοσήσει πρόσφατα από τον ιό. Οι συγγραφείς μελέτησαν τόσο την σοβαρότητα της νόσησης όσο και τον συσχετισμό που είχαν τα μεταλοιμώδη συμπτώματα μακράς διάρκειας σε συνάρτηση με τους τρεις πολυμορφισμούς. Οι ασθενείς ρωτήθηκαν τόσο για τις συννοσηρότητες που μπορεί να έχουν, όσο και για το αν είναι καπνιστές ή μη. Τα συμπτώματα μακράς διάρκειας ορίστηκαν από τους συγγραφείς οποιαδήποτε ξεπερνούν σε διάρκεια τις 4 εβδομάδες και οι ασθενείς χωρίστηκαν σε πέντε κατηγορίες ανάλογα με την σοβαρότητά της κλινικής εικόνας: ασυμπτωματική, ήπια, μέτρια, σοβαρή και κρίσιμη. Από τους εξεταζόμενους πολυμορφισμούς, μόνο ο TaqI παρουσίασε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την σοβαρότητα των συμπτωμάτων μετά την μόλυνση. Πιο συγκεκριμένα ο γονότυπος «άγριου τύπου» (wild type), φάνηκε να παρουσιάζεται σε ασθενείς με ήπια νόσο, ενώ σε ασυμπτωματικούς ασθενείς κυριαρχούσε ο ετερόζυγος γονότυπος. Επιπρόσθετα ο ετερόζυγος γονότυπος ApaI και ο γονότυπος άγριου τύπου TaqI συνδέθηκαν με έντονη κόπωση και μυϊκό πόνο μετά την λοίμωξη από τον ιό. Ασθενείς ανέφεραν συμπτώματα αυτής της περιγραφής ακόμη και ένα μήνα μετά την εισαγωγή του ιού στο σώμα. Επιπλέον ο γονότυπος TaqI φάνηκε να έχει έντονη συσχέτιση με επίμονη δύσπνοια μετά τον COVID-19. Πιο αναλυτικά η έντονη δύσπνοια ήταν συχνότερη για στα ομόζυγα άτομα απ' ότι σε άτομα με άγριου τύπου γονότυπο ή ετερόζυγο γονότυπο (Alhammadin et al., 2023).

Οι Ochoa-Ramírez et al, ερεύνησαν επίσης την συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών FokI και TaqI του γονιδίου VDR, με στόχο την αναζήτηση συσχέτισης των πολυμορφισμών αυτών και της έκβασης της COVID-19. Πρόκειται για μια μελέτη κοορτής που πραγματοποιήθηκε το 2023 στο Γενικό Νοσοκομείο «Bernardo J, Gastelum» στο Μεξικό με 292 θετικούς ασθενείς, οι οποίοι χωρίστηκαν σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την σοβαρότητα της υγείας τους (μέτρια, σοβαρή και κρίσιμη). Η έρευνα πραγματοποιήθηκε μόνο με ενήλικες μεξικανικής καταγωγής και δεν περιελάμβανε ασθενείς που είχαν νοσήσει ξανά με την ασθένεια της COVID-19, καθώς και ασθενείς που ήταν θετικοί στον HIV. Μετά την στατιστική ανάλυση λήφθηκε το συμπέρασμα ότι η συχνότητα των δύο SNPs, FokI (αλληλόμορφο T) και TaqI (αλληλόμορφο C), ήταν αυξημένη σε ασθενείς με σοβαρή έκβαση της νόσου, όταν αυτοί εντοπίζονταν μαζί σε έναν ασθενή (απλότυπος TC). Αντιθέτως οι συσχετίσεις δεν ήταν σημαντικές για τους δύο αυτούς πολυμορφισμούς όταν οι στατιστικές αναλύσεις γίνονταν ξεχωριστά για τον καθένα. Επιπρόσθετα ο απλότυπος CC βρέθηκε αυξημένος στους ασθενείς με θετική έκβαση. Οι

ερευνητές καθιστούν σαφές ότι δεν εντοπίστηκε απόλυτη συσχέτιση των πολυμορφισμών με τον κίνδυνο θανάτου ή με την σοβαρότητα της έκβασης, παρόλα αυτά παρατηρήθηκε η συχνότητα του απλότυπου TC στην ομάδα των ασθενών σε κρίσιμη κατάσταση (Ochoa-Ramírez et al., 2024).

Οι Visacri et al. μελέτησαν τους πολυμορφισμούς του γονιδίου VDR ως συνάρτηση της κακής έκβασης της νόσησης. Με μια βιβλιογραφική ανασκόπηση που στο σύνολο περιελάμβανε 12 μελέτες, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι κάποιοι πολυμορφισμοί ίσως να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί παράγοντες για την μη ομαλή νόσηση των ασθενών. Πιο συγκεκριμένα με την κακή έκβαση συνδέθηκαν οι πολυμορφισμοί rs1544410 με γονότυπους Bb και bb, γεγονός που φανερώνει μια πιθανή αιτιακή σχέση μεταξύ του αλληλόμορφου B και της βαριάς νόσησης. Επίσης υπήρξε συσχετισμός και για τους πολυμορφισμούς: rs731236 (TT και Tt), επομένως για το αλληλόμορφο T, rs7975232 (AA και Aa), όπου το αλληλόμορφο A φαίνεται να συνδέεται με την κακή έκβαση και τέλος ο rs2228570 (Ff και ff), όπου εμφανίζεται συσχετισμός για το αλληλόμορφο f (Regina da Silva Correa da Ronda et al., 2024).

Οι Aci et al, εξέτασαν την επίδραση του πολυμορφισμού BsmI του VDR στους θετικούς ασθενείς με COVID-19. Η μελέτη είχε 80 συμμετέχοντες που νοσηλεύονταν και 110 υγιή άτομα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου. Πρόκειται για μια μελέτη περίπτωσης που περιελάμβανε μόνο ασθενείς οι οποίοι νοσηλεύτηκαν με ηλικίες από 20 έως 83 ετών. Από τους 80 ασθενείς που νοσηλεύτηκαν, 30 ήταν στην μονάδα εντατικής θεραπείας και οι υπόλοιποι σε θάλαμο. Μετά τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα της βιταμίνης D, καθώς επίσης και τα επίπεδα των λεμφοκυττάρων ήταν χαμηλότερα στους θετικούς ασθενείς σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Τα συμπεράσματα των ερευνητών μετά την στατιστική ανάλυση υποδεικνύουν ότι ο γονότυπος BB του πολυμορφισμού BsmI είναι συσχετισμένος με υψηλότερο επίπεδο βιταμίνης D συγκριτικά με τους άλλους δύο γονότυπους (Bb και bb). Το αλληλόμορφο b εμφανίζεται συχνά σε ασθενείς που νοσηλεύτηκαν αλλά δεν συσχετίζεται και με την εισαγωγή σε ΜΕΘ (Aci et al., 2024).

Οι Jafarpoor et al, μελέτησαν την συσχέτιση των πολυμορφισμών του VDR και VDBP και της ευαισθησίας στην μόλυνση από COVID-19. Η έρευνα είναι μια μελέτη περίπτωσης με 188 ασθενείς που νοσηλεύτηκαν και 218 ασθενείς με ήπια συμπτώματα ως ομάδα ελέγχου. Από την εν λόγω έρευνα δεν έγιναν αντιληπτές σημαντικές διαφορές στην συχνότητα των πολυμορφισμών ApaI και TaqI του VDR. Με βάση την στατιστική ανάλυση προέκυψαν σημαντικές διαφορές στο γονίδιο FokI, στο οποίο ο γονότυπος CT συσχετίστηκε με υψηλότερη ευαισθησία κατά της COVID-19 σε σύγκριση με τον γονότυπο CC (Jafarpoor et al., 2022).

Οι Al-Mohammedawi et al, πραγματοποίησαν μια μελέτη στην οποία εξετάστηκε η σχέση που έχουν οι πολυμορφισμοί CDX2 και EcoRV του VDR με την ευαισθησία της COVID-19 και την θνητότητα των ασθενών. Συνολικά έλαβαν μέρος 3.184 ασθενείς εκ των οποίων 1.450 απεβίωσαν και 1.734 ανάρρωσαν. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν δείχνουν ότι οι ασθενείς με την μετάλλαξη Δ (Δέλτα) είχαν χαμηλότερη συγκέντρωση βιταμίνης D και μεγαλύτερα ποσοστά θνησιμότητας. Ο πολυμορφισμός CDX2, και συγκεκριμένα ο γονότυπος AA, φάνηκε να συσχετίστηκε με υψηλότερη θνησιμότητα για τις παραλλαγές Δ και Ο (Όμικρον B4.5), ενώ για τον πολυμορφισμό EcoRV οι γονότυποι TC και CC είχαν αυξημένη εμφάνιση στις περιπτώσεις θνησιμότητας στην μετάλλαξη Δ. Τέλος ο απλότυπος TG ήταν συχνότερος σε όλες τις παραλλαγές και ο απλότυπος CA συνδέθηκε με αυξημένη θνησιμότητα στις παραλλαγές Δ και Ο (Al-Mohammedawi et al., 2023).

2.2.2. VDBP

Οι κύριοι πολυμορφισμοί της VDBP είναι οι rs7041 και rs4588 και έχουν ως αποτέλεσμα 3 αλληλόμορφα. Ο πολυμορφισμός rs7041 μπορεί να έχει τις βάσεις T ή G, οι οποίες φυσικά θα κωδικοποιούν διαφορετικά αμινοξέα κατά την διαδικασία της πρωτεϊνσύνθεσης και ο rs4588 μπορεί να έχει τις βάσεις C και A που και πάλι παράγουν διαφορετικά αμινοξέα. Ο απλότυπος DBP1F περιέχει την βάση T στο rs7041 και έτσι κωδικοποιεί το Asp (ασπαρτικό οξύ) και την βάση C στο rs4588, που κωδικοποιεί την Thr (θρεονίνη). Ο DBP1S έχει την βάση G στο rs7041 και κωδικοποιεί το Asp και την C στο rs4588 που κωδικοποιεί την Thr. Τέλος ο απλότυπος DBP2 έχει την βάση T στο rs7041 και κωδικοποιεί το Asp και A στο rs4588 και κωδικοποιεί την Lys (λυσίνη). Οι Speeckaert et al., μελέτησαν την συχνότητα του αλληλόμορφου DBP1 (DBP1F και DBP1S σε 55 χώρες σε σχέση με τις μολύνσεις και του θανάτους κάθε χώρας. Οι ισχυρισμοί τους καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η υψηλότερη συχνότητα του αλληλόμορφου DBP1 σχετίζεται με χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης του ιού και μείωση της θνησιμότητας. Παρόλα αυτά οι πολυμορφισμοί rs7041 και rs4588 εξηγούν μόλις το 9,9% της συνολικής 25(OH)D, η οποία επηρεάζεται και από πολυμορφισμούς σε άλλα γονίδια (Speeckaert et al., 2021).

Η VDBP παράγεται κυρίως στο ήπαρ και ρυθμίζει τους μεταβολίτες της βιταμίνης D. Η ίδια ρυθμίζεται από οιστρογόνα, γλυκορτικοειδή και φλεγμονώδεις κυτοκίνες. Ανάμεσα στους πολυμορφισμούς rs7041 και rs4588, τα υψηλότερα επίπεδα 25(OH)D αποδείχθηκε ότι σχετίζονται με ανθρώπους με γονότυπο AA εντός του τόπου rs4588, ενώ ασθενείς με γονότυπο

GG έχουν δείξει λιγότερα επίπεδα 25(OH)D μετά την ίδια δόση συμπληρώματος (Alshahawey, 2021).

Οι Karcioğlu Batur & Hekim, πραγματοποιώντας μια έρευνα με 51 υγιείς ασθενείς με μέσο όρο ηλικίας τα 51 έτη από πληθυσμούς διαφόρων χωρών, σύγκριναν τους πολυμορφισμούς rs7041 και rs4588 με την σοβαρότητα της νόσησης από COVID-19. Η σύγκριση των πληθυσμών έδειξε πως στην Κίνα, την Ιαπωνία, την Νιγηρία και την Κένυα οι γονότυποι είναι κυρίως TT ως προς τον πολυμορφισμό rs7041 ενώ στην Γερμανία, την Ιταλία, την Τσεχία, το Μεξικό και την Τουρκία οι γονότυποι είναι κυρίως GT. Για τον πολυμορφισμό rs4588 οι πληθυσμοί όλων των χωρών είναι περισσότερο CC με εξαίρεση την Τουρκία και την Φιλανδία όπου ο επικρατεί ο γονότυπος AC. Η καταγραφή του επιπολασμού και των ποσοστών θνησιμότητας έδειξαν υψηλή συσχέτιση με τον γονότυπο GT (rs7041) ενώ ο γονότυπος TT είχε αρνητική συσχέτιση. Ως επί το πλείστον δεν διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού rs4588 και της θνησιμότητας (Karcioğlu Batur & Hekim, 2021).

Η VDBP εκφράζεται κυρίως στον ηπατικό ιστό και η έκφρασή της επηρεάζεται από ποικίλους παράγοντες όπως τα οιστρογόνα, τα γλυκοκορτικοειδή και οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες. Η συγγένεια που θα έχει η VDBP εξαρτάται από τα αλληλόμορφα που θα επικρατήσουν. Τα αλληλόμορφα Gc1s (rs 7041) και Gc2 (rs4588) αυξάνουν την συγγένεια της βιταμίνης D και της πρωτεΐνης πρόσδεσης, ώστε η βιταμίνη D να συνδέεται λιγότερο. Έτσι προκύπτει ότι τα άτομα που παρουσιάζουν τον γονότυπο GG για τον πολυμορφισμό rs4588 έχουν χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης από εκείνα που παρουσιάζουν γονότυπο AA, μετά την λήψη συμπληρώματος βιταμίνης D. Συμπερασματικά προκύπτει ότι από τις μελέτες μπορούν να προκύψουν ποικίλα συμπεράσματα που αφορούν την σοβαρότητα έκβασης του ιού, τα οποία δεν αποκλείεται να οφείλονται σε πολυμορφισμούς του VDBP (Hashemi et al., 2021).

Οι Batur et al. σε έρευνα με 56 ασθενείς τουρκικής καταγωγής, εξέτασε την επίδραση των πολυμορφισμών VDBP στην έκβαση του ιού. Η μελέτη περιελάμβανε ασθενείς με θετικό PCR έλεγχο, που δεν είχαν λάβει κάποιο συμπλήρωμα βιταμίνης D το τελευταίο διάστημα και που δεν είχε εντοπιστεί κάποια υποκείμενη νόσος που να σχετίζεται με τον μεταβολισμό της βιταμίνης D. Οι ασθενείς ομαδοποιήθηκαν ως προς την σοβαρότητα της έκβασής τους. Διαπιστώθηκε ότι η ανεπάρκεια βιταμίνης ήταν πιο συχνή σε ασθενείς νοσηλευόμενους στην ΜΕΘ λόγω του ιού. Επιπρόσθετα οι συγγραφείς παρατήρησαν ότι υπήρχαν διαφορές στο ποσοστό ασθενών που νοσηλεύτηκαν, ανάλογα με τους πολυμορφισμούς του γονιδίου VDBP, κυρίως στους γονότυπους του SNP rs7041. Η VDBP προτείνεται ότι λειτουργεί ως δεξαμενή αποθήκευσης για την 25(OH)D, ελέγχοντας έτσι την διαθεσιμότητά της. Τέλος η μελέτη

υποστηρίζει ότι υπάρχει μεγάλη πιθανότητα γενετικής προδιάθεσης που να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην πορεία του SARS-CoV-2, καθώς και ότι οι πολυμορφισμοί συμβάλλουν στην ποσότητα και την λειτουργικότητά της. Το τελευταίο προκύπτει ως απόρροια του γεγονότος ότι οι πολυμορφισμοί της VDBP επηρεάζουν την πρόσδεση και την συγκέντρωσή της DBP στο αίμα. Έτσι η συγκέντρωση της διαθέσιμης βιταμίνης D μεταβάλλεται, μειώνοντας ενδεχομένως την ανοσολογική απόκριση. Οι συγγραφείς αναγνωρίζουν ότι το δείγμα της μελέτης ήταν περιορισμένο, καθώς και ότι οι συμμετέχοντες ήταν μόνο τουρκικής καταγωγής. Αναφέρουν δε και άλλους συγχυτικούς παράγοντες που δεν λήφθηκαν υπόψιν όπως η αρχική κατάσταση της υγείας των ασθενών, κοινωνικοοικονομικοί παράγοντες καθώς και πιθανά υποκείμενα νοσήματα (Karcio et al., 2024).

Μια μελέτη περίπτωσης που δημοσιεύτηκε πολύ πρόσφατα, μόλις τον Δεκέμβριο του 2024 από τους Hamed et al. στο νοσοκομείο «General Suez Hospital», στην Ισμαηλία της Αιγύπτου, πραγματοποιήθηκε για την εξέταση των πολυμορφισμών rs7041 και rs4588 και τον πιθανό συσχετισμό τους με την έκβαση του ιού. Το δείγμα αποτελούνταν από 220 ασθενείς μεταξύ των οποίων 140 θετικοί στον ιό και 80 δείγματα ελέγχου (αρνητικοί, υγιείς ασθενείς). Διαπιστώθηκε και στις δύο ομάδες ασθενών ανεπάρκεια βιταμίνης D. Η ομάδα με τους νοσούντες ωστόσο είχε σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης, τα οποία διέφεραν ανάλογα με την σοβαρότητα της νόσου. Οι συντάκτες προτείνουν ότι υπάρχει αιτιακή σχέση ανάμεσα στα επίπεδα της βιταμίνης και της έκβασης της νόσου, καθώς επίσης ότι η έλλειψη μπορεί να αποτελέσει ακόμη και προγνωστικό παράγοντα έναντι στην έκβαση του ιού. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής υποδεικνύουν ότι οι πολυμορφισμοί rs4588 (με γονότυπο CA) και rs7041 (με γονότυπο TT) είχαν αρνητική συσχέτιση με την επικράτηση του COVID-19, δηλαδή οι ασθενείς που φέρουν αυτούς τους γονότυπους εμφανίζουν μειωμένη πιθανότητα εμφάνισης της νόσου. Επιπλέον διαπιστώθηκε ότι κανένας γονότυπος του rs4588 και του rs7041 δεν είχε σημαντική συσχέτιση με την σοβαρότητα της νόσησης. Τέλος διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των γονότυπων CA (rs4588) και TG (rs7041) με την θνησιμότητα, γεγονός που μεταφράζεται ως αυξημένη πιθανότητα θανάτου στα άτομα που φέρουν αυτόν τον γονότυπο. Το γονίδιο της πρωτεΐνης που δεσμεύει την βιταμίνη D (DBP), γνωστό αρχικά ως Gc-σφαιρίνη, είναι σημαντικό για τα επίπεδα της βιταμίνης στο σώμα, καθώς διαθέτει μία θέση πρόσδεσης για όλους τους μεταβολίτες της, ενώ έχει υψηλή συγγένεια με τους 25(OH)D και 1,25(OH)₂D. Έτσι είναι η το κύριο μέσο μεταφοράς της βιταμίνης και κωδικοποιείται από το γονίδιο Gc. Τα δύο επικρατέστερα αλληλόμορφα της είναι το Gc1s (rs7041) και το Gc2 (rs4588). Κατά την εισαγωγή του ιού στον οργανισμό, ξεκινά μια σειρά ανοσολογικών

απαντήσεων με φλεγμονώδη αντίδραση που περιλαμβάνουν έκκριση ιντερλευκινών, παράγοντα διέγερσης αποικίων κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων, ιντερφερόνη, παράγοντα νέκρωσης όγκου κ.α. Έτσι δημιουργείται μια ταχύτατη φλεγμονώδης απάντηση και ο ασθενής παρουσιάζει σύντομα συμπτώματα όπως πυρετό, υπόταση, οίδημα, και σε σοβαρές περιπτώσεις θάνατο. Η βιταμίνη D διεγείρει το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα (κυρίως μονοκύτταρα και μακροφάγα) και έτσι αναστέλλει την συνεχή ενεργοποίηση του προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος. Προάγεται έτσι η διαφοροποίηση των κυττάρων και προωθείται η παραγωγή αντιμικροβιακών πολυπεπτιδίων του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος και η μείωση καταγίδας κυτοκινών. Μεταξύ άλλων αναστέλλεται η δράση των T-βοηθητικών κυττάρων τύπου 1 (TH1) και αυξάνεται ο αριθμός των T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων (Tregs), τα οποία σε γενικές γραμμές είναι ανεπαρκή στα άτομα που νοσούν από COVID-19. Έτσι ρυθμίζεται στο σύνολο η υπερβολική φλεγμονώδης αντίδραση που προκαλείται από τον ιό και διατηρείται η ομοιόσταση χωρίς να υπάρξει σοβαρή έκβαση του ασθενούς (Hamed et al., 2024).

2.2.3. ΑΛΛΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ

Οι Freitas et al., σε μελέτη που έγινε το 2021 σε 491 ασθενείς σε νοσοκομεία της Πορτογαλίας (217 άντρες και 266 γυναίκες) με μέσο όρο ηλικίας τα 70 έτη εξέτασαν την συσχέτιση πολυμορφισμών και θανάτων ή σοβαρών περιστατικών με COVID-19. Από τους 491 θετικούς ασθενείς, 120 είχαν έλλειψη βιταμίνης D, 311 ανεπάρκεια και 59 επάρκεια. Οι συγγραφείς διαχώρισαν τους πολυμορφισμούς σε τέσσερα στάδια: Σύνθεση, Μεταβολισμό, Μονοπάτι και συνολική Βιταμίνη D. Συνέδεσαν την σύνθεση με τους πολυμορφισμούς DHCR7 και CYP2R1, τον μεταβολισμό με τα γονίδια GC και CYP24A1 που επίσης εντοπίζονται πολυμορφισμοί, το μονοπάτι, δηλαδή την διαδρομή της βιταμίνης D στο σώμα με τα γονίδια DHCR7, CYP2R1, GC και CYP24A1 και τέλος την συνολική βιταμίνη με βάση τα γονίδια DHCR7, CYP2R1, GC, CYP2R1, AMDHD1 και SEC23A. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν έκαναν λόγο για συσχέτιση του μεταβολισμού με την σοβαρότητα του ιού και συγκεκριμένα με τον πολυμορφισμό GC rs22822679 στην VDBP. Μεταξύ άλλων η μελέτη αναφέρει ότι τα επίπεδα της βιταμίνης D ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλά σε σχέση με τους ασθενείς που επέζησαν (Freitas et al., 2021).

Έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο Καζακστάν το 2022 και περιελάμβανε 185 θετικούς ασθενείς με ήπια συμπτώματα είχε ως στόχο να γίνει αντιληπτό αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του μεταβολισμού της βιταμίνης D και των ασυμπτωματικών ασθενών. Τα αποτελέσματα

έδειξαν ο πολυμορφισμός rs6127099 του CYP24A1 ενζύμου σχετίζεται στατιστικά σημαντικά με την πιθανότητα να μην εμφανίσει κάποιος ασυμπτωματική λοίμωξη. Πιο συγκεκριμένα ασθενείς που έχουν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο T στο rs6127099 εμφανίζουν μεγαλύτερη πιθανότητα να είναι ασυμπτωματικά σε σύγκριση με ανθρώπους που φέρουν τον γονότυπο AA. Έτσι προκύπτει ότι οι γονότυποι AA και AT έχουν 0.32 φορές την πιθανότητα να είναι ασυμπτωματικοί σε σχέση με τους AA. Επίσης το G αλληλόμορφο του rs731236 TaqI του VDR γονιδίου, η επικρατής μετάλλαξη rs10877012 (CYP27B1), η υπολειπόμενη rs1544410 BsmI (VDR) και rs7041 (GC) είχαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση σε ένα από τα μοντέλα μεταβλητών που χρησιμοποιήθηκαν και επομένως χρήζουν περαιτέρω έρευνας (Sarría-Santamera et al., 2023).

Οι Al-Anouti et al. στα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα, εξέτασαν 646 ασθενείς θετικούς στο ιό στην προσπάθεια τους να διαπιστώσουν εάν υπάρχει πιθανή σύνδεση στην έκβαση του ιού σε σχέση με τους γενετικούς παράγοντες. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, με βάση την σοβαρότητα της νοσηλείας τους. Το 63% των ασθενών παρουσίασε έλλειψη στην βιταμίνη. Φυσικά στην μελέτη διαπιστώθηκε ότι η ηλικία, ο δείκτης μάζας σώματος και τα υποκείμενα νοσήματα έχουν έντονη σύνδεση με την σοβαρότητα της νόσου. Ο γονότυπος AA στον πολυμορφισμό rs59241277, ο CC στον πολυμορφισμό rs113574864, ο GG στον rs182901986, ο TT στον rs60349934, ο GG στον rs113876500 στο γονίδιο GC συνδέθηκαν με κρίσιμη έκβαση του COVID-19. Επιπλέον οι γονότυποι: AA στον πολυμορφισμό rs4944076, ο GG στον rs4944997, ο GG στον rs4944998, ο GG στον rs4944979, ο AA στον rs10898210 στο γονίδιο DHCR7/NADSYN1 συνδέθηκαν με σοβαρή έκβαση. Τέλος για το γονίδιο του VDR, ο γονότυπος TT στον πολυμορφισμό rs11574018 και ο GG στον πολυμορφισμό rs11574024 ήταν σημαντικοί (Al-Anouti et al., 2021).

Η μελέτη γύρω από την σύνδεση των πολυμορφισμών και του ιού έχει αναπτυχθεί σε μελέτες κοορτής, συστηματικές μελέτες, έρευνες περίπτωσης και φυσικά σε μελέτες συστηματικής ανασκόπησης. Μια εξ αυτών που πραγματοποιήθηκε από τους Giatraki et al. και αφορούσε 26 έρευνες έως και τον Μάιο του 2023 εξετάστηκε μεθοδικά η επίδραση των πολυμορφισμών στην εισβολή του ιού στο σώμα, σε παιδιά. Τα δεδομένα από 11 ποσοτικές μελέτες αποκαλύπτουν ότι το 43.05% των παιδιών που νόσησαν από τον ιό είχαν χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D. Η μελέτη επίσης έδειξε ότι τα παιδιά θετικά στον ιό και με Πολυσυστηματικό Φλεγμονώδες Σύνδρομο στα Παιδιά (Multisystem Inflammatory Syndrome in Children – MIS-C), είχαν έλλειψη βιταμίνης D (Giatraki et al., 2024).

Οι Diker et al. μελέτησαν ασθενείς θετικούς στον COVID-19 σε δύο νοσοκομεία. Οι συμμετέχοντες ήταν στο σύνολο 37 θετικοί ασθενείς (εκ των οποίων 13 γυναίκες) και 51 αρνητικούς ασθενείς, εκ των οποίων 34 γυναίκες. Και οι δύο κατηγορίες ασθενών είχαν μειωμένα επίπεδα βιταμίνης D, ενώ στην στατιστική ανάλυση διαπιστώθηκε σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ της DBP και της παραμονής σε μονάδα εντατικής θεραπείας. Παρόλα αυτά δεν υπήρξε συσχέτιση των επιπέδων DBP και της θνησιμότητας σε όλους τους ασθενείς που εισάχθηκαν σε ΜΕΘ. Οι συγγραφείς τονίζουν ότι τα δεδομένα που λήφθηκαν από την έρευνά τους είναι αντίθετα από την μέχρι τώρα βιβλιογραφία και δείχνουν ότι η DBP είναι αρκετά σημαντικά χαμηλότερη σε ασθενείς θετικούς στον ιό που νοσηλεύτηκαν σε μονάδες εντατικής θεραπείας με βαριά νόσηση (Diker et al., 2024).

2.2.4. ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΜΕ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΕΜΒΟΛΙΑ

Οι Píec et al. στην προσπάθειά τους να ερευνήσουν την σχέση που πιθανόν να δημιουργείται ανάμεσα στην βιταμίνη D και του εμβολίου της εταιρείας Pfizer (BNT162b2), συνέλεξαν δείγματα αίματος από υγειονομικούς υπαλλήλους οι οποίοι έλαβαν την πρώτη δόση του εμβολίου. Η μελέτη συμπεριελάμβανε στο σύνολο 105 εργαζόμενους που εξετάστηκαν τουλάχιστον μία φορά για έλεγχο αντισωμάτων πριν τον εμβολιασμό. Εξαιρέθηκαν εκείνοι που είχαν ήδη μετρήσιμα αντισώματα και εκείνοι που δεν είχαν κάποια μετατροπή στον ορό μετά τον εμβολιασμό, αφήνοντας τελικά 97 ασθενείς. Ο μέσος όρος ηλικίας ήταν τα 40 έτη και οι συμμετέχοντες ήταν γυναίκες και άντρες από διάφορες φυλές. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι σε όλους τους υπαλλήλους ο μέσος όρος των αντισωμάτων (anti-Spike IgG) αυξήθηκε το μέγιστο στις πρώτες 3.2 κατά μέσο όρο εβδομάδες μετά τον εμβολιασμό. Στην συνέχεια υπήρχε σταθερή μείωση αντισωμάτων. Ο δείκτης μάζας σώματος εξετάστηκε και δεν φάνηκε να έχει κάποια συσχέτιση με την παραγωγή των αντισωμάτων, σε αντίθεση με την ηλικία που η αύξησή της μείωνε το μέγιστο της παραγωγής αντισωμάτων. Παρόλα αυτά μετά την 8^η εβδομάδα τα αντισώματα σε όλους τους εμβολιασμένους ήταν περίπου τα ίδια. Οι συγγραφείς εν τέλει προτείνουν ότι η βιταμίνη D βοηθάει στην παραγωγή αντισωμάτων και είναι αποδοτικότερη η δράση πιθανού εμβολιασμού όταν τα επίπεδά της είναι φυσιολογικά στο ορό (Píec et al., 2022).

Με το ξέσπασμα της πανδημίας πολλές επιστημονικές ομάδες επικεντρώθηκαν στην παρασκευή εμβολίων ενώ άλλες αναζήτησαν πως ο ιός μπορεί να προκαλέσει λιγότερα προβλήματα μέσω της συνολικής ενίσχυσης του ανοσοποιητικού συστήματος. Έτσι εξετάστηκαν πολλές βιταμίνες, ιχνοστοιχεία και μακροσυστατικά ώστε να γίνει σαφές πως μπορεί να βοηθηθεί περαιτέρω η άμυνα του οργανισμού. Οι Alam et al. σε μια σύντομη ανασκόπηση το 2021 παρουσιάζουν τις επιρροές της βιταμίνης D και του ιού στο αμυντικό σύστημα και συνιστούν ότι συμπληρωματικά με τον εμβολιασμό θα έπρεπε οι ασθενείς να λαμβάνουν συμπληρώματα, να κοιμούνται και να ξεκουράζονται επαρκώς, να αποφεύγουν αγχογόνες συνθήκες και να γυμνάζονται. Τονίζουν ότι ο εμβολιασμός είναι μείζονος σημασίας αλλά δεν είναι η απόλυτη λύση για τον τερματισμό της πανδημίας καθώς η βιταμίνη D και άλλα συμπληρώματα σίγουρα μπορούν να ενισχύσουν την άμυνα των ασθενών (Shah Alam et al., 2021).

2.2.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΜΕ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΜΑΚΡΑΣ ΔΙΑΡΚΕΙΑΣ

Οι Gomaa et al. αξιολόγησαν την κλινική αποτελεσματικότητα της βιταμίνης D στην COVID-19 και στα συμπτώματα μακράς διάρκειας από την μόλυνση COVID-19. Πραγματοποίησαν έτσι μια ανασκόπηση με βιβλιογραφικές αναφορές από τον Ιανουάριο του 2022 έως τον Αύγουστο του 2023. Η διαφοροποίηση αυτή των ανασκοπήσεων φαίνεται να σχετίζεται έντονα με τους πολυμορφισμούς του γονιδίου VDR και του πολυμορφισμούς του γονιδίου DBP και προτείνει την μετφορμίνη ως υποσχόμενο φάρμακο για την βελτίωση της ευαισθησίας του VDR. Σε συνδυασμό με την βιταμίνη D η μετφορμίνη φαίνεται να αποτελεί θεραπευτική στρατηγική κατά του SARS-CoV-2. Η μετφορμίνη συμπεριλαμβάνεται στα φάρμακα που χορηγούνται για τον διαβήτη τύπου II. Το φάρμακο αυτό φαίνεται ότι μπορεί να βελτιώσει την ευαισθησία του υποδοχέα της βιταμίνης D μέσω της ενεργοποίησης του AMPK ή και μέσω ρύθμισης σηματοδοτικών μονοπατιών. Οι συντάκτες υποστηρίζουν ότι υπάρχουν αναφορές στην βιβλιογραφία που υποστηρίζουν ότι η μετφορμίνη μειώνει την θνησιμότητα από την COVID-19 όπως επίσης και την πιθανότητα εμφάνισης συμπτωμάτων μακράς διάρκειας από τον SARS-Cov-2 (Gomaa et al., 2023).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η βιταμίνη D ανακαλύφθηκε το 1918 από τον Elmer McCollum και συνδέεται στενά με την ασθένεια της ραχίτιδας. Ο συσχετισμός της με την νόσο αυτή, αποτέλεσε την αρχή για να αναπτυχθεί ένα τεράστιο πεδίο έρευνας σχετικά με την σύνδεση που έχει η βιταμίνη με το αμυντικό σύστημα του οργανισμού. Κατά κύριο λόγο η βιταμίνη D συντίθεται στο δέρμα από πρόδρομα μόρια αλλά μπορεί και να ληφθεί διατροφικά και να μετατραπεί στο ήπαρ στην ενεργό μορφή 1,25(OH)D. Η ενεργός της μορφή μπορεί να δράσει σε ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα και σε ενεργοποιημένα B λεμφοκύτταρα.

Η περαιτέρω μελέτη της βιταμίνης D απέδειξε ότι πολλοί γενετικοί παράγοντες, όπως πολυμορφισμοί είναι υπεύθυνοι για την επάρκεια ή την ανεπάρκεια της βιταμίνης με αποτέλεσμα να εξετάζεται έντονα η αιτιακή σχέση που μπορεί να υπάρξει ανάμεσα στους γενετικούς πολυμορφισμούς και στην έκβαση ποικίλων ασθενειών. Με αφορμή την πανδημία που εκδηλώθηκε το 2019, έχει αναπτυχθεί ένα σπουδαίο ερευνητικό πλαίσιο για την μελέτη του συσχετισμού της βιταμίνης D και της νόσου COVID-19.

Μια πληθώρα ερευνητών ανά τον κόσμο έχει μελετήσει αυτόν τον συσχετισμό. Η βιβλιογραφία είναι αρκετή τόσο για τον συσχετισμό των πολυμορφισμών της βιταμίνης με τον ιό SARS-CoV-2, όσο και με γενικότερη αλληλεπίδραση που μπορεί να έχουν. Οι ερευνητικές μελέτες πάνω στο θέμα δεν περιορίζονται γεωγραφικά, ηλικιακά ή φυλετικά και καταλήγουν σε διάφορα συμπεράσματα. Κάποιες μελέτες έχουν αρκετούς περιορισμούς, με τον πιο συχνό περιορισμό να είναι το μικρό δείγμα συμμετεχόντων. Όπως πολλοί ερευνητές έχουν επισημάνει το περιορισμένο δείγμα ασθενών δεν φαίνεται να καλύπτει το ενδεχόμενο ο συσχετισμός να είναι στην πραγματικότητα ο ακριβώς αντίθετος από αυτόν που μελετάται και έτσι να εξάγονται αληθοφανή αλλά λανθασμένα συμπεράσματα. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση του συσχετισμού των γενετικών πολυμορφισμών της βιταμίνης D και του COVID-19, πολλοί ερευνητές ισχυρίζονται ότι υπάρχουν άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα της βιταμίνης οι οποίοι όμως δεν μπορούν με κάποια στατιστική μέθοδο να απορριφθούν. Προτείνουν ότι η ηλικία των ασθενών και πολλά υποκείμενα νοσήματα είναι ταυτόχρονα υπεύθυνα και για την χαμηλή βιταμίνη D και για την κακή έκβαση της COVID-19, την διασωλήνωση και πολλές φορές και των θάνατο. Ακόμη και οι έρευνες που βρίσκουν θετική συσχέτιση των δυο παραγόντων πολλές φορές τονίζουν ότι η συσχέτιση αυτή γίνεται πιο σαφής σε μεγαλύτερες ηλικίες, γεγονός που ενισχύει τον ισχυρισμό ότι η ηλικία ίσως αποτελεί

βασικό παράγοντα επιρροής. Άλλες μελέτες μεγαλύτερου δείγματος που δεν εντοπίζουν συσχετισμό μεταξύ των παραγόντων, προτείνουν ότι η ανεπάρκεια που εντοπίζεται σε ασθενείς θετικούς στον ιό, ίσως αποτελεί αποτέλεσμα της λοίμωξης του αναπνευστικού και ουσιαστικά προκύπτει μετά την λοίμωξη από τον ιό. Κάποιοι συγγραφείς επίσης αναφέρουν ότι ο εγκλεισμός που αναπόφευκτα θα υπάρξει για έναν ασθενή μπορεί επίσης να αποτελεί παράγοντα μείωσης των επιπέδων της βιταμίνης D.

Στο γενικότερο ερευνητικό πλαίσιο οι απόψεις των ερευνητών διίστανται. Οι έρευνες που αφορούν λιγότερους ασθενείς και ίσως περιορίζονται ακόμη και σε δείγμα κάτω των 100 ατόμων, στην πλειοψηφία τους βρίσκουν μια θετική συσχέτιση ανάμεσα στους γενετικούς πολυμορφισμούς και στην έκβαση του SARS-CoV-2. Αντίθετα οι μελέτες Μεντελιανής Τυχαιοποίησης, οι οποίες χρησιμοποιούν γενετικές παραλλαγές που κατανέμονται τυχαία στον πληθυσμό, ως επί το πλείστον δεν υποδεικνύουν ότι υπάρχει αιτιακή σχέση.

Εν κατακλείδι η έρευνα γύρω από τους γενετικούς πολυμορφισμούς της βιταμίνης D χρήζει περαιτέρω έρευνας. Οι μελέτες μεγάλου βεληγεκούσ σίγουρα παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες οι οποίες δεν επηρεάζονται από περιβαλλοντικούς παράγοντες με αποτέλεσμα να αποφεύγονται ολοένα και περισσότερα ασαφή συμπεράσματα. Παρόλα αυτά υπάρχει ένας ικανός αριθμός ερευνών που η συσχέτιση γίνεται φανερή, επομένως η έρευνα των επόμενων ετών καλείται να διαλευκάνει τις ασάφειες.

Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Abdollahzadeh, R., Shushizadeh, M. H., Barazandehrokh, M., Choopani, S., Azarnezhad, A., Paknahad, S., Pirhoushiaran, M., Makani, S. Z., Yeganeh, R. Z., Al-Kateb, A., & Heidarzadehpilehrood, R. (2021). Association of Vitamin D receptor gene polymorphisms and clinical/severe outcomes of COVID-19 patients. *Infection, Genetics and Evolution*, 96, 105098. <https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2021.105098>
- Aci, R., Keskin, A., Yigit, S., Sezer, O., & Kaya, M. T. (2024). Effect of vitamin D receptor gene BsmI polymorphism on hospitalization of SARS-CoV-2 positive patients. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 43(3), 264–275. <https://doi.org/10.1080/15257770.2023.2253281>
- Al-Anouti, F., Mousa, M., Karras, S. N., Grant, W. B., Alhalwachi, Z., Abdel-Wareth, L., Uddin, M., Alkaabi, N., Tay, G. K., Mahboub, B., & Alsafar, H. (2021). Associations between genetic variants in the vitamin d metabolism pathway and severity of covid-19 among uae residents. *Nutrients*, 13(11), 3680. <https://doi.org/10.3390/NU13113680/S1>
- Albu-Mohammed, W. H. M., Anvari, E., & Fateh, A. (2022). Evaluating the Role of BgII rs739837 and TaqI rs731236 Polymorphisms in Vitamin D Receptor with SARS-CoV-2 Variants Mortality Rate. *Genes* 2022, Vol. 13, Page 2346, 13(12), 2346. <https://doi.org/10.3390/GENES13122346>
- Al-Gharrawi, A. N. R., Anvari, E., & Fateh, A. (2023). Association of ApaI rs7975232 and BsmI rs1544410 in clinical outcomes of COVID-19 patients according to different SARS-CoV-2 variants. *Scientific Reports* 2023 13:1, 13(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30859-7>
- Alhammadin, G., Jarrar, Y., Madani, A., & Lee, S. J. (2023). Exploring the Influence of VDR Genetic Variants TaqI, ApaI, and FokI on COVID-19 Severity and Long-COVID-19 Symptoms. *Journal of Personalized Medicine*, 13(12), 1663. <https://doi.org/10.3390/JPM13121663/S1>
- Alshahawey, M. (2021). A genetic insight into vitamin D binding protein and COVID-19. *Medical Hypotheses*, 149, 110531. <https://doi.org/10.1016/J.MEHY.2021.110531>
- Amin, H. A., & Drenos, F. (2021). No evidence that vitamin D is able to prevent or affect the severity of COVID-19 in individuals with European ancestry: a Mendelian randomisation study of open data. *BMJ Nutrition, Prevention & Health*, 4(1), 42. <https://doi.org/10.1136/BMJNPH-2020-000151>
- Ao, T., Kikuta, J., & Ishii, M. (2021). The effects of vitamin D on immune system and inflammatory diseases. In *Biomolecules* (Vol. 11, Issue 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/biom11111624>
- Apaydin, T., Polat, H., Dincer Yazan, C., Ilgin, C., Elbasan, O., Dashdamirova, S., Bayram, F., Tukenmez Tigen, E., Unlu, O., Tekin, A. F., Arslan, E., Yilmaz, I., Haklar, G., Ata, P., & Gozu, H. (2022). Effects of vitamin D receptor gene polymorphisms on the prognosis of COVID-19. *Clinical Endocrinology*, 96(6), 819–830. <https://doi.org/10.1111/CEN.14664>
- Arabi, A., Khoueiry-Zgheib, N., Awada, Z., Mahfouz, R., Al-Shaar, L., Hoteit, M., Rahme, M., Baddoura, R., Halabi, G., Singh, R., & El Hajj Fuleihan, G. (2017). CYP2R1 polymorphisms are important modulators of circulating 25-hydroxyvitamin D levels in elderly females with vitamin insufficiency, but not of the response to vitamin D supplementation. *Osteoporosis International : A Journal Established as Result of Cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 28(1), 279–290. <https://doi.org/10.1007/S00198-016-3713-5>

- Arguelles, L. M., Langman, C. B., Ariza, A. J., Ali, F. N., Dilley, K., Price, H., Liu, X., Zhang, S., Hong, X., Wang, B., Xing, H., Li, Z., Liu, X., Zhang, W., Xu, X., & Wang, X. (2009). Heritability and Environmental Factors Affecting Vitamin D Status in Rural Chinese Adolescent Twins. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(9), 3273–3281. <https://doi.org/10.1210/JC.2008-1532>
- Bae, J. H., Hun, ·, Choe, J., Michael, ·, Holick, F., Lim, S., Choe, H. J., & Holick, M. F. (2022). Association of vitamin D status with COVID-19 and its severity. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 2022 23:3, 23(3), 579–599. <https://doi.org/10.1007/S11154-021-09705-6>
- Bahrani, A., Sadeghnia, H. R., Tabatabaeizadeh, S. A., Bahrani-Taghanaki, H., Behboodi, N., Esmaeili, H., Ferns, G. A., Mobarhan, M. G., & Avan, A. (2018). Genetic and epigenetic factors influencing vitamin D status. *Journal of Cellular Physiology*, 233(5), 4033–4043. <https://doi.org/10.1002/JCP.26216>
- Balzanelli, M. G., Distratis, P., Lazzaro, R., Pham, V. H., Tran, T. C., Dipalma, G., Bianco, A., Serlenga, E. M., Aityan, S. K., Pierangeli, V., Nguyen, K. C. D., Inchingolo, F., Tomassone, D., & Gargiulo Isacco, C. (2022). Analysis of Gene Single Nucleotide Polymorphisms in COVID-19 Disease Highlighting the Susceptibility and the Severity towards the Infection. *Diagnostics* 2022, Vol. 12, Page 2824, 12(11), 2824. <https://doi.org/10.3390/DIAGNOSTICS12112824>
- Berry, D., & Hyppönen, E. (2011). Determinants of vitamin D status: Focus on genetic variations. In *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* (Vol. 20, Issue 4, pp. 331–336). <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e328346d6ba>
- Butler-Laporte, G., Nakanishi, T., Mooser, V., Morrison, D. R., Abdullah, T., Adeleye, O., Mamlouk, N., Kimchi, N., Afrasiabi, Z., Rezk, N., Giliberti, A., Renieri, A., Chen, Y., Zhou, S., Forgetta, V., & Richards, J. B. (2020). Vitamin D and Covid-19 Susceptibility and Severity: a Mendelian Randomization Study. *MedRxiv*, 2020.09.08.20190975. <https://doi.org/10.1101/2020.09.08.20190975>
- Bychinin, M. V., Klypa, T. V., Mandel, I. A., Andreichenko, S. A., Baklaushev, V. P., Yusubalieva, G. M., Kolyshkina, N. A., & Troitsky, A. V. (2021). Low Circulating Vitamin D in Intensive Care Unit–Admitted COVID-19 Patients as a Predictor of Negative Outcomes. *The Journal of Nutrition*, 151(8), 2199–2205. <https://doi.org/10.1093/JN/NXAB107>
- Calò, L. A., Stefanelli, L. F., & Nalesso, F. (2022). Angiotensin II, RAS Activation, and RAS Blockers in COVID-19: Unambiguous Evidence. In *Kidney and Blood Pressure Research* (Vol. 47, Issue 10, pp. 593–596). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000526791>
- Carpagnano, G. E., Di Lecce, V., Quaranta, V. N., Zito, A., Buonamico, E., Capozza, E., Palumbo, A., Di Gioia, G., Valerio, V. N., & Resta, O. (2021). Vitamin D deficiency as a predictor of poor prognosis in patients with acute respiratory failure due to COVID-19. *Journal of Endocrinological Investigation*, 44(4), 765–771. <https://doi.org/10.1007/S40618-020-01370-X>
- Charoenngam, N., & Holick, M. F. (2020). Immunologic effects of vitamin d on human health and disease. In *Nutrients* (Vol. 12, Issue 7, pp. 1–28). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12072097>
- Cheng, J. B., Levine, M. A., Bell, N. H., Mangelsdorf, D. J., & Russell, D. W. (2004). Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(20), 7711–7715. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0402490101>
- Cui, Z., & Tian, Y. (2021). Using genetic variants to evaluate the causal effect of serum vitamin D concentration on COVID-19 susceptibility, severity and hospitalization traits: a Mendelian

- randomization study. *Journal of Translational Medicine*, 19(1), 300.
<https://doi.org/10.1186/S12967-021-02973-5>
- d'Alésio, A., Garabédian, M., Sabatier, J. P., Guaydier-Souquières, G., Marcelli, C., Lemaçon, A., Walrant-Debray, O., & Jehan, F. (2005). Two single-nucleotide polymorphisms in the human vitamin D receptor promoter change protein–DNA complex formation and are associated with height and vitamin D status in adolescent girls. *Human Molecular Genetics*, 14(22), 3539–3548. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDI382>
- Delrue, C., & Speeckaert, M. M. (2023). Vitamin D and Vitamin D-Binding Protein in Health and Disease. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 5). MDPI.
<https://doi.org/10.3390/ijms24054642>
- Diker, V. Ö., Yılmaz, G., Düz, M. E., Algemi, M., Köseoğlu, M., Emre, H. Ö., & Oğuz, O. (2024). Vitamin D and vitamin D binding protein levels in COVID-19 intensive care unit patients: A prospective multicenter study. *Journal of Medical Biochemistry*, 43(4), 610.
<https://doi.org/10.5937/JOMB0-47822>
- Di, L., Yue, T. Q., Jie, Z., Feng, H. H., Yuan, L., Wei, W., Qun, M., Xin, W. Y., Di, L., Yue, T. Q., Jie, Z., Feng, H. H., Yuan, L., Wei, W., Qun, M., & Xin, W. Y. (2021). Association between 25 Hydroxyvitamin D Concentrations and the Risk of COVID-19: A Mendelian Randomization Study. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2021, Vol. 34, Issue 9, Pages: 750-754, 34(9), 750–754. <https://doi.org/10.3967/BES2021.104>
- Dissanayake, H. A., De Silva, N. L., Sumanatilleke, M., De Silva, S. D. N., Gamage, K. K. K., Dematapitiya, C., Kuruppu, D. C., Ranasinghe, P., Pathmanathan, S., & Katulanda, P. (2022). Prognostic and Therapeutic Role of Vitamin D in COVID-19: Systematic Review and Meta-analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 107(5), 1484–1502.
<https://doi.org/10.1210/CLINEM/DGAB892>
- Dobrijević, Z., Robajac, D., Gligorijević, N., Šunderić, M., Penezić, A., Miljuš, G., & Nedić, O. (2022). The association of ACE1, ACE2, TMPRSS2, IFITM3 and VDR polymorphisms with COVID-19 severity: A systematic review and meta-analysis. *EXCLI Journal*, 21, 818.
<https://doi.org/10.17179/EXCLI2022-4976>
- Duan, L., Xue, Z., Ji, H., Zhang, D., & Wang, Y. (2018). Effects of CYP2R1 gene variants on vitamin D levels and status: A systematic review and meta-analysis. *Gene*, 678, 361–369.
<https://doi.org/10.1016/J.GENE.2018.08.056>
- Engin, M. M. N., & Özdemir, Ö. (2024). Role of vitamin D in COVID-19 and other viral infections. *World Journal of Virology*, 13(3). <https://doi.org/10.5501/wjv.v13.i3.95349>
- Faul, J. L., Kerley, C. P., Love, B., O'Neill, E., Cody, C., Tormey, W., Hutchinson, K., Cormican, L. J., & Burke, C. M. (n.d.). Vitamin D Deficiency and ARDS after SARS-CoV-2 Infection. In *Ir Med J* (Vol. 113, Issue 5).
- Ferrari, D., Locatelli, M., Briguglio, M., & Lombardi, G. (2021). Is there a link between vitamin D status, SARS-CoV-2 infection risk and COVID-19 severity? In *Cell Biochemistry and Function* (Vol. 39, Issue 1, pp. 35–47). John Wiley and Sons Ltd.
<https://doi.org/10.1002/cbf.3597>
- Giatraki, V., Galanakis, E., & Perdikiogianni, C. (2024). Role of Vitamin D and Vitamin D Polymorphisms in COVID-19 Risk and Severity in Children: A Systematic Review. *Cureus*.
<https://doi.org/10.7759/cureus.61326>
- Gomaa, A. A., Abdel-Wadood, Y. A., Thabet, R. H., & Gomaa, G. A. (2023). Pharmacological evaluation of vitamin D in COVID-19 and long COVID-19: recent studies confirm clinical validation and highlight metformin to improve VDR sensitivity and efficacy. *Inflammopharmacology*, 32(1), 249. <https://doi.org/10.1007/S10787-023-01383-X>
- Goswami, R. (2016). Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. *Indian Journal of Medical Research*, 144(3), 489. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.198664>

- Hamed, E. R., Abdelhady, S. A., Al-Touny, S. A., Kishk, R. M., Mohamed, M. H., Rageh, F., Othman, A. A. A., Abdelfatah, W., & Azab, H. (2024). Correlation between rs7041 and rs4588 polymorphisms in vitamin D binding protein gene and COVID-19-related severity and mortality. *BMC Medical Genomics*, 17(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S12920-024-02018-Y/TABLES/10>
- Hariyanto, T. I., Intan, D., Hananto, J. E., Harapan, H., & Kurniawan, A. (2022). Vitamin D supplementation and Covid-19 outcomes: A systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Reviews in Medical Virology*, 32(2). <https://doi.org/10.1002/rmv.2269>
- Hashemi, S. M. A., Thijssen, M., Hosseini, S. Y., Tabarraei, A., Pourkarim, M. R., & Sarvari, J. (2021). Human gene polymorphisms and their possible impact on the clinical outcome of SARS-CoV-2 infection. In *Archives of Virology* (Vol. 166, Issue 8, pp. 2089–2108). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05070-6>
- Hastie, C. E., Mackay, D. F., Ho, F., Celis-Morales, C. A., Katikireddi, S. V., Niedzwiedz, C. L., Jani, B. D., Welsh, P., Mair, F. S., Gray, S. R., O'Donnell, C. A., Gill, J. M., Sattar, N., & Pell, J. P. (2020). Vitamin D concentrations and COVID-19 infection in UK Biobank. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 14(4), 561–565. <https://doi.org/10.1016/J.DSX.2020.04.050>
- Hibler, E. A., Jurutka, P. W., Egan, J. B., Hu, C., LeRoy, E. C., Martinez, M. E., Thompson, P. A., & Jacobs, E. T. (2010). Association between polymorphic variation in VDR and RXRA and circulating levels of vitamin D metabolites. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 121(1–2), 438–441. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2010.03.052>
- Hillary, V. E., & Ceasar, S. A. (2023). An update on COVID-19: SARS-CoV-2 variants, antiviral drugs, and vaccines. In *Heliyon* (Vol. 9, Issue 3). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13952>
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Holick, M. F. (2009). Vitamin D Status: Measurement, Interpretation, and Clinical Application. In *Annals of Epidemiology* (Vol. 19, Issue 2, pp. 73–78). <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2007.12.001>
- Holick, M. F. (2017). The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. In *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* (Vol. 18, Issue 2, pp. 153–165). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11154-017-9424-1>
- Holick, M. F. (2023). The One-Hundred-Year Anniversary of the Discovery of the Sunshine Vitamin D3: Historical, Personal Experience and Evidence-Based Perspectives. In *Nutrients* (Vol. 15, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/nu15030593>
- Jafarpour, A., Jazayeri, S. M., Bokharaei-Salim, F., Ataei-Pirkooh, A., Ghaziasadi, A., Soltani, S., Sadeghi, A., Marvi, S. S., Poortahmasebi, V., Khorrami, S. M. S., Hasanzad, M., Parsania, N., Nagozir, S., Mokhtari, N., Parsania, A., Bahrami, A., Nadjarha, M. H., Pakzad, R., & Parsania, M. (2022). VDR gene polymorphisms are associated with the increased susceptibility to COVID-19 among Iranian population: A case-control study. *International Journal of Immunogenetics*, 49(4), 243–253. <https://doi.org/10.1111/iji.12585>
- Jiang, Y., Rubin, L., Peng, T., Liu, L., Xing, X., Lazarovici, P., & Zheng, W. (2022). Cytokine storm in COVID-19: from viral infection to immune responses, diagnosis and therapy. *International Journal of Biological Sciences*, 18(2), 459. <https://doi.org/10.7150/IJBS.59272>
- Jones, G. (2022). 100 YEARS OF VITAMIN D Historical aspects of vitamin D. In *Endocrine Connections* (Vol. 11, Issue 4). BioScientifica Ltd. <https://doi.org/10.1530/EC-21-0594>

- Jordan, T., Siuka, D., Rotovnik, N. K., & Pfeifer, M. (2022). COVID-19 and vitamin D-a systematic review. In *Zdravstveno Varstvo* (Vol. 61, Issue 2, pp. 124–132). Sciendo. <https://doi.org/10.2478/sjph-2022-0017>
- Juzeniene, A., Brekke, P., Dahlback, A., Andersson-Engels, S., Reichrath, J., Moan, K., Holick, M. F., Grant, W. B., & Moan, J. (2011). Solar radiation and human health. *Reports on Progress in Physics*, 74(6). <https://doi.org/10.1088/0034-4885/74/6/066701>
- Karcioglu Batur, L., & Hekim, N. (2021). The role of DBP gene polymorphisms in the prevalence of new coronavirus disease 2019 infection and mortality rate. *Journal of Medical Virology*, 93(3), 1409–1413. <https://doi.org/10.1002/jmv.26409>
- Karcio, L., Glu Batur, ~, Dokur, M., Koç, S., Karabay, M., Akcay, Z. N., Gunger, E., & Hekim, N. (2024). Investigation of the Relationship between Vitamin D Deficiency and Vitamin D-Binding Protein Polymorphisms in Severe COVID-19 Patients. *Diagnostics 2024, Vol. 14, Page 1941*, 14(17), 1941. <https://doi.org/10.3390/DIAGNOSTICS14171941>
- Katz, J., Yue, S., & Xue, W. (2021). Increased risk for COVID-19 in patients with vitamin D deficiency. *Nutrition*, 84, 111106. <https://doi.org/10.1016/J.NUT.2020.111106>
- Kaufman, H. W., Niles, J. K., Kroll, M. H., Bi, C., & Holick, M. F. (2020). SARS-CoV-2 positivity rates associated with circulating 25-hydroxyvitamin D levels. *PLOS ONE*, 15(9), e0239252. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0239252>
- Khayyatzadeh, S. S., Mehramiz, M., Esmaeily, H., Mirmousavi, S. J., Khajavi, L., Salehkhani, F. N., Hanachi, P., Bahrami-Taghanaki, H., Eslami, S., Vatanparast, H., Ferns, G. A., Avan, A., & Ghayour-Mobarhan, M. (2019). A variant in CYP2R1 predicts circulating vitamin D levels after supplementation with high-dose of vitamin D in healthy adolescent girls. *Journal of Cellular Physiology*, 234(8), 13977–13983. <https://doi.org/10.1002/JCP.28083>
- Kumar, M., & Al Khodor, S. (2020). Pathophysiology and treatment strategies for COVID-19. In *Journal of Translational Medicine* (Vol. 18, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02520-8>
- Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., Zhang, Q., Shi, X., Wang, Q., Zhang, L., & Wang, X. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, 581(7807), 215–220. <https://doi.org/10.1038/S41586-020-2180-5>
- Li, Q., Wang, Y., Sun, Q., Knopf, J., Herrmann, M., Lin, L., Jiang, J., Shao, C., Li, P., He, X., Hua, F., Niu, Z., Ma, C., Zhu, Y., Ippolito, G., Piacentini, M., Estaquier, J., Melino, S., Weiss, F. D., ... Shi, Y. (2022). Immune response in COVID-19: what is next? In *Cell Death and Differentiation* (Vol. 29, Issue 6, pp. 1107–1122). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41418-022-01015-x>
- Li, X., van Geffen, J., van Weele, M., Zhang, X., He, Y., Meng, X., Timofeeva, M., Campbell, H., Dunlop, M., Zgaga, L., & Theodoratou, E. (2021). An observational and Mendelian randomisation study on vitamin D and COVID-19 risk in UK Biobank. *Scientific Reports 2021 11:1*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97679-5>
- Ma, H., Zhou, T., Heianza, Y., & Qi, L. (2021). Habitual use of vitamin D supplements and risk of coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection: a prospective study in UK Biobank. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 113(5), 1275–1281. <https://doi.org/10.1093/AJCN/NQAA381>
- Malek Mahdavi, A. (2020). A brief review of interplay between vitamin D and angiotensin-converting enzyme 2: Implications for a potential treatment for COVID-19. In *Reviews in Medical Virology* (Vol. 30, Issue 5). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/rmv.2119>
- Mamurova, B., Akan, G., Tuncel, G., Mogol, E., Evren, E. U., Evren, H., Suer, H. K., Sanlidag, T., & Ergoren, M. C. (2022). A strong association between the VDR gene markers and SARS-CoV-2 variants. <https://doi.org/10.21203/RS.3.RS-1806260/V1>

- Manca, A., Cosma, S., Palermiti, A., Costanzo, M., Antonucci, M., De Vivo, E. D., Ianniello, A., Borella, F., Carosso, A. R., Corcione, S., De Rosa, F. G., Benedetto, C., D'Avolio, A., & Cusato, J. (2022). Pregnancy and COVID-19: The Possible Contribution of Vitamin D. *Nutrients*, 14(16), 3275. <https://doi.org/10.3390/NU14163275/S1>
- Martens, P. J., Gysemans, C., Verstuyf, A., & Mathieu, C. (2020). Vitamin d's effect on immune function. In *Nutrients* (Vol. 12, Issue 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12051248>
- Mazziotti, G., Lavezzi, E., Brunetti, A., Mirani, M., Favacchio, G., Pizzocaro, A., Sandri, M. T., Di Pasquale, A., Voza, A., Ciccarelli, M., & Lania, A. G. (2021). Vitamin D deficiency, secondary hyperparathyroidism and respiratory insufficiency in hospitalized patients with COVID-19. *Journal of Endocrinological Investigation*, 44(10), 2285–2293. <https://doi.org/10.1007/S40618-021-01535-2/FIGURES/2>
- McCOLLUM, E. V. (1918). THE “VITAMIN” HYPOTHESIS AND THE DISEASES REFERABLE TO FAULTY DIETf. In *The Journal of the American Medical Association Published Under the Auspices of the Board of Trustees* (Vol. 71, Issue 12).
- McCullough, M. L., Bostick, R. M., & Mayo, T. L. (2009). Vitamin D gene pathway polymorphisms and risk of colorectal, breast, and prostate cancer. *Annual Review of Nutrition*, 29, 111–132. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-NUTR-080508-141248>
- Meltzer, D. O., Best, T. J., Zhang, H., Vokes, T., Arora, V., & Solway, J. (2020). Association of Vitamin D Status and Other Clinical Characteristics With COVID-19 Test Results. *JAMA Network Open*, 3(9), e2019722–e2019722. <https://doi.org/10.1001/JAMANETWORKOPEN.2020.19722>
- Miller, W. L., & Imel, E. A. (2022). Rickets, Vitamin D, and Ca/P Metabolism. In *Hormone Research in Paediatrics* (Vol. 95, Issue 6, pp. 579–592). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000527011>
- Mohamed, A. A., Baiomy, N. N., Rawy, A. M., Ghanem, M. M. F., Abd El Salam, S. M., Nasraddin, K., Ezz Al Arab, M. R., Samir, H. H., Azzam, O. M., Muharram, N. M., Elsalway, N., Elamir, A. Y., Swed, S., Hafez, W., Salas-Matta, L. A., Rodriguez-Morales, A. J., Bonilla-Aldana, D. K., Abu Serhan, H., Sah, S., & Mehta, R. (2024). Influence of Vitamin D Status and the VDR Gene Polymorphism on COVID-19 Susceptibility and Outcome. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 18(4), 2688–2702. <https://doi.org/10.22207/JPAM.18.4.41>
- Mohammadifard, N., Sadeghian, L., Hassannejad, R., Khosravi, E., Gharipour, M., Karimi, S., Hosseini, S., Sepahifar, M., Bahrami, G., Haghighatdoost, F., & Sarrafzadegan, N. (2024). Comparing vitamin D receptor gene polymorphisms in rs11568820, rs7970314, rs4334089 between COVID-19 patients with mild and severe symptoms: a case control study. *Scientific Reports*, 14(1), 10170. <https://doi.org/10.1038/S41598-024-57424-0>
- Munshi, R., Hussein, M. H., Toraih, E. A., Elshazli, R. M., Jardak, C., Sultana, N., Youssef, M. R., Omar, M., Attia, A. S., Fawzy, M. S., Killackey, M., Kandil, E., & Duchesne, J. (2021). Vitamin D insufficiency as a potential culprit in critical COVID-19 patients. In *Journal of Medical Virology* (Vol. 93, Issue 2, pp. 733–740). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jmv.26360>
- Nissen, J., Rasmussen, L. B., Ravn-Haren, G., Wreford Andersen, E., Hansen, B., Andersen, R., Mejborn, H., Madsen, K. H., & Vogel, U. (2014). Common variants in CYP2R1 and GC genes predict vitamin D concentrations in healthy Danish children. *PLoS ONE*, 9(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089907>
- Ochoa-Ramírez, L. A., Corona-Angulo, A. L., Ríos-Burgueño, E. R., Sánchez-Zazueta, J. G., Becerra-Loaiza, D. S., & Velarde-Félix, J. S. (2024). Vitamin D receptor gene polymorphisms role in COVID-19 severity: Results of a Mexican patients' cohort. *International Journal of Immunogenetics*, 51(4), 235–241. <https://doi.org/10.1111/iji.12674>

- Patchen, B. K., Clark, A. G., Gaddis, N., Hancock, D. B., & Cassano, P. A. (2021). Genetically predicted serum vitamin D and COVID-19: a Mendelian randomisation study. *BMJ Nutrition, Prevention & Health*, 4(1), 213. <https://doi.org/10.1136/BMJNPH-2021-000255>
- Pekkinen, M., Laine, C. M., Mäkitie, R., Leinonen, E., Lamberg-Allardt, C., Viljakainen, H., & Mäkitie, O. (2015). FGF23 gene variation and its association with phosphate homeostasis and bone mineral density in Finnish children and adolescents. *Bone*, 71, 124–130. <https://doi.org/10.1016/J.BONE.2014.10.013>
- Peralta, E. M., Rosales, Y. Z., Mesa, T. C., González, E. N. S., Pérez, Y. H., de los Ángeles González Torres, M., Balbuena, H. R., & Teruel, B. M. (2021). TaqI polymorphism of the VDR gene: aspects related to the clinical behavior of COVID-19 in Cuban patients. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 22(1), 1–4. <https://doi.org/10.1186/S43042-021-00206-4/TABLES/1>
- Peterlik, M., & Cross, H. S. (2009). Vitamin D and calcium insufficiency-related chronic diseases: Molecular and cellular pathophysiology. In *European Journal of Clinical Nutrition* (Vol. 63, Issue 12, pp. 1377–1386). <https://doi.org/10.1038/ejcn.2009.105>
- Petrelli, F., Oldani, S., Borronovo, K., Cabiddu, M., Dognini, G., Ghilardi, M., Parati, M. C., Petro', D., Dottorini, L., Rea, C., Lonati, V., Luciani, A., & Ghidini, A. (2023). Vitamin D3 and COVID-19 Outcomes: An Umbrella Review of Systematic Reviews and Meta-Analyses. *Antioxidants* 2023, Vol. 12, Page 247, 12(2), 247. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX12020247>
- Piec, I., Cook, L., Dervisevic, S., Fraser, W. D., Ruetten, S., Berman, M., English, E., & John, W. G. (2022). Age and vitamin D affect the magnitude of the antibody response to the first dose of the SARS-CoV-2 BNT162b2 vaccine. *Current Research in Translational Medicine*, 70(3), 103344. <https://doi.org/10.1016/J.RETRAM.2022.103344>
- Protas, V. V., Pogossyan, G. P., Li, K. G., Zhumina, A. G., Bisseneva, A. K., & Shaikina, D. N. (2023). Plasma 25-Hydroxyvitamin D Level and VDR Gene Single Nucleotide Polymorphism rs2228570 Influence on COVID-19 Susceptibility among the Kazakh Ethnic Group—A Pilot Study. *Nutrients*, 15(7), 1781. <https://doi.org/10.3390/NU15071781/S1>
- Radujkovic, A., Hippchen, T., Tiwari-Heckler, S., Dreher, S., Boxberger, M., & Merle, U. (2020). Vitamin D Deficiency and Outcome of COVID-19 Patients. *Nutrients* 2020, Vol. 12, Page 2757, 12(9), 2757. <https://doi.org/10.3390/NU12092757>
- Rahman, S., Montero, M. T. V., Rowe, K., Kirton, R., & Kunik, F. (2021). Epidemiology, pathogenesis, clinical presentations, diagnosis and treatment of COVID-19: a review of current evidence. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 14(5), 601–621. <https://doi.org/10.1080/17512433.2021.1902303>
- Rai, P., Kumar, B. K., Deekshit, V. K., Karunasagar, I., & Karunasagar, I. (2021). Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(2), 441–455. <https://doi.org/10.1007/S00253-020-11061-5>
- Ramos-Lopez, E., Brück, P., Jansen, T., Herwig, J., & Badenhoop, K. (2007). CYP2R1 (vitamin D 25-hydroxylase) gene is associated with susceptibility to type 1 diabetes and vitamin D levels in Germans. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 23(8), 631–636. <https://doi.org/10.1002/DMRR.719>
- Regina da Silva Correa da Ronda, C., Berlofa Visacri, M., Tiemi Siguemoto, J., Motta Neri, C., Crispim Lopo de Abreu, M., de Souza Nicoletti, A., Rotta, I., Dagli-Hernandez, C., Moriel Pincinato, P., de Carvalho Pincinato, E., & Moriel, P. (2024). Single-nucleotide polymorphisms related to vitamin D metabolism and severity or mortality of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Gene*, 906, 148236. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2024.148236>

- Rozmus, D., Płomiński, J., Augustyn, K., & Cieślińska, A. (2022). Rs7041 and rs4588 Polymorphisms in Vitamin D Binding Protein Gene (VDBP) and the Risk of Diseases. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23020933>
- Ruiz-Ballesteros, A. I., Meza-Meza, M. R., Vizmanos-Lamotte, B., Parra-Rojas, I., & de la Cruz-Mosso, U. (2020). Association of vitamin D metabolism gene polymorphisms with autoimmunity: Evidence in population genetic studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24), 1–24. <https://doi.org/10.3390/ijms21249626>
- Saito, H., Kusano, K., Kinoshita, M., Ito, H., Hirata, M., Segawa, H., Miyamoto, K. I., & Fukushima, N. (2003). Human fibroblast growth factor-23 mutants suppress Na⁺-dependent phosphate co-transport activity and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ production. *Journal of Biological Chemistry*, 278(4), 2206–2211. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207872200>
- Sarria-Santamera, A., Mukhtarova, K., Baizhaxynova, A., Kanatova, K., Zhumambayeva, S., Akilzhanova, A., & Azizan, A. (2023). Association of CYP24A1 Gene rs6127099 (A > T) Polymorphism with Lower Risk to COVID-19 Infection in Kazakhstan. *Genes*, 14(2), 307. <https://doi.org/10.3390/GENES14020307/S1>
- Saxena, P., Nigam, K., Mukherjee, S., Chadha, S., & Sanyal, S. (2022). Relation of vitamin D to COVID-19. *Journal of Virological Methods*, 301, 114418. <https://doi.org/10.1016/J.JVIROMET.2021.114418>
- Shah Alam, M., Czajkowsky, D. M., Aminul Islam, M., & Aatur Rahman, M. (2021). The role of vitamin D in reducing SARS-CoV-2 infection: An update. *International Immunopharmacology*, 97, 107686. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2021.107686>
- Shawi, H. R. S., Anvari, E., & Fateh, A. (2023). Role of FokI rs2228570 and Tru9I rs757343 Polymorphisms in the Mortality of Patients Infected with Different Variants of SARS-CoV-2. *Archives of Medical Research*, 54(4), 310–318. <https://doi.org/10.1016/J.ARCMED.2023.03.006>
- Signorello, L. B., Shi, J., Cai, Q., Zheng, W., Williams, S. M., Long, J., Cohen, S. S., Li, G., Hollis, B. W., Smith, J. R., & Blot, W. J. (2011). Common variation in vitamin D pathway genes predicts circulating 25-hydroxyvitamin D levels among African Americans. *PLoS ONE*, 6(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028623>
- Sîrbe, C., Rednic, S., Grama, A., & Pop, T. L. (2022). An Update on the Effects of Vitamin D on the Immune System and Autoimmune Diseases. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 17). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23179784>
- Speeckaert, M. M., De Buyzere, M. L., & Delanghe, J. R. (2021). Vitamin D binding protein polymorphism and COVID-19. In *Journal of Medical Virology* (Vol. 93, Issue 2, pp. 705–707). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jmv.26508>
- Stokes, C. S., Lammert, F., & Volmer, D. A. (2018). Analytical methods for quantification of Vitamin D and implications for research and clinical practice. In *Anticancer Research* (Vol. 38, Issue 2, pp. 1137–1144). International Institute of Anticancer Research. <https://doi.org/10.21873/anticanres.12332>
- Sunn, K. L., Cock, T. A., Crofts, L. A., Eisman, J. A., & Gardiner, E. M. (2001). Novel N-Terminal Variant of Human VDR. *Molecular Endocrinology*, 15(9), 1599–1609. <https://doi.org/10.1210/MEND.15.9.0693>
- Teama, M. A. E. M., Abdelhakam, D. A., Elmohamadi, M. A., & Badr, F. M. (2021). Vitamin D deficiency as a predictor of severity in patients with COVID-19 infection. *Science Progress*, 104(3). https://doi.org/10.1177/00368504211036854/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_00368504211036854-FIG3.JPEG

- Tentolouris, N., Achilla, C., Anastasiou, I. A., Eleftheriadou, I., Tentolouris, A., Basoulis, D., Kosta, O., Lambropoulos, A., Yavropoulou, M. P., Chatzikyriakidou, A., & Jude, E. B. (2024). The Association of Vitamin D Receptor Polymorphisms with COVID-19 Severity. *Nutrients*, 16(5), 727. <https://doi.org/10.3390/NU16050727/S1>
- Thacher, T. D., & Levine, M. A. (2017). CYP2R1 mutations causing vitamin D-deficiency rickets. In *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* (Vol. 173, pp. 333–336). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.07.014>
- Thakur, V., Bhola, S., Thakur, P., Patel, S. K. S., Kulshrestha, S., Ratho, R. K., & Kumar, P. (2022). Waves and variants of SARS-CoV-2: understanding the causes and effect of the COVID-19 catastrophe. In *Infection* (Vol. 50, Issue 2, pp. 309–325). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s15010-021-01734-2>
- Theodorakopoulou, M. P., Alexandrou, M. E., Boutou, A. K., Ferro, C. J., Ortiz, A., & Sarafidis, P. (2022). Renin-angiotensin system blockers during the COVID-19 pandemic: An update for patients with hypertension and chronic kidney disease. In *Clinical Kidney Journal* (Vol. 15, Issue 3, pp. 397–406). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfab272>
- Triantos, C., Aggeletopoulou, I., Kalafateli, M., Spantidea, P. I., Vourli, G., Diamantopoulou, G., Tapratzi, D., Michalaki, M., Manolakopoulos, S., Gogos, C., Kyriazopoulou, V., Mouzaki, A., & Thomopoulos, K. (2018). Prognostic significance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms in liver cirrhosis. *Scientific Reports* 2018 8:1, 8(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32482-3>
- Tripkovic, L., Lambert, H., Hart, K., Smith, C. P., Bucca, G., Penson, S., Chope, G., Hyppoñen, E., Berry, J., Vieth, R., & Lanham-New, S. (2012). Comparison of vitamin D2 and vitamin D3 supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: A systematic review and meta-analysis. In *American Journal of Clinical Nutrition* (Vol. 95, Issue 6, pp. 1357–1364). <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.031070>
- Wang, Q., Qiu, Y., Li, J. Y., Zhou, Z. J., Liao, C. H., & Ge, X. Y. (2020). A Unique Protease Cleavage Site Predicted in the Spike Protein of the Novel Pneumonia Coronavirus (2019-nCoV) Potentially Related to Viral Transmissibility. In *Virologica Sinica* (Vol. 35, Issue 3, pp. 337–339). Science Press. <https://doi.org/10.1007/s12250-020-00212-7>
- Wang, Y., & Perlman, S. (2024). Downloaded from www.annualreviews.org. Guest (guest) IP: 178.59.64.58 On: Wed. 38. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042220>
- Wjst, M., Altmüller, J., Faus-Kessler, T., Braig, C., Bahnweg, M., & André, E. (2006). Asthma families show transmission disequilibrium of gene variants in the vitamin D metabolism and signalling pathway. *Respiratory Research*, 7(1), 1–11. https://doi.org/10.1186/1465-9921-7-60/FIGURES/4_451
- Xu, J., Yang, J., Chen, J., Luo, Q., Zhang, Q., & Zhang, H. (2017). Vitamin D alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via regulation of the renin-angiotensin system. *Molecular Medicine Reports*, 16(5), 7432–7438. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7546>
- Zanza, C., Romenskaya, T., Manetti, A. C., Franceschi, F., La Russa, R., Bertozzi, G., Maiese, A., Savioli, G., Volonnino, G., & Longhitano, Y. (2022). Cytokine Storm in COVID-19: Immunopathogenesis and Therapy. In *Medicina (Lithuania)* (Vol. 58, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/medicina58020144>
- Zeidan, N. M. S., Lateef, H. M. A. El, Selim, D. M., Razek, S. A., Abd-Elrehim, G. A. B., Nashat, M., ElGyar, N., Waked, N. M., Soliman, A. A., Elhewala, A. A., Shehab, M. M. M., Ibraheem, A. A. A., Shehata, H., Yousif, Y. M., Akeel, N. E., Hashem, M. I. A., Ahmed, A. A., Emam, A. A., Abdelmohsen, M. M., ... Yousef, A. A. (2022). Vitamin D deficiency and vitamin D receptor FokI polymorphism as risk factors for COVID-19. *Pediatric Research* 2022 93:5, 93(5), 1383–1390. <https://doi.org/10.1038/s41390-022-02275-6>

Zhang, Z., He, J. W., Fu, W. Z., Zhang, C. Q., & Zhang, Z. L. (2013). An analysis of the association between the vitamin D pathway and serum 25-hydroxyvitamin D levels in a healthy Chinese population. *Journal of Bone and Mineral Research*, 28(8), 1784–1792. <https://doi.org/10.1002/JBMR.1926>

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν.1599/1986, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής μου εργασίας, δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.