



Analiza zmian stężenia witaminy D u pacjentów przed i w trakcie pandemii COVID-19 w zależności od pory roku

Analysis of season-specific changes in vitamin D levels in patients before and during the COVID-19 pandemic

Jarosław Rachuna^{1,A-F}, Łukasz Madej^{1,A-F}, Kacper Szafraniec^{1,A-F}, Ewa Kowalska^{1,A-F}, Sylwia Knap^{1,A-F}, Anna Goliszek^{1,A-F}

¹ Regionalne Centrum Naukowo-Technologiczne, Polska

A – Koncepcja i projekt badania, B – Gromadzenie i/lub zestawianie danych, C – Analiza i interpretacja danych, D – Napisanie artykułu, E – Krytyczne zrecenzowanie artykułu, F – Zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Rachuna J, Madej Ł, Szafraniec K, Kowalska E, Knap S, Goliszek A. Analiza zmian stężenia witaminy D u pacjentów przed i w trakcie pandemii COVID-19 w zależności od pory roku. Med Srodow. doi: 10.26444/ms/185932

■ Streszczenie

Wprowadzenie i cel pracy. Celem niniejszego badania było określenie zmian stężenia witaminy D u pacjentów przed i w trakcie pandemii COVID-19 z uwzględnieniem wpływu pory roku. Witamina D jest jedną z najważniejszych witamin rozpuszczalnych w tłuszczach. Utrzymywanie jej stężenia na optymalnym poziomie pozwala zmniejszyć ryzyko wystąpienia krzywicy oraz innych chorób, m.in. chorób autoimmunologicznych.

Materiał i metody. Analizę stężeń witaminy D w surowicy krwi pacjentów przeprowadzono metodą ELISA. W okresie przed pandemią przebadano 893 kobiety i 1395 mężczyzn. W okresie pandemii COVID-19 badaniu poddano 1580 kobiet i 662 mężczyzn. Badania przeprowadzono w różnych porach roku, aby uwzględnić sezonowe zmiany w ekspozycji na promieniowanie słoneczne.

Wyniki. Stwierdzono istotne zmiany stężeń witaminy D u badanych pacjentów w trakcie pandemii w porównaniu do okresu przedpandemicznego. Dodatkowo zaobserwowano różnice w stężeniach w zależności od pory roku, przy czym wartości najwyższe notowano w okresie letnim, a najniższe – zimą. Ponadto wykazano, że kobiety mają wyższy poziom witaminy D od mężczyzn niezależnie od pory roku czy działania czynnika dodatkowego, jak pandemia.

Wnioski. Pandemia COVID-19 wpłynęła na podwyższenie stężenia witaminy D u pacjentów. Świadczy to o pozytywnym wpływie zwiększania świadomości społeczeństwa na temat stanu zdrowia. Dodatkowo zaobserwowane zmiany skłaniają do regularnego monitorowania tego parametru w celu opracowania optymalnej opieki zdrowotnej pod kątem suplementacji witaminy D. Ponadto istotne są sezonowe różnice, co wskazuje na potrzebę dostosowania strategii suplementacji w zależności od pory roku. Badania te mogą mieć implikacyjne znaczenie dla praktyki klinicznej i prowadzenia profilaktyki zdrowotnej.

■ Słowa kluczowe

witamina, witamina D, cholekalcyferol, COVID-19, SARS-CoV-2, pandemia

■ Abstract

Introduction and Objective. The aim of this study was to determine the changes in vitamin D levels in patients before and during the COVID-19 pandemic, taking into account the effect of season. Vitamin D is one of the most important lipid-soluble vitamins. The maintenance of concentrations at an appropriate level helps reduce the risk of rickets and other diseases, such as autoimmune diseases.

Material and Methods. Vitamin D concentrations in the blood serum of patients were analyzed by ELISA. In the pre-pandemic period 893 women and 1,395 men were tested. During the COVID-19 pandemic period, the study included 1,580 women and 662 men. Research was performed at different times of the year to account for seasonal changes in exposure to the sun.

Results. Significant changes in vitamin D concentrations were found in the patients studied during the pandemic compared to the pre-pandemic period. In addition, differences in concentrations were observed depending on the season, with the highest values recorded in summer and the lowest in winter. Moreover, women were shown to have higher vitamin D levels than men independently of the season or the effect of an additional factor like the pandemic.

Conclusions. Significant changes in vitamin D concentrations were found in the patients studied during the pandemic compared to the pre-pandemic period. In addition, differences in concentrations were observed depending on the season, with the highest values recorded in summer and the lowest in winter. Moreover, women were shown to have higher vitamin D levels than men independently of the season or the effect of an additional factor like the pandemic.

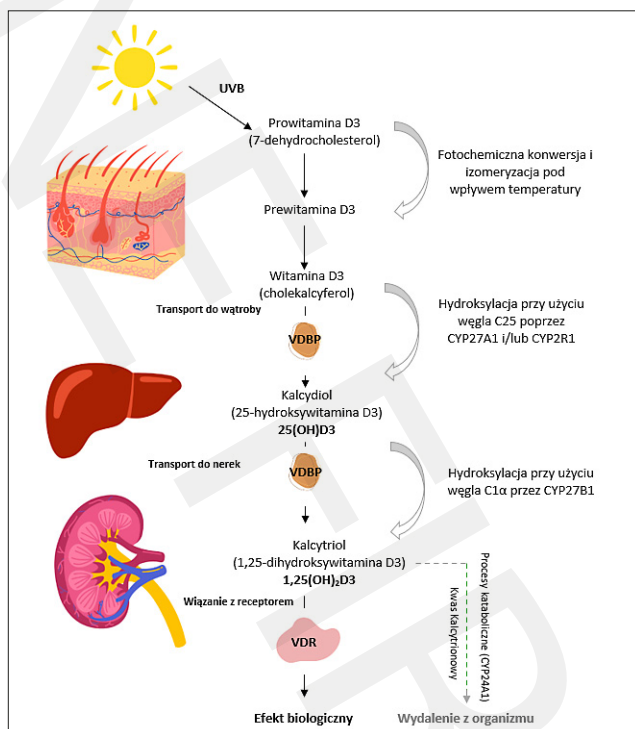
■ Key words

vitamin, vitamin D, cholecalciferol, COVID-19, SARS-CoV-2, pandemic

WPROWADZENIE – SYNTEZA, METABOLIZM ORAZ ROLA WITAMINY D

Organizm człowieka potrzebuje wielu związków organicznych i nieorganicznych do prawidłowego funkcjonowania i utrzymania homeostazy [1]. Wśród istotnych związków chemicznych niezbędnych człowiekowi do życia są witaminy [2]. Jednymi z najważniejszych są witaminy rozpuszczalne w tłuszczach, czyli A, E, K, a także witamina D. Znaczenie witamin A, E, K i D zostało odkryte i opisane po raz pierwszy w 1919 roku przez Edwarda Mellanby, który połączył krzywicę z dietą ubogą w substancje rozpuszczalne w tłuszczach. Wynik ten zapoczątkował badania nad wpływem witamin na krzywicę, co doprowadziło do odkrycia roli witaminy D w rozwoju tej choroby. Cholekalcyferol, czyli witamina D, może być dostarczany do organizmu na dwa różne sposoby. Pierwszy to przyjmowanie witaminy wraz z produktami żywnościowymi. Drugi sposób to synteza witaminy przy udziale promieni ultrafioletowych B – UVB (ang. *ultraviolet B radiation*), pochodzących ze słońca [3].

Synteza witaminy D odbywa się w keratynocytach warstwy rozrodczej naskórka ludzkiego z 7-dehydrocholesterolu przy udziale promieniowania nadfioletowego w zakresie długości fal 290–320 nm. W wyniku reakcji fotolitycznej pod wpływem energii dostarczonej przez ciepło ciała 7-dehydrocholesterol zostaje przekształcony do prowitaminy D₃ [4]. Następnie jest ona konwertowana do cholekalcyferolu. Wydajność reakcji syntezy zależy od natężenia światła UV, a także zawartości melatoniny w skórze. Ważnym aspektem jest to, że nie można doprowadzić do powstania potencjalnie toksycznych stężeń witaminy D w organizmie przez nadmierne wystawienie go na działanie promieni UVB. Pod wpływem długotrwałego działania światła słonecznego cholekalcyferol przekształcany jest do lumisterolu i tachysterolu, a więc substancji nieaktywnych biologicznie [5].



Rycina 1. Schemat endogennej syntezy oraz metabolizmu witaminy D₃
Źródło: opracowanie własne na podstawie [8]

Transport prowitaminy D do wątroby zachodzi przy udziale swoistej globuliny VDBP (ang. *vitamin D binding protein*), wiążącej witaminę D. W wątrobie prowitamina zostaje przekształcona do 25(OH)D₃ (kalcydioł) poprzez działanie enzymu 25-hydroksylazy. Wytworzony w wyniku reakcji 25-hydroksykalciferol jest prohormonem o czasie półtrwania wynoszącym 2 tygodnie. Dodatkowo umożliwia utrzymanie stałego stężenia 25(OH)D₃ w surowicy krwi niezależnie od ilości suplementowanej witaminy D₃. Następnie 25-hydroksycholekalcyferol w obecności VDBP transportowany jest do kanalików proksymalnych nerek. W nerkach dochodzi do wytworzenia 1,25(OH)₂D₃ (kalcytriol) oraz 24,25(OH)₂D₃. Oba powstałe związki posiadają aktywność biologiczną, jednakże kalcytriol wykazuje znacznie wyższą aktywność witaminy D niż 24,25(OH)₂D₃. Spadek stężenia 1,25(OH)₂D₃ powoduje aktywowanie 1-α-hydroksylazy 25(OH)D. Dodatkowo aktywację enzymu powoduje także hipokalcemia, hipofosfatemia, podwyższone stężenia parathormonu, tyroksyna, estrogeny, androgeny, insulina, kortyzol, prolaktyna oraz somatotropina [6].

Jedną z podstawowych funkcji witaminy D w organizmie jest zapewnianie odpowiedniej równowagi wapniowo-fosforanowej. Receptory Witaminy D VDR (ang. *vitamin D receptors*) zostały odkryte na co najmniej 30 różnych tkankach i narządach. Ponadto obecność enzymu CYP27B1 w komórkach sutka lub komórkach gruczołu krokowego, a także makrofagach, enterocytach czy osteoblastach wskazuje na szerokie spektrum procesów, w których udział bierze witamina D [7]. Najczęściej wymieniany jest jej udział w proliferacji poprzez hamowanie cyklu G₁, a także działania stymulujące, wpływające na różnicowanie komórek. Dodatkowo witamina D wykazuje działanie przeciwzapalne, przeciwbakteryjne i immunomodulujące. Może brać udział w regulowaniu wydzielania insuliny [6, 8].

Istotnym aspektem jest wpływ witaminy D na układ odpornościowy. Jej niedobór wiąże się z występowaniem wielu różnych chorób oraz/lub ze zwiększonym ryzykiem zachorowania. Zmniejszona podaż witaminy D związana jest ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na reumatoidalne zapalenie stawów, stwardnienie rozsiane czy chorobę Leśniowskiego-Crohna. Również rozwój chorób sercowo-naczyniowych, takich jak niewydolność serca czy nadciśnienie tętnicze, może być związany z niedoborem witaminy D [9, 10].

Działanie witaminy D wynika z jej bezpośredniego oddziaływania na genom, a także na mechanizmy działania białka G, fosfolipazy C czy fosfatydyloinozytolu. W przypadku łączenia się tej witaminy z receptorem VDR dochodzi do modulacji ekspresji genów poprzez wytworzenie kompleksu z kwasem 9-cis retinoidowym RXR (retinoid X receptor). Powstały kompleks VDR-RXR łączy się z fragmentem promotorowym genów, wywołując w ten sposób ekspresję [11].

CEL PRACY

Celem pracy była analiza zmian stężenia witaminy D u pacjentów przebadanych przed okresem pandemii COVID-19 oraz w jej trakcie. Dodatkowo założenia obejmowały określenie wpływu pory roku na stężenie witaminy D w analizowanych okresach. Pacjenci podzieleni zostali na dwie grupy ze względu na płeć w celu wykazania różnic w poziomie witaminy D między kobietami a mężczyznami.

MATERIAŁY I METODY

Do projektu, na podstawie zgody udzielonej świadomie przez pacjentów, zakwalifikowano 4530 osób, dla których oznaczono stężenie witaminy D. Średnia wieku wśród mężczyzn wynosiła 38 lat, natomiast kobiet – 42 lata. Pierwsza część projektu prowadzona była w okresie od 6 marca 2018 roku do 11 marca 2020 roku. Krew od pacjentów pobierano w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Kielcach. Przed pandemią przebadano 2288 osób – 893 kobiety i 1395 mężczyzn. Druga część projektu realizowana była w okresie od 22 stycznia do 30 kwietnia 2021 roku. Krew od pacjentów pobierano w punkcie pobrań Regionalnego Centrum Naukowo-Technologicznego w Podzamczu. W trakcie pandemii udział w projekcie wzięły 2242 osoby, w tym 1580 kobiet i 662 mężczyzn. Udział w projekcie badawczym opierał się na dobrowolności, uwzględniał świadomą zgodę uczestników na pobranie od nich krwi, transport materiału i wykonanie badania oraz zapewniał im anonimowość. Krew pobierana była na czczo przez wykwalifikowany personel medyczny, dokonywano tego z nakłucia żyły łokciowej do odpowiednich probówek (firmy Greiner bio-one, Austria). Po przetransportowaniu krwi do Medycznego Laboratorium Diagnostycznego odwirowywano ją przy 3000 rpm przez 15 min (przy użyciu wirówki firmy Eppendorf, Niemcy). Uzyskany materiał umieszczano w temperaturze ok. -22°C i przechowywano do czasu wykonania badania. Do pomiaru całkowitego stężenia witaminy D2 i D3 wykorzystano zestaw BIOHIT TOTAL 25OH VITAMIN D (firmy BIOHIT HealthCare, Wielka Brytania) oraz spektrofлуorymetr INFINITE M200 PRO (firmy Tecan, Szwajcaria). Pomiaru dokonano przy długości fali wzbudzenia 450 nm i fluorescencji 620 nm. Uzyskane wyniki przeanalizowano za pomocą oprogramowania MAGELLAN (firmy Tecan, Szwajcaria). Test umożliwił oznaczenie całkowitego stężenia witaminy D w przedziale od ok. 4 do ok. 130 ng/ml. W badaniu przyjęto wstępne kryteria wykluczenia, takie jak: suplementacja biotyną, suplementacja witaminą C czy przyjmowanie roztworu leku Zemplar. Zgodnie z ulotką producenta testu do oznaczania witaminy D stężenie biotyny w próbce powyżej 40 µg/ml obniża wynik witaminy D o ok. 10%. Po wstępnej analizie danych nie stwierdzono wpływu biotyny, polegającego na zaniżeniu wyników stężenia witaminy D. W związku z powyższym wyniki uczestników projektu przyjmujących biotynę zostały włączone do ogólnej analizy statystycznej.

WYNIKI

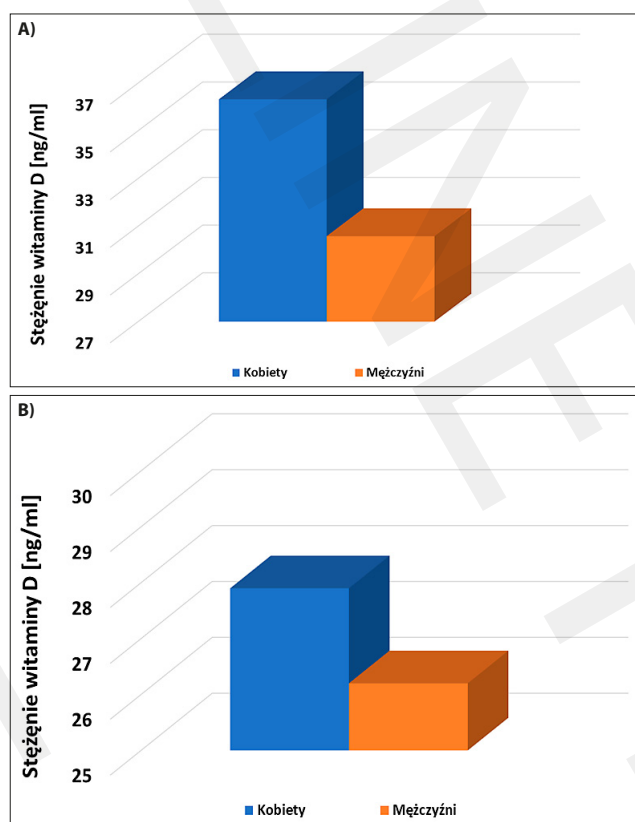
Przeprowadzona analiza stężenia witaminy D u pacjentów biorących udział w projekcie wykazała znaczące statystycznie różnice w stężeniu witaminy D pomiędzy kobietami i mężczyznami zarówno w okresie pandemii, jak i przed pandemią.

W prawie wszystkich analizowanych okresach kobiety miały wyższy poziom witaminy D niż mężczyźni, przy czym dane te były istotne statystycznie. Odstępstwem był wyższy poziom u mężczyzn zaobserwowany latem przed pandemią, jednak przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, iż odnotowana różnica stężeń nie była istotna statystycznie.

Wykazano, że mediana stężeń u kobiet w okresie przed pandemią wynosiła 27,9 ng/ml, a u mężczyzn 26,2 ng/ml. W okresie pandemii stężenie witaminy u badanych pacjentów wzrosło. Wśród kobiet mediana stężenia wyniosła

Tabela 1. Mediany stężeń witaminy D u pacjentów przebadanych w wybranych porach roku przed pandemią i w trakcie pandemii COVID-19

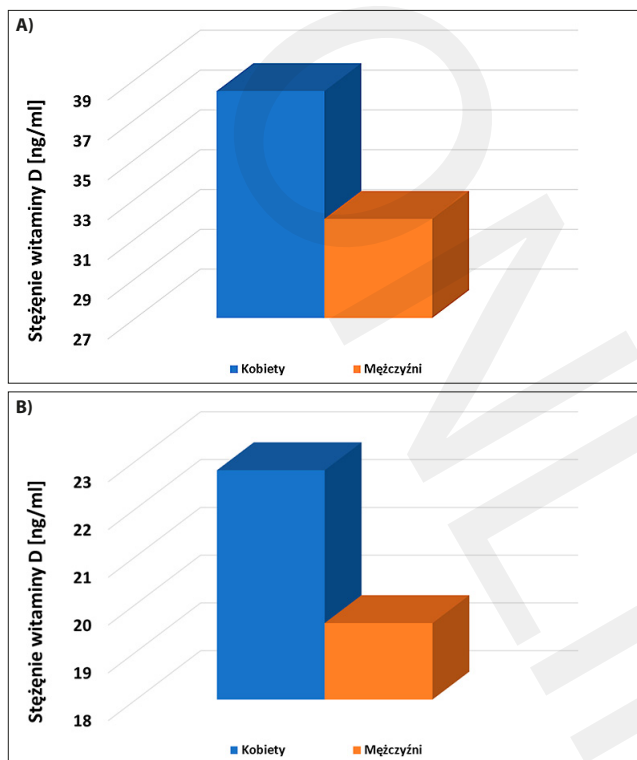
	Przed pandemią		W trakcie pandemii	
	Kobiety	Mężczyźni	Kobiety	Mężczyźni
Liczba uczestników	893	1395	1580	662
Mediana stężeń w analizowanych grupach [ng/ml]	27,9	26,2	36,32	30,58
Mediana stężeń w okresie zimowym [ng/ml]	22,8	19,6	38,4	31,98
Mediana stężeń w okresie wiosennym [ng/ml]	25,3	24,6	32,38	28,14
Mediana stężeń w okresie letnim [ng/ml]	34,7	35,05	Brak danych	Brak danych
Mediana stężeń w okresie jesiennym [ng/ml]	29,55	28,35	Brak danych	Brak danych



Rycina 2. Wykres przedstawiający medianę stężeń witaminy D u kobiet i mężczyzn w trakcie pandemii COVID-19 A) i w okresie ją poprzedzającym B)

36,32 ng/ml, a u mężczyzn 30,58 ng/ml. Przeprowadzona analiza statystyczna potwierdziła, iż różnica pomiędzy mężczyznami i kobietami, a także pomiędzy okresem przed pandemią i w jej trakcie była istotna statystycznie. Wyraźny jest efekt wzrostu stężeń witaminy D podczas pandemii COVID-19.

Przeprowadzona analiza porównawcza okresu zimowego wykazała wyższe stężenie witaminy D u pacjentów badanych podczas pandemii niż w analogicznym okresie przed pandemią. Mediana stężeń u kobiet w trakcie pandemii wynosiła 38,4 ng/ml, mężczyzn 31,98 ng/ml, a mediana wszystkich pacjentów bez podziału według płci 36,14 ng/ml. W okresie zimy przed pandemią wartość mediany stężenia u kobiet



Rycina 3. Wykres przedstawiający medianę stężeń witaminy D w grupie pacjentów badanych w trakcie zimy podczas pandemii (A) i w okresie zimowym przed pandemią (B)

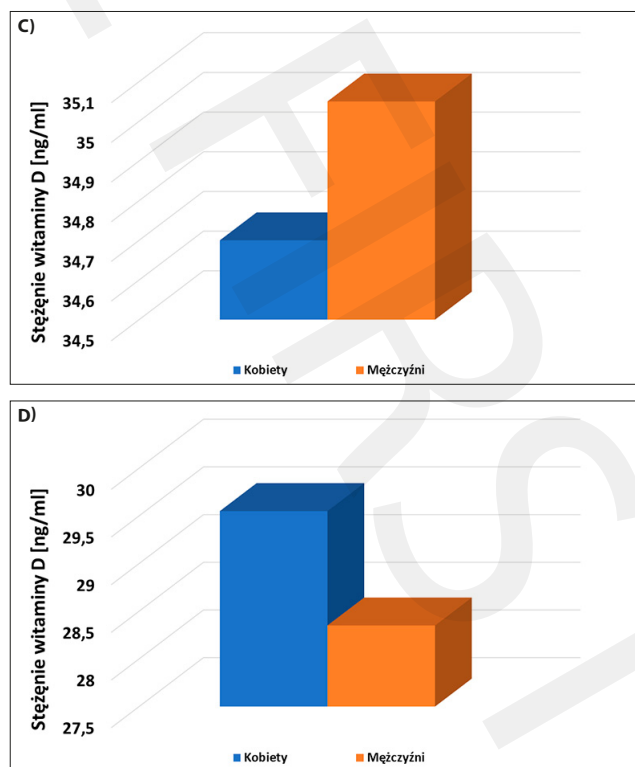
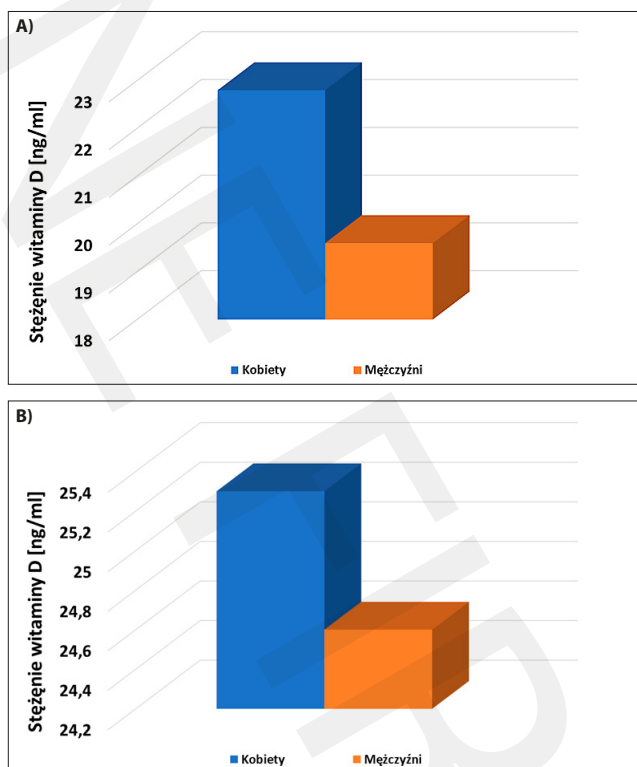
wynosiła 22,8 ng/ml, u mężczyzn 19,6 ng/ml, a mediana wszystkich pacjentów bez podziału według płci 20,5 ng/ml. Wykazane różnice są istotne statystycznie – zarówno te pomiędzy zimowym okresem pandemii oraz analogicznym

okresem przed pandemią, jak i pomiędzy kobietami i mężczyznami w każdym z tych okresów. Podobną zależność zaobserwowano dla pozostałych analogicznych okresów, co zostało przedstawione w tab. 1.

Porównanie zmian stężeń odnotowanych w poszczególnych porach roku wykazało, że stężenie witaminy D przed pandemią rosło wraz ze wzrostem czasu nasłonecznienia. Najwyższe jej stężenia obserwowano w okresie letnim, a najniższe – zgodnie z oczekiwaniami – w okresie zimowym. Na uwagę zasługuje fakt, że podczas pandemii mediana poziomu stężenia utrzymywała się na wyższym poziomie niż mediana stężenia witaminy w okresie letnim przed pandemią. Dodatkowo stężenie witaminy D w okresie wiosny było wyższe w czasie pandemii niż przed nią.

DYSKUSJA

Przeprowadzone badania wykazały, że stężenie witaminy D w organizmie człowieka jest bezpośrednio skorelowane z czasem oddziaływania promieni słonecznych. Okres zimowy, kiedy promienie słoneczne nie docierają do skóry ze względu na ubiór, a także krótki czas nasłonecznienia ogranicza syntezę witaminy D. W badanych grupach wykazano, że mediana stężeń w zimie przed pandemią wyniosła u kobiet 22,8 ng/ml, a u mężczyzn 19,6 ng/ml. W analogicznym okresie w lecie stężenie wynosiło odpowiednio 24,7 ng/ml oraz 35,05 ng/ml. Należy zauważyć, że w okresie tym stężenie witaminy D było wyższe u mężczyzn niż u kobiet, jednak przeprowadzona analiza statystyczna nie potwierdziła istotności statystycznej tej obserwacji. W pozostałych przypadkach istotnie statystycznie wyższe stężenia wykazywały kobiety. Zaprezentowane przez N. Parva i wsp. [12] wyniki wykazały brak istotności pomiędzy kobietami i mężczyznami.



Rycina 4. Wykresy przedstawiające zmianę stężenia witaminy D u pacjentów badanych przed pandemią w okresie zimy (A), wiosny (B), lata (C) oraz jesieni (D) z uwzględnieniem analizy wśród kobiet i mężczyzn

Wyniki te są odmienne od tych prezentowanych w niniejszej pracy. Zbieżne obserwacje poczynili A. Giustuna i wsp. [13], wskazując, iż często w populacji wyższe stężenie występuje u kobiet. Warto dodać, że takie same dane przedstawiają Z. Wu i wsp. [14], podając, że w badanej populacji kobiety wykazywały wyższe stężenia witaminy D. Odnaleźć można więcej przykładów wyższego stężenia witaminy D u kobiet niż u mężczyzn niż wskazane dane z literatury, co potwierdza, iż jest to regułą [15–17].

W przypadku koronawirusa niedobór witaminy D może powodować nasilenie objawów. Zjawisko to związane jest z nadmierną aktywacją układu renina-angiotensyna (RAS) w przypadku niewystarczającego poziomu witaminy D w organizmie. Układ RAS regulowany jest częściowo poprzez enzym konwertujący angiotensynę 2 (ACE2), który jest jednocześnie głównym receptorem dla SARS-CoV-2. Obserwacja tego mechanizmu nasuwa wnioski o bliskiej korelacji pomiędzy stężeniem witaminy D a nasileniem choroby COVID-19 [4, 18]. Z przeprowadzonej analizy wynika, że osoby przebadane w okresie pandemii miały wyższy poziom witaminy D niż osoby, które przebadano pod tym kątem przed pandemią. Niewątpliwym wpływem na to miały akcje promocji zdrowia prowadzone w przestrzeni publicznej przez środki masowego przekazu w Polsce. Propagowanie prawidłowego dbania o dietę zwiększyło świadomość w zakresie suplementacji witamin. Wyniki analizy stężenia witaminy D w zimie w trakcie pandemii świadczą o tym, iż jest ono wyższe niż w lecie przed pandemią. Taki wynik wyraźnie pokazuje wpływ prawidłowej suplementacji na utrzymywanie się wyższych stężeń.

W przeprowadzonej analizie, uwzględniającej wpływ pory roku na poziom witaminy D, można zaobserwować zdecydowanie wyższe wyniki w okresie lata i jesieni niż wiosną i zimą, co związane jest z małym nasłonecznieniem w zimie i rosnącym nasłonecznieniem w okresie wiosny. Zaobserwowany wzrost stężenia witaminy D utrzymuje się od wiosny do lata, a następnie jesienią poziom witaminy D zaczyna się obniżać. Zjawisko to potwierdza praca E.M. Brouwer-Brolsma i wsp. [19], którzy dowiedli wzrostu 25(OH)D w surowicy krwi w okresie od stycznia do lipca, a następnie stopniowy spadek jego stężenia aż do grudnia. Należy zauważyć, że w styczniu i grudniu stężenie spadło, przy czym w obu tych miesiącach jego wartości były zbliżone. Autorzy ci wykazali przy tym, że czas ekspozycji na promienie słoneczne jest kluczowy dla wzrostu poziomu witaminy D w organizmie. W pracy zaprezentowanej przez Vu Tran i wsp. [20] wykazano nie tylko zależność wzrostu stężenia witaminy D od promieni słonecznych, ale także dowiedziono, że w okresie zimowym okres ekspozycji powinien wynosić co najmniej kilka godzin. W okresie letnim dla utrzymania prawidłowej wartości stężenia wystarczy jedynie kilka minut. Przeprowadzone analizy i uzyskane wyniki wskazują na dalszą konieczność prowadzenia badań w zakresie monitorowania poziomu witaminy D w społeczeństwie.

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych analiz można wnioskować o wpływie pandemii na poprawę świadomości pacjentów co do konieczności suplementacji witamin i niezbędnych związków mineralnych. Dodatkowo zaobserwowano znaczący wpływ pory roku na wzrost stężenia witaminy D.

Zimą stężenia witaminy D utrzymywały się na zdecydowanie niższym poziomie niż w okresie letnim. Dodatkowo należy zauważyć, że suplementowanie witaminy D jedynie w nielicznych przypadkach powoduje wzrost jej stężenia do poziomu potencjalnie toksycznego.

PIŚMIENICTWO

1. Haq A, Svobodová J, Imran S, Stanford C, Razzaque MS. Vitamin D Deficiency: A Single Centre Analysis of Patients from 136 Countries. *J Steroid Biochem Molecular Biol.* 2016;164:209–213.
2. Shahrokhi SZ, Ghaffari F, Kazerouni F. Role of Vitamin D in Female Reproduction. *Clin Chimica Acta.* 2016;455:33–38.
3. Napiórkowska L, Franek E. Rola Oznaczania Witaminy D w Praktyce Klinicznej. *Choroby Serca i Naczyń.* 2009;6:203–210.
4. Getachew B, Tizabi Y. Vitamin D and COVID-19: Role of ACE2, Age, Gender, and Ethnicity. *J Med Virol.* 2021;93:5285–5294.
5. Bikle D. Nonclassic Actions of Vitamin D. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2009;94:26–34.
6. Tuchendler D, Bolanowski M. Sezonowość Zmian Stężeń Witaminy D w Organizmie Człowieka. *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii.* 2010;6:36–41.
7. Norman AW. Minireview: Vitamin D Receptor: New Assignments for an Already Busy Receptor. *Endocrinol.* 2006;147:5542–5548.
8. Lee S, Clark SA, Gill RK, Christakos S. 1,25-Dihydroxyvitamin DS and Pancreatic, & Cell Function: Vitamin D Receptors, Gene Expression, and Insulin Secretion. *Endocrinol.* 1994;134.
9. Coleman ML, Sullivan MB, Martiny AC, Steglich C, Barry K, DeLong EF, Chisholm SW. Genomic Islands and the Ecology and Evolution of *Prochlorococcus*. *Sci.* (1979) 2006;311:1768–1770. doi:10.1126/science.1122050
10. Kunutsor SK, Burgess S, Munroe PB, Khan H. Vitamin D and High Blood Pressure: Causal Association or Epiphenomenon? *Eur J Epidemiol.* 2014;29:1–14. doi:10.1007/s10654-013-9874-z
11. Wieheć O. The Role of Vitamin D3 in Signaling Pathways-Potential Anticancer Properties of Calcitriol and Its Analogues. *Postępy Hig Med Dosw.* 2019;73:920–936.
12. Parva NR, Tadepalli S, Singh P, Qian A, Joshi R, Kandala H, et al. Prevalence of Vitamin D Deficiency and Associated Risk Factors in the US Population (2011–2012). *Cureus.* 2018; doi:10.7759/cureus.2741
13. Giustina A, Bouillon R, Dawson-Hughes B, Ebeling PR, Lazaretti-Castro M, et al. Vitamin D in the Older Population: A Consensus Statement. *Endocrine.* 2023;79:31–44.
14. Wu Z, Camargo CA, Reid IR, Beros A, Sluyter JD, Waayer D, et al. What Factors Modify the Effect of Monthly Bolus Dose Vitamin D Supplementation on 25-Hydroxyvitamin D Concentrations? *J Steroid Biochem Molecular Biol.* 2020;201. doi:10.1016/j.jsbmb.2020.105687
15. Sanghera DK, Sapkota BR, Aston CE, Blackett PR. Vitamin D Status, Gender Differences, and Cardiometabolic Health Disparities. *Ann Nutr Metab.* 2017;70:79–87, doi:10.1159/000458765
16. Vallejo MS, Blümel JE, Arteaga E, Aedo S, Tapia V, Araos A, et al. Gender Differences in the Prevalence of Vitamin D Deficiency in a Southern Latin American Country: A Pilot Study. *Climacteric.* 2020;23:410–416, doi:10.1080/13697137.2020.1752171
17. AlQuaiz AJM, Kazi A, Fouda M, Alyousefi N. Age and Gender Differences in the Prevalence and Correlates of Vitamin D Deficiency. *Arch Osteoporos.* 2018;13, doi:10.1007/s11657-018-0461-5
18. De Smet D, De Smet K, Herroelen P, Gryspeerd S, Marten GA. Vitamin D Deficiency as Risk Factor for Severe COVID-19: A Convergence of Two Pandemics. *medRxiv* 2020.
19. Brouwer-Brolsma EM, Vaes AMM, van der Zwaluw NL, van Wijngaarden JP, Swart KMA, Ham AC, et al. Relative Importance of Summer Sun Exposure, Vitamin D Intake, and Genes to Vitamin D Status in Dutch Older Adults: The B-PROOF Study. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;164:168–176.
20. Tran V, Janda M, Lucas RM, McLeod DSA, Thompson BS, Waterhouse M, et al. Vitamin D and Sun Exposure: A Community Survey in Australia. *Current Oncol.* 2023;30:2465–2481, doi:10.3390/curroncol30020188