

Kalle Peltonen

D-VITAMIINI – ATEROSKLEEROOSIN RISKI- VAI SUOJATEKIJÄ?

Syventävien opintojen kirjallinen työ
Kevätlukukausi 2018

Kalle Peltonen

D-VITAMIINI – ATEROSKLEROOSIN RISKI- VAI SUOJATEKIJÄ?

Sisätautioppi
Kevätlukukausi 2018
Vastuhenkilö: Hannu Järveläinen

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

TURUN YLIOPISTO
Lääketieteellinen tiedekunta

PELTONEN, KALLE: D-vitamiini – ateroskleroosin riski- vai suojatekijä?

Syventävien opintojen kirjallinen työ, 77 s.
Sisätautioppi
Tammikuu 2018

Tutkielman tarkoituksena on tarkastella D-vitamiinin roolia ateroskleroosin riski- ja suojatekijänä. Työ on luonteeltaan kirjallisuuskatsaus, joka on kirjoitettu saatavilla olevan tuoreimman tutkimustiedon pohjalta painettuja ja sähköisiä tietokantoja apuna käyttäen. Tutkielmassa perehdytään aluksi D-vitamiinin aineenvaihduntaan ja vaikutusmekanismeihin elimistössä sekä tarkastellaan ateroskleroosin syntymekanismia. Tämän jälkeen käydään läpi D-vitamiinin solutason vaikutuskohteita ateroskleroosin kannalta. Loppua kohden syvennytään D-vitamiinin väestöpohjaisissa tutkimuksissa esiin tulleisiin vaikutuksiin niin ateroskleroosin kuin muidenkin sydän- ja verisuonitautien osalta.

Tutkielman keskeisenä sanomana voidaan pitää sitä, ettei kiistatonta näyttöä D-vitamiinin roolista ateroskleroosissa ja sen haittatapahtumissa ole olemassa. Nykyisten tutkimustulosten perusteella on kuitenkin olemassa vahvojakin viitteitä D-vitamiinin mahdollisesta osallisuudesta sekä ateroskleroosin etenemiseen että hidastumiseen. Saatavilla olevat tutkimukset ovat kuitenkin pituudeltaan ja laajuudeltaan riittämättömiä, joten laadukkaiden pitkittäistutkimusten tarve on välttämätöntä. Tilanteeseen tulee kaivattu muutos lähivuosina, kun parhaillaan käynnissä olevat väestöpohjaiset D-vitamiinin roolia sydän- ja verisuonitaudeissa kartoittavat tutkimukset valmistuvat.

Avainsanat: ateroskleroosi, D-vitamiini

SISÄLLYS

LYHENTEET	3
1. JOHDANTO	4
2. D-VITAMIININ METABOLIA	5
2.1. Endogeeninen tuotanto	5
2.2. Imeytyminen	6
2.3. Aktivaatio	7
3. D-VITAMIININ VAIKUTUSMEKANISMIT KUDOKSISSA	9
3.1. Tumareseptorin aktivaatio	9
3.2. Solukalvorseptorin aktivaatio	10
4. ATEROSKLEROOSI	12
4.1. Ateroskleroosin määritelmä	12
4.2. Ateroskleroosin syntymekanismi	13
4.2.1. Endoteelisolujen normaali toiminta	14
4.2.2. Endoteelisolujen aktivoituminen	14
4.2.3. Inflammaatio ateroskleroosissa	16
4.2.4. Rasvajuosteiden muodostuminen	17
4.2.5. Plakin muodostuminen	19
5. D-VITAMIININ JA ATEROGENEESIN VÄLINEN YHTEYS	21
5.1. D-vitamiinin vaikutus oksidatiiviseen stressiin	21
5.1.1. Typpioksidituotanto	21
5.1.2. Entsyymien happiradikaalituotanto	22
5.1.3. Mikropartikkelien vapautuminen	22
5.1.4. Solulimakalvoston stressi	24
5.1.5. FGF23-klotho-akselin toiminta	28
5.2. D-vitamiinin vaikutus inflammaatioon	29
5.3. D-vitamiinin vaikutus plakin muodostumiseen	32

5.4. D-vitamiinin vaikutus komplisoituneen plakin metaboliaan	34
5.5. D-vitamiinin epäsuora vaikutus aterogeneesiin	36
6. KLIINISET TUTKIMUKSET D-VITAMIININ JA KARDIOVASKULAARISAIRAUKSIEN VÄLISESTÄ YHTEYDESTÄ	38
6.1. Vaikutus yksittäisiin aterogeneesin vaiheisiin	39
6.1.1. Endoteelisolujen toiminta	39
6.1.2. Veren lipidiprofiili	40
6.1.3. Matala-asteinen tulehdus	42
6.1.4. Valtimon sisäseinämän kalsifikaatio	43
6.2. Vaikutus plakin kokoon	47
6.3. Vaikutus kardiovaskulaarisairauksien ilmaantuvuuteen	48
7. YHTEENVETO	53
LÄHTEET	55

LYHENTEET

15-PGDH	15-Prostaglandin Degydrogenase. Prostaglandiineja hajottava entsyymi.
BMP-2	Bone Morphogenetic Protein-2. Osteoblastien erilaistumiselle välttämätön proteiini.
DBP	Vitamin D Binding Protein. D-vitamiinia veressä kuljettava proteiini.
eNOS	Endothelial Nitric Oxide Synthase. Endoteelisoluisissa esiintyvä, typpioksidin muodostumiselle välttämätön entsyymi.
FGF23	Fibroblastikasvutekijä-23.
HIF1A	Hypoxia-inducible Factor 1-alpha. HIF1-transkriptiotekijäperheen proteiini, jonka määrä kohoaa hypoksisissa olosuhteissa.
HUVEC	Human Umbilical Vein Endothelial Cell. Napalaskimon endoteelisolu.
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1. Endoteelisolujen ja valkosolujen pinnalla ilmentyvä valkosolujen kiinnittymiselle tärkeä proteiini. Tulehduksessa vapautuvat sytokiinit lisäävät proteiinin ilmentymistä.
NF- κ B	Nuclear Factor kappa B. Patogeenisten ärsykkeiden aktivoima tulehdusreaktiota säätelevä transkriptiotekijä.
TNF- α	Tuumorinekroositekijä alfa. Pääosin makrofagien tuottama, tulehdukselle tyypillinen sytokiini.
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule-1. Endoteelisolujen pinnalla sytokiinivälitteisesti ilmentyvä valkosolujen kiinnittymiselle tärkeä proteiini.
VDR	Vitamin D Receptor. D-vitamiinin aktiivista muotoa eli kalsitriolia sitova reseptori.
VDRE	Vitamin D Response Element. Geenin alue, joka sitoo spesifisti D-vitamiinireseptorin ja retinoidi-X-reseptorin yhdessä muodostamaa kompleksia.
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor. Verisuonten kasvua stimuloiva kasvutekijä.
VSMC	Vascular Smooth Muscle Cell. Verisuonten seinämän supistuvia sileälihassoluja.

1. JOHDANTO

D-vitamiinin vaikutukset kalsiumin metabolialle ja luustolle ovat olleet tiedossa jo pitkään. Viime vuosien tutkimustulokset ovat kuitenkin antaneet ymmärtää, että D-vitamiinin rooli ei rajoittuisi vain luustoon, vaan sillä voisi olla monenlaisia mahdollisia vaikutuksia ympäri kehoa (Holick 2011, El-Fakhri ym. 2014, Bikle 2016). Tämä perustuu tietoon, että D-vitamiinireseptoreja löytyy hyvin monista eri kudoksista. Yhtenä mahdollisesti jopa kansanterveydellisesti merkittävänä löytönä voidaan pitää sitä, että reseptoreja löytyy myös soluista, jotka liittyvät läheisesti aterooman syntyprosessiin. Näitä soluja ovat valkosolut, endoteelisolut ja verisuonen seinämän sileälihassolut (Mitsuhashi ym. 1991, Wang ym. 2012, Ni ym. 2014). Kyseisillä solutyypeillä on tärkeä rooli ateroskleroosissa ja onkin esitetty, että D-vitamiinivajeella ja riskillä sairastua sydän- ja verisuonisairauksiin olisi yhteys toisiinsa. Tätä yhteyttä on perusteltu muun muassa maailmanlaajuisestikin merkittävän D-vitamiinivajeen ja kardiovaskulaarisairauksien yleisyydellä sekä sillä, että ateroskleroosi tunnetusti altistaa sydän- ja verisuonitautien komplikaatioille. (Holick 2007, Nemerovski ym. 2009, Wimalawansa 2016.) Nykyisten tutkimusten perusteella ei voida kuitenkaan sanoa varmaksi, onko kyseessä ilmiön syy vai seuraus.

Tämän tutkielman tarkoituksena on selvittää, mitä tänä päivänä tiedetään D-vitamiinin roolista ateroskleroosissa niin riski- kuin suojatekijänä. Tutkielmassa selvennetään D-vitamiinin metabolia ja vaikutusmekanismit, ateroskleroosin syntymekanismi, ja käydään läpi tämän hetkinen tieto D-vitamiinin suorista ja epäsuorista vaikutuksista aterogeneesissä. Tutkielmassa käsitellään olemassa olevan tutkimustiedon valossa D-vitamiinin anti- ja proaterogeeniset vaikutukset solutasolla ja esitellään uusimmat aiheetta käsittelevät kliiniset tutkimukset. Lisäksi tarkoituksena on pohtia, onko olemassa riittävästi näyttöä, vai ovatko lisätutkimukset tarpeellisia ennen varsinaisten johtopäätösten tekoa.

2. D-VITAMIININ METABOLIA

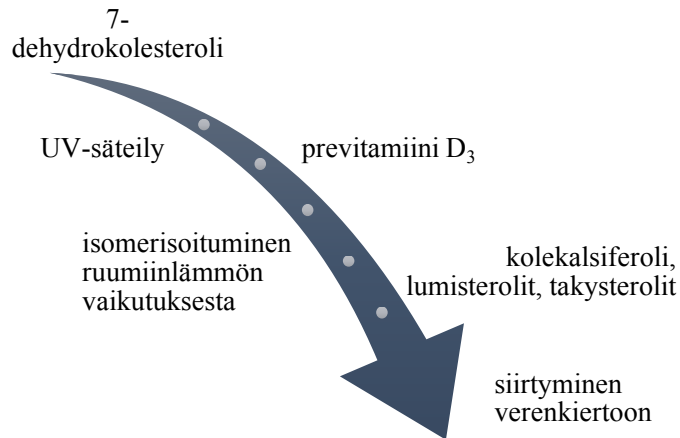
D-vitamiini on elimistölle välttämätön steroidihormoni, jota saadaan tietyistä kasvi- ja eläinkunnan tuotteista sekä endogeenisesti eli sisäsyntyisesti ihosta auringon ultravioletti B-säteilyn (UVB) vaikutuksesta. Kasvikunnan tuotteissa esiintyvä D-vitamiini eli ergokalsiferoli (D₂-vitamiini) eroaa sekä rakenteeltaan että biologiselta aktiivisuudeltaan eläinkunnan tuotteiden (mm. kala, kananmuna, öljyt, vitaminoidut maitovalmisteet) kolekalsiferolista eli D₃-vitamiinista (Armas ym. 2004, Heaney ym. 2011, Mangoo-Karim ym. 2015). Varsinkin kesäaikaan ihosta syntyy 7-dehydrokolesterolista UVB-säteilyn ansiosta huomattava määrä elimistön tarvitsemasta D-vitamiinista. Tämä endogeenisesti valmistettu D-vitamiini on kemialliselta rakenteeltaan D₃-vitamiinia eli kolekalsiferolia (Engelsen 2010).

2.1. Endogeeninen tuotanto

D-vitamiinisynteesiin saatavilla oleva UVB-säteilyn määrä riippuu auringon säteiden tulokulmasta maan pintaan nähden. Tämä johtaa siihen, että D-vitamiinisynteesi on pohjoisilla leveysasteilla riittävää vain kesäkuukausina keskipäivällä muutaman tunnin ajan. (Webb ja Holick 1988, Wacker ja Holick 2013.) Lisäksi on otettava huomioon, että ihon väri ja henkilön ikä vaikuttavat huomattavasti kykyyn absorboida UV-säteilyä (MacLaughlin ja Holick 1985, Freese ja Voutilainen 2016).

Suojaamattomassa ihosta tapahtuu UVB-säteilyn vaikutuksesta 7-dehydrokolesterolin fotoisomerisoituminen previtamiini D₃:ksi. Fotoisomerisoituminen tarkoittaa valokemiallista reaktiota, jossa sähkömagneettisen säteilyn vaikutuksesta molekyyli muuttuu toiseksi molekyyliksi, joka on alkuperäisen isomeeri. (Holick ym. 1980, Webb ja Holick 1988.) 7-dehydrokolesteroli on D-vitamiinin esiaste eli provitamiini, jonka herkkyys UV-säteilylle on suurinta hyvin kapealla, noin 295-300 nanometrin

aallonpituudella (MacLaughlin ym. 1982). Sen pitoisuus ihossa on suurin orvaskeden alimmissa kerroksissa, tyvikerroksen ja okasolukerroksen keratinosyyteissä, missä D-vitamiinin biosynteesikin pääosin tapahtuu (Webb ja Holick 1988, Bikle 2011).



Kuva 1. D-vitamiinin endogeeninen tuotanto.

Previtamiini D₃ isomeroituu ruumiinlämmön vaikutuksesta D₃-vitamiiniksi eli kolekalsiferoliksi sekä muiksi isomeereiksi, kuten lumisteroliksi ja takysteroliksi, joilla ei kuitenkaan ole biologista aktiivisuutta. Mikäli auringossa oleskelee pitkiä aikoja, ei D-vitamiinimyrkytystä pääse syntymään, sillä ylimääräinen D₃-vitamiini muuntuu inaktiivisiksi lumi- ja takysteroleiksi. (Wacker ja Holick 2013.) Syntynyt D₃-vitamiini siirtyy vereen, jossa se kulkeutuu maksaan pääosin DBP-kuljetusproteiiniin kiinnittyneenä (Freese ja Voutilainen 2016).

2.2. Imeytyminen

Ravinnon mukana tulleet ergokalsiferoli ja kolekalsiferoli imeytyvät ohutsuolen alueelta pääosin passiivisella diffuusiolla, mutta on myös esitetty, että tietynlaisilla kuljetusproteiineilla olisi vaikutusta absorptioon (Reboul ym. 2011). Ergo- ja kolekalsiferolin imeytymisen on rotilla tehdyissä kokeissa todettu olevan lineaarista

suhteessa saadun annoksen määrään, joten saannin kasvaessa myös absorptio tehostuu samassa suhteessa (Hollander ym. 1978). Terveillä miehillä tehty kliininen tutkimus (Barger-Lux ym. 1998) vahvistaa tätä tulosta.

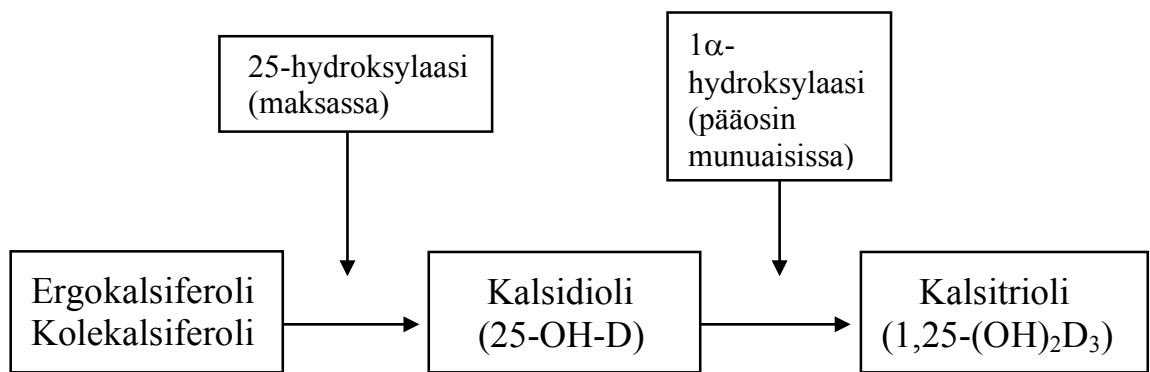
Rasvaliukoisina yhdisteinä ergo- ja kolekalsiferolin imeytyminen tapahtuu kuten ravinnon lipideillä yleensä, jolloin sappisuolojen muodostaman emulsion kautta molekyylit siirtyvät passiivisesti ohutsuolen epiteelisoluihin eli enterosyytteihin. Enterosyyteissä lipidit pakataan kylomikroneihin, jotka eritetään ulos solusta imusuoniston kuljettavaksi. Elimistön heikko rautatilanne vähentää D-vitamiinin imeytymistä. (Freese ja Voutilainen 2016.)

2.3. Aktivaatio

D-vitamiini ei ole ergo- tai kolekalsiferolim muodossa aktiivinen hormoni, vaan se vaatii elimistössä kaksi hydroksylaatioreaktiota aktivoituakseen. Ensimmäinen reaktioista tapahtuu maksassa. Ihossa endogeenisesti syntynyt kolekalsiferoli siirtyy maksaan plasman DBP-kuljetusproteiinin välityksellä, kun taas ravinnon mukana tulleet yhdisteet saapuvat maksaan kylomikronijäänteen kuljettamana (Freese ja Voutilainen 2016). Maksassa D₂- ja D₃-vitamiini hydroksyloidaan 25-hydroksi-D-vitamiiniksi eli kalsidioliksi (25-OH-D) sytokromi-P450-perheeseen kuuluvan 25-hydroksylaasientsyymin katalysoimana (Zhu ja DeLuca 2012). Tätä maksassa tapahtuvaa hydroksylaatiota ei juurikaan säädellä, vaan se on riippuvainen maksaan saapuvan ergo- ja kolekalsiferolin määrästä (Bhattacharyya ja DeLuca 1973). Plasman kalsidiolipitoisuus onkin hyvä ja luotettava elimistön D-vitamiinitasapainon mittari (Thomas ym. 1998, Holick ym. 2011, Freese ja Voutilainen 2016).

Munuaisissa ja eräissä muissa kudoksissa, kuten ihossa, verisuonistossa, suolistossa, aivoissa ja lisäkilpirauhasissa muodostuu tarpeen mukaan veressä kiertävästä kalsidiolista biologisesti aktiivista D-vitamiinia eli kalsitriolia (1,25-(OH)₂D₃) (Bikle 2009, Lehmann ja Meurer 2010). Tästä jälkimmäisestä hydroksylaatiosta on vastuussa niin ikään

sytokromi-P450-perheeseen kuuluva 1α -hydroksylaasientsyymi, jonka aktiivisuutta säädellään tarkoin seerumin kalsium-, fosfaatti-, FGF23- ja parathormonipitoisuuksien avulla (Kassi ym. 2013). Vaikka 1α -hydroksylaasiaktiivisuutta on kudoksissa ympäri kehoa, määrittää munuaisissa tapahtuva aktivaatio kuitenkin käytännössä kokonaan plasman kalsitriolipitoisuuden, sillä perifeerisissä kudoksissa vaikutukset rajoittuvat paikallisesti kyseiseen kudokseen (Bikle 2009).



Kuva 2. D-vitamiinin aktivaatio.

3. D-VITAMIININ VAIKUTUSMEKANISMIT KUDOKSISSA

Kalsitrioli ($1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$) kulkeutuu veren mukana pääosin D-vitamiinia sitovaan proteiiniin kiinnittyneenä, ja vain pieni osuus on plasmaan liuenneena. Tämä plasmaan liuenneena oleva vapaa kalsitrioli on kuitenkin se, joka kykenee kiinnittymään reseptoriin. Kalsitrioli välittää vaikutuksensa kohdekudoksissa sijaitsevien, steroidihormonireseptoreiksi luokiteltavien D-vitamiinireseptorien (VDR) välityksellä, jotka voivat sijaita joko kohdesolun tumassa tai sen solukalvolla (Margolis ja Christakos 2010, Haussler ym. 2011). Tumassa sijaitseva D-vitamiinireseptori välittää $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$:n hitaat, genomiset vaikutukset kohdesoluissa (Haussler ym. 1998, Haussler ym. 2013). Solukalvon pienistä kuopakkeista eli kaveoleista on myös löydetty D-vitamiinia sitovia reseptoreja. Nämä reseptorit ovat vastuussa kalsitriolin nopeista vasteista, joita ei pystytä selittämään proteiinisynteesin aktivaatiolla. (Huhtakangas ym. 2004.)

D-vitamiinia sitovia reseptoreja on viime vuosina pystytty paikantamaan laajalti eri solu- ja kudostyypeistä ympäri kehoa (Bikle 2016). Tämä on johtanut tarkempiin tutkimuksiin D-vitamiinin vaikutuksista myös sellaisissa kudoksissa, joissa D-vitamiinilla ei ole ajateltu olevan minkäänlaista säätelyfunktiota. Tässä työssä erityisen kiinnostuksen kohteena ovat suurten ja keskisuurten valtimoiden sisäseinämän sisältämät D-vitamiinireseptorit ja niiden käynnistämät vasteet soluissa. Näitä soluja ovat valkosolut, endoteelisolut ja sileälihassolut.

3.1. Tumareseptorin aktivaatio

D-vitamiinia sitova tumareseptori on DNA:han sitoutuva transkriptiotekijä, joka muodostaa heterodimeerin retinoidi X-reseptorin (RXR) kanssa, kun kalsitrioli kiinnittyy reseptoriin (Haussler ym. 2013). Tämä heterodimeeri voi kiinnittyä satojen eri geenien säätelyalueen vaste-elementtiin ja vuorovaikuttaa erilaisten säätelijäproteiinien kanssa

joko aktivoiden tai vaimentaen kyseisiä geenejä (Ramagopalan ym. 2010, Heikkinen ym. 2011). Vaste-elementti on geenin promoottori- tai tehostajajaksoalueella sijaitseva spesifisti tiettyjä transkriptiotekijöitä sitova alue (Response Elements. U.S. National Library of Medicine, 18.7.2017). D-vitamiini-reseptorikompleksin kiinnittyminen D-vitamiinin vaste-elementtiin (VDRE) tapahtuu sinkkisormirakenteen avulla (Wan ym. 2015).

D-vitamiinia sitovia tumareseptoreja on löydetty eniten ohutsuoesta, haiman Langerhansin saarekkeista, munuaisten distaalista tubuluksista ja osteoblasteista, jotka ovatkin D-vitamiinin niin sanottuja perinteisiä kohdekudoksia (Wang ym. 2012). Perinteisten kohdekudosten rinnalle on kuitenkin tullut uusia *VDR*-geeniä ilmentäviä soluja, joista tämän tutkielman kannalta tärkeimpiä ovat endoteelisolut, verisuonen seinämän sileälihassolut ja valkosolut, kuten makrofagit (Provvedini ym. 1983, Mitsuhashi ym. 1991, Kreutz ym. 1993, Ni ym. 2014). Ohutsuolen alueella kalsitrioli aktivoi enterosyyteissä kalsiumin imeytymistä tehostavia geenejä. Esimerkiksi *TRPV6*-geenin aktivaatio tehostaa enterosyytin kalsiumkanavien transkriptiota ja *CaBP_{9k}*-geenin aktivaatio lisää puolestaan kalsiumia enterosyytin sisällä kuljettavien kalbindiini-molekyylin transkriptiota. Näiden lisäksi enterosyyttien basolateraalilla kalvolla käynnistyy kalsiumpumppujen transkriptio *ATP2B1*-geenin välityksellä. (Hausler ym. 2013.) Munuaisissa *TRPV5*-, *klotho*- ja *CaBP_{28k}*-geenien aktivaatio lisää kalsiumin takaisinimeytymistä, kun taas luussa aktiivisella D-vitamiinilla on luun muodostumista ja hajoamista tehostava vaikutus. Luun metabolisen aktiivisuuden tehostuminen välittyy ainakin parathormonia, osteokalsiinia, osteopontiinia, FGF23:a ja RANK-ligandia koodavien geenien aktivaation kautta. (Hausler ym. 2011, Bikle 2012, Hausler ym. 2013.)

3.2. Solukalvoreseptorin aktivaatio

Kohdesolun sisäisen D-vitamiinireseptorin välittämien hitaiden genomisten vasteiden lisäksi kalsitrioli saa aikaan nopeita vasteita solukalvon kuopakkeissa eli kaveoleissa

sijaitsevien solukalvoreseptoreiden avulla (Huhtakangas ym. 2004). Jänniteriippuvaisten kalsium- ja kloridikanavien avautuminen osteoblasteissa, kalsiumin nopea imeytyminen ohutsuolesta sekä insuliinin erityys haiman β -soluista ovat esimerkkejä nopeista vasteista, joita ei ole kyetty selittämään perinteisen, geeniaktivaatioon nojaavan teorian avulla (Norman 2006). Vaikutusmekanismit ovat hyvin monimutkaisia, eivätkä ne ole tämän tutkielman kannalta olennaisia. On kuitenkin hyvä ymmärtää, että aktivaatio välittyy toisiolähetijärjestelmän kautta solun sisälle.

D-vitamiinin solukalvovastetta on todettu välittävän ainakin VDR- ja $1,25D_3$ -MARRS-reseptorit (Huhtakangas ym. 2004, Nemere ym. 2004). Jälkimmäisestä käytetään lähteestä riippuen myös nimityksiä Pdia3, ERp60, ERp57 ja Grp58 (Khanal ja Nemere 2007, Doroudi ym. 2014, Gaucci ym. 2016). Solukalvovälitteistä säätelyä on havaittu tapahtuvan esimerkiksi luiden kasvulevyjen rustosoluissa (Boyan ym. 2006, Doroudi ym. 2015).

4. ATEROSKLEROOSSI

4.1. Ateroskleroosin määritelmä

Ateroskleroosi ja arterioskleroosi ovat patologisia tiloja, jotka paikantuvat valtimoiden seinämiin. Kirjallisuudessa termejä saatetaan käyttää sekaisin, mikä voi joissain tapauksissa johtaa väärinkäsityksiin. Arterioskleroosilla tarkoitetaan suurten valtimoiden seinämän paksuuntumista ja lihaksisen keskikerroksen eli tunica median joustavuuden vähenemistä. Suuret valtimot jäykistyvät, koska niiden sisältämä elastiini hajoaa, menettää venymiskykyään ja fibrotisoituu pääosin korkean iän ja verenpaineen aiheuttaman rasituksen seurauksena. (Diez 2007, Kumar ym. 2013.) Joustavuuden väheneminen johtuu ainakin osittain valkosolujen erittämien, elastiinia hajottavien proteaasien toiminnasta (Gayral ym. 2014, Hirsch ja Ghigo 2014). Arterioskleroosi siis heikentää verisuoniston kykyä kompensoida sydämen pumppaustoiminnan aiheuttamia verenpaineen muutoksia. Arterioskleroosin alatyyppejä ovat pieniin valtimoihin ja arterioleihin kohdistuva arterioloskleroosi, keskikokoisia valtimoita kalsifioiva Mönckebergin mediaskleroosi ja suurempiin valtimoihin kohdistuva ateroskleroosi (Kumar ym. 2013, O'Rourke 2015, Fishbein ja Fishbein 2015).

Ateroskleroosi on pääosin suuria ja keskisuuria valtimoita ahtauttava krooninen tulehdussairaus, joka saa alkunsa valtimon sisäkerroksen eli tunica intiman endoteelin toiminnan häiriintymisestä (Ross 1999, Haarala 2012, Atkins ym. 2015). LDL-kolesterolin ja oksidatiivisen stressin rooli ovat hyvin keskeisessä asemassa niin aterogeneesin alkuvaiheessa kuin kroonisen tulehduksen ylläpidossa. Valtimoiden ahtautuminen johtuu ateroskleroottisen plakin muodostumisesta vauriokohtaan. Plakilla eli ateroomalla on lipidiydin, jota peittää sidekudoksen katto (Kovanen ja Pentikäinen 2016). Plakki voi kasvaessaan peittää koko suonen läpimitaltaan tai revetä, jolloin seurauksena on usein henkeä uhkaavia komplikaatioita. Paikallinen verihyytymä voi tukkia ateroskleroottisen suonen, ja trombimassasta irronneet osat voivat embolisoida

kaukanakin repeämäalueesta sijaitsevia verisuonia. Tällöin kyseisten suonten ravitsema kudosalue ei saa tarpeeksi happea. Hapenpuutteen seurauksena voi syntyä esiintymispaikasta riippuen aivoinfarkti, sydäninfarkti tai alaraajojen ahtauttava valtimosairaus (Kumar ym. 2013). Valtimoiden lihaskerroksen heikkeneminen tautiprosessin myötä lisää myös alttiutta aneurysmille ja aortan dissekaatiolle. Tauti on tyypillisesti elintavoista riippuvainen, sillä varsinkin runsaasti tyydyttyynyttä rasvaa sisältävä ruokavalio ja tupakointi edesauttavat taudin kehittymistä (Freese ja Voutilainen 2016, Kervinen 2017). Ravinnon sisältämällä kolesterolilla ei ole todettu olevan niin suurta vaikutusta veren kolesterolipitoisuuteen ja sitä kautta taudin syntyyn (Virtanen ym. 2015). Myös D-vitamiinin puutteellinen tai liiallinen saanti voi mahdollisesti olla kehittyvän taudin taustalla (Campbell ja Rosenfeld 2015, Muscogiuri ym. 2017).

4.2. Ateroskleroosin syntymekanismi

Ateroskleroosille on tyypillistä, että sen kehittyminen alkaa jo hyvin nuorella iällä. Se alkaa kehittyä erityisesti paikkoihin, joissa verenkierto on hitaampaa ja pyörteisempää. Tällaisia otollisia aterooman kehittymisalueita ovat esimerkiksi suonten haarautumiskohdat. (Davies 2009, Gimbrone ja García-Cardena 2013.) Tarkkaa tietoa siitä, miten ateroskleroottisen plakin muodostuminen saa alkunsa, ei ole pystytty vielä ratkaisemaan. Useat teoriat kuitenkin nojaavat siihen, että valtimoa verhoava endoteeli aktivoituu (Davignon ja Ganz 2004, Gimbrone ja García-Cardena 2016). Tupakointi, korkea verenpaine, veren korkea LDL-pitoisuus ja mahdollisesti myös sairastetut mikrobitaudit ovat riskitekijöitä, jotka edesauttavat valtimon endoteelin aktivoitumista ja rasvajuosteen muuttumista vähitellen fibroateroomaksi. Näistä veren korkea LDL-pitoisuus on ratkaisevin tekijä, sillä ilman sitä ei myöskään ateroskleroosia kehity. (Kovanen ja Pentikäinen 2016.)

4.2.1. Endoteelisolujen normaali toiminta

Ehjä endoteeli on välttämätön verisuonen terveelle toiminnalle. Endoteeli ei ole pelkästään veren ja sitä ympäröivän verisuonikudoksen välissä oleva passiivinen yhden solukerroksen muodostama seinämä, vaan sillä on monia elimistön toiminnan kannalta keskeisiä ominaisuuksia. Endoteelisolujen normaalitoimintoihin kuuluvat Victoria ym. (2009) mukaillen kyky säädellä

- verisuonen läpäisevyyttä ja sitä kautta aineiden kuljetusta endoteelin yli
- verisuonitonusta vasodilatoivien yhdisteiden (esim. typpioksidi eli NO ja prostasykliini) ja vasokonstriktioivien yhdisteiden (esim. angiotensiini, endoteliini, tromboksaani A2) erityksen tasapainoa säätelemällä
- veren hyytymistä tuottamalla anti- ja protromboottisia yhdisteitä
- endoteelisolujen pinnalle verisolujen kiinnittymiselle välttämättömien adheesiomolekyyliden (VCAM-1 ja ICAM-1) ja verisoluja houkuttelevien kemotaktisten yhdisteiden (esim. verihiutaleita aktivoiva tekijä eli PAF, IL-8, MCP-1) tuotantoa.

4.2.2. Endoteelisolujen aktivoituminen

Veren hyytymisen kannalta endoteelisolujen aktivoituminen on välttämätöntä. Endoteelisolujen aktivoituessa edellä mainitut normaalitoiminnot muuttuvat osittain käänteisiksi normaalitilanteeseen nähden. Ateroskleroosin yhteydessä endoteelisolujen aktivoitumisesta käytetään usein nimeä endotelialinen dysfunktio, joka viittaa endoteelin toimintahäiriöön. Erityisesti verisuonia supistavien ja laajentavien yhdisteiden erityksen tasapaino häiriintyy endoteelin toimintahäiriössä. Esimerkiksi typpioksidin erityks vähenee, jolloin valtimot supistuvat. Kuten mainittua, lyhyellä aikavälillä muutokset ovat fysiologisia, mutta pitkittyessään ne altistavat valtimoseinämän muutoksille. Viime vuosina tutkimukset ovat antaneet yhä enemmän varmuutta siitä, että endoteelisolujen aktivaation taustalla olisi endoteeliin kohdistuva oksidatiivinen stressi, jonka vaikutusta sekundääriset tekijät, kuten elintavat, normaali vanheneminen ja erilaiset

valtimon seinämään kohdistuvat sairaudet, tehostavat (Pagano ym. 1995, Victor ym. 2009, Siasos ym. 2014, Husain ym. 2015).

Hapettumista estävien antioksidanttien ja aineenvaihdunnassa syntyvien reaktiivisten happiradikaalien välillä vallitsee soluissa normaalisti tasapaino, ja tasapainon järkkäytyminen johtaa solun toiminnalle haitallisen oksidatiivisen stressin lisääntymiseen. Erityisesti NADPH-oksidaasi on vastuussa verisuoniseinämässä syntyneistä happiradikaaleista, sillä entsyymi tuottaa runsaasti superoksidia (O_2^-) (Pagano ym. 1995). Happiradikaalien lisääntyminen tehostaa LDL-kolesterolin hapettumista ja kerääntymistä endoteelin alaiseen subendotelialitilaan, sekä lisää valkosolujen kiinnittymiselle välttämättömien VCAM-1 ja ICAM-1 -proteiinien ilmentymistä endoteelisolujen pinnalla (Salvayre ym. 2002, Tabas 2010, Soehnlein 2012, Viola ja Soehnlein 2015). LDL-partikkelit jäävät subendotelialitilaan, koska ne kiinnittyvät soluväliaineen proteoglykaaneihin (Victor ym. 2009, Kovanen ja Pentikäinen 2016). Jumiin jääneet LDL-partikkelit hapettuvat helposti, ja paikalle saapuneet makrofagit aloittavat hapettuneiden LDL-hiukkasten fagosytoosin. Fagosytoosi tapahtuu makrofagien pinnalla sijaitsevien scavenger-reseptorien (SR-A1 ja CD36) välityksellä, sillä ne tunnistavat hapettuneen LDL-partikkelin (Quinn ym. 1987, Kunjathoor ym. 2002, Victor ym. 2009). Hiirillä, joilta puuttuu kyseisiä reseptoreja koodaava geeni, ei kehity ateroskleroosia (Kunjathoor ym. 2002, Kovanen ja Pentikäinen 2016).

Hapettuneet LDL-hiukkaset ja endoteelisolujen lisääntynyt kemokiinieritys houkuttelevat paikalle veren monosyyttejä, jotka tunnistavat kohdesolun sen pinnan adheesiomolekyyleistä VCAM-1 ja ICAM-1 (Deshmane ym. 2009, Hartman ja Frishman 2014). Monosyytit siirtyvät endoteelin läpi intiman puolelle, erilaistuvat makrofageiksi, ja aloittavat scavenger-reseptorivälitteisen fagosytoosin (Salvayre ym. 2002). Netrin-1 on makrofagien erittämä proteiini, joka estää makrofagien migraatiota eli vaeltamista paikasta toiseen, edesauttaen makrofagien jäämistä tulehdusalueelle (van Gils ym. 2012, Ramkhelawon ym. 2013). Ylensyöneet, tulehdusalueelle juuttuneet makrofagit muuttuvat vaahtosoluiksi, jotka erittävät ympäristöönsä sytokiineja, kuten IL-1 β :aa ja TNF- α :aa

(Swirski ja Nahrendorf 2013, Tabas ja Bornfeldt 2016). Sytokiinit lisäävät endoteelin läpäisevyyttä ja houkuttelevat paikalle lisää tulehdussoluja. Endoteelin läpäisevyyden kasvu puolestaan helpottaa LDL-partikkelien kerääntymistä tunica intimaan, mikä on tärkeä askel ateroskleroottisen plakin muodostumisessa. Myös hapettuneet LDL-hiukkaset lisäävät sytokiinituotantoa sekä entisestään tehostavat jo korkeaa happiradikaalimuodostusta (Cominacini ym. 1998).

Endoteelin toimintahäiriöön liittyvä typpioksidituotannon väheneminen on hyvin keskeinen osa aterogeneesiä, sillä vasodilatoivana yhdisteenä typpioksidi on tärkeä angiotensiini II:n ja endoteeliinin vastavaikuttaja (Matthys ja Bult 1997, Davignon ja Ganz 2004, Förstermann ja Sessa 2012, Rapoport 2014). Oksidatiivisen stressin lisääntyminen vähentää typpioksidia muodostavan typpioksidisyntaasin (eNOS) aktiivisuutta, mikä johtaa verisuonten heikentyneeseen typpioksidituotantoon. Pienentynyt typpioksidin määrä yhdistettynä kasvaneeseen happiradikaalien tuotantoon lisää LDL-partikkelien hapettumista, tehostaa endoteelisolujen aktivaatiota ja lisää makrofagien siirtymistä verisuonikudokseen, mikä luo ateroskleroosin kehittymiselle otolliset olosuhteet valtimoseinämässä (Förstermann ym. 2017).

4.2.3. Inflammatio ateroskleroosissa

Tulehdus ja oksidatiivinen stressi liittyvät kiinteästi yhteen. Oksidatiivisen stressin lisääntyminen tehostaa valkosolujen saapumista kudokseen ja tulehdustila puolestaan lisää oksidatiivista stressiä aiheuttavien vapaiden radikaalien muodostumista. Tuumorinekroositekijä alfa (TNF- α) on tulehdukselle ja ateroskleroosin kehittymiselle tyypillinen sytokiini, joka muun muassa aktivoi NF- κ B-perheeseen kuuluvia transkriptiotekijöitä, estää typpioksidituotantoa ja aiheuttaa solujen apoptoosia, ruokkien vaurioituneen endoteelin aikaansaamaa tulehdustilaa (Tedgui ja Mallat 2006, Husain ym. 2015). NF- κ B-aktivaatio on ilmeistä ateroskleroottisissa plakeissa, mutta vielä ei ole täysin selvää, onko sillä kokonaisuutena ateroskleroosia edistävä vai taudilta suojaava vaikutus (Brand ym. 1996). NF- κ B:n ja ateroskleroosin välinen vuorovaikutus onkin

todennäköisesti tasapainottelua proinflammatoristen eli tulehdusta aiheuttavien ja anti-inflammatoristen eli tulehdusta ehkäisevien vaikutusten välillä (Kanters ym. 2003, Tedgui ja Mallat 2006). Viime vuosina vahvistusta on kuitenkin saanut käsitys, että NF- κ B-aktivaatio olisi nimenomaan negatiivinen asia ateroskleroosin kannalta. Perusteena tälle on, että kyseisen transkriptiotekijäperheen proteiinien aktivaatio on todettu laajalti tulehdusta edistäväksi, ja sitä kautta ateroskleroosia stimuloivaksi tekijäksi (Gareus ym. 2008, Baker ym. 2011).

Koko elimistön mittakaavassa ateroskleroosia sairastavilla potilailla on havaittavissa lievästi kohonneet C-reaktiivisen proteiinin ja interleukiini-6:n pitoisuudet merkinä kroonisesta tulehduksesta (Ridker ym. 1997, Ridker ym. 2000). Inflammatio edistää aterogeneesin etenemistä ja aterooman kasvua, mutta on tärkeä tekijä myös pidemmälle kehittyneiden ateroomaplakkien repeytymisherkkyudessa. Ridkerin ym. (2017) tekemän kaksoissokkoutetun randomisoidun tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, pitääkö ateroskleroosin selitysmallina esitetty inflammatorinen hypoteesi paikkaansa. Tutkimuksessa annettiin sydäninfarktin sairastaneille potilaille makrofagien ja monosyyttien erittämän IL-1 β -sytokiinin vasta-ainetta nimeltään kanakinumabi. Kanakinumabia saaneiden potilaiden C-reaktiivisen proteiinin ja interleukiini-6:n pitoisuudet veressä laskivat merkittävästi tutkimusjakson aikana verrattuna lumelääkkeeseen. Seurannan aikana lisäksi sydän- ja verisuonikomplikaatioiden määrä väheni 150 milligrammaa kanakinumabia saaneen ryhmän jäsenillä. Lipiditasoissa ei kuitenkaan havaittu muutosta, joten vaikutus mitä ilmeisimmin oli seurausta lääkkeen kyvystä vähentää ateroskleroosille tyypillistä tulehdustilaa. Tutkimus osoitti todeksi jo aiemmin vahvaa jalansijaa saaneen hypoteesin siitä, että inflammatio on keskeinen osa ateroskleroosia (Ross 1999).

4.2.4. Rasvajuosteiden muodostuminen

Makrofageja kerääntyy vaurioalueelle, sillä niiden tehtävä on poistaa intiman oksidoitunutta LDL-kolesterolia fagosytoimalla sitä. Syöjäsolut eivät kuitenkaan kykene

täydellisesti hallitsemaan fagosytoosiaan, jolloin ne muuttuvat kolesterolipitoisiksi vaahtosoluiksi ja käynnistävät tulehdusvasteen erittämällä sytokiineja ympäristöön (Meng ym. 2015). Vaahtosolujen täyttyminen kolesterolilla johtaa solukuolemaan, mikä niin ikään lisää tulehdusta stimuloivien sytokiinien vapautumista ympäristöön. Vaahtosolut muodostavat intimaan endoteelin alle niin kutsuttuja rasvajuosteita, joiden kehitys alkaa jo lapsuudessa. (Insull 2009.) Rasvajuosteiden muodostuminen on täysin normaalia, kunhan juosteiden muodostuminen ja hajoaminen ovat tasapainossa. Tässä suuressa roolissa ovat HDL-kolesteroli ja sellaiset makrofagit, jotka eivät vielä ole muuttuneet vaahtosoluiksi.

Valtimon intimakerroksessa on suuri määrä levymäisiä HDL-hiukkasten esiasteita sekä kypsiä pallomaisia HDL-hiukkasia, jotka kykenevät ottamaan vaahtosoluilta kolesterolia sisäänsä. Tämä niin kutsuttu kolesterolin takaisinkuljetus on vastuussa kolesterolin palauttamisesta takaisin verenkiertoon ja sitä kautta maksaan metaboloitavaksi. Levymäiset HDL-partikkelit ottavat kolesterolia sisäänsä ABCA1-kuljetusproteiinin avulla ja pallomaiset HDL-partikkelit ABCG1-kuljetusproteiinin avulla. (Kovanen ja Pentikäinen 2016.)

Rasvajuosteet sisältävät sekä kuolleita että eläviä valkosoluja. Ylensyöneet, kuolevat vaahtosolut houkuttelevat paikalle eläviä makrofageja, jotka fagosytoivat kuolleita vaahtosoluja. Tämä efferosytoosiksi kutsuttu fagosytoosin muoto on erittäin tärkeä tekijä siinä, kehittykö rasvajuoste ateroomaksi, vai jääkö se rasvajuosteen tasolle. (Thorp ja Tabas 2009, Tabas 2010, Ravichandran 2011.) Mikäli efferosytoosi ja uusien vaahtosolujen muodostuminen ajautuvat epätasapainoon esimerkiksi veren liiallisen LDL-kolesterolipitoisuuden seurauksena, jatkuu rasvajuosteen kehitys sidekudoksisen fibroaterooman suuntaan. Tämä on seurausta siitä, että vapautuvat kasvutekijät saavat aikaan tunica media -kerroksen sileälihassolujen siirtymistä valtimon intimakerroksen subendotelialitilaan (Rudijanto 2007).

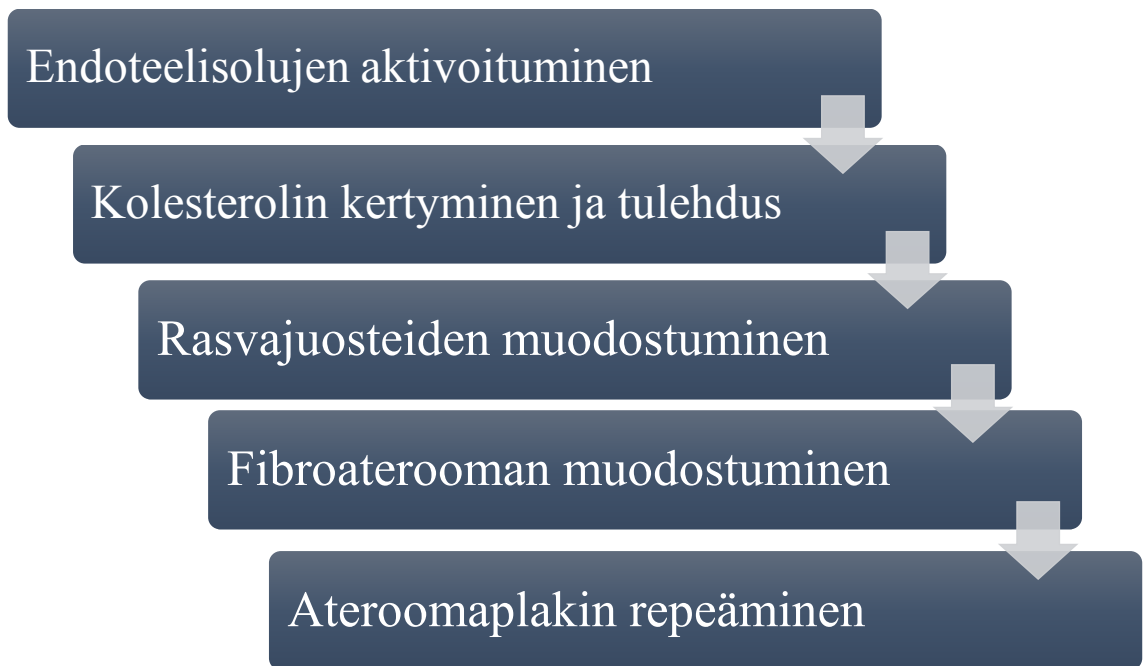
4.2.5. Plakin muodostuminen

Fibroateroomatasolle edenneen ateroomaplakin ytimen koostumukseen kuuluvat olennaisena osana kuolleet, nekroottiset vaahtosolut, sekä kolesterolिकासaumat. Lipidiydin on rakenteeltaan asellulaarinen, eli ydin ei sisällä eläviä soluja. (Sakakura ym. 2013.) Ateroomaa ympäröimään saapuu intiman ja median alueelta signaaliproteiinien, kuten TNF- α :n, IL-1 β :n, matriksin metalloproteiinaasien (MMP) ja insuliininkaltaisen kasvutekijä 1:n (IGF-1) säätelemänä valtimoseinämän sileälihassoluja (VSMC), jotka muodostavat yhdessä erittämänsä kollageenin kanssa ateroomalle säikeisen, fibroottisen kuoren (Wang ym. 2001, Rudijanto 2007, Hristov ja Weber 2015, Chistiakov ym. 2015). Tämä fibroottisen kuoren ja lipidiytimen muodostama kokonaisuus on nimeltään fibroaterooma. Tässä prosessissa keskeisessä roolissa on sileälihassolujen fenotyypin muutos, eli kyky muuttua supistuvista soluista sidekudosta tuottaviksi soluiksi (Rudijanto 2007, Chistiakov ym. 2015).

Boströmin ym. (1993) tekemässä tutkimuksessa havaittiin ensimmäistä kertaa luukudoksen metaboliolle tärkeiden BMP-2:n ja osteopontiinin aktiivista erittymistä ihmisen ateroskleroottisesta plakista. Löytö loi pohjan ateroskleroottisen plakin kalsifikaation ja osteogeneettisen prosessin molekulaarisesta yhteydestä. BMP-2 on luukudokselle tyypillinen, osteoblastien erittämä proteiini, jota tarvitaan luun ja ruston muodostumisessa (Carreira ym. 2014). Ateroskleroottisen intimakudoksen tulehdustila saa aikaan sytokiinierytystä, mikä tehostaa sileälihassolujen fenotyypin muutosta. Boströmin ym. (1993) tekemä tutkimus oli tärkeä askel ymmärtämään mekanismia, jolla kalsifikaatio ja aterogeneesi liittyvät yhteen. Tutkimuksen kautta saatiin yhteys sille, että mekanismi muistuttaa hyvin paljon luukudoksessa tapahtuvaa luutumisen prosessin osaa, mineralisaatiota.

Kalsifikaatioprosessi käynnistyy, kun valtimoseinämän sileälihassolut alkavat erilaistua osteogeneettisiksi soluiksi nekroottisen ytimen lähettämien sytokiinisignaalien stimuloimana (Fok 2012, Chistiakov ym. 2015). Erityisesti TNF- α toimii tässä tärkeänä

viestimolekyylinä (Ikeda ym. 2012). Kalsifikaation edetessä ateroomaplakin koko kasvaa, ja sen nekroottisen lipiditimen ympärille muodostuu fibroateroomalle tyypillinen sidekudoskatto, jonka paksuus vaikuttaa ratkaisevasti plakin kestävyYTEEN. Mikäli rasvaydin on pieni, on fibroottinen katto plakilla vahvarakenteinen eikä niin altis repeytymiselle, kuin suuren rasvaytimen sisältävällä ohutseinäisellä fibroateroomalla. (Kovanen ja Pentikäinen 2016.) Sileälihassolujen apoptoosi tulehdussolujen vapauttamien sytokiinien stimuloimana heikentää sidekudoksista kuorirakennetta, joten inflammaatio ei pelkästään stimuloi aterooman kehittymistä vaan myös altistaa plakin repeytymiselle (Rudijanto 2007). Ateroskleroottisen plakin repeytymisen aiheuttama paikallinen verihyytymä tai plakin kulkeutuminen ja juuttuminen vitaleja elintoimintoja ravitseviin suoniin muodostaakin suuren komplikaatioriskin valtimotautia sairastavilla potilailla.



Kuva 3. Ateroskleroosin syntymekanismi.

5. D-VITAMIININ JA ATEROGENEESIN VÄLINEN YHTEYS

D-vitamiinireseptorien ja 1α -hydroksylaasiaktiivisuuden löytyminen ateroskleroosiin läheisesti liittyvistä endoteelisoluista, sileälihassoluista ja valkosoluista, kuten makrofageista, on johtanut tutkimuksiin D-vitamiinin yhteydestä aterogeneesin kannalta olennaisiin solutason mekanismeihin (Merke ym. 1989, Mitsuhashi ym. 1991, Kreutz ym. 1993). Oksidatiivinen stressi ja inflammaatio ovat keskeisessä asemassa niin aterogeneesin eli ateroskleroottisen plakin muodostumisen alkuvaiheessa kuin pidemmälle edenneen sairauden komplikaatioiden ilmenemisessä. Endoteelin aktivoituminen, valkosolujen ja sileälihassolujen toiminta sekä ateroskleroottisen plakin muodostuminen ovat keskeisiä aterogeneesin vaiheita, joihin D-vitamiini mahdollisesti kykenee vaikuttamaan. Monta eri vuorovaikutuksen takana olevaa tekijää on löydetty, ja suurin osa näistä tekijöistä liittyy tavalla tai toisella joko oksidatiivisen stressin tai inflammaation inhibitioon.

5.1. D-vitamiinin vaikutus oksidatiiviseen stressiin

5.1.1. Typpioksidituotanto

Kalsitriolin on todettu lisäävän endoteelisolujen kykyä tuottaa typpioksidia. Typpioksidituotannon tehostuminen vähentää valkosolujen siirtymistä tulehdusalueelle, parantaa vasodilataatiota eli verisuonten laajenemista ja vähentää LDL:n hapettumista (Zeiher ym. 1995, Förstermann ym. 2017). Typpioksidin kyky vähentää kemokiini MCP-1:n tuotantoa ja endoteelisolujen pinnan adheesiomolekyylien (VCAM-1 ja ICAM-1) vuorovaikutusta monosyyttien kanssa on tärkeää aterogeneesin alkuvaiheessa, koska se vaikeuttaa monosyyttien saapumista tulehdusalueelle ja estää niiden kiinnittymistä

endoteelisolun solukalvolle (Zeiger ym. 1995). Kalsitriolin on todettu myös suojaavan endoteelisoluja oksidatiivisen stressin aiheuttamalta solukuolemalta tehostamalla typpioksidituotantoa (Uberti ym. 2014).

Ni ym. selvittivät vuonna 2014 julkaisemassaan tutkimuksessa VDR-poistogeenisillä endoteelisolulla *in vivo*, että D-vitamiinin puute johtaa verisuonen seinämän heikentyneeseen relaksaatioon. Lisääntyneen vaskulaaritonuksen lisäksi selvisi, että koeryhmän verenpaine oli korkeampi ja reaktiivisten happiradikaalien tuotanto suurempi kuin kontrolliryhmällä, jolta ei oltu poistettu D-vitamiinireseptoria endoteelisoluihstaan. Jia ym. (2017) antoivat lisävarmistusta sille, että endoteelisolujen eNOS-entsyymin toiminta pienenee oksidatiivisen stressin vaikutuksesta. Tutkimusryhmä havaitsi tämän lisäksi D-vitamiinin lisäävän eNOS-entsyymin toimintaa, sillä D-vitamiini aktivoi *eNOS*-geenin promoottorialuetta. Samaan tulokseen pääsivät myös Martínez-Miguel ym. (2014) ja Uberti ym. (2014) endoteelisolulla tekemissään tutkimuksissa.

5.1.2. Entsyymien happiradikaalituotanto

Oksidatiiviselta stressiltä suojautumisessa on typpioksidituotannon tehostumisen lisäksi myös muita mekanismeja, joihin D-vitamiini kykenee vaikuttamaan. Yksi mahdollinen vaikutuskohde on NADPH-oksidaasi-entsyymi, joka tuottaa suuret määrät superoksidia muun muassa endoteelisolussa ja makrofageissa (Pagano ym. 1995). D-vitamiinianalogi oksakalsitriolia käytettiin Hiratan ym. (2013) tekemässä tutkimuksessa, jossa etsittiin yhteyttä D-vitamiinin ja happiradikaalituotannon välillä. Tutkimukset osoittivat oksakalsitriolin estävän happiradikaalien muodostumisesta vastuussa olevan NADPH-oksidaasin toimintaa.

5.1.3. Mikropartikkelien vapautuminen

Oksidatiivisen stressin on todettu lisäävän mikropartikkelien irtoamista endoteelin seinämästä ja D-vitamiinin puolestaan estävän sitä (Jia ym. 2017). Endoteelin pinnasta

irronneiden mikropartikkelien määrä on koholla endoteelin toimintahäiriössä, sillä inflammaation seurauksena vapautuneet sytokiinit, kuten TNF- α ja interleukiinit edistävät mikropartikkelien irtoamista (Puddu ym. 2010, Yong ym. 2013).

Mikropartikkelit ovat pieniä endoteelisoluista tai muista soluista peräisin olevia vesikkelirakenteita, jotka voivat kuljettaa pintarakenteisiinsa kiinnittyneenä erilaisia proteiineja, kuten reseptoreja ja entsyymejä (VanWijk ym. 2003). Mikropartikkeleja irtoaa normaalisti pieniä määriä, mutta esimerkiksi endoteelin toimintahäiriöllekin tyypillisen lisääntyneen inflammaation tai nousseen apoptoosiherkkyyden vuoksi irtoaminen voi kiihtyä (Yong ym. 2013, Jia ym. 2017). Kiinnostus mikropartikkelien ja ateroskleroosin yhteydestä juontaa juurensa mikropartikkelien kyvystä stimuloida endoteelisolujen aktivaatiota vähentämällä typpioksidin tuotantoa ja lisäämällä vapaiden happiradikaalien tuotantoa elimistössä (Boulanger ym. 2001, Brodsky ym. 2004, Yong ym. 2013).

Vuonna 2017 julkaistut Jian ym. ja Xun ym. tekemät tutkimukset HUVEC-soluilla ja istukan trofoblastisolulla esittävät, että oksidatiivista stressiä vähentämällä kalsitrioli vähentäisi mikropartikkelien irtoamista. HUVEC-solut ovat ihmisen napanuorasta eristettyjä napalaskimon endoteelisoluja, joita pystytään helposti viljelemään laboratorioolosuhteissa (Jiménez ym. 2013). Xun ym. tekemässä tutkimuksessa havaittiin myös, että mikropartikkelit sisältävät kaspasi-3-nimistä, apoptoosin käynnistämässä keskeistä molekyyliä. Samaan päätelmään pääsi Hussein tutkimusryhmineen jo vuonna 2007, joten tuore tutkimus vahvistaa tätä tietoa. Husseinin ym. (2007) tutkimuksessa päädyttiin siihen, että mikropartikkelien vapautumisella olisi endoteelisolujen apoptoosia vähentävä vaikutus, koska mikropartikkelit kuljettivat proapoptoottista tekijää, kaspasi-3:a pois endoteelisoluista.

Apoptoosia indusoivilla mikropartikkeleilla voisi olla osittainen rooli ateroskleroosin alkuvaiheessa, sillä ne stimuloivat aterogeneesin alkuvaiheelle tyypillistä endoteelin toimintahäiriötä. Vaikka Hussein ym. (2007) esittävätkin tutkimuksessaan

mikropartikkelien vapautumisen suojaavan endoteelisoluja apoptoosilta, ovat vapautuneet mikropartikkelit kuitenkin muualle elimistöön päätyessään mahdollinen endoteelin aktivoitumista edistävä tekijä. Mikropartikkelien vapautuminen verenkiertoon, niiden kulkeutuminen elimistössä toiseen paikkaan ja kiinnittyminen mikropartikkelin pinnan adheesioreseptoreilla muualle verisuoniston sisäpintaan voisivat olla ateroskleroosille altistava mekanismi (Dignat-George ja Boulanger 2011). On huomattava, että ateroskleroottisen plakin nekroottisen ytimen makrofageista vapautuu huomattavat määrät mikropartikkeleja taudin myöhemmässä vaiheessa, sillä mikropartikkeleja vapautuu erityisesti kuolevista soluista (Distrel ym. 2011). Ateroskleroosin alkuvaiheen kannalta on kuitenkin keskeisempää, mitä endoteelisoluista peräisin olevat mikropartikkelit saavat aikaan.

5.1.4. Solulimakalvoston stressi

Solulimakalvoston stressi tarkoittaa väärin laskostuneiden proteiinien tai laskostumattomien proteiinien kasaantumista solulimakalvostoon, koska solulimakalvoston maksimaalinen kapasiteetti laskostaa proteiineja on ylittynyt. Proteiinien kerääntyminen laukaisee solulimakalvostossa UPR-vasteen (Unfolded Protein Response), jonka tarkoituksena on monimutkaisen viestijärjestelmän kautta helpottaa solun ”ruuhka-aikaa”. (Senft ja Ronai 2015.) UPR-vaste välittyy ATF6-, IRE1- ja PERK -proteiinien välityksellä, jotka aistivat solulimakalvoston kuormitustilaa (Scull ja Tabas 2011).

UPR-vasteen ollessa riittämätön suhteessa kerääntyvien proteiinien määrään, solut erittävät ympäristöönsä tulehdusta aktivoivia sytokiineja sekä apoptoosia edistäviä tekijöitä (Oakes ja Papa 2015). Ilmiö on kroonistuessaan yhdistetty viime vuosina yhä enenevässä määrin oksidatiivisen stressin laukaisemiin tulehdusreaktioihin kuten ateroskleroosiin, sillä oksidatiivisen stressin ja hapettuneiden LDL-partikkelien lisääntymisen on havaittu aiheuttavan laskostumiseen vaikuttavaa solulimakalvoston stressiä (Malhotra ja Kaufman 2007, Zhou ja Tabas 2013). Erityisesti makrofagien

solulimakalvosto on sille alttiina, koska makrofagit ottavat kolesterolia sisäänsä suuret määrät aterogeneesiin edetessä.

Feng ym. (2003) todistivat tutkimuksessaan, että vapaa kolesteroli on toksista makrofagien solulimakalvostolle. Kolesteroli käynnistää solulimakalvoston UPR-vasteen ja sitä kautta aiheuttaa makrofagien apoptoosia ja nekroosia aterooman lipidiytimessä. Vuonna 2009 Erbay ym. vahvistivat käsitystä kolesterolin käynnistämästä UPR-vasteesta todistamalla, että solulimakalvoston kuormitustila lievenee makrofageilla, kun niitä käsitellään proteiinien laskostumista ohjaavilla kaitsijaproteiineilla eli chaperoneilla. Kaitsijaproteiinien merkitystä endoplasmisen stressivasteen hoidossa on tutkittu hyvällä menestyksellä myös Ozcanin ym. (2006) diabeettisilla hiirillä tekemässä tutkimuksessa.

Haas ym. (2016) tutkivat kalsitriolin vaikutusta solulimakalvoston kuormitustilaan HUVEC-soluilla. Tutkimus osoitti, että kalsitrioli kykenee vähentämään solulimakalvoston stressiä aktivoimalla soluissa spesifejä signaalintireittejä. Vaikutus oli suurempi, mikäli soluja oli esikäsitelty kalsitriolilla. Tämän ajateltiin tutkimuksessa johtuvan siitä, että esikäsitely lisäsi D-vitamiinireseptorien ilmentymistä, jolloin reseptoreja oli saatavilla enemmän. Vanhemmassa, Riekin ym. (2014) tekemässä tutkimuksessa selvitettiin D-vitamiinin vaikutusta solulimakalvoston stressiin diabeettisilla potilailla. Tutkimus ei ollut kovin laaja sisältäen vain 12 koehenkilön analysoinnin. Tuloksiin tuleekin suhtautua kriittisesti, sillä hajonta saattaa näin pienessä otoksessa olla suurta. Tutkimus antoi kuitenkin ymmärtää, että kalsitrioli vähensi potilaiden makrofagien ja monosyyttien solulimakalvoston kuormitusta ja sitä kautta vähensi monosyyttien pinnan adheesiomolekyylien ilmentymistä. Tämä johti monosyyttien pienentyneeseen endoteelisoluadheesioon ja vähentyneeseen määrään tulehdusalueella.

Ohin ym. (2009) niin ikään diabetesta sairastavilla potilailla tekemä tutkimus osoitti, että vaahtosolujen muodostuminen vähenee solulimakalvoston kuormitustilaa vähentämällä. Tämä on seurausta kalsitriolin kyvystä vaimentaa makrofagien scavenger-reseptoreja

(SR-A1 ja CD36), jotka ovat välttämättömiä hapettuneen LDL:n sisäännotossa (Kunjathoor ym. 2002). Huomionarvoista kuitenkin on, että tutkimus tehtiin diabeettisilla potilailla. Vaikutusmekanismi ja vaste saattavat olla hyvinkin erilaisia ei-diabeettisilla potilailla.

Solulimakalvoston ylikuormitustilaa ei ole yhdistetty pelkästään endoteelisolujen toimintahäiriöön, vaan konkreettista todistetta ilmiön esiintymisestä hauraiden plakkien rakenteessa on myös esitetty (Myoishi ym. 2007). Tutkimusryhmä selvitti ruumiinavausaineiston perusteella sepelvaltimotautia sairastaneiden potilaiden atheroomaplakin solujen solulimakalvoston stressiä ja UPR-vastetta. Tulokset viittasivat siihen, että hauraiden sekä jo revenneiden plakkien rakenteesta löytyi enemmän sellaisia apoptoottisia soluja, joiden solulimakalvostossa oli havaittavissa ylikuormitusta. Samaa ei ollut havaittavissa vakaammissa, paksumman fibroottisen kerroksen omaavissa plakeissa. Valtimoseinämän sileälihassolut ja makrofagit ovat keskeisiä plakin kestävyden kannalta, ja niissä tapahtuva apoptoosi heikentää plakin kestävyttä huomattavan paljon, mikä altistaa sen repeytymiselle (Kovanen ym. 2016). Myoishin ym. (2007) tekemä tutkimus osoittikin, että myös aterogeneesin myöhemmässä vaiheessa solulimakalvoston stressillä on merkitystä, sillä solulimakalvoston ylikuormitustila ja UPR-vaste ovat molemmat havaittavissa myöhemmän vaiheen fibroottisten plakkien makrofageissa sekä sileälihassoluissa.

Kuten yllä jo todettiin, ovat ateroskleroottisen plakin fibroottisen kuoren muodostumisessa ja kalsifikaatiossa tärkeät verisuoniseinämän sileälihassolut myös alttiita solulimakalvoston stressille (Myoishi ym. 2007, Furmanik ja Shanahan 2017). Valtimoiden tunica media -kerroksesta löytyvillä sileälihassoluilla on endoteelisolujen ja makrofagien ohella erittäin keskeinen rooli aterogeneesissä. Sileälihassolut toimivat normaalitilanteessa tunica median supistuvina soluina, jotka ovat vastuussa verisuonitonuksen muutoksista. Ne myös kykenevät verisuonen seinämän uudismuodostukseen seinämän vaurioituessa. (Rzucidlo ym. 2007.)

Patologisessa tilassa, kuten ateroskleroosin yhteydessä, nämä sileälihassolut kykenevät siirtymään intiman puolelle ja muuttamaan fenotyyppiään sidekudossolun kaltaisiksi soluiksi, jolloin ne alkavat erittää kollageenia (Opitz ym. 2007). Fenotyypin muuttuminen on keskeistä fibroottisen kuoren syntymisessä ateroskleroottisen plakin ympärille. Plakin kestävyuden kannalta kuoren muodostumisen ja sen hajoamisen tulisi olla tasapainossa, jotta plakki olisi kestävä. Mikäli sileälihassoluja kuolee enemmän kuin uusia saapuu paikalle, alkaa plakin kollageenikuori heiketä rakenteeltaan, jolloin plakki on altis repeämiselle (Kovanen ym. 2016).

Tuore *in vivo* -tutkimus antaa vihiä siitä, mihin suuntaan UPR-vasteen ja ateroskleroosin tutkimuksessa on viime aikoina edetty (Tufanli ym. 2017). Tutkimuksessa saatiin pienillä, UPR-vasteeseen vaikuttavilla molekyyyleillä aikaan aterogeneesin hidastumista. Vaikutukset ilmenivät muun muassa makrofagien määrän vähenemisen ja plakin kollageenimäärän lisääntymisen kautta. Kollageenimäärän kasvu vähentää plakin haurautta ja repeytymisalttiutta. Myös sytokiinierityksen havaittiin pienentyneen käsittelyn aikana.

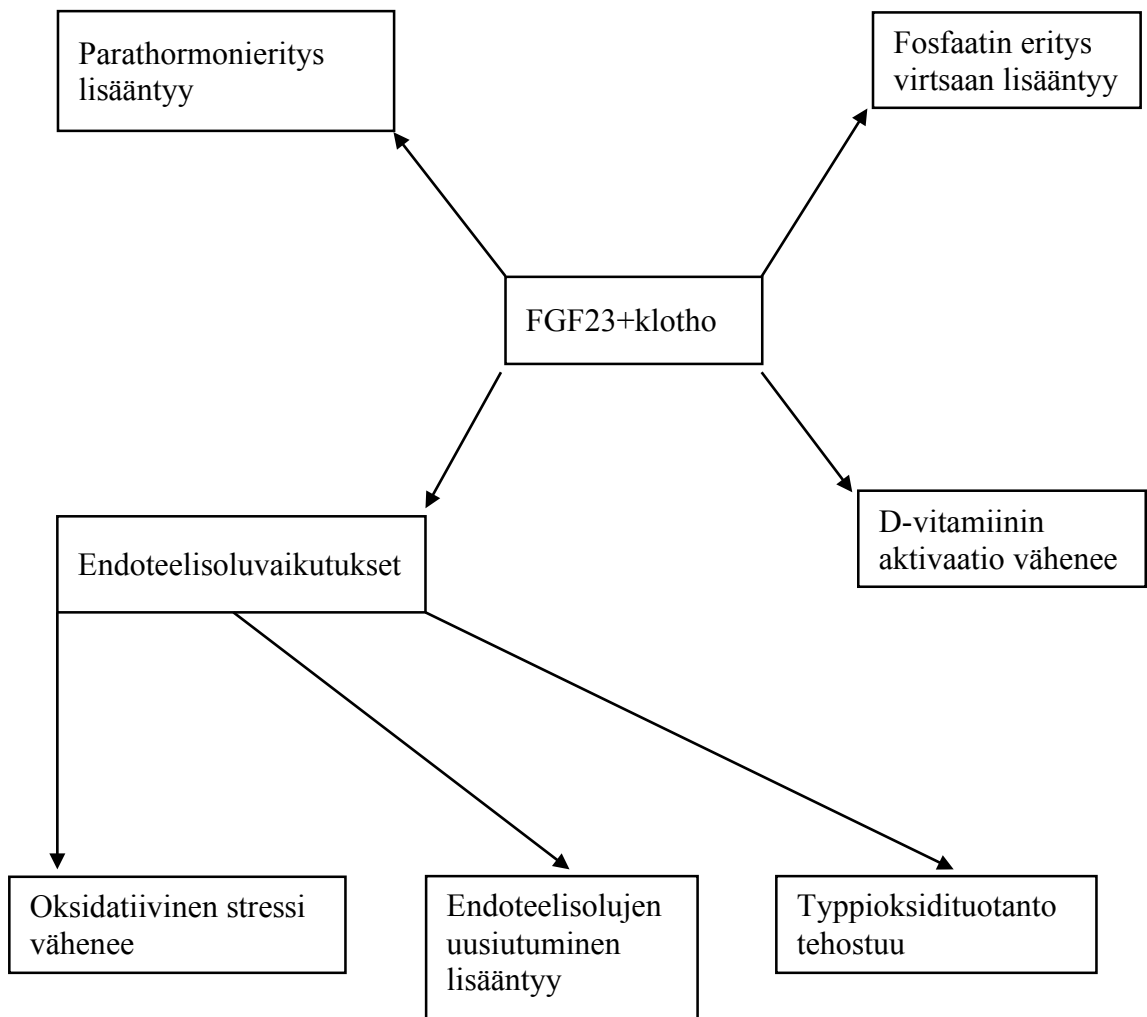
Solulimakalvoston stressin on todettu lisäävän valtimon sileälihassolujen apoptoosiherkkyyttä ja sitä kautta lisäävän alttiutta plakin repeämiselle (Ivanova ja Orekhov 2016). Ilmiötä koskevissa tutkimuksissa onkin pikkuhiljaa siirrytty kohti sileälihassolujen toiminnan tutkimista (Furmanik ja Shanahan 2017). Suoranaisia tutkimuksia, jotka linkittäisivät D-vitamiinin vaikutuksia valtimon sileälihassolujen solulimakalvoston stressiin, ei ole vielä julkaistu. Tämä olisikin yksi potentiaalinen tutkimuskohde, sillä valtimon sileälihassolujen kokema solulimakalvoston stressi on todistettu tärkeäksi tekijäksi aterogeneesin progressiossa (Ivanova ja Orekhov 2016, Furmanik ja Shanahan 2017).

5.1.5. FGF23-klotho-akselin toiminta

Klotho-geenin merkitys ikääntymiseen liittyvien sairauksien tutkimuksessa on ollut merkittävä (Kuro-o ym. 1997). Geeni sisältää koodin α -klotho-proteiinille, jolla on keskeinen tehtävä D-vitamiinin, kalsiumin ja fosfaatin aineenvaihdunnan säätelyssä yhdessä fibroblastikasvutekijä 23:n (FGF23) kanssa (Erben ja Andrukhova 2017). Hiirillä tehdyt tutkimukset ovat antaneet selviä viitteitä geenin vaikutuksista ikääntymiseen. *Klotho*-geenin vähentynyt aktiivisuus on aiheuttanut eliniän lyhenemistä, kun taas geenin lisääntynyt aktiivisuus on pidentänyt hiirien elinikää (Xu ja Sun 2015).

Klotho-proteiini ja FGF23 toimivat hyvin tiiviissä vuorovaikutuksessa keskenään halutun vasteen aikaansaamiseksi. FGF23-klotho-akselin aktivaatio lisää parathormonin muodostumista lisäkilpirauhasissa, lisää fosfaatin eritystä virtsaan ja vähentää aktiivisen D-vitamiinin muodostumista munuaisissa (Medici ym. 2008, Haussler ym. 2012, Yamada ja Giachelli 2016). Näiden lisäksi klotholla on todettu olevan kudosspesifisiä vaikutuksia muun muassa aterogeneesin kannalta keskeisissä endoteelisoluissa ja valtimoseinämän sileälihassoluissa (Six ym. 2014, Ding ja Ma 2015). Endoteelisoluissa FGF23 lisää klothon välityksellä endoteelisolujen uusiutumista, vähentää happiradikaalien muodostumista ja tehostaa typpioksidituotantoa (Chung ym. 2017, Yao ym. 2017).

D-vitamiinin on todettu säätelevän FGF23:a ja klotho-proteiinia koodaavia geenejä (Ding ja Ma 2015). Tämän lisäksi FGF23-klotho-akselin aktivaation on havaittu suojaavan endoteelin normaalia toimintaa. Saattaakin olla, että D-vitamiinin mahdollinen endoteelia suojaava vaikutus on osittain peräisin kyvystä vuorovaikuttaa FGF23-klotho-akselin kanssa.



Kuva 4. FGF23-klotho-akselin aktivaation vaikutukset.

5.2. D-vitamiinin vaikutus inflammaatioon

Ateroskleroosille on tyypillistä sekä paikallinen että systeeminen tulehdustila, mikä on havaittavissa kohonneiden tulehdusmerkkiainepitoisuuksien (fibrinogeeni, CRP ja IL-6) kautta (Ridker ym. 1997, Ridker ym. 2000, Corrado ym. 2010). Endoteelin toiminnan häiriintyminen, oksidatiivinen stressi ja inflammaatio liittyvät kiinteästi yhteen, ja ne

ovatkin keskeisiä tekijöitä aterogeneesin etenemisen kannalta. NF- κ B on patogeenisten signaalien, kuten IL-1 β :n aktivoima transkriptiotekijä, jonka avulla elimistö säätelee tulehdukselle tyypillisten sytokiinien eritystä. Kyseisen transkriptiotekijän ilmentyminen on suora jatkumo aktivoituneelle tulehdusvasteelle. (Tedgui ja Mallat 2006, Lawrence 2009, NF-kappa B. U.S. National Library of Medicine, 18.10.2017). Jablonski ym. onnistuivat näyttämään tutkimuksessaan ensimmäistä kertaa toteen vuonna 2011, että endoteelisolujen D-vitamiinireseptorien ja 1 α -hydroksylaasientsyymien ilmentyminen vähenevät D-vitamiinivajeessa. Samassa tutkimuksessa seerumin kalsidiolipitoisuuden todettiin korreloivan endoteelin toimintaan keski-ikäisten ja vanhempien aikuisten keskuudessa. Lisäksi tutkimusryhmä osoitti, että endoteelisolut ilmentävät tulehdukselle tyypillistä NF- κ B-tekijää sitä enemmän, mitä matalampi seerumin kalsidiolipitoisuus on. Toisin sanoen D-vitamiinivajeen todettiin lisäävän solujen inflammatorista tilaa.

NF- κ B:n ilmeneminen aterosklerootisessa intimakudoksessa on monessa lähteessä todettu tosiasia (Brand ym. 1996, Pierce ym. 2009). Sen toiminta aterogeneesissä ei kuitenkaan ole välttämättä yksiselitteinen, sillä kyseisen proteiinin toiminta tulehduksessa ja ateroskleroosissa on monimutkainen. Sen vaikutusmekanismi on osittain aterogeneesiä edistävä ja osittain sitä estävä, mutta edellisen tutkimuksen (Jablonski ym. 2011) olosuhteissa NF- κ B:n vaikutukset aterogeneesille todettiin olevan estäviä. Tutkimuksen mukaan krooninen tulehdus endoteelissa ja valtimoseinämän sileälihassoluissa juontaisi juurensa NF- κ B:n ekspressiosta, D-vitamiinilla ollen estävä vaikutus prosessiin. Samantyyppistä suuntausta, että D-vitamiini vähentäisi NF- κ B:n aktivaatiota ja sitä kautta tulehdusta, on havaittavissa Piercen ym. (2009) ja Aoshiman ym. (2012) tekemissä tutkimuksissa sekä Krishnanin ja Feldmanin (2010) julkaisemassa, D-vitamiinin anti-inflammatorisia vaikutuksia käsittelevässä artikkelissa. Kalsitriolin havaittiin häiritsevän suoraan NF- κ B-transkriptiotekijän toimintaa, mutta vaikuttavan myös epäsuorasti NF- κ B-välitteiseen signalointiin lisäämällä NF- κ B:n toimintaa estävien proteiinien määrää. Vaikka edellä kuvatuissa *in vitro* -tutkimuksissa havaittiin D-vitamiinin estävän NF- κ B-reitin toimintaa, ei hiljattain julkaistussa Mousan ym. (2017) tekemässä *in vivo* -tutkimuksessa löydetty D-vitamiinin ja NF- κ B:n välistä yhteyttä.

Mousan ym. julkaisema tutkimus oli lumekontrolloitu ja kaksoissokkoutettu satunnaistettu tutkimus, jossa 65 ylipainoisen ja D-vitamiinivajeisen koehenkilön tulehdusarvoja sekä NF- κ B-aktiivisuutta seurattiin D-vitamiinilisän antamisen jälkeen 16 viikon ajan. Tutkimus antoi vahvoja viitteitä siitä, että D-vitamiinin vaikutus ihmiskehossa tulehdukseen eroaa laboratorio-olosuhteista huomattavasti.

NF- κ B voisi mahdollisesti toimia eräänlaisena ”liikenteenohjaajana” D-vitamiinin vaikutusten suhteen. Tätä tukee havainto, että useat ateroskleroosin ja D-vitamiinin yhteyttä tutkineet tutkimusryhmät ovat löytäneet yhteyksiä D-vitamiinin vaikutuksista NF- κ B-reittiin, mutta siitä huolimatta kliinisissä tutkimuksissa ei ole saatu varmoja viitteitä D-vitamiinin ja ateroskleroosin yhteydestä. Tämä voisi esimerkiksi selittää sen, että tutkimuksissa vain pienillä D-vitamiinin määrän lisäyksillä on saatu ateroskleroosin etenemistä hidastettua, kun taas suuremmilla annoksilla vaikutus on ollut jopa ateroskleroosia edistävä (Shroff ym. 2008, Razzaque 2011, Lau ym. 2012, Ellam ym. 2014, Torremadé ym. 2016, Xiang ym. 2017). Tutkimuksissa on kiinnitetty pääosin huomiota D-vitamiinin kykyyn estää NF- κ B-transkriptiotekijöiden vaikutusta, ja sitä kautta sen kykyyn vähentää tulehdusta (Pierce ym. 2009, Jablonski ym. 2011). Ei olisi kuitenkaan poissuljettua ajatella, että D-vitamiinin kyky inhiboida NF- κ B-reittiä olisi ateroskleroosin kannalta mahdollisesti negatiivinen asia. NF- κ B:n vaikutusten on kuitenkin todettu olevan joissain tapauksissa jopa tulehdusta ehkäiseviä, vaikkakin toteamukset ovatkin jääneet vaille sen suurempaa näyttöä (Kanters ym. 2003, Tedgui ja Mallat 2006).

NF- κ B-signalointiin vaikuttamisen lisäksi D-vitamiini voi vuorovaikuttaa myös muiden tulehdukselle tyypillisten tekijöiden kanssa. Syklo-oksigenaasientsyymi-2 (COX-2) on yksi tutkinnan alla ollut keskeinen kohde, koska sillä on tärkeä rooli tulehdusta välittävien prostaglandiinien tuotannossa. Sen toimintaa tehostaa sytokiinien, kuten TNF- α :n ja interleukiinien tuotanto. D-vitamiinin on havaittu estävän COX-2:n toimintaa estämällä sitä koodaavan geenin ilmentymistä (Krishnan ja Feldman 2010, Wang ym. 2014, Sun ym. 2014). Wang ym. (2014) havaitsivat D-vitamiinin vähentävän makrofagiin kykyä

valmistaa COX-2-entsyymiä, mikä pienensi tulehdusta aiheuttavien proinflammatoristen sytokiinien tuotantoa. Sytokiinituotannon pieneneminen vähensi tulehdussolujen siirtymistä tulehdusalueelle. Myös toinen samana vuonna julkaistu tutkimus jatkoi samoilla linjoilla D-vitamiinin vaikutusten suhteen (Sun ym. 2014). Tutkimuksessa kalsitriolin havaittiin estävän hypoksian eli hapenpuutteen ja oksidatiivisen stressin käynnistämää *COX-2*-geenin ilmentymistä istukan trofoblastisoluisissa.

D-vitamiinin aikaansaama prostaglandiinimäärän väheneminen ei rajoitu mekanismiltaan vain COX-2-inhibiitioon, sillä myös prostaglandiinkatabolialle keskeinen 15-PGDH-entsyymi on yksi kalsitriolin mahdollinen vaikutuskohde. Pichaud ym. (1997) käsittelivät ihmisen neonataaleja, napanuorasta eristettyjä monosyyttejä kalsitriolilla, ja havainnoivat 15-PGDH-aktiivisuuden vähentyneen huomattavasti käsittelyn aikana. Tulokset tehtiin neonataaleilla, napanuorasta eristetyillä monosyyteillä, joten tulosten yleistäminen laajempaan yhteyteen saattaa olla ongelmallista.

5.3. D-vitamiinin vaikutus plakin muodostumiseen

On merkillepantavaa, että D-vitamiinin rooli kalsifikaatiossa on useissa tutkimuksissa todettu ristiriitaiseksi. Kassi ym. (2013) ottavat esille laajassa ja perusteellisessa katsauksessaan D-vitamiinin ja valtimoseinämän sileälihassolujen dualistisen vuorovaikutuksen, joka on tullut ilmi Rebsamenin ym. (2002), Raymondin ym. (2005) ja Tukaj'n ym. (2010) suorittamissa tutkimuksissa. Suurilla kalsitrioliannoksilla sileälihassolujen siirtyminen valtimon mediakerroksesta intimaan kasvoi, kun taas normaaleilla, fysiologisilla annoksilla, sileälihassolujen jakautuminen ja siirtyminen intimaan vähenivät tai pysyivät ennallaan. Tämä D-vitamiinimäärästä riippuvainen ei-lineaarinen vaste luo käsityksen, jonka mukaan D-vitamiini olisi sekä normaalia pienempinä että normaalia suurempina määrinä verisuonia jäykistävä ja ateroskleroosia edesauttava yhdiste. Normaalirajoissa pysyessään sen vaikutukset taas olisivat kalsifikaatioprosessia ehkäiseviä.

Kroonista munuaisten vajaatoimintaa (CKD) potevilla potilailla tehty tutkimus osoitti kalsitriolin ja parikalsitolin (D₃-agonisti) vähentävän aortan kalsifikaatiota suurentamalla *klotho*-geenin aktiivisuutta (Lau ym. 2012). Tutkimuksen ei voida suoraan olettaa sopivan samalla mekanismilla toimivaksi intiman kalsifikaation kanssa, joka on ateroskleroosin myöhemmässä vaiheessa ilmeinen tapahtuma. Ei ole kuitenkaan poissuljettua, etteikö D-vitamiini voisi vaikuttaa samoin myös intiman kalsifikaatioon ateroskleroosin yhteydessä. Lim ym. (2012) vahvistavat näkemystä *klotho* kyvystä hidastaa kalsifikaatiota ja valtimoseinämän sileälihassolujen muuttumista sidekudosta tuottaviksi soluiksi. Tutkimuksessa D-vitamiiniagonistien todettiin stimuloivan *klotho*-geenin ekspressiota ihmisen sileälihassoluissa, ja näin ollen vaikuttavan positiivisesti *klotho*-välitteisiin kudosaikatuksiin. Erityisesti *klotho* kyky estää sileälihassolujen muuttumista supistuvasta tyypistä sidekudosta muodostavaan tyyppiin tuli tutkimuksessa hyvin esille, sillä *klotho* puute sileälihassoluissa altisti solut tälle fenotyypin muutokselle.

Tuore tutkimus Molinuevon ym. (2017) tekemänä esittää samansuuntaisia päätelmiä D-vitamiinin kyvystä estää valtimoseinämän sileälihassolujen muuttumista supistuvasta muodosta kalsifikaatiota edistävään erittävään muotoon. Tutkimuksessa D-vitamiinin todettiin vähentävän osteoblastien erilaistumiselle tärkeän transkriptiotekijä *RUNX2*:n ilmentymistä verisuonen sileälihassoluissa ja näin estävän sileälihassolujen muuttumista osteogeneettisiksi erittäviksi soluiksi. D-vitamiini vähensi myös solujen kollageenituotantoa ja lisäsi supistuville sileälihassoluille tyypillisen α -aktiinin määrää. Sama tutkimus osoitti D-vitamiinin ehkäisevän sileälihassolujen happiradikaalituotantoa, minkä oletettiin olevan taustalla D-vitamiinin kyvyssä vaimentaa *RUNX2*-ekspressiota. Happiradikaalien määrän väheneminen ehkäisee paikallista tulehdusta, mikä estää tehokkaasti sileälihassolujen muuttumista supistuvasta muodosta erittävään muotoon. D-vitamiinin kyky vähentää happiradikaalituotantoa niin endoteeli- kuin sileälihassoluissa on todettu aiemminkin useissa eri tutkimuksissa (Polidoro ym. 2013, Uberti ym. 2014, Marampon ym. 2016).

Mary ym. (2015) ottivat tutkimuksessaan esille D-vitamiinin kyvyn säädellä mineralisaatiota CaSR-reseptorien välityksellä. CaSR-reseptorit ovat eri kudoksista ympäri kehoa löytyviä solunulkoisen kalsiumpitoisuuden muutoksia aistivia G-proteiiniin kytkettyjä reseptoreja. Lisäkilpirauhasista ja munuaisista löytyvät reseptorit ovat tärkeimpiä solunulkoisen kalsiumpitoisuuden määrittämisessä. Kalsiumpitoisuutta aistivien reseptorien toiminta on välttämätöntä, jotta elimistö pystyy suojaautumaan hypo- ja hyperkalseemisilta olosuhteilta. Kalsitriolin todettiin lisäävän CaSR-reseptorin lähetti-RNA:n transkriptiota ja sitä kautta CaSR-reseptorin synteesiä tietyissä rajoissa olevien kalsitriolipitoisuuksien avulla. CaSR-tuotannon kasvun todettiin vaikuttavan kalsiumpitoisuuteen myönteisesti, kalsifikaatiota inhiboiden. Kuten Mary ym. ottivat pohdinnassaan esille, havaittiin kyseiset vaikutukset vain hyvin tarkoissa rajoissa pysyneen kalsitriolipitoisuuden (1 nmol/l) avulla. Pienemmillä tai suuremmilla arvoilla havaittiin pienenevä vaikutus CaSR-tuotantoon, tulosten noudattaessa U-käyrää. Tutkimus vahvistikin useissa lähteissä ilmi tullutta käsitystä U-käyrän muodossa kasvavasta D-vitamiinin proaterogeenisestä vaikutuksesta (Shroff ym. 2008, Razzaque 2011, Lau ym. 2012, Ellam ym. 2014, Torremadé ym. 2016, Xiang ym. 2017).

5.4. D-vitamiinin vaikutus komplisoituneen plakin metaboliaan

Kasvava ateroskleroottinen plakki tarvitsee muiden kudosten tavoin toimivan verisuonituksen. Angiogeneesi eli verisuonten uudismuodostus on vastuussa uusien verisuonten syntymisestä. Kroonistunut tulehdus ja angiogeneesi kulkevat usein käsi kädessä, sillä hypoksiset olosuhteet stimuloivat kudoksessa sekä tulehdusta että angiogeneesiä. Ateroskleroottisen plakin verisuonittumisesta käytetään nimeä neovaskularisaatio. (Sluimer ja Daemen 2009.) Neovaskularisaatiota tehostavat yllä mainitun hypoksian lisäksi valkosolujen ja verisuonikudoksen vapauttamat kasvutekijät. Plakin verisuonittuminen luo plakin kasvuun otollisemmat olosuhteet mahdollistamalla ravinteiden ja hapen saapumisen alueelle. Happi ja ravinteet stimuloivat plakin kasvua entisestään, mikä altistaa plakin repeämisen ja sitä kautta lisää suonen tukkeutumisen riskiä. (Costa ym. 2007, Parma ym. 2017.) D-vitamiinin on todettu vähentävän

syöpäkasvainten angiogeneesiä vähentämällä prosessille välttämättömän HIF1A-proteiinin transkriptiota ja sitä kautta estämällä verisuonten kasvua edistävän VEGF-kasvutekijän erittymistä (Ben-Shoshan ym. 2007). Tarkempia tutkimuksia D-vitamiinin vaikutuksista ateroskleroottisen plakkin angiogeneesiin olisi syytä tehdä, sillä aihepiiri on kiinnostava, eikä luotettavia tutkimustuloksia aiheesta ole juurikaan saatavilla.

Angiogeneesi luo ateroskleroottiselle plakille mahdollisuuden kasvaa kokoa. Koon kasvu kuitenkin lisää ateroskleroosin komplikaatoriskiä, sillä plakkin suurentunut koko altistaa plakkin repeämiselle. Varsinkin sidekudoskaton ollessa ohut, tilanne voi herkästi komplisoitua vakavaksi (Kovanen ym. 2016). Plakkin repeytyminen paljastaa trombogeenisen, kollageenipitoisen endoteelin alaisen kerroksen. Paljastunut kollageeni kykenee aktivoimaan verihyaliinit ja kudostekijä käynnistämään hyytymiskaskadin. Aterotromboosilla tarkoitetaan ateroskleroottisen plakkin repeytymisen aiheuttamaa verihyytymää. Ateroskleroottinen plakki on erityisen trombogeeninen eli altis repeytymän jälkeiselle verihyytymän muodostukselle, koska plakki on kollageenipitoinen ja sisältää paljon hyytymiskaskadin käynnistymiselle välttämätöntä kudostekijää. Plakkin suuri kudostekijän määrä on seurausta tulehdussolujen, endoteelisolujen, sileälihassolujen ja vapautuvien mikropartikkelien sisältämästä kudostekijästä. (Tatsumi ja Mackman 2015.) Kudostekijän normaalia suurempi esiintyminen ateroskleroottisessa plakissa johtuu erityisesti hapettuneen LDL:n käynnistämästä makrofagien, endoteelisolujen ja valtimoseinämän sileälihassolujen kudostekijäekspressiosta (Owens ja Mackman 2012). D-vitamiinin havaittiin vähentävän kudostekijän ilmentymistä ja aktiivisuutta verisuoniseinämän sileälihassoluissa (Martinez-Moreno ym. 2016). Kudostekijän määrä väheni, sillä D-vitamiini vähensi NF- κ B-välitteistä ja TNF- α -riippuvaista kudostekijäaktivaatiota. Toisin sanoen D-vitamiinilla oli anti-inflammatorinen vaikutus kudoksessa. Tällä mekanismilla D-vitamiini kykeni pienentämään inflammaation ja plakkin repeytymisen aiheuttamaa veren hyytymisherkkyttä.

5.5. D-vitamiinin epäsuora vaikutus aterogeneesiin

Edellä on käsitelty lähinnä D-vitamiinin suoria soluvaikutuksia, mutta elimistön toiminnan kannalta tärkeät systeemiset vaikutukset ovat vielä läpikäymättä. Kaksi epäsuorasti aterogeneesiin vaikuttavaa keskeistä systeemistä tekijää ovat diabetes ja hypertensio eli kohonnut verenpaine. Diabetes muuttaa veren lipidiprofilia aterogeenisempään suuntaan, ja kohonnut verenpaine taas lisää muun muassa valtimoiden seinämiin kohdistuvaa räsitusta.

D-vitamiinin roolia hypertension ehkäisyssä on tutkittu laajasti. Tutkimuksissa on käynyt ilmi, että D-vitamiinin verenpainetta laskevat ominaisuudet välittyvät ensinnäkin reniinigenin ilmentymistä vähentävän vaikutuksen kautta (Yuan ym. 2007). Reniini on munuaisten jukstaglomerulaarisolujen tuottama hormoni, jota erittyy vereen verenpaineen laskiessa. Reniini käynnistää reniini-angiotensiini-aldosteronijärjestelmän (RAAS) aktivaation, jolloin angiotensiini II:ta ja aldosteronia vapautuu verenkiertoon. Angiotensiini II:n ja aldosteronin vaikutuksesta verenpaine nousee, sillä yhdisteet supistavat verisuonia sekä kiihdyttävät munuaisissa veden ja natriumin takaisinottoa. (Pilz ym. 2009.) Toinen mekanismi liittyy läheisesti aterogeneesin alkuvaiheeseen, sillä D-vitamiinin suojaava vaikutus endoteelisoluja kohtaan vähentää endoteelin aktivaatiota ja sitä kautta parantaa valtimoseinämän vastetta verenpaineen vaihteluille. Tärkeänä tekijänä tässä on oksidatiivisen stressin väheneminen, mikä parantaa endoteelin typpioksidituotantoa (Rapoport 2014, Förstermann ym. 2017). Typpioksidi on vasodilatoivana eli verisuonia laajentavana yhdisteenä tärkeä angiotensiini II:n vastavaikuttaja (Rapoport 2014). Kolmantena tekijänä D-vitamiinivajeen aiheuttama parathormonierityksen kasvu johtaa solujen kalsiumpitoisuuden kasvuun ja sitä kautta altistaa vasokonstriktiolle eli verisuonten supistumiselle (Pérez-Hernández ym. 2016).

D-vitamiinin diabetesta ehkäisevän vaikutuksen on todettu välittyvän ainakin insuliiniherkkyyden parantumisen ja insuliinierityksen tehostumisen kautta (Pilz ym. 2016). Samaisessa katsauksessa todetaan myös, että D-vitamiinilla olisi mahdollinen

suojaava vaikutus haiman β -solujen toimintaan, mikä ehkäisisi β -solujen tuhoutumista. D-vitamiinin suojaava vaikutus insuliiniresistenssiin on kuitenkin vielä havainnoivien tutkimusten asteella, joten syy-seuraussuhteesta ei voida vetää sen tarkempia johtopäätöksiä (Pérez-Hernández ym. 2016). Suhteellisen selvää kuitenkin on, että varsinkin aikuistyyppin diabetesta sairastavien potilaiden veren D-vitamiinipitoisuudet ovat useimmiten hyvin alhaisia (Cavalier ym. 2011, Rodríguez ym. 2016, Anandabaskar ym. 2017, Hussin ym. 2017).

6. KLIINiset TUTKIMUKSET D-VITAMIININ JA KARDIOVASKULAARISAIRAUKSIEN VÄLISESTÄ YHTEYDESTÄ

D-vitamiinin yhteydestä aterogeneesiin eri vaiheisiin on olemassa runsaasti tutkimustietoa. Niin endoteelin toiminnan, kroonisen tulehduksen kuin plakin kalsifikaationkin osalta on selvää, että D-vitamiinilla on kyky vaikuttaa tämänkaltaisiin yksittäisiin aterogeneettisiin prosesseihin. Laajemmassa mittakaavassa varsinaista merkitystä aterogeneesiin progressiossa on ollut vaikea huomata nykyisten tutkimusten perusteella. Varsinkin henkilöillä, joilla D-vitamiinin pitoisuus veressä on normaali, D-vitamiinilisän vaikutukset ovat olleet tutkittujen seurantajaksojen puitteissa varsin pieniä, ja joissain tutkimuksissa jopa olemattomia. Kuitenkin tietyillä erityisryhmillä, kuten diabeetikoilla, kroonista munuaisten vajaatoimintaa sairastavilla tai muun syyn vuoksi matalan plasman D-vitamiinipitoisuuden omaavilla henkilöillä D-vitamiinilisän aterogeneesiä estävät vaikutukset ovat olleet tutkimuksissa selkeämmin havaittavissa. Lisäksi on esitetty, että eri etnisten ryhmien välillä havaittu eroavaisuus ateroskleroosiherkkyyden ja plasman D-vitamiinipitoisuuden välillä selittyisi eri etnisten ryhmien erilaisesta D-vitamiinia kuljettavan proteiinin rakenteesta. Tämä selittäisi sen, miksi samoilla veren D-vitamiinipitoisuuksilla sairastuvuus sydän- ja verisuonitauteihin vaihtelee etnisten ryhmien välillä huomattavasti.

Yllä mainittujen havaintojen ohella keskeisenä voidaan pitää plasman D-vitamiinipitoisuuden ja ateroskleroosiherkkyyden vuorovaikutusta kuvaavaa U-käyrää, eli toisin sanoen sitä, että sekä suhteellisen pienet D-vitamiinipitoisuudet että korkeat D-vitamiinipitoisuudet altistaisivat valtimoseinämän muutoksille. Aiheesta on ollut keskustelua jo pitkään, mutta selkeitä ja yhdenmukaisia, saantisuositukseen vaikuttavia havaintoja on ollut mahdotonta tehdä. Nykyiset tutkimukset ovat pituudeltaan ja laajuudeltaan puutteellisia, jotta selkeitä johtopäätöksiä suuntaan tai toiseen olisi

mahdollista tehdä. Seuraavaksi tarkastellaan aiheesta olemassa olevia uusimpia julkaisuja.

6.1. Vaikutus yksittäisiin aterogeneesiin vaiheisiin

On olemassa paljon näyttöä siitä, että normaalista poikkeava plasman kalsidiolipitoisuus olisi yhteydessä kohonneeseen sydän- ja verisuonitautiriskiin. Kuten edellä on todettu, on veren kalsidiolin (25-OH-D) pitoisuus laajalti käytetty elimistön D-vitamiinitasapainon mittari. D-vitamiinin vaikutus yksittäisiin aterogeneesiin vaiheisiin tunnetaan osittain solutasolla, mutta elimistön mittakaavassa kokonaisuus on hämärän peitossa. Saatavilla olevat väestötutkimukset keskittyvät D-vitamiinin kykyyn vaikuttaa endoteelisolujen toimintaan, tulehdukseen, verenpaineeseen ja kalsifikaatioon. (Wimalawansa 2016.)

6.1.1. Endoteelisolujen toiminta

Aterogeneesiin alkuvaiheen kannalta keskeistä on endoteelisolujen muuttunut toiminta. D-vitamiinin kykyä vaikuttaa endoteelisolujen aktivoitumiseen onkin tutkittu solutason lisäksi myös populaatiotasolla. Hussin ym. (2017) tekemä tuore meta-analyysi kokoaa yhteen aiheesta tehdyt satunnaistetut kontrolloidut tutkimukset. Tutkimuksessa käytiin läpi 16 satunnaistettua kontrolloitua tutkimusta, käsittäen yhteensä 1177 iältään yli 18-vuotiasta osallistujaa. Seuranta-aika vaihteli neljän ja 52 viikon välillä. Meta-analyysin perusteella koko tutkimusjoukon osalta D-vitamiinilla ei katsottu olevan merkittävää vaikutusta endoteelisolujen toimintaan, mutta sen sijaan tyypin 2 diabetesta sairastavilla potilailla endoteelisolujen toiminnassa oli havaittavissa selkeitä paranemisen merkkejä. Diabeetikoilla hyperglykemia aiheuttaa endoteelin toiminnan häiriintymistä, ja siksi ateroskleroosi onkin diabeettisilla henkilöillä hyvin yleistä. Diabetespotilaita käsittäviä tutkimuksia sisältyi meta-analyysiin vain neljä kappaletta, joten laajempi tutkimus voisi vahvistaa tutkimuksessa havaittua diabetespotilaiden vastetta D-vitamiinille.

Hiljattain julkaistu, Mazidin ym. (2017) tekemä meta-analyysi D-vitamiinilisän vaikutuksesta endoteelisolujen toimintaan antaa päinvastaisen käsityksen D-vitamiinin vaikutuksesta, sillä sen todettiin parantavan endoteelisolujen toimintaa. Meta-analyysi sisälsi 12 eri tutkimusta, joissa seuranta-aika oli kahdeksasta viikosta kuuteen kuukauteen. Kyseiseen meta-analyysiin oli kelpuutettu hyvin monta sellaista satunnaistettua kontrolloitua tutkimusta, joissa tutkittavat henkilöt eivät olleet täysin terveitä kokeen tekohetkellä tai ennen sitä. Esimerkiksi meta-analyysiin sisältynyt Withamin ym. (2012) tekemä tutkimus käsitti pelkästään aivoinfarktin kärsineitä potilaita, joten tutkittavien henkilöiden suhteessa parempi vaste annettuun D-vitamiinilisään selittyikin varmasti ainakin joiltain osin tällä havainnolla. Toki on syytä huomata, että potilaita, joiden veren kalsidiolipitoisuus oli tutkimuksen alussa normaalia suurempi (yli 75 nmol/l), ei otettu mukaan tutkimukseen.

Tyypin 2 diabetesta sairastavien keskuudessa D-vitamiinilisän todettiin vaikuttavan suotuisasti endoteelisolujen toimintaan vähentämällä oksidatiivisen stressin vaikutuksia (Anandabaskar ym. 2017). Tutkimuksessa annettiin 103 potilaalle kahdeksan viikon ajan viikoittain 60 000 IU:n (International Unit) suuruinen kolekalsiferolilisä. Kahdeksan viikon tutkimusjakson jälkeen tulokset osoittivat, että kolekalsiferolilisä vaikutti positiivisesti endoteelisolujen toimintaan. Verisuonten kimmoisuutta kuvaava Pulse Wave Velocity -arvo laski, verenpaine aleni ja antioksidanttitasapaino parani tutkimuksen aikana. Tutkittavista lähes 73 %:lla oli D-vitamiinivaje tutkimuksen aloitushetkellä, mikä ainakin osittain vaikutti tutkimuksen tuloksiin. D-vitamiinilisällä ei todettu olevan vaikutusta sellaisten potilaiden verenpaineeseen, joiden veren kalsidiolipitoisuus oli tutkimuksen alussa normaali.

6.1.2. Veren lipidiprofiili

D-vitamiinivaje on yhteydessä aterogeeniseen veren lipidiprofiiliin, todetaan Luptonin ym. (2016) julkaisemassa tutkimuksessa. Tutkimus sisälsi 20 360 osallistujan lipidiprofiilin arvioinnin, joka tehtiin tietojärjestelmään tallennettuja tietoja

analysoimalla. Henkilöillä, joiden veren kalsidiolipitoisuus oli huomattavasti suositeltua matalampi (D-vitamiinipitoisuus alle 20 nmol/l), oli veren HDL-kolesterolipitoisuus huomattavasti matalammalla tasolla kuin henkilöillä, joiden D-vitamiinitasapaino oli normaali (noin 75 nmol/l). LDL-, IDL-, VLDL- ja triglyseridipitoisuudet puolestaan olivat korkeammat kuin hyvän D-vitamiinitasapainon omaavilla verrokeilla. Tutkimustulosta vahvistaa Faridin ym. (2017) julkaisema kattava viiden vuoden seurantatutkimus, joka tehtiin analysoimalla ARIC-tutkimuksen (Atherosclerosis Risk In Communities) tietokantaa. Kyseiseen tutkimukseen osallistui 13 039 tutkittavaa vapaaehtoista, joiden veren lipidi- ja D-vitamiinipitoisuuksia seurattiin säännöllisesti. Alhainen D-vitamiinipitoisuus oli yhteydessä suurempaan kokonaiskolesterolin ja HDL-kolesterolin suhteeseen, ja pienempään HDL-kolesterolin määrään. Tutkimus antaa vahvaa näyttöä D-vitamiinin kyvystä alentaa haitallisen LDL-kolesterolin määrää veressä ja lisätä ateroskleroosin estymisen kannalta olennaisen HDL-kolesterolin määrää veressä. Miksi näin tapahtuu, ei ole selvää. Yhtenä mahdollisena syynä tälle esitettiin D-vitamiinivajeen stimuloimaa suurentunutta parathormonieritystä, mikä vähentäisi lipolyysiä. Toisaalta myös D-vitamiinin vaikutusta insuliinieritykseen ja sitä kautta insuliiniherkkyyteen tuotiin tekstissä ilmi.

Ponda ym. (2012) analysoivat laajuudeltaan 107 811 potilasta käsittävät laboratoriotulokset, joissa oli mitattu yhdessä D-vitamiini- ja rasva-arvot. Tulokset olivat samankaltaisia jo yllä esiteltyjen tuoreempien tutkimusten kanssa, sillä pienempi D-vitamiinipitoisuus korreloi suurempaan LDL-kolesterolin määrään ja pienempään HDL-kolesterolin määrään. Tutkimusryhmä, kuten myös tuloksia analysoinut Jordan ja Grimnesin (2012) artikkeli esittävät hyvän huomion saaduista tutkimustuloksista. Heidän mukaansa hyvän D-vitamiinitasapainon omaavilla henkilöillä myös rasva-arvot ovat kunnossa, sillä tällaisilla henkilöillä usein myös elintavat ovat kunnossa. Ulkona oleminen altistaa auringon ultraviolettisäteilylle ja sitä kautta luonnollinen D-vitamiinisynteesi tehostuu. Ulkona liikkuvilla ihmisillä myös liikunnan suurempi määrä ja ruokavalion monipuolisuus edistävät terveyttä verrattuna sairaalassa tai laitoshoidossa oleviin potilaisiin.

6.1.3. Matala-asteinen tulehdus

Krooninen matala-asteinen tulehdus on havaittavissa ateroskleroosin yhteydessä veren kohonneen C-reaktiivisen proteiinin ja interleukiini-6:n pitoisuuden kautta (Haarala 2012, Hotamisligil 2017). D-vitamiinin vaikutuksia tulehdustilan syntyyn on solutasolla tutkittu ahkerasti, ja myös kliinisiä väestöpohjaisia tutkimuksia aiheesta on olemassa. Kroonisen matala-asteisen tulehduksen vähentämisen suhteen D-vitamiinin vaikutukset ovat lupaavia julkaistujen tutkimusten perusteella, mutta myös ristiriitaisia tuloksia aiheesta on tullut ilmi (Chen ym. 2014, Mastroeni 2016, Calton ym. 2017, Mousa ym. 2017).

Chen ym. (2014) kokosivat meta-analyysissään yhteen siihen mennessä julkaistut satunnaistetut kontrolloidut tutkimukset määrittääkseen C-reaktiivisen proteiinin ja D-vitamiinin plasmapitoisuuden välisen yhteyden. Meta-analyysi sisälsi kymmenen tutkimusta, joissa oli yhteensä 924 osallistujaa. Julkaisun perusteella D-vitamiinilisä laski CRP-arvoa merkittävästi varsinkin henkilöillä, joiden CRP-pitoisuus oli tutkimuksen alussa keskimääräistä korkeampi. Mastroenin ym. (2016) tekemät havainnot 6 755:n pitkittäistutkimukseen osallistuneen henkilön pohjalta taas esittävät, että D-vitamiinilla olisi tulehdusta ja sitä kautta C-reaktiivisen proteiinin määrää laskeva ominaisuus vain ylipainoisilla koehenkilöillä. Tutkimuksessa ei havaittu CRP:n määrässä merkittävää muutosta alipainoisten tai normaalipainoisten henkilöiden kohdalla. Tutkimuksen yleistettävyyttä rajoittaa se, että havainnot perustuvat tutkimusjoukkoon, jonka jäsenet olivat tutkimuksen aikana vapaaehtoisen elämäntapakoulutuksen piirissä. Tutkimusjoukon elintavat saattoivatkin erota keskimäärin väestön vastaavasta ja siten johdatella tuloksia harhaan.

Päinvastaiseen tulokseen päätyivät Mousa ym. (2017) ja Calton ym. (2017) julkaisemissaan tutkimuksissa. Mousan ym. (2017) tekemä lumekontrolloitu ja satunnaistettu kaksoissokkoutettu tutkimus ei löytänyt yhteyttä D-vitamiinin vaikutuksesta NF- κ B-reittiin, kuten aikaisemmin tuli jo ilmi. Tutkimuksessa ei löydetty

viitteitä myöskään D-vitamiinipitoisuuden kasvun vaikutuksesta tulehdusmerkkiaineisiin, kuten C-reaktiivisen proteiinin ja interleukiinien määrään. Calton ym. (2017) julkaisivat meta-analyysin olemassa olevista satunnaistetuista kontrolloiduista tutkimuksista, joissa tutkittiin D-vitamiinilisän vaikutusta systeemistä tulehdusta kuvaaviin merkkiaineisiin (CRP ja IL-6). Meta-analyysiin valittujen tutkimusten valintakriteereinä olivat, että tutkimuksen seuranta-aika olisi vähintään 12 viikkoa ja käsittäisi aikuisia, joilla ei ole akuutteja tulehdussairauksia tutkimushetkellä. Yhteensä yhdeksän tutkimuksen tiedot sisällytettiin meta-analyysiin. Tutkimustulokset vaihtelivat iästä, sukupuolesta ja tutkimuksen kestosta riippuen. Kokonaisuutena kuitenkin voitiin todeta, että D-vitamiinilisällä ei ollut merkittävää vaikutusta koehenkilöiden tulehdusta kuvaavien merkkiaineiden pitoisuuksiin.

6.1.4. Valtimon sisäseinämän kalsifikaatio

D-vitamiinin vaikutusta valtimoseinämän jäykkyyteen ja kalsifikaatioon on tutkittu myös kliinisin kokein. Levin ym. (2017) selvittivät kroonista munuaisten vajaatoimintaa sairastavilla potilailla, miten D-vitamiinilisä vaikuttaa tutkittavien potilaiden verisuonten jäykkyyteen. Tutkimus toteutettiin kaksoissokkoutettuna satunnaistettuna tutkimuksena, johon osallistui 119 potilasta, joiden keski-ikä oli 66 vuotta. Potilaat jaettiin kolmeen ryhmään, joista yksi sai kalsidiolia, yksi kalsitriolia ja yksi lumelääkettä. Seurantajakso kesti keskimäärin puoli vuotta, jonka aikana valtimoseinämän jäykkyyttä mitattiin Pulse Wave Velocity (PWV) -tekniikkaa hyödyntäen. Tulosten perusteella kalsidioliryhmän PWV-arvo laski, kalsitrioliryhmän PWV-arvo pysyi ennallaan ja lumeryhmän arvo nousi. Tästä voidaan päätellä, että kalsidiolin vaikutus seinämän jäykkyyteen oli suotuisin.

D-vitamiinin vaikutuksesta valtimoseinämän kalsifikaatioon on tehty jo aikaisemmin kattava meta-analyysi ja systemaattinen kirjallisuuskatsaus (Rodríguez ym. 2016). Tutkimusryhmä valitsi 13 kriteerit täyttävää, valtimoseinämän jäykkyyttä käsittelevää tutkimusta, jotka analysoitiin. Kaikissa tutkimuksissa käytettiin kolekalsiferolia D-vitamiinilisänä. Kohortteja sisältyi meta-analyysiin useita erilaisia, pitäen sisällään niin

kohonnutta verenpainetta, tyypin 2 diabetesta ja kroonista munuaisten vajaatoimintaa potevia potilaita kuin postmenopausaalisia naisiakin. Myös annetun D-vitamiinilisän määrä vaihteli huomattavasti tutkimuksesta toiseen. Nämä seikat voivat osaltaan selittää sitä, miksei meta-analyysin perusteella löydetty selkeää korrelaatiota D-vitamiinilisän vaikutuksesta verisuonen seinämän kimmoisuuteen. Kuten aiemmin on jo todettu, laajojen pitkittäistutkimusten tekeminen voisi nostaa esille paremmin erilaisia vaikutuksia. Laajempi otanta ja pidempi tutkimusaika ovat kuitenkin tekijöitä, jotka vaativat alleen vankan taloudellisen pohjan toteutuakseen.

Suuren D-vitamiinipitoisuuden on havaittu altistavan ateroskleroottisten plakkien kalsifikaatiolle, toimien siten proaterogeenisenä eli ateroskleroosia edistävänä tekijänä (Shroff ym. 2008, Razzaque 2011, Drüeke ja Massy 2012, Norman ja Powell 2014, Durup ym. 2015, Grant ym. 2016). Alun perin vuonna 2008 Shroff tutkimusryhmineen totesivat D-vitamiinin ja verisuonisairauksien välisen suhteen olevan kuin kaksiteräinen miekka (Shroff ym. 2008). Havainnot muodostivat U-käyrän, joka kuvasi D-vitamiinin kykyä toimia mahdollisesti sekä pro- että antiaterogeenisena yhdisteenä riippuen siitä, kuinka suuri plasmapitoisuus D-vitamiinia elimistössä oli. Normaalia alhaisemmat arvot sekä normaalia korkeammat arvot molemmat yhdistettiin lisääntyneeseen verisuonen seinämän kalsifikaatioon. Myös muissa tutkimuksissa normaalia korkeampien ja matalampien D-vitamiinipitoisuuksien on todettu lisäävän ateroskleroottisten plakkien muodostumista, kun taas lähemmäs normaaleja olevien D-vitamiiniarvojen on todettu olevan neutraaleja tai jopa suotuisia plakkien muodostumisen kannalta (Zittermann ym. 2007, Ellam ym. 2014). Kyseinen Shroffin ym. (2008) tekemä tutkimus oli kuitenkin ensimmäinen, jossa sekä matalien että korkeiden D-vitamiinipitoisuuksien todettiin saman tutkimuksen sisällä kiihdyttävän kalsifikaatiota.

D-vitamiini aktivoi tehokkaasti FGF23-klotho-akselin toimintaa (Razzaque 2011). *FGF23-* ja *klotho-*geenien aktivaatio vähentävät munuaisissa 1α -hydroksylaasiaktiivisuutta ja sitä kautta aktiivisen D-vitamiinin muodostumista. Myös parathormonin erityis pienenee ja fosfaatin erityis virtsaan kasvaa. Hiirillä tehdyissä

kokeissa on havaittu korkeiden D-vitamiinitasojen kiihdyttävän kalsifikaatiota erityisesti niillä hiirillä, jotka ovat poistogeenisiä *klotho*- ja *FGF23*-geenien suhteen. Kun hiirillä vähennettiin 1α -hydroksylaasiaktiivisuutta, kalsitriolin pienentynyt määrä esti tehokkaasti kalsifikaatiota (Ohnishi ym. 2009, Razzaque 2011). Torremadé ym. (2016) osoittivat, että ainakin kroonisen munuaisten vajaatoiminnan yhteydessä valtimoseinämän sileälihassolujen 1α -hydroksylaasiaktiivisuus on tekijä, jonka vuoksi kalsifikaatio tehostuu. Kroonista munuaisten vajaatoimintaa sairastavien potilaiden munuaisissa D-vitamiinin aktivaatio on heikkoa tai loppunut kokonaan, joten valtimon sileälihassolujen 1α -hydroksylaasi toimii sairailta potilailla paikallisena D-vitamiinia aktivoivana entsyyminä. Nämä aktivoituneet sileälihassolut olivat herkkiä kalsifikaatiolle, sillä niiden *RUNX2*-ekspressio tehostui ja kalsiumia kertyi soluihin huomattavasti enemmän kuin soluilla, joissa ei 1α -hydroksylaasiaktiivisuutta ollut. Nämä tekijät ajoivat soluja muuttumaan osteogeneettisiksi sileälihassoluiksi, mikä on kalsifikaatioprosessin kannalta keskeinen tapahtuma. Suuri D-vitamiinilisän määrä lisää myös kalsiumin imeytymistä suolistosta altistaen tätä kautta kalsifikaatiolle.

Dijk ym. (2015) etsivät 567 tutkittavan populaatiosta yhteyttä korkean D-vitamiinipitoisuuden ja verisuoniseinämän jäykkyyttä kuvaavan pulssiaaltonopeuden (PWV) välille. Tutkittavien keski-ikä oli 73 vuotta. Tuloksena saatiin ei-lineaarinen yhteys veren kalsidiolin ja pulssiaaltonopeuden välille. Suurempi kalsidiolipitoisuus oli yhteydessä suurentuneeseen valtimon sisäseinämän paksuuteen ja pienempään pulssiaaltonopeuteen. Tulokset viittaavat siihen, että vanhemmalla väestöllä plasman suurempi kalsidiolikonsentraatio lisäisi verisuonten jäykkyyttä. On syytä pitää kuitenkin mielessä, että kyseessä oli keski-ikänsä hyvin iäkäs joukko tutkittavia henkilöitä.

Tanskalainen 247 574 henkilöä käsittävä havainnoiva tutkimus selvitti vuosina 2004-2011 aivo- tai sydäninfarktiin kuolleiden tutkimukseen osallistuneiden henkilöiden plasman D-vitamiinipitoisuutta (Durup ym. 2015). Tutkimuksen piirissä olleista henkilöistä 5454 kuoli tutkimuksen aikana joko aivo- tai sydäninfarktiin. Tulokset muodostivat kokonaisuutena käyrän, jossa pienin D-vitamiinipitoisuus ennusti suurinta

kuolemanriskiä riskin pienentyessä samalla kun D-vitamiinipitoisuus tutkituilla henkilöillä kasvoi. Mitä suuremmaksi D-vitamiinipitoisuus kasvoi normaaliarvosta, sitä enemmän infarkteja havaittiin tässä tutkimusjoukossa. Alhaisin kuolleisuus mitattiin seerumin kalsidiolipitoisuuden ollessa 70 nmol/l. Tutkimukseen osallistujista vain pienellä osalla seerumin D-vitamiinipitoisuus oli kuolinhetkellä yli 100 nmol/l, mutta tällä pienellä joukolla oli myös havaittavissa selkeästi suurentunut riski kardiovaskulaariseen komplikaatioon. Riski oli jopa suurempi kuin D-vitamiinivajeesta kärsivillä.

Grant ym. (2016) pohtivat katsauksessaan mahdollisia syitä tutkimuksissa havaitulle U:n malliselle käyrälle D-vitamiinin ja kardiovaskulaarisairauksien yhteydestä. Artikkelissa otetaan esille kaksi selkeää tekijää, jotka voisivat olla havainnon taustalla. Ensimmäinen syy johtuisi mahdollisesti siitä, että kalsidiolin aktivaatio kalsitrioliksi olisi puutteellista. Tätä tukee artikkelissa esiin otettu Zittermannin ym. (2015) tutkimus, jossa havaittiin, että kalsidiolipitoisuuden ollessa korkealla plasman kalsitriolipitoisuus ei kuitenkaan välttämättä olisi riittävällä tasolla. Tämä on ongelmallista, sillä veren kalsidiolipitoisuus on mittari, jota elimistön D-vitamiinitason mittauksessa yleensä käytetään. Kalsitrioli puolestaan on aktiivinen D-vitamiini, joka saa elimistössä vaikutukset aikaan. Toisena havaintona Grant tutkimusryhmineen totesi, että postmenopausaalisille naisille systemaattisesti määrättävä D-vitamiinilisä voisi nostaa kyseisten henkilöiden D-vitamiiniarvoja siten, että se vääristäisi jo muutenkin huonommassa kunnossa olevien henkilöiden alttiutta saada infarkti. Tämä saattaa vääristää tilastointia korkeiden D-vitamiinipitoisuuksien ja kardiovaskulaarikomplikaatioiden syy-seuraussuhteen välillä. Toki on pantava merkille, että suurentunut veren D-vitamiinipitoisuus on kalsifikaatiota stimuloiva tekijä, kuten useat tutkimukset ovat todenneet. Se ei silti poista tosiasiaa, että on hyvin vaikea löytää tutkimuksissa vahvistusta sille, onko kyseessä D-vitamiinin syy vai onko D-vitamiinin pitoisuus seurausta henkilön sen hetkisestä patologisesta tilasta.

6.2. Vaikutus plakin kokoon

Lupolin ym. (2017) tekemä meta-analyysi löysi selkeän yhteyden ateroskleroottisen plakin koon, plakkien esiintyvyyden ja D-vitamiinivajeen väliltä. Plakin koko määritettiin yhteisen kaulavaltimon (A. carotis communis) intiman ja median kokonaispaksuuden (IMT, intima media thickness) avulla. Mitä alhaisempi tutkittavien D-vitamiinipitoisuus oli, sitä todennäköisemmin heillä myös esiintyi ateroskleroottisia plakkeja ja myös niiden koko oli tavanomaista suurempi. Meta-analyysi sisälsi 21 tutkimusta, joissa yhteisen kaulavaltimon IMT oli määritetty ja kuusi tutkimusta, joissa plakkien esiintymistodennäköisyyttä suhteessa D-vitamiinin määrään oli tutkittu. Tulokset osoittavat, että IMT korreloi vahvasti D-vitamiinin määrään veressä. Mitä alhaisempi D-vitamiinipitoisuus oli, sitä todennäköisemmin plakkeja esiintyi ja sitä paksumpia ne olivat. Tutkijat havainnoivat myös, että diabetesta sairastavilla potilailla korrelaatio oli vielä selkeämpi kuin terveillä potilailla. Havaintojen perusteella voidaankin päätellä, että ateroskleroosin esiintymistodennäköisyys ja vakavuus liittyvät D-vitamiinivajeeseen ja sitä kautta kohonneeseen sydän- ja verisuonikomplikaatorisktiin. Samansuuntaisia verrannollisuuksia antoi Choin ym. (2017) tekemä tutkimus, jossa niin ikään määritettiin yhteisen kaulavaltimon intima media -paksuus suhteessa D-vitamiinitasoon.

Sepelvaltimotautipotilaille (637 kappaletta) tehty tutkimus osoitti, että veren kalsidiolipitoisuuden ollessa korkeampi, oli patologisesti merkittävien plakkien määrä tällöin pienempi (Dziedzic ym. 2016). Munuaistautia sairastavia potilaita ei kelpuutettu tutkimukseen mukaan, sillä heillä kalsium- ja fosfaattiaineenvaihdunta poikkeaa liikaa normaalista. Lupolin ym. laatiman meta-analyysin ja Choin ym. tekemän tutkimuksen pohjalta ilmi tullutta korrelaatiota plakin koon ja D-vitamiinipitoisuuden väliltä ei Dziedzicin ym. tutkimus kuitenkaan löytänyt. On huomioitava, että Choin ym. (2017) tekemä tutkimus oli laajuudeltaan paljon pienempi, joten hajonta tutkimustuloksissa voi olla suurempaa.

6.3. Vaikutus kardiovaskulaarisairauksien ilmaantuvuuteen

Aiemmissä kappaleissa on käsitelty D-vitamiinin väestötutkimuksissa havaittuja vaikutuksia siltä kannalta, miten D-vitamiini vaikuttaa yksittäisiin aterogeneesin vaiheisiin (6.1.) ja miten D-vitamiinipitoisuudet korreloivat ateroskleroottisen plakin kokoon (6.2.). Seuraavaksi tarkastellaan, minkälaista kliinistä tutkimustietoa on tällä hetkellä olemassa D-vitamiinin yhteydestä sydän- ja verisuonisairauksiin. Olemassa olevat tutkimukset ovat pääosin tiettyyn kohorttiin sidottuja, ja sisältävätkin usein jotakin perussairautta, kuten diabetesta tai hypertensiota sairastavia potilaita. Saatavilla olevien tutkimusten laajuus vaihtelee, eikä kovin laajoja ja pitkäkestoisia satunnaistettuja tutkimuksia ole varsinkaan terveen populaation osalta saatavilla (Weyland ym. 2014, Muscogiuri ym. 2017). Tilanne muuttuu kuitenkin lähivuosina, kun vielä kesken olevat suuret satunnaistetut kontrolloidut tutkimukset Tuomaisen ym., Nealen ym. ja Mansonin ym. tekemänä julkaistaan nykyisten havainnoivien tutkimusten tueksi (Manson ym. 2012, Neale ym. 2016, Tuomainen ym. 2017).

Tuomaisen ym. (2017) loppusuoralla oleva tutkimus on lumekontrolloitu viiden vuoden seurantatutkimus, jossa kartoitetaan D-vitamiinin vaikutuksia sydän- ja verisuonisairauksien sekä syövän ilmaantuvuuteen. Tutkimuksen tarkoituksena on seurata yli 60-vuotiaita miehiä ja yli 65-vuotiaita naisia kolmessa eri ryhmässä, joista kahdelle annetaan D-vitamiinilisää ja yksi toimii lumelääkettä saavana kontrolliryhmänä. Kyseisen tutkimuksen oletetaan valmistuvan vuoden 2018 aikana. Nealen ym. (2016) tutkimus käsittää 21 315 tervettä potilasta, joille annetaan kuukausittain viiden vuoden ajan 60 000 kansainvälistä yksikköä (IU) joko kolekalsiferolia tai lumelääkettä. Tutkimuksessa käytetty kolekalsiferoliannoksen määrä todettiin edeltävässä esitutkimuksessa olevan riittävä aikaansaamaan koehenkilöille normaalin D-vitamiinipitoisuuden (75 nmol/l). Tutkimuksen tavoitteena on viiden vuoden seurantajakson aikana määrittää, onko annetulla D-vitamiinilisällä vaikutusta mm. sydän- ja verisuonitauti- ja syöpäkuolleisuuteen ja syöpäkuolleisuuteen. Myös Mansonin ym. (2012) käynnissä oleva tutkimus on pitkäkestoinen D-vitamiinin vaikutusta syöpäkuolemiin sekä

sydän- ja verisuonitautikuolemiin kartoittava tutkimus. Se käsittää noin 20 000 tutkittavan henkilön analysoinnin kaksoissokkoutetussa kliinisessä kokeessa. Tutkimuksen kesto on viisi vuotta, ja päivittäisen kolekalsiferolilisän määrä on 2000 IU. Vaikka eläinkokeet ja havainnoivat tutkimukset ovatkin antaneet vahvaa näyttöä D-vitamiinivajeen ja D-vitamiiniylimäärän suhteesta sydän- ja verisuonisairauksiin, on nykyisten olemassa olevien tutkimusten perusteella johtopäätöksiä vaikea tehdä (Chin ym. 2017, Grübler ym. 2017). Onkin syytä odottaa, minkälaisia tuloksia nämä suuret satunnaistetut tutkimukset tuovat tullessaan.

Milazzon ym. (2017) julkaisema katsaus sydäninfarktin yhteydestä D-vitamiinitasoihin jatkaa samalla linjalla muiden kliinisten tutkimusten kanssa. Tutkimusryhmä kävi läpi saatavilla olevan aineiston, ja analysoi näiden tuloksia kokonaisuutena. Tulokset viittasivat siihen, että D-vitamiinipitoisuus olisi alhainen veressä sydäninfarktin saaneilla henkilöillä. Saatavilla olleet tutkimukset olivat havainnoivia kohorttitutkimuksia, joihin osallistuneet henkilöt olivat yleiskunnoltaankin jo varsin heikossa tilassa. Tällä on väistämättä vaikutusta siihen, minkälaiseen lopputulokseen tutkimuksessa päästään. Julkaisussa otetaankin hyvin esille se, että D-vitamiinin plasmapitoisuus kuvaisi mahdollisesti vain yleistä terveydentilaa. Tätä havaintoa tukee tutkimusryhmän esille ottama tieto, että samanlaisia havaintoja on tehty muun muassa syöpää, MS-tautia ja psykiatrisia sairauksia potevilla potilailla.

D-vitamiinin vaikutusta kardiovaskulaarisairauksien ilmaantuvuuteen tutkittiin keskimäärin noin kolmen vuoden seurantajakson aikana Scraggin ym. (2017) julkaisemassa kaksoissokkoutetussa satunnaistetussa kontrolloidussa tutkimuksessa. Tutkimukseen osallistui 5110 henkilöä, jotka olivat iältään 50-84 vuotta. Ryhmä jaettiin puoliksi niin, että toinen puoli sai aluksi kertaalleen 200 000 IU:n aloitusannoksen ja sen jälkeen kuukausittain suuren (100 000 IU) D-vitamiiniannoksen, kun taas toinen puoli sai samaan aikaan lumelääkettä. Seurannan aikana ei D-vitamiinilla havaittu olevan merkittävää kardiovaskulaarisairauksien ilmaantuvuutta vähentävää vaikutusta. Ajantasaisen katsauksen sydän- ja verisuonisairauksien ja D-vitamiinin suhteesta tehnyt

Al Mheid ja Quyyumi (2017) pääsivät julkaisussaan samaan lopputulokseen saatavilla olevan aineiston pohjalta. Tutkijat kävivät läpi 11 meta-analyysiä, jotka kokosivat yhteen aihetta käsittelevät tutkimukset. Näiden pohjalta selvisi, että yhteys on havaittavissa, mutta painottuen selkeästi erityisryhmiin, jotka eriyvät normaalista populaatiosta. Varsinkin jo valmiiksi alhaisen D-vitamiinipitoisuuden todettiin olevan selkeä riskitekijä kardiovaskulaarikomplikaatiolle. Samaan päätelmään on päästy myös useissa muissa havainnoivissa tutkimuksissa (Brenner ym. 2017, Mihos ym. 2017). Myös diabeetikoiden osalta havainnoivat tutkimukset ovat antaneet viitteitä D-vitamiinin selkeästä suojaavasta vaikutuksesta sydän- ja verisuonitaudeille, mutta käytännön populaatioperusteiset tutkimukset eivät näitä havaintoja ole pystyneet todistamaan (Grammatiki ym. 2017). Nykyisen tutkimustiedon perusteella ei ole perusteltua antaa normaalia suurempaa D-vitamiinilisää sydän- ja verisuonisairauksien ennaltaehkäisemiseksi, koska kliiniset tutkimukset ovat tämän suhteen ristiriidassa (Ford ym. 2014, Mihos ym. 2017).

D-vitamiinin kyvystä laskea verenpainetta on olemassa monenlaisia tutkimustuloksia. Qin ym. (2017) tekemä meta-analyysi vuosien 1989-2014 välillä julkaistuista 11 aihetta käsittelevästä artikkelista sisälsi yhteensä 9225 osallistujaa. Näistä neljä tutkimusta piti sisällään potilaita, joilla oli kohonnut verenpaine. Meta-analyysiin osallistuneista tutkimuksista suurimmassa osassa ei oltu havaittu yhteyttä D-vitamiinilisän ja kohonneen verenpaineen välillä, sillä vain kolme tutkimusta osoitti positiivista, verenpainetta alentavaa vaikutusta. Kalsidiolipitoisuutta käytettiin D-vitamiinitaseen mittarina kaikissa tutkimuksissa. Beveridge ym. (2015) antavat niin ikään selkeää näyttöä meta-analyysissään siitä, että D-vitamiini ei laskisi verenpainetta. Analyysiin sisällytettiin yhteensä 4541 henkilön tutkimusaineisto. Meta-analyysi sisälsi tutkimuksia, joissa potilaille annettiin D-vitamiinia ja heidän systolista sekä diastolista verenpainetta seurattiin. D-vitamiinilisällä ei ollut vaikutusta ylä- eikä alapaineeseen, joten tulokset ovat hyvin linjassa uudemman, Qin ym. (2017) tekemän meta-analyysin kanssa.

Wengin ym. (2013) hiirillä tekemä tutkimus D-vitamiinin vaikutuksesta verenpaineeseen antoi päinvastaisen tuloksen. Hiirillä D-vitamiinivaje aktivoi reniini-angiotensiini-

aldosteronijärjestelmää ja sitä kautta nosti verenpainetta. D-vitamiinilisän antaminen puolestaan inaktivoi RAAS-järjestelmää ja sitä kautta laski hiirten verenpainetta. Vimalleswaranin ym. (2014) julkaisema data-analyysi D-vitamiinipitoisuuden ja verenpaineen yhteydestä antaa osittain samansuuntaisen tuloksen mahdollisesta korrelaatiosta näiden kahden muuttujan välillä. Tutkimus otti huomioon yksilöiden väliset verenpaineeseen vaikuttavat geneettiset erot. Tulokset osoittavat, että korrelaatio näiden kahden välillä olisi olemassa, mutta yhteys ei ole näin suuressa tutkimuspopulaatiossa kovin selkeä. Kokonaisuutena ajateltuna D-vitamiinin ja verenpaineen yhteyttä analysoineet tutkimukset osoittivat, että ainakaan nykyisen laajuisten tutkimusten perusteella D-vitamiinia ei voida käyttää verenpainetta alentavana lääkkeenä ja sitä kautta sydän- ja verisuonitautien ehkäisyssä.

Yhtenä lähestymistapana esille nousee eri etnisten ryhmien välisen ateroskleroosiriskin selittäminen D-vitamiinia veressä kuljettavan proteiinin eli DBP:n pitoisuuksia vertailemalla. D-vitamiinipitoisuuden määrittämisen perusteella veren kalsidiolin määrään, on ollut loogista tutkia D-vitamiinia sitovan DBP-proteiinin pitoisuuden vaikutusta muun muassa sepelvaltimotautien riskiin. Vaaleaihoisilla havaittua suurempaa ateroskleroosiriskiä verrattuna tummaihoisiin ihmisiin on yritetty selittää vaaleaihoisten veren korkeammalla DBP-pitoisuudella. Robinson-Cohenin ym. (2017) tutkimuksen ennako-oletuksena oli, että DBP:n suurempi pitoisuus vaaleaihoisilla selittäisi osittain tämän etnisen ryhmän suuremman sepelvaltimotautiriskin. Tällöin DBP:n sitoma D-vitamiini olisi pois vapaasta poolista, joka kykenee D-vitamiinireseptoriin kiinnittymään. Tutkimuksen mukaan noussut sepelvaltimotautiriski olisi riippuvainen veren DBP-pitoisuudesta. Tulokset kaipaavat seurakseen vielä tarkempia tutkimuksia, mutta antavat aihetta pohtia, olisiko eri etnisten ryhmien välinen ero kardiovaskulaarisairauksien esiintyvyydessä selitettävissä saatavilla olevan vapaan, DBP-molekyyleihin kiinnittymättömän D-vitamiinin pitoisuudella.

Toisena lähestymistapana eri etnisten ryhmien väliseen epätasapainoon sydän- ja verisuonitapahtumien välillä voisi esittää hypoteesin, että D-vitamiinivalmisteena

nautittu D-vitamiini olisi verisuonten kannalta haitallisempaa kuin luonnollisesti ihossa syntynyt D-vitamiini. Suurentuneen D-vitamiinin plasmapitoisuuden vaikutus valtimoiden kalkkeutumiseen on havaittu tapahtuvan niin laboratoriotutkimuksissa kuin elävillä ihmisillä tehdyissä tutkimuksissa. Mikäli kyseinen ilmiö on todellinen, niin runsaasta auringonvalosta nauttivien ja D-vitamiinia tehokkaasti tuottavien päiväntasaajan lähistöllä asuvien ihmisten sydän- ja verisuonitautien esiintyvyyden tulisi olla huomattavasti korkeampi. Koska näin ei ole, on ilmiötä selitettävä muulla tavoin kuin D-vitamiinipitoisuudella. Tämä johtaakin kysymykseen siitä, onko D-vitamiinin saantilähteellä vaikutusta siihen, miten se käyttäytyy elimistössä. Toisin sanoen, onko D-vitamiinilisänä nautittu D-vitamiini ylimäärin annosteltuna vaarallisempaa, kuin endogeenisesti UV-säteilyn avulla valmistettu D-vitamiini. Toisaalta on pidettävä mielessä, että kardiovaskulaarisairaudet ovat ikääntyvän väestön ongelma, ja päiväntasaajan maissa elinajanodote on huomattavasti matalampi kuin monissa vähemmän auringonvaloa nauttivissa maissa.

7. YHTEENVETO

Tutkielman tarkoituksena oli selvittää, onko D-vitamiinilla vaikutusta ateroskleroosiin ja sitä kautta sydän- ja verisuonitautien ilmaantuvuuteen. Työssä käytiin läpi niin *in vitro* kuin *in vivo* -tutkimuksissa esiin tulleet solutason vaikutukset aterogeneesin eri vaiheissa ja D-vitamiinipitoisuuden vaikutus ateroomaplasttien esiintyvyyteen. Lopuksi analysoitiin D-vitamiinin ja kardiovaskulaarisairauksien välistä yhteyttä kliinisten tutkimustulosten pohjalta. Kävi ilmi, että D-vitamiinin rooli ateroskleroosissa on kaikkea muuta kuin yksiselitteinen. Suurimpana ristiriitana voidaan pitää sitä, että kliiniset satunnaistetut tutkimukset eivät ole kyenneet tuomaan esiin havainnoivissa tutkimuksissa ja laboratoriokokeissa löydettyjä selkeitäkin vaikutuksia. Vaikutuksia on väestötutkimuksissa toki tullut esiin, mutta pääosin vain sellaisten erityisryhmien kohdalla, joilla D-vitamiinivaje on ollut jo alun perinkin havaittavissa. Tämä nostaa esiin elimistön toimintojen monimutkaisuuden. Kontrolloiduissa olosuhteissa yksittäisillä soluilla tehdyt tutkimukset eivät ole yleistettävissä laajaan kontekstiin, sillä elimistön toiminta on vuorovaikutusta lukemattomien eri muuttujien kanssa. Solutason tutkimukset ovatkin todistaneet D-vitamiinilla olevan huomattavan suoraviivaisia vaikutuksia lukuisiin solujen toimintoihin, kun taas koko elimistön mittakaavassa ilmiöt ovat loistaneet enemmän tai vähemmän poissaolollaan. Lisäksi on huomioitava, että D-vitamiinin erilaiset mittaustavat eri tutkimuksissa vaikuttavat mahdollisesti saatuihin arvoihin.

Merkittävänä mutta puutteellisesti todistettuna havaintona voidaan pitää D-vitamiinin mahdollista roolia sekä ateroskleroosin riskitekijänä että suojatekijänä. On olemassa useita tutkimuksia, jotka raportoivat veren normaalia alhaisemman D-vitamiinipitoisuuden (alle 70 nmol/l) olevan ateroskleroosia ja sitä seuraavia komplikaatioita edesauttava tekijä. Tässä kytee kuitenkin suuri epävarmuus siitä, onko suurentunut riski seurausta juuri D-vitamiinin puutteesta, vai johtuuko kardiovaskulaarikomplikaatioita kärsineiden henkilöiden veren alhainen D-

vitamiinipitoisuus vain henkilöiden huonosta yleisilasta. Ei siis edelleenkään tiedetä varmaksi, onko D-vitamiinivaje syyllinen suurentuneeseen komplikaatoriskiin. Toinen ääripää taas on normaalia huomattavasti suurempi D-vitamiinipitoisuus (yli 70 nmol/l), jonka on myös raportoitu olevan ateroskleroosia stimuloiva tekijä. Ilmiön on perusteltu johtuvan suuren D-vitamiinipitoisuuden altistavasta vaikutuksesta valtimoseinämän kalsifikaatiolle. Normaalia suuremman D-vitamiinipitoisuuden vaikutuksista ei ole kuitenkaan saatavilla niin paljon luotettavia tutkimuksia kuin D-vitamiinivajeesta.

Tähän päivään mennessä julkaistut kliiniset tutkimukset ovat otannaltaan varsin pieniä ja keskittyvät usein tiettyyn osapopulaatioon, kuten munuaisten kroonisesta vajaatoiminnasta tai diabeteksesta kärsiviin henkilöihin. Yleisellä tasolla tehtyjä laajoja tutkimuksia ei aiheesta ole vielä julkaistu, mutta tilanne muuttuu lähivuosina, kun tällä hetkellä käynnissä olevien seurantatutkimusten tulokset julkaistaan. Pidemmän aikavälin ja suuremman otannan tutkimuksissa saadaan todennäköisemmin esille ilmiön laajempi mittakaava, ja sitä kautta varmempi pohja keskustelulle D-vitamiinin kliinisestä merkittävydestä sydän- ja verisuonisairauksien ehkäisyssä. Ateroskleroosillekin on tyypillistä, että se kehittyy vuosien kuluessa, joten D-vitamiininkaan vaikutuksia ei saada nopeasti näkyviin, ja tämä lisää pitkittäistutkimusten tarvetta. Toki pidemmän aikavälin tutkimuksia on vaikea aloittaa, kun tietää tulosten tulevan vasta vuosien päästä. Kärsivällisyys voisi kuitenkin olla yksi ratkaiseva tekijä, jonka avulla D-vitamiinin todelliset vaikutukset tulisivat ilmi.

Johtopäätöksenä voidaan todeta, että ristiriidatonta näyttöä D-vitamiinin vaikutuksista ateroskleroosin etenemiseen ei tutkimuksissa ole löytynyt. Tosin käytettävissä olevien tutkimustulosten perusteella on vahvoja viitteitä sekä D-vitamiinivajeen että elimistön liian korkean D-vitamiinipitoisuuden vaikutuksesta ateroskleroosiin. Taistelu siitä, onko D-vitamiini hyvästä vai pahasta ja missä määrin annosteltuna, jatkuu yhä monella rintamalla. Oikein suunnatut laajan mittakaavan lisätutkimukset oikeanlaisella tutkimuskohortilla olisivat enemmän kuin toivottavia asian selkeyttämiseksi ja varmempien tietojen aikaansaamiseksi.

LÄHTEET

- Al Mheid, I., Quyyumi, A.A., "Vitamin D and Cardiovascular Disease: Controversy Unresolved", *Journal of the American College of Cardiology* 2017;70(1):89-100.
- Anandabaskar, N., Selvarajan, S., Dkhar, S.A., Kamalanathan, S.K., Tamilarasu, K., Bobby, Z., "Effect of Vitamin D Supplementation on Vascular Functions and Oxidative Stress in Type 2 Diabetic Patients with Vitamin D Deficiency", *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2017;21(4):555-563.
- Aoshima, Y., Mizobuchi, M., Ogata, H., Kumata, C., Nakazawa, A., Kondo, F., Ono, N., Koiwa, F., Kinugasa, E., Akizawa, T., "Vitamin D receptor activators inhibit vascular smooth muscle cell mineralization induced by phosphate and TNF- α ", *Nephrology Dialysis Transplantation* 2012;27(5):1800-1806.
- Armas, L.A., Hollis, B.W., Heaney, R.P., "Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2004;89(11):5387-5391.
- Atkins, G.B., Orasanu, G., Jain, M.K. Endothelial Cells. Kirjassa Wang, H., Patterson, C. toim. "Atherosclerosis: Risks, Mechanisms, and Therapies". *Wiley Blackwell*. 2015. S.107-116.
- Baker, R.G., Hayden, M.S., Ghosh, S., "NF- κ B, inflammation and metabolic disease", *Cell metabolism* 2011;13(1):11-22.
- Barger-Lux, M.J., Heaney, R.P., Dowell, S., Chen, T.C., Holick, M.F., "Vitamin D and its major metabolites: serum levels after graded oral dosing in healthy men", *Osteoporosis international* 1998;8(3):222-230.
- Ben-Shoshan, M., Amir, S., Dang, D.T., Dang, L.H., Weisman, Y., Mabweesh, N.J., "1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 (Calcitriol) inhibits hypoxia-inducible factor-1/vascular endothelial growth factor pathway in human cancer cells", *Molecular Cancer Therapeutics* 2007;6(4):1433-1439.
- Beveridge, L.A., Struthers, A.D., Khan, F., Jorde, R., Scragg, R., Macdonald, H.M., Alvarez, J.A., Boxer, R.S., Dalbeni, A., Gepner, A.D., Isbel, N.M., Larsen, T., Nagpal, J., Petchey, W.G., Stricker, H., Strobel, F., Tangpricha, V., Toxqui, L., Vaquero, M.P., Wamberg, L., Zittermann, A., Witham, M.D., "Effect of Vitamin D Supplementation on Blood Pressure: A Systematic Review and Meta-analysis Incorporating Individual Patient Data", *JAMA internal medicine* 2015;175(5):745-754.

- Bhattacharyya, M.H., DeLuca H.F., "The Regulation of Rat Liver Calciferol-25-hydroxylase", *The Journal of Biological Chemistry* 1973;218(9):2969-2973.
- Bikle, D.D., "Extraskeletal actions of vitamin D", *Annals of the New York Academy of Sciences* 2016;1376(1):29-52.
- Bikle, D.D., "Vitamin D Metabolism and Function in the Skin", *Molecular and Cellular Endocrinology* 2011;347(1-2):80-89.
- Bikle, D.D., "Extra Renal Synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D and its Health Implications", *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism* 2009;7(2):114-125.
- Bikle, D.D., "Vitamin D and Bone", *Current Osteoporosis Report* 2012;10(2):151-159.
- Boström, K., Watson, K.E., Horn, S., Wortham, C., Herman, I.M., Demer, L.L., "Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions", *The Journal of Clinical Investigation* 1993;91(4):1800-1809.
- Boulanger, C.M., Scoazec, A., Ebrahimian, T., Henry, P., Mathieu, E., Tedgui, A., Mallat, Z., "Circulating microparticles from patients with myocardial infarction cause endothelial dysfunction", *Circulation* 2001;104(22):2649-2652.
- Boyan, B.D., Wong, K.L., Wang, L., Yao, H., Guldberg, R.E., Drab, M., Jo, H., Schwartz, Z., "Regulation of growth plate chondrocytes by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ requires caveolae and caveolin-1", *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 2006;21(10):1637-1647.
- Brand, K., Page, S., Rogler, G., Bartsch, A., Brandl, R., Knuechel, R., Page, M., Kaltschmidt, C., Baeuerle, P.A., Neumeier, D., "Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion", *The Journal of Clinical Investigation* 1996;97(7):1715-1722.
- Brenner, H., Jansen, L., Saum, K., Holleczeck, B., Schöttker, B., "Vitamin D Supplementation Trials Aimed at Reducing Mortality Have Much Higher Power When Focusing on People with Low Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations", *The Journal of Nutrition* 2017;147(7):1325-1333.
- Brodsky, S.V., Zhang, F., Nasjletti, A., Goligorsky, M.S., "Endothelium-derived microparticles impair endothelial function in vitro", *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2004;286(5):1910-1915.
- Calton, E.K., Keane, K.N., Newsholme, P., Zhao, Y., Soares, M.J., "The impact of cholecalciferol supplementation on the systemic inflammatory profile: a systematic review and meta-analysis of high-quality randomized controlled trials", *European Journal of Clinical Nutrition* 2017;71(8):931-943.

- Campbell, L.A., Rosenfeld, M.E., "Infection and Atherosclerosis Development", *Archives of medical research* 2015;46(5):339-350.
- Carreira, A.C., Lojudice, F.H., Halcsik, E., Navarro, R.D., Sogayar, M.C., Granjeiro, J.M., "Bone morphogenetic proteins: facts, challenges, and future perspectives", *Journal of Dental Research* 2014;93(4):335-345.
- Cavalier, E., Delanaye, P., Souberbielle, J., Radermecker, R., "Vitamin D and type 2 diabetes mellitus: where do we stand?", *Diabetes & Metabolism* 2011;37(4):265-272.
- Chen, N., Wan, Z., Han, S., Li, B., Zhang, Z., Qin L., "Effect of vitamin D supplementation on the level of circulating high-sensitivity C-reactive protein: a meta-analysis of randomized controlled trials", *Nutrients* 2014;6(6):2206–2216.
- Chin, K., Appel, L.J., Michos, E.D., "Vitamin D, Calcium, and Cardiovascular Disease: A "D"vantageous or "D"etrimental? An Era of Uncertainty", *Current Atherosclerosis Reports* 2017;19(5).
- Chistiakov, D.A., Orekhov, A.N., Bobryshev, Y.V., "Vascular smooth muscle cell in atherosclerosis", *Acta Physiologica* 2015;214(1):33-50.
- Choi, Y., Song, S., Shin, B., Kim, J., Kim, H., "Serum vitamin D level is negatively associated with carotid atherosclerosis in Korean adults", *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2017;68(1):90-96.
- Chung, C., Chang, Y., Ding, Y., Lim, K., Liu, Q., Zhu, L., Zhang, W., Lu, T., Molostvov, G., Zehnder, D., Hsiao, L., " α -Klotho expression determines nitric oxide synthesis in response to FGF-23 in human aortic endothelial cells", *PLoS ONE* 2017;12(5): e0176817.
- Cominacini, L., Garbin, U., Pasini, A.F., Davoli, A., Campagnola, M., Pastorino, A.M., Gaviraghi, G., Lo Cascio, V., "Oxidized low-density lipoprotein increases the production of intracellular reactive oxygen species in endothelial cells: inhibitory effect of lacidipine", *Journal of Hypertension* 1998;16(12):1913-1919.
- Corrado, E., Rizzo, M., Coppola, G., Fattouch, K., Novo, G., Marturana, I., Ferrara, F., Novo, S., "An update on the role of markers of inflammation in atherosclerosis", *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2010;17(1):1-11.
- Costa, C., Incio, J., Soares, R., "Angiogenesis and chronic inflammation: cause or consequence?", *Angiogenesis* 2007;10(3):149-166.
- Davies, P.F., "Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology", *Nature Clinical Practice. Cardiovascular Medicine* 2009;6(1):16-26.

- Davignon, J., Ganz, P., "Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis", *Circulation* 2004;109(23):27-32.
- Deshmane, S.L., Kremlev, S., Amini, S., Sawaya, B.E., "Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An Overview", *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2009;29(6):313-326.
- Diez, J., Arterial stiffness and extracellular matrix. Kirjassa Safar, M.E., Frohlich E.D. toim. "Atherosclerosis, Large Arteries and Cardiovascular Risk". 2007. *Karger*. S. 76-95.
- Dignat-George, F., Boulanger, C.M., "The many faces of endothelial microparticles", *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2011;31(1):27-33.
- Dijk, V., C, S., Sohl, E., Oudshoorn, C., Enneman, A.W., Ham, A.C., Swart, K.M.A., Wijngaarden, V., P, J., Brouwer-Brolsma, E.M., Zwaluw, V.D., L, N., Uitterlinden, A.G., Groot, D., M, Lisette C P G, Dhonukshe-Rutten, R.A.M., Lips, P., Schoor, V., M, N., Blom, H.J., Geleijnse, J.M., Feskens, E.J., Smulders, Y.M., Zillikens, M.C., Jongh, D., T, R., Meiracker, V.D., H, A., Raso, M., S, F.U., van der Velde, N., "Non-linear associations between serum 25-OH vitamin D and indices of arterial stiffness and arteriosclerosis in an older population", *Age and Ageing* 2015;44(1):136-142.
- Ding, H., Ma, H., "Significant roles of anti-aging protein klotho and fibroblast growth factor23 in cardiovascular disease", *Journal of Geriatric Cardiology: JGC*, 2015;12(4):439-447.
- Distler, J., Akhmetshina, A., Dees, C., Jüngel, A., Stürzl, M., Gay, S., Pisetsky, D. S., Schett, G., Distler, O., "Induction of apoptosis in circulating angiogenic cells by microparticles", *Arthritis & Rheumatism* 2011;63:2067–2077.
- Doroudi, M., Plaisance, M.C., Boyan, B.D., Schwartz, Z., "Membrane actions of 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ are mediated by Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II in bone and cartilage cells", *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 2015;145:65-74.
- Doroudi, M., Olivares-Navarrete, R., Hyzy, S.L., Boyan, B.D., Schwartz, Z., "Signaling components of the 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ -dependent Pdia3 receptor complex are required for Wnt5a calcium-dependent signaling", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 2014;1843(11):2365-2375.
- Drüeke, T.B., Massy, Z.A., "Role of vitamin D in vascular calcification: bad guy or good guy?", *Nephrology Dialysis Transplantation* 2012;27(5):1704-1707.
- Durup, D., Jørgensen, H.L., Christensen, J., Tjønneland, A., Olsen, A., Halkjær, J., Lind, B., Heegaard, A., Schwarz, P., "A Reverse J-Shaped Association Between Serum 25-

- Hydroxyvitamin D and Cardiovascular Disease Mortality: The CopD Study", *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2015;100(6):2339-2346.
- Dziedzic, E.A., Przychodzeń, S., Dąbrowski, M., "The effects of vitamin D on severity of coronary artery atherosclerosis and lipid profile of cardiac patients", *Archives of medical science: AMS* 2016;12(6):1199-1206.
- El-Fakhri, N., McDevitt, H., Shaikh, M.G., Halsey, C., Ahmed, S.F., "Vitamin D and its effects on glucose homeostasis, cardiovascular function and immune function", *Hormone research in paediatrics* 2014;81(6):363-378.
- Ellam, T., Hameed, A., Haque, R., Muthana, M., Wilkie, M., Francis, S.E., Chico, T.J.A., "Vitamin D deficiency and exogenous vitamin D excess similarly increase diffuse atherosclerotic calcification in apolipoprotein E knockout mice", *PloS One* 2014;9(2):e88767.
- Engelsen, O., "The relationship between ultraviolet radiation exposure and vitamin D status", *Nutrients* 2010;2(5):482-495.
- Erbay, E., Babaev, V.R., Mayers, J.R., Makowski, L., Charles, K.N., Snitow, M.E., Fazio, S., Wiest, M.M., Watkins, S.M., Linton, M.F., Hotamisligil, G.S., "Reducing endoplasmic reticulum stress through a macrophage lipid chaperone alleviates atherosclerosis", *Nature Medicine* 2009;15(12):1383-1391.
- Erben, R.G., Andrukhova, O., "FGF23-Klotho signaling axis in the kidney", *Bone* 2017;100:62-68.
- Eren, E., Ellidag, H.Y., Yilmaz, A., Aydın, Ö, Yilmaz, N., "No association between vitamin D levels and inflammation markers in patients with acute coronary syndrome", *Advances in Medical Sciences* 2015;60(1):89-93.
- Faridi, K.F., Zhao, D., Martin, S.S., Lupton, J.R., Jones, S.R., Guallar, E., Ballantyne, C.M., Lutsey, P.L., Michos, E.D., "Serum vitamin D and change in lipid levels over 5 y: The Atherosclerosis Risk in Communities study", *Nutrition* 2017;38:85-93.
- Feng, B., Yao, P.M., Li, Y., Devlin, C.M., Zhang, D., Harding, H.P., Sweeney, M., Rong, J.X., Kuriakose, G., Fisher, E.A., Marks, A.R., Ron, D., Tabas, I., "The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages", *Nature Cell Biology* 2003;5(9):781-792.
- Fishbein, M.C., Fishbein, G.A., "Arteriosclerosis: facts and fancy", *Cardiovascular Pathology* 2015;24(6):335-342.
- Fok, P., "Growth of necrotic cores in atherosclerotic plaque", *Mathematical Medicine and Biology: A Journal of the IMA* 2012;29(4):301-327.

- Ford, J.A., MacLennan, G.S., Avenell, A., Bolland, M., Grey, A., Witham, M., "Cardiovascular disease and vitamin D supplementation: trial analysis, systematic review, and meta-analysis", *The American Journal of Clinical Nutrition* 2014;100(3):746-755.
- Freese, R., Voutilainen, E. D-vitamiini. Kirjassa Aro, A., Mutanen, M., Uusitupa, M. toim. "Ravitsemustiede". *Kustannus Oy Duodecim*. Helsinki. 2016. S. 95-100.
- Förstermann, U., Sessa, W.C., "Nitric oxide synthases: regulation and function", *European Heart Journal* 2012;33(7):837a-837d.
- Förstermann, U., Xia, N., Li, H., "Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis", *Circulation Research* 2017;120(4):713-735.
- Furmanik, M., Shanahan, C.M., "Endoplasmic Reticulum Stress in Arterial Smooth Muscle Cells: A Novel Regulator of Vascular Disease", *Current Cardiology Reviews* 2017;13(2):94-105.
- Gareus, R., Kotsaki, E., Xanthoulea, S., van der Made, I., Gijbels, M.J.J., Kardakaris, R., Polykratis, A., Kollias, G., de Winther, Menno P J, Pasparakis, M., "Endothelial cell-specific NF-kappaB inhibition protects mice from atherosclerosis", *Cell Metabolism* 2008;8(5):372-383.
- Gauci, E., Raimondo, D., Grillo, C., Cervoni, L., Altieri, F., Nittari, G., Eufemi, M., Chichiarelli, S., "Analysis of the interaction of calcitriol with the disulfide isomerase ERp57", *Scientific reports* 2016;6:37957.
- Gayral, S., Garnotel, R., Castaing-Berthou, A., Blaise, S., Fougerat, A., Berge, E., Montheil, A., Malet, N., Wymann, M.P., Maurice, P., Debelle, L., Martiny, L., Martinez, L.O., Pshezhetsky, A.V., Duca, L., Laffargue, M., "Elastin-derived peptides potentiate atherosclerosis through the immune Neu1-PI3K γ pathway", *Cardiovascular Research* 2014;102(1):118-127.
- Gimbrone, M.A., García-Cardena, G., "Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis", *Circulation research* 2016;118(4):620-636.
- Gimbrone, M.A., García-Cardena, G., "Vascular endothelium, hemodynamics, and the pathobiology of atherosclerosis", *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology* 2013;22(1):9-15.
- Grammatiki, M., Rapti, E., Karras, S., Ajjan, R.A., Kotsa, K., "Vitamin D and diabetes mellitus: Causal or casual association?", *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 2017;18(2):227-241.

- Grant, W.B., Karras, S.N., Bischoff-Ferrari, H.A., Annweiler, C., Boucher, B.J., Juzeniene, A., Garland, C.F., Holick, M.F., "Do studies reporting 'U'-shaped serum 25-hydroxyvitamin D-health outcome relationships reflect adverse effects?", *Dermato-Endocrinology* 2016;8(1):e1187349.
- Grübler, M.R., März, W., Pilz, S., Grammer, T.B., Trummer, C., Müllner, C., Schwetz, V., Pandis, M., Verheyen, N., Tomaschitz, A., Fiordelisi, A., Laudisio, D., Cipolletta, E. & Iaccarino, G., "Vitamin-D concentrations, cardiovascular risk and events - a review of epidemiological evidence", *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 2017;18(2):259-272.
- Haarala, A. Inflammation and Early Atherosclerosis. *Tampere University Press*. 2012.
- Haas, M.J., Jafri, M., Wehmeier, K.R., Onstead-Haas, L.M., Mooradian, A.D., "Inhibition of endoplasmic reticulum stress and oxidative stress by vitamin D in endothelial cells", *Free Radical Biology & Medicine* 2016;99:1-10.
- Hartman, J., Frishman, W.H., "Inflammation and atherosclerosis: a review of the role of interleukin-6 in the development of atherosclerosis and the potential for targeted drug therapy", *Cardiology in Review*, 2014;22(3):147-151.
- Haussler, M.R., Jurutka, P.W., Mizwicki, M., Norman, A.W., "Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1 α ,25(OH)₂vitamin D₃: genomic and non-genomic mechanisms", *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism* 2011;25(4):543-559.
- Haussler, M.R., Whitfield, G.K., Haussler, C.A., Hsieh, J.C., Thompson, P.D., Selznick, S.H., Dominguez, C.E., Jurutka, P.W., "The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed", *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 1998;13(3):325-349.
- Haussler, M.R., Whitfield, G.K., Kaneko, I., Forster, R., Saini, R., Hsieh, J., Haussler, C.A., Jurutka, P.W., "The Role of Vitamin D in the FGF23, Klotho, and Phosphate Bone-Kidney Endocrine Axis", *Reviews in endocrine & metabolic disorders* 2012;13(1):57-69.
- Haussler, M.R., Whitfield, G.K., Kaneko, I., Haussler, C.A., Hsieh, D., Hsieh, J.C., Jurutka, P.W., "Molecular mechanisms of vitamin D action", *Calcified tissue international* 2013;92(2):77-98.
- Heaney, R.P., Recker, R.R., Grote, J., Horst, R.L., Armas, L.A.G., "Vitamin D₃ is more potent than vitamin D₂ in humans", *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011;96(3):447-452.

- Heikkinen, S., Vaisanen, S., Pehkonen, P., Seuter, S., Benes, V., Carlberg, C., "Nuclear hormone 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 elicits a genome-wide shift in the locations of VDR chromatin occupancy", *Nucleic acids research* 2011;39(21):9181-9193.
- Hirata, M., Serizawa, K., Aizawa, K., Yogo, K., Tashiro, Y., Takeda, S., Moriguchi, Y., Endo, K., Fukagawa, M., "22-Oxacalcitriol prevents progression of endothelial dysfunction through antioxidative effects in rats with type 2 diabetes and early-stage nephropathy", *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2013;28(5):1166-1174.
- Hirsch, E., Ghigo, A., "Elastin degradation and ensuing inflammation as emerging keys to atherosclerosis", *Cardiovascular Research* 2014;102(1):1-2.
- Holick, M.F., "Vitamin D: a d-lightful solution for health", *Journal of investigative medicine: the official publication of the American Federation for Clinical Research* 2011;59(6):872-880.
- Holick, M.F., "Vitamin D Deficiency", *New England Journal of Medicine* 2007;357(3):266-281.
- Holick, M.F., Binkley, N.C., Bischoff-Ferrari, H.A., Gordon, C.M., Hanley, D.A., Heaney, R.P., Murad, M.H., Weaver, C.M., Endocrine Society, "Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2011;96(7):1911-1930.
- Holick, M.F., MacLaughlin, J.A., Clark, M.B., Holick, S.A., Potts, J.T., Jr, Anderson, R.R., Blank, I.H., Parrish, J.A., Elias, P., "Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences", *Science* 1980;210(4466):203-205.
- Hollander, D., Muralidhara, K.S., Zimmerman, A., "Vitamin D-3 intestinal absorption in vivo: influence of fatty acids, bile salts, and perfusate pH on absorption", *Gut* 1978;19(4):267-272.
- Hotamisligil, G.S., "Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders", *Nature* 2017;542(7640):177-185.
- Hristov, M., Weber, C. Atherosclerosis. Kirjassa Berbari, A., Mancia, G. toim. "Arterial Disorders: Definition, Clinical Manifestations, Mechanisms and Therapeutic Approaches". *Springer International Publishing Switzerland*. 2015. S. 49-55.
- Huhtakangas, J.A., Olivera, C.J., Bishop, J.E., Zanello, L.P., Norman, A.W., "The vitamin D receptor is present in caveolae-enriched plasma membranes and binds 1 alpha,25(OH)2-vitamin D3 in vivo and in vitro", *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* 2004;18(11):2660-2671.

- Husain, K., Hernandez, W., Ansari, R.A., Ferder, L., "Inflammation, oxidative stress and renin angiotensin system in atherosclerosis", *World Journal of Biological Chemistry* 2015;6(3): 209-217.
- Hussein, M.N., Böing, A.N., Sturk, A., Hau, C.M., Nieuwland, R., "Inhibition of microparticle release triggers endothelial cell apoptosis and detachment", *Thrombosis and Haemostasis* 2007;98(5):1096-1107.
- Hussin, A.M., Ashor, A.W., Schoenmakers, I., Hill, T., Mathers, J.C., Siervo, M., "Effects of vitamin D supplementation on endothelial function: a systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials", *European Journal of Nutrition* 2017;56(3):1095-1104.
- Ikeda, K., Souma, Y., Akakabe, Y., Kitamura, Y., Matsuo, K., Shimoda, Y., Ueyama, T., Matoba, S., Yamada, H., Okigaki, M., Matsubara, H., "Macrophages play a unique role in the plaque calcification by enhancing the osteogenic signals exerted by vascular smooth muscle cells", *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2012;425(1):39-44.
- Insull, W., "The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment", *The American Journal of Medicine* 2009;122(1):3-14.
- Ivanova, E.A., Orekhov, A.N., "The Role of Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response in Atherosclerosis", *International Journal of Molecular Sciences* 2016;17(2):193.
- Jablonski, K.L., Chonchol, M., Pierce, G.L., Walker, A.E., Seals, D.R., "25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with inflammation-linked vascular endothelial dysfunction in middle-aged and older adults", *Hypertension* 2011;57(1):63-69.
- Jia, X., Xu, J., Gu, Y., Gu, X., Li, W., Wang, Y., "Vitamin D suppresses oxidative stress-induced microparticle release by human umbilical vein endothelial cells", *Biology of Reproduction* 2017;96(1):199-210.
- Jiménez, N., Krouwer, V.J.D., Post, J.A., "A new, rapid and reproducible method to obtain high quality endothelium in vitro", *Cytotechnology* 2013;65(1):1-14.
- Jorde, R., Grimnes, G., "Vitamin D and lipids: do we really need more studies?", *Circulation* 2012;126(3):252-254.
- Kanters, E., Pasparakis, M., Gijbels, M.J.J., Vergouwe, M.N., Partouns-Hendriks, I., Fijneman, R.J.A., Clausen, B.E., Förster, I., Kockx, M.M., Rajewsky, K., Kraal, G., Hofker, M.H., de Winther, Menno P.J., "Inhibition of NF-kappaB activation in

- macrophages increases atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice", *The Journal of Clinical Investigation* 2013;112(8):1176-1185.
- Kassi, E., Adamopoulos, C., Basdra, E.K., Papavassiliou, A.G., "Role of vitamin D in atherosclerosis", *Circulation* 2013;128(23):2517-2531.
- Kervinen, H. Sepelvaltimotauti. Kirjassa Jousimaa, J., Alenius, H., Atula, S., Berghem, N., Kattainen, A., Kunnamo, I., Pelttari, H., Teikari, M. toim. "Lääkärin käsikirja". 12. uudistettu painos. *Kustannus Oy Duodecim*. Helsinki. 2017. S. 256-260.
- Khanal, R.C., Nemere, I., "The ERp57/GRp58/1,25D3-MARRS receptor: multiple functional roles in diverse cell systems", *Current medicinal chemistry* 2007;14(10):1087-1093.
- Kovanen, P., Pentikäinen, M., Mustonen, P. Hauras plakki: plakin eroosion ja repeämän synty. Kirjassa Airaksinen, J., Aalto-Setälä, K., Hartikainen, J., Huikuri, H., Laine, M., Lommi, J., Raatikainen, P., Saraste, A. toim. *Kardiologia* [online]. *Kustannus Oy Duodecim*, Helsinki, 2016, (luettu 27.7.2017). Saatavilla Internetissä (vaatii käyttäjätunnuksen): www.oppiportti.fi/op/kar01431.
- Kovanen, P., Pentikäinen, M. Plakin repeämä. Kirjassa Airaksinen, J., Aalto-Setälä, K., Hartikainen, J., Huikuri, H., Laine, M., Lommi, J., Raatikainen, P., Saraste, A. toim. *Kardiologia* [online]. *Kustannus Oy Duodecim*, Helsinki, 2016, (luettu 8.8.2017). Saatavilla Internetissä (vaatii käyttäjätunnuksen): www.oppiportti.fi/op/kar01433.
- Kreutz, M., Andreesen, R., Krause, S.W., Szabo, A., Ritz, E., Reichel, H., "1,25-dihydroxyvitamin D3 production and vitamin D3 receptor expression are developmentally regulated during differentiation of human monocytes into macrophages", *Blood* 1993;82(4):1300-1307.
- Krishnan, A.V., Feldman, D., "Molecular pathways mediating the anti-inflammatory effects of calcitriol: implications for prostate cancer chemoprevention and treatment", *Endocrine-Related Cancer* 2010;17(1):19-38.
- Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. Robbins Basic Pathology. 9. painos. Elsevier Saunders. 2013. S. 327-342.
- Kunjathoor, V.V., Febbraio, M., Podrez, E.A., Moore, K.J., Andersson, L., Koehn, S., Rhee, J.S., Silverstein, R., Hoff, H.F., Freeman, M.W., "Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages", *The Journal of Biological Chemistry* 2002;277(51):49982-49988.
- Kuro-o, M., Matsumura, Y., Aizawa, H., Kawaguchi, H., Suga, T., Utsugi, T., Ohyama, Y., Kurabayashi, M., Kaname, T., Kume, E., Iwasaki, H., Iida, A., Shiraki-Iida, T.,

- Nishikawa, S., Nagai, R., Nabeshima, Y.I., "Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing", *Nature*, 1997;390(6655):45-51.
- Lau, W.L., Leaf, E.M., Hu, M.C., Takeno, M.M., Kuro-o, M., Moe, O.W., Giachelli, C.M., "Vitamin D receptor agonists increase klotho and osteopontin while decreasing aortic calcification in mice with chronic kidney disease fed a high phosphate diet", *Kidney International* 2012;82(12):1261-1270.
- Lawrence, T., "The Nuclear Factor NF- κ B Pathway in Inflammation", *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2009;1:a001651.
- Lehmann, B., Meurer, M., "Vitamin D metabolism", *Dermatologic Therapy* 2010;23(1):2-12.
- Levin, A., Tang, M., Perry, T., Zalunardo, N., Beaulieu, M., Dubland, J.A., Zerr, K., Djurdjev, O., "Randomized Controlled Trial for the Effect of Vitamin D Supplementation on Vascular Stiffness in CKD", *Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 2017;12(9):1447-1460.
- Lim, K., Lu, T., Molostvov, G., Lee, C., Lam, F.T., Zehnder, D., Hsiao, L., "Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23", *Circulation* 2012;125(18):2243-2255.
- Lubrano, V., Balzan, S., "LOX-1 and ROS, inseparable factors in the process of endothelial damage", *Free Radical Research* 2014;48(8):841-848.
- Lupoli, R., Vaccaro, A., Ambrosino, P., Poggio, P., Amato, M., Di Minno, M.N.D., "Impact of Vitamin D deficiency on subclinical carotid atherosclerosis: a pooled analysis of cohort studies", *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2017;102(7):2146-2153.
- Lupton, J.R., Faridi, K.F., Martin, S.S., Sharma, S., Kulkarni, K., Jones, S.R., Michos, E.D., "Deficient serum 25-hydroxyvitamin D is associated with an atherogenic lipid profile: The Very Large Database of Lipids (VLDL-3) study", *Journal of Clinical Lipidology*, 2016;10(1):72-81.
- MacLaughlin, J.A., Anderson, R.R., Holick, M.F., "Spectral character of sunlight modulates photosynthesis of previtamin D3 and its photoisomers in human skin", *Science* 1982;216(4549):1001-1003.
- MacLaughlin, J., Holick, M.F., "Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3", *The Journal of Clinical Investigation* 1985;76(4):1536-1538.

- Malhotra, J.D., Kaufman, R.J., "Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword?", *Antioxidants & Redox Signaling* 2007;9(12):2277-2293.
- Mangoo-Karim, R., Da Silva Abreu, J., Yanev, G.P., Perez, N.N., Stubbs, J.R., Wetmore, J.B., "Ergocalciferol versus Cholecalciferol for Nutritional Vitamin D Replacement in CKD", *Nephron* 2015;130(2):99-104.
- Manson, J.E., Bassuk, S.S., Lee, I.-, Cook, N.R., Albert, M.A., Gordon, D., Zaharris, E., Macfadyen, J.G., Danielson, E., Lin, J., Zhang, S.M., Buring, J.E., "The VITamin D and OmegaA-3 Trial (VITAL): rationale and design of a large randomized controlled trial of vitamin D and marine omega-3 fatty acid supplements for the primary prevention of cancer and cardiovascular disease", *Contemporary Clinical Trials* 2012;33(1):159-171.
- Marampon, F., Gravina, G.L., Festuccia, C., Popov, V.M., Colapietro, E.A., Sanità, P., Musio, D., De Felice, F., Lenzi, A., Jannini, E.A., Di Cesare, E., Tombolini, V., "Vitamin D protects endothelial cells from irradiation-induced senescence and apoptosis by modulating MAPK/SirT1 axis", *Journal of Endocrinological Investigation* 2016;39(4):411-422.
- Margolis, R.N., Christakos, S., "The nuclear receptor superfamily of steroid hormones and vitamin D gene regulation. An update", *Annals of the New York Academy of Sciences* 2010;1192:208-214.
- Martínez-Miguel, P., Valdivielso, J.M., Medrano-Andrés, D., Román-García, P., Cano-Peñalver, J.L., Rodríguez-Puyol, M., Rodríguez-Puyol, D., López-Ongil, S., "The active form of vitamin D, calcitriol, induces a complex dual upregulation of endothelin and nitric oxide in cultured endothelial cells", *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 2014;307(12):1085-1096.
- Martinez-Moreno, J.M., Herencia, C., Montes de Oca, A., Muñoz-Castañeda, J.R., Rodríguez-Ortiz, M.E., Díaz-Tocados, J.M., Peralbo-Santaella, E., Camargo, A., Canalejo, A., Rodriguez, M., Velasco-Gimena, F., Almaden, Y., "Vitamin D modulates tissue factor and protease-activated receptor 2 expression in vascular smooth muscle cells", *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2016;30(3):1367-1376.
- Mary, A., Hénaut, L., Boudot, C., Six, I., Brazier, M., Massy, Z.A., Drüeke, T.B., Kamel, S., Mentaverri, R., "Calcitriol prevents in vitro vascular smooth muscle cell mineralization by regulating calcium-sensing receptor expression", *Endocrinology* 2015;156(6):1965-1974.
- Mastroeni, S., Munasinghe, L., Pham, T., Loehr, S., Ekwaru, J., Mastroeni, M., Veugelers, P., "The Effect of Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations on Elevated Serum C-

- Reactive Protein Concentrations in Normal Weight, Overweight and Obese Participants of a Preventive Health Program", *Nutrients* 2016;8(11).
- Matthys, K., Bult, H., "Nitric oxide function in atherosclerosis", *Mediators of Inflammation* 1997;6(1):3-21.
- Mazidi, M., Karimi, E., Rezaie, P., Vatanparast, H., "The impact of vitamin D supplement intake on vascular endothelial function; a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials", *Food & Nutrition Research* 2017;61(1):1273574.
- Medici, D., Razzaque, M.S., Deluca, S., Rector, T.L., Hou, B., Kang, K., Goetz, R., Mohammadi, M., Kuro-O, M., Olsen, B.R., Lanske, B., "FGF-23-Klotho signaling stimulates proliferation and prevents vitamin D-induced apoptosis", *The Journal of Cell Biology* 2008;182(3):459-465.
- Meng, S., Fang, P., Yang, X., Wang, H. Monocytes and Macrophages in Atherosclerosis. Kirjassa Wang, H., Patterson, C. toim. "Atherosclerosis: Risks, Mechanisms, and Therapies". *Wiley Blackwell*. 2015. S.141-153.
- Merke, J., Milde, P., Lewicka, S., Hügel, U., Klaus, G., Mangelsdorf, D.J., Haussler, M.R., Rauterberg, E.W., Ritz, E., "Identification and regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor activity and biosynthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D3. Studies in cultured bovine aortic endothelial cells and human dermal capillaries.", *The Journal of Clinical Investigation* 1989;83(6):1903-1915.
- Mihos, C.G., De La Cruz, Javier A, Hernandez, A., Santana, O., "Vitamin D Deficiency and Supplementation in Cardiovascular Disorders", *Cardiology in Review* 2017;25(4):189-196.
- Milazzo, V., Metrio, M.D., Cosentino, N., Marenzi, G., Tremoli, E., "Vitamin D and acute myocardial infarction", *World Journal of Cardiology* 2017;9(1):14-20.
- Mitsubishi, T., Morris, R.C., Ives, H.E., "1,25-dihydroxyvitamin D3 modulates growth of vascular smooth muscle cells", *The Journal of Clinical Investigation* 1991;87(6):1889-1895.
- Molinuevo, M.S., Fernández, J.M., Cortizo, A.M., McCarthy, A.D., Schurman, L., Sedlinsky, C., "Advanced glycation end products and strontium ranelate promote osteogenic differentiation of vascular smooth muscle cells in vitro: Preventive role of vitamin D", *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2017;450:94-104.
- Mousa, A., Naderpoor, N., Johnson, J., Sourris, K., de Courten, M., Wilson, K., Scragg, R., Plebanski, M., de Courten, B., "Effect of vitamin D supplementation on inflammation and nuclear factor kappa-B activity in overweight/obese adults: a randomized placebo-controlled trial", *Scientific Reports* 2017;7(1):15154.

- Muscogiuri, G., Annweiler, C., Duval, G., Karras, S., Tirabassi, G., Salvio, G., Balercia, G., Kimball, S., Kotsa, K., Mascitelli, L., Bhattoa, H.P., Colao, A., "Vitamin D and cardiovascular disease: From atherosclerosis to myocardial infarction and stroke", *International Journal of Cardiology* 2017;230:577-584.
- Myoishi, M., Hao, H., Minamino, T., Watanabe, K., Nishihira, K., Hatakeyama, K., Asada, Y., Okada, K., Ishibashi-Ueda, H., Gabbiani, G., Bochaton-Piallat, M., Mochizuki, N., Kitakaze, M., "Increased endoplasmic reticulum stress in atherosclerotic plaques associated with acute coronary syndrome", *Circulation* 2007;116(11):1226-1233.
- Nakagawa, Y., Ikeda, K., Akakabe, Y., Koide, M., Uraoka, M., Yutaka, K., Kurimoto-Nakano, R., Takahashi, T., Matoba, S., Yamada, H., Okigaki, M., Matsubara, H., "Paracrine osteogenic signals via bone morphogenetic protein-2 accelerate the atherosclerotic intimal calcification in vivo", *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2010;30(10):1908-1915.
- Neale, R.E., Armstrong, B.K., Baxter, C., Duarte Romero, B., Ebeling, P., English, D.R., Kimlin, M.G., McLeod, D.S.A., O Connell, R.L., van der Pols, J C, Venn, A.J., Webb, P.M., Whiteman, D.C., Wockner, L., "The D-Health Trial: A randomized trial of vitamin D for prevention of mortality and cancer", *Contemporary Clinical Trials* 2016;48:83-90.
- Nemere, I., Safford, S.E., Rohe, B., DeSouza, M.M., Farach-Carson, M.C., "Identification and characterization of 1,25D3-membrane-associated rapid response, steroid (1,25D3-MARRS) binding protein", *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2004;89-90:281-285.
- Nemerovski, C.W., Dorsch, M.P., Simpson, R.U., Bone, H.G., Aaronson, K.D., Bleske, B.E., "Vitamin D and cardiovascular disease", *Pharmacotherapy* 2009;29(6):691-708.
- Ni, W., Watts, S.W., Ng, M., Chen, S., Glenn, D.J., Gardner, D.G., "Elimination of vitamin D receptor in vascular endothelial cells alters vascular function", *Hypertension* 2014;64(6):1290-1298.
- Ning, R.B., Zhu, J., Chai, D.J., Xu, C.S., Xie, H., Lin, X.Y., Zeng, J.Z., Lin, J.X., "RXR agonists inhibit high glucose-induced upregulation of inflammation by suppressing activation of the NADPH oxidase-nuclear factor- κ B pathway in human endothelial cells", *Genetics and molecular research: GMR* 2013;12(4):6692-6707.
- Norman, A.W., "Minireview: vitamin D receptor: new assignments for an already busy receptor", *Endocrinology* 2006;147(12):5542-5548.
- Norman, P.E., Powell, J.T., "Vitamin D and cardiovascular disease", *Circulation Research* 2014;114(2):379-393.

- Oakes, S.A., Papa, F.R., "The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology", *Annual Review of Pathology* 2015;10:173-194.
- Oh, J., Weng, S., Felton, S.K., Bhandare, S., Riek, A., Butler, B., Proctor, B.M., Petty, M., Chen, Z., Schechtman, K.B., Bernal-Mizrachi, L., Bernal-Mizrachi, C., "1,25(OH)₂ vitamin d inhibits foam cell formation and suppresses macrophage cholesterol uptake in patients with type 2 diabetes mellitus", *Circulation* 2009;120(8):687-698.
- Ohnishi, M., Nakatani, T., Lanske, B., Razzaque, M.S., "Reversal of mineral ion homeostasis and soft-tissue calcification of klotho knockout mice by deletion of vitamin D 1alpha-hydroxylase", *Kidney International* 2009;75(11):1166-1172.
- Opitz, F., Schenke-Layland, K., Cohnert, T.U., Stock, U.A., "Phenotypical plasticity of vascular smooth muscle cells-effect of in vitro and in vivo shear stress for tissue engineering of blood vessels", *Tissue Engineering* 2007;13(10):2505-2514.
- O'Rourke, M.F. Arteriosclerosis/Large artery disease. Kirjassa Berbari, A., Mancia, G. toim. "Arterial Disorders: Definition, Clinical Manifestations, Mechanisms and Therapeutic Approaches". *Springer International Publishing Switzerland*. 2015. S. 57-68.
- Owens, A.P., Mackman, N., "Sources of tissue factor that contribute to thrombosis after rupture of an atherosclerotic plaque", *Thrombosis Research* 2012;129:30-33.
- Ozcan, U., Yilmaz, E., Ozcan, L., Furuhashi, M., Vaillancourt, E., Smith, R.O., Görgün, C.Z., Hotamisligil, G.S., "Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes", *Science* 2006;313(5790):1137-1140.
- Pagano, P.J., Ito, Y., Tornheim, K., Gallop, P.M., Tauber, A.I., Cohen, R.A., "An NADPH oxidase superoxide-generating system in the rabbit aorta", *The American Journal of Physiology* 1995;268(6):2274-2280.
- Parma, L., Baganha, F., Quax, P.H.A., de Vries, M.R., "Plaque angiogenesis and intraplaque hemorrhage in atherosclerosis", *European Journal of Pharmacology* 2017;816:107-115.
- Pérez-Hernández, N., Apton-Duque, G., Nostroza-Hernández, M.C., Vargas-Alarcón, G., Rodríguez-Pérez, J.M., Blachman-Braun, R., "Vitamin D and its effects on cardiovascular diseases: a comprehensive review", *The Korean Journal of Internal Medicine* 2016;31(6):1018-1029.
- Pichaud, F., Roux, S., Frenzo, J.L., Delage-Mourroux, R., Maclouf, J., de Vernejoul, M.C., Moukhtar, M.S., Jullienne, A., "1,25-dihydroxyvitamin D₃ induces NAD(+)-dependent 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase in human neonatal monocytes", *Blood* 1997;89(6):2105-2112.

- Pierce, G.L., Lesniewski, L.A., Lawson, B.R., Beske, S.D., Seals, D.R., "Nuclear factor- $\{\kappa\}$ B activation contributes to vascular endothelial dysfunction via oxidative stress in overweight/obese middle-aged and older humans", *Circulation* 2009;119(9):1284-1292.
- Pilz, S., Tomaschitz, A., Ritz, E., Pieber, T.R., "Vitamin D status and arterial hypertension: a systematic review", *Nature Reviews. Cardiology* 2009;6(10):621-630.
- Pilz, S., Verheyen, N., Gröbler, M.R., Tomaschitz, A., März, W., "Vitamin D and cardiovascular disease prevention", *Nature Reviews. Cardiology* 2016;13(7):404-417.
- Polidoro, L., Properzi, G., Marampon, F., Gravina, G.L., Festuccia, C., Di Cesare, E., Scarsella, L., Ciccarelli, C., Zani, B.M., Ferri, C., "Vitamin D protects human endothelial cells from H₂O₂ oxidant injury through the Mek/Erk-Sirt1 axis activation", *Journal of Cardiovascular Translational Research* 2013;6(2):221-231.
- Ponda, M.P., Huang, X., Odeh, M.A., Breslow, J.L., Kaufman, H.W., "Vitamin D may not improve lipid levels: a serial clinical laboratory data study", *Circulation* 2012;126(3):270-277.
- Provvedini, D.M., Tsoukas, C.D., Deftos, L.J., Manolagas, S.C., "1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes", *Science* 1983;221(4616):1181-1183.
- Puddu, P., Puddu, G.M., Cravero, E., Muscari, S., Muscari, A., "The involvement of circulating microparticles in inflammation, coagulation and cardiovascular diseases", *The Canadian Journal of Cardiology* 2010;26(4):140-145.
- Qi, D., Nie, X., Cai, J., "The effect of vitamin D supplementation on hypertension in non-CKD populations: A systemic review and meta-analysis", *International Journal of Cardiology* 2017;227:177-186.
- Quinn, M.T., Parthasarathy, S., Fong, L.G., Steinberg, D., "Oxidatively modified low density lipoproteins: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1987;84(9):2995-2998.
- Ramagopalan, S.V., Heger, A., Berlanga, A.J., Maugeri, N.J., Lincoln, M.R., Burrell, A., Handunnetthi, L., Handel, A.E., Disanto, G., Orton, S.M., Watson, C.T., Morahan, J.M., Giovannoni, G., Ponting, C.P., Ebers, G.C., Knight, J.C., "A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution", *Genome research* 2010;20(10):1352-1360.
- Ramkhelawon, B., Yang, Y., van Gils, J.M., Hewing, B., Rayner, K.J., Parathath, S., Guo, L., Oldebeken, S., Feig, J.L., Fisher, E.A., Moore, K.J., "Hypoxia induces netrin-1 and

- Unc5b in atherosclerotic plaques: mechanism for macrophage retention and survival", *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2013;33(6):1180-1188.
- Rapoport, R.M., "Nitric oxide inhibition of endothelin-1 release in the vasculature: in vivo relevance of in vitro findings", *Hypertension* 2014;64(5):908-914.
- Rapson, I.R., Michos, E.D., Alonso, A., Hirsch, A.T., Matsushita, K., Reis, J.P., Lutsey, P.L., "Serum 25-hydroxyvitamin D is associated with incident peripheral artery disease among white and black adults in the ARIC study cohort", *Atherosclerosis* 2017;257:123-129.
- Ravichandran, K., "Beginnings of a Good Apoptotic Meal: The Find-Me and Eat-Me Signaling Pathways", *Immunity* 2011;35(4):445-455.
- Raymond, M., Désormeaux, A., Labelle, A., Soulez, M., Soulez, G., Langelier, Y., Pshezhetsky, A.V., Hébert, M., "Endothelial stress induces the release of vitamin D-binding protein, a novel growth factor", *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2005;338(3):1374-1382.
- Razzaque, MS, "The dualistic role of vitamin D in vascular calcifications", *Kidney International* 2011;79(7):708-714.
- Reboul, E., Goncalves, A., Comera, C., Bott, R., Nowicki, M., Landrier, J.F., Jourdheuil-Rahmani, D., Dufour, C., Collet, X., Borel, P., "Vitamin D intestinal absorption is not a simple passive diffusion: evidences for involvement of cholesterol transporters", *Molecular nutrition & food research* 2011;55(5):691-702.
- Rebsamen, M.C., Sun, J., Norman, A.W., Liao, J.K., "1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 induces vascular smooth muscle cell migration via activation of phosphatidylinositol 3-kinase", *Circulation Research* 2002;91(1):17-24.
- Ridker P., Cushman M., Stampfer M., Tracy R., Hennekens C., "Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men", *The New England Journal of Medicine* 1997;336:973-979.
- Ridker P., Hennekens C., Buring J., Rifai N., "C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women", *The New England Journal of Medicine* 2000;342:836-843.
- Ridker P., Everett B., Thuren T., MacFadyen J., Chang W., Ballantyne C., Fonseca F., Nicolau J., Koenig W., Anker S., Kastelein J., Cornel J., Pais P., Pella D., Genest J., Cifkova R., Lorenzatti A., Forster T., Kobalava Z., VidaSimiti L., Flather M., Shimokawa H., Ogawa H., Dellborg M., Rossi P., Troquay R., Libby P., Glynn R., "Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease", *The New England Journal of Medicine* 2017;377(12):1119-1131.

- Riek, A.E., Oh, J., Darwech, I., Moynihan, C.E., Bruchas, R.R., Bernal-Mizrachi, C., "25(OH) vitamin D suppresses macrophage adhesion and migration by downregulation of ER stress and scavenger receptor A1 in type 2 diabetes", *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2014;144:172-179.
- Robinson-Cohen, C., Zelnick, L.R., Hoofnagle, A.N., Lutsey, P.L., Burke, G., Michos, E.D., Shea, S.J.C., Tracy, R., Siscovick, D.S., Psaty, B., Kestenbaum, B., de Boer, I.H., "Associations of Vitamin D-Binding Globulin and Bioavailable Vitamin D Concentrations with Coronary Heart Disease Events: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)", *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2017;102(8):3075-3084.
- Rodríguez, A.J., Scott, D., Srikanth, V., Ebeling, P., "Effect of vitamin D supplementation on measures of arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials", *Clinical Endocrinology* 2016;84(5):645-657.
- Ross, R., "Atherosclerosis - an Inflammatory Disease", *The New England Journal of Medicine*, 1999;340:115-126.
- Rudijanto, A., "The role of vascular smooth muscle cells on the pathogenesis of atherosclerosis", *Acta Medica Indonesiana* 2007;39(2):86-93.
- Rzucidlo, E.M., Martin, K.A., Powell, R.J., "Regulation of vascular smooth muscle cell differentiation", *Journal of Vascular Surgery* 2007;45:25-32.
- Sakakura, K., Nakano, M., Otsuka, F., Ladich, E., Kolodgie, F.D., Virmani, R., "Pathophysiology of Atherosclerosis Plaque Progression", *Heart, Lung and Circulation* 2013;22(6):399-411.
- Salvayre, R., Auge, N., Benoist, H., Negre-Salvayre, A., "Oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 2002;1585(2-3):213-221.
- Scragg, R., Stewart, A.W., Waayer, D., Lawes, C.M.M., Toop, L., Sluyter, J., Murphy, J., Khaw, K., Camargo, C.A., "Effect of Monthly High-Dose Vitamin D Supplementation on Cardiovascular Disease in the Vitamin D Assessment Study: A Randomized Clinical Trial", *JAMA cardiology* 2017;2(6):608-616.
- Scull, C.M., Tabas, I., "Mechanisms of ER Stress-induced Apoptosis in Atherosclerosis", *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2011;31(12):2792-2797.
- Senft, D., Ronai, Z.A., "UPR, autophagy and mitochondria crosstalk underlies the ER stress response", *Trends in biochemical sciences* 2015;40(3):141-148.

- Shroff, R., Egerton, M., Bridel, M., Shah, V., Donald, A.E., Cole, T.J., Hiorns, M.P., Deanfield, J.E., Rees, L., "A bimodal association of vitamin D levels and vascular disease in children on dialysis", *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 2008;19(6):1239-1246.
- Siasos, G., Tsigkou, V., Kokkou, E., Oikonomou, E., Vavuranakis, M., Vlachopoulos, C., Verveniotis, A., Limperi, M., Genimata, V., Papavassiliou, A.G., Stefanadis, C., Tousoulis, D., "Smoking and atherosclerosis: mechanisms of disease and new therapeutic approaches", *Current Medicinal Chemistry* 2014;21(34):3936-3948.
- Six, I., Okazaki, H., Gross, P., Cagnard, J., Boudot, C., Maizel, J., Druke, T.B., Massy, Z.A., "Direct, acute effects of Klotho and FGF23 on vascular smooth muscle and endothelium", *PloS One* 2014;9(4):e93423.
- Sluimer, J.C., Daemen, M.J., "Novel concepts in atherogenesis: angiogenesis and hypoxia in atherosclerosis", *The Journal of Pathology* 2009;218(1):7-29.
- Soehnlein, O., "Multiple roles for neutrophils in atherosclerosis", *Circulation Research* 2012;110(6):875-888.
- Sun, J., Zhong, W., Gu, Y., Groome, L.J., Wang, Y., "1,25(OH)₂D₃ suppresses COX-2 up-regulation and thromboxane production in placental trophoblast cells in response to hypoxic stimulation", *Placenta* 2014;35(2):143-145.
- Swirski, F.K., Nahrendorf, M., "Leukocyte behavior in atherosclerosis, myocardial infarction, and heart failure", *Science* 2013;339(6116):161-166.
- Tabas, I., "Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis", *Nature Reviews. Immunology* 2010;10(1):36-46.
- Tabas, I., Bornfeldt, K.E., "Macrophage Phenotype and Function in Different Stages of Atherosclerosis", *Circulation research* 2016;118(4):653-667.
- Tatsumi, K., Mackman, N., "Tissue Factor and Atherothrombosis", *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2015;22(6):543-549.
- Tedgui, A., Mallat, Z., "Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways", *Physiological Reviews* 2006;86(2):515-581.
- Thomas, M.K., Lloyd-Jones, D.M., Thadhani, R.I., Shaw, A.C., Deraska, D.J., Kitch, B.T., Vamvakas, E.C., Dick, I.M., Prince, R.L., Finkelstein, J.S., "Hypovitaminosis D in Medical Inpatients", *The New England Journal of Medicine* 1998;338(12):777-783.
- Thorp, E., Tabas, I., "Mechanisms and consequences of efferocytosis in advanced atherosclerosis", *Journal of Leukocyte Biology* 2009;86(5):1089-1095.

- Torremadé, N., Bozic, M., Panizo, S., Barrio-Vazquez, S., Fernandez-Martín, J.L., Encinas, M., Goltzman, D., Arcidiacono, M.V., Fernandez, E., Valdivielso, J.M., "Vascular Calcification Induced by Chronic Kidney Disease Is Mediated by an Increase of 1α -Hydroxylase Expression in Vascular Smooth Muscle Cells", *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 2016;31(10):1865-1876.
- Tufanli, O., Telkoparan Akillilar, P., Acosta-Alvear, D., Kocaturk, B., Onat, U.I., Hamid, S.M., Çimen, I., Walter, P., Weber, C., Erbay, E., "Targeting IRE1 with small molecules counteracts progression of atherosclerosis", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2017;114(8):1395-1404.
- Tukaj, C., Trzonkowski, P., Piłkuła, M., Hallmann, A., Tukaj, S., "Increased migratory properties of aortal smooth muscle cells exposed to calcitriol in culture", *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2010;121(1-2):208-211.
- Tuomainen T.P., Virtanen J., Voutilainen S., Finnish Vitamin D Trial. Luettu 4.7.2017 <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01463813>, julkaisematta.
- Uberti, F., Lattuada, D., Morsanuto, V., Nava, U., Bolis, G., Vacca, G., Squarzanti, D.F., Cisari, C., Molinari, C., "Vitamin D protects human endothelial cells from oxidative stress through the autophagic and survival pathways", *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2014;99(4):1367-1374.
- U.S. National Library of Medicine, Response Elements. Luettu 18.7.2017 <https://meshb.nlm.nih.gov/record/ui?ui=D020218>.
- U.S. National Library of Medicine, NF-kappa B. Luettu 18.10.2017 <https://meshb-prev.nlm.nih.gov/record/ui?ui=D016328>
- van Gils, J.M., Derby, M.C., Fernandes, L.R., Ramkhalawon, B., Ray, T.D., Rayner, K.J., Parathath, S., Distel, E., Feig, J.L., Alvarez-Leite, J.I., Rayner, A.J., McDonald, T.O., O'Brien, K.D., Stuart, L.M., Fisher, E.A., Lacy-Hulbert, A., Moore, K.J., "The neuroimmune guidance cue netrin-1 promotes atherosclerosis by inhibiting the emigration of macrophages from plaques", *Nature Immunology* 2012;13(2):136-143.
- VanWijk, M.J., VanBavel, E., Sturk, A., Nieuwland, R., "Microparticles in cardiovascular diseases", *Cardiovascular Research* 2003;59(2):277-287.
- Victor, V.M., Rocha, M., Solá, E., Bañuls, C., Garcia-Malpartida, K., Hernández-Mijares, A., "Oxidative stress, endothelial dysfunction and atherosclerosis", *Current Pharmaceutical Design* 2009;15(26):2988-3002.

- Vimaleswaran, K.S., Cavadino, A., Berry, D.J., Jorde, R., Dieffenbach, A.K., Lu, C., Alves, A.C., Heerspink, H.J.L., Tikkanen, E., Eriksson, J., Wong, A., Mangino, M., Jablonski, K.A., Nolte, I.M., Houston, D.K., Ahluwalia, T.S., van der Most, Peter J, Pasko, D., Zgaga, L., Thiering, E., Vitart, V., Fraser, R.M., Huffman, J.E., de Boer, R.A., Schöttker, B., Saum, K., McCarthy, M.I., Dupuis, J., Herzig, K., Sebert, S., Pouta, A., Laitinen, J., Kleber, M.E., Navis, G., Lorentzon, M., Jameson, K., Arden, N., Cooper, J.A., Acharya, J., Hardy, R., Raitakari, O., Ripatti, S., Billings, L.K., Lahti, J., Osmond, C., Penninx, B.W., Rejnmark, L., Lohman, K.K., Paternoster, L., Stolk, R.P., Hernandez, D.G., Byberg, L., Hagström, E., Melhus, H., Ingelsson, E., Mellström, D., Ljunggren, O., Tzoulaki, I., McLachlan, S., Theodoratou, E., Tiesler, C.M.T., Jula, A., Navarro, P., Wright, A.F., Polasek, O., Wilson, J.F., Rudan, I., Salomaa, V., Heinrich, J., Campbell, H., Price, J.F., Karlsson, M., Lind, L., Michaëlsson, K., Bandinelli, S., Frayling, T.M., Hartman, C.A., Sørensen, T.I.A., Kritchevsky, S.B., Langdahl, B.L., Eriksson, J.G., Florez, J.C., Spector, T.D., Lehtimäki, T., Kuh, D., Humphries, S.E., Cooper, C., Ohlsson, C., März, W., de Borst, M.H., Kumari, M., Kivimäki, M., Wang, T.J., Power, C., Brenner, H., Grimnes, G., van der Harst, P., Snieder, H., Hingorani, A.D., Pilz, S., Whittaker, J.C., Järvelin, M., Hyppönen, E., "Association of vitamin D status with arterial blood pressure and hypertension risk: a mendelian randomisation study", *The Lancet. Diabetes & Endocrinology* 2014;2(9):719-729.
- Viola, J., Soehnlein, O., "Atherosclerosis - A matter of unresolved inflammation", *Seminars in Immunology* 2015;27(3):184-193.
- Virtanen, J.K., Mursu, J., Tuomainen, T., Virtanen, H.E., Voutilainen, S., "Egg consumption and risk of incident type 2 diabetes in men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study", *The American Journal of Clinical Nutrition* 2015;101(5):1088-1096.
- Wacker, M., Holick, M.F., "Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health", *Dermato-Endocrinology* 2013;5(1):51-108.
- Wan, L.Y., Zhang, Y.Q., Chen, M.D., Liu, C.B., Wu, J.F., "Relationship of structure and function of DNA-binding domain in vitamin D receptor", *Molecules* 2015;20(7):12389-12399.
- Wang, Y., Zhu, J., DeLuca, H.F., "Where is the vitamin D receptor?", *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2012;523(1):123-133.
- Wang, Z., Castresana, M.R., Newman, W.H., "NF-kappaB is required for TNF-alpha-directed smooth muscle cell migration", *FEBS letters* 2001;508(3):360-364.
- Wang, Q., He, Y., Shen, Y., Zhang, Q., Chen, D., Zuo, C., Qin, J., Wang, H., Wang, J., Yu, Y., "Vitamin D inhibits COX-2 expression and inflammatory response by targeting thioesterase superfamily member 4", *The Journal of Biological Chemistry* 2014;289(17):11681-11694.

- Weng, S., Sprague, J.E., Oh, J., Riek, A.E., Chin, K., Garcia, M., Bernal-Mizrachi, C., "Vitamin D deficiency induces high blood pressure and accelerates atherosclerosis in mice", *PloS One* 2013;8(1):e54625.
- Webb, A.R., Holick, M.F., "The role of sunlight in the cutaneous production of vitamin D3", *Annual Review of Nutrition* 1988;8:375-399.
- Weyland, P.G., Grant, W.B., Howie-Esquivel, J., "Does Sufficient Evidence Exist to Support a Causal Association between Vitamin D Status and Cardiovascular Disease Risk? An Assessment Using Hill's Criteria for Causality", *Nutrients* 2014;6(9):3403-3430.
- Witham, M.D., Dove, F.J., Sugden, J.A., Doney, A.S., Struthers, A.D., "The effect of vitamin D replacement on markers of vascular health in stroke patients - a randomised controlled trial", *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD* 2012;22(10):864-870.
- Wimalawansa, S.J., "Vitamin D and cardiovascular diseases: Causality", *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2018;175(1):29-43.
- Xiang, W., Liao, W., Yi, Z., He, X., Ding, Y., "25-Hydroxyvitamin D-1- α -hydroxylase in apolipoprotein E knockout mice: The role of protecting vascular smooth muscle cell from calcification", *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017;88:971-977.
- Xu, J., Jia, X., Gu, Y., Lewis, D.F., Gu, X., Wang, Y., "Vitamin D Reduces Oxidative Stress-Induced Procaspace-3/ROCK1 Activation and MP Release by Placental Trophoblasts", *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2017;102(6):2100-2110.
- Xu, Y., Sun, Z., "Molecular basis of Klotho: from gene to function in aging", *Endocrine Reviews* 2015;36(2):174-193.
- Yamada, S., Giachelli, C.M., "Vascular calcification in CKD-MBD: Roles for phosphate, FGF23, and Klotho", *Bone* 2017;100:87-93.
- Yao, Y., Wang, Y., Zhang, Y., Liu, C., "Klotho ameliorates oxidized low density lipoprotein (ox-LDL)-induced oxidative stress via regulating LOX-1 and PI3K/Akt/eNOS pathways", *Lipids in Health and Disease* 2017;16(1):77.
- Yong, P.J.A., Koh, C.H., Shim, W.S.N., "Endothelial microparticles: missing link in endothelial dysfunction?", *European Journal of Preventive Cardiology* 2013;20(3):496-512.

- Yuan, W., Pan, W., Kong, J., Zheng, W., Szeto, F.L., Wong, K.E., Cohen, R., Klopot, A., Zhang, Z., Li, Y.C., "1,25-dihydroxyvitamin D3 suppresses renin gene transcription by blocking the activity of the cyclic AMP response element in the renin gene promoter", *The Journal of Biological Chemistry* 2007;282(41):29821-29830.
- Zeiber, A.M., Fisslthaler, B., Schray-Utz, B., Busse, R., "Nitric oxide modulates the expression of monocyte chemoattractant protein 1 in cultured human endothelial cells", *Circulation Research* 1995;76(6):980-986.
- Zhou, A.X., Tabas, I., "The UPR in atherosclerosis", *Seminars in Immunopathology* 2013;35(3):321-332.
- Zhu, J., DeLuca, H.F., "Vitamin D 25-hydroxylase - Four decades of searching, are we there yet?", *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2012;523(1):30-36.
- Zittermann, A., Kuhn, J., Ernst, J.B., Becker, T., Dreier, J., Knabbe, C., Gummert, J.F., Börgemann, J., "25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D and postoperative outcome in cardiac surgery", *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2015;100(1):72-80.
- Zittermann, A., Schleithoff, S.S., Koerfer, R., "Vitamin D and vascular calcification", *Current Opinion in Lipidology* 2007;18(1):41-46.