

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

**Untersuchungen zur möglichen Assoziation von Varianten
(Einzelnukleotid-Polymorphismen) im Vitamin-D-Rezeptor-Gen und
Vitamin-D-Status mit Parametern der Schilddrüsenfunktion**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

(Dr. med.)

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

Homburg 2021

vorgelegt von:

Vincent Reichert

geboren am 17.03.1991 in Saarbrücken

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	5
1.1 Zusammenfassung	5
1.2 Abstract	7
2 Einleitung	9
2.1 Vitamin-D-Physiologie.....	9
2.1.1 Der humane Vitamin-D-Stoffwechsel.....	9
2.1.2 Der Vitamin-D-Rezeptor (VDR).....	10
2.1.3 Einzelnukleotid-Polymorphismen im Vitamin-D-Rezeptor	11
2.1.4 Funktion von Vitamin D im menschlichen Organismus	12
2.2 Vitamin-D-Mangel	15
2.2.1 Definition	15
2.2.2 Ursachen eines Vitamin-D-Mangels.....	17
2.2.3 Geographische Situation	18
2.3 Vitamin-D-Mangel assoziierte Erkrankungen	19
2.4 Physiologie der Schilddrüse und Einflüsse durch Vitamin D.....	20
2.5 Fragestellung der Arbeit.....	23
3 Material und Methoden	24
3.1 LURIC-Studie.....	24
3.2 Relevante Daten der LURIC-Studie	25
3.3 Statistische Methoden.....	26
3.3.1 Assoziation von Einzel-Nukleotid-Polymorphismen im VDR-Gen und Schilddrüsenparameter TSH, T ₃ , T ₄	26
3.3.2 Assoziation von Vitamin-D-Status und Schilddrüsenparametern TSH, T ₃ , T ₄	28
3.3.3 Assoziation von Einzelnukleotid-Polymorphismen und Schilddrüsenparametern TSH, T ₃ , T ₄ : Subgruppenanalyse in Abhängigkeit des 25(OH)D-Status.....	29
3.3.4 Assoziation von Einzelnukleotid-Polymorphismen und Vitamin-D-Status.....	30
3.3.5 Multiples Testen nach Bonferroni	31
4 Ergebnisse	32
4.1 Assoziation von VDR-Genotypen und Schilddrüsenparametern TSH, T ₃ , T ₄	34

4.2 Assoziation von Vitamin-D-Status und Schilddrüsenparametern TSH, T ₃ , T ₄	42
4.3 Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukeotid-Polymorphismen und Schilddrüsenparametern (TSH, T ₃ , T ₄) ...	47
4.4 Assoziation von Einzelnukeotid-Polymorphismen und Vitamin-D-Status	57
4.5 Korrektur für multiples Testen nach Bonferroni	64
5 Diskussion	67
6 Literaturverzeichnis.....	77
7 Abbildungsverzeichnis	87
8 Tabellenverzeichnis.....	89
9 Danksagung	92
10 Lebenslauf.....	93

1 Zusammenfassung

1.1 Zusammenfassung

Hintergrund: Ein Großteil der Erdbevölkerung leidet an Vitamin-D-Mangel. Seit langem ist dessen Relevanz für Erkrankungen mit Bezug zum Kalziumstoffwechsel, darunter die Knochenerkrankungen Rachitis und Osteomalazie, bekannt. In den letzten Jahren zeigten zahlreiche Studien, dass der Vitamin-D-Status auch für zahlreiche Krebs-, Herz/Kreislauf-, Autoimmun-, Infektions- und Stoffwechselerkrankungen von Bedeutung ist. Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, einen Beitrag zur Beantwortung der bislang ungeklärten Frage zu leisten, ob der Vitamin-D-Stoffwechsel das Schilddrüsensystem beeinflusst.

Patienten und Methoden: Daten einer großen prospektiven Kohortenstudie herzkranker kaukasischer Patienten (*Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study/LURIC-Studie*, n=3316) wurden mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS (SPSS 25, IBM Co., Armonk, NY (USA)) auf eine mögliche Assoziation von Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs; n=36) im für den Vitamin-D-Rezeptor (VDR)-kodierenden Gen und der 25-Hydroxy-Vitamin-D-Serumkonzentration mit verschiedenen Schilddrüsenparametern (Blutwerte für Thyroidea-stimulierendes Hormon – TSH; Thyroxin - T₄; und Triiodthyronin - T₃) untersucht.

Ergebnisse: Zwei VDR-SNPs erzielten das zunächst für eine mögliche Assoziation geforderte Signifikanzniveau ($p < 0,05$) für TSH (rs2239186, rs3819545), einer für T₃ (rs2239186). Nach Korrektur für multiples Testen (Bonferroni) wurde allerdings in keinem Fall Signifikanz erreicht. Patienten mit Vitamin-D-Mangel (25(OH)D < 20 ng/ml) wiesen niedrigere Serumkonzentrationen für T₃ auf als Studienteilnehmer mit suffizientem Vitamin-D-Status (25(OH)D > 30 ng/ml) ($p = 0,004$). Aber auch dieser Zusammenhang verlor nach Korrektur für multiples Testen die Signifikanz. Studienteilnehmer mit suffizientem Vitamin-D-Status (25(OH)D > 30 ng/ml) zeigten sowohl in den Serumkonzentrationen von TSH (Median 1,30 mU/l) als auch von T₄ (Median 17,0 pmol/l) lediglich sehr geringe, nicht signifikante Unterschiede, verglichen mit Patienten mit Vitamin-D-Mangel (25(OH)D < 20 ng/ml; TSH: Median 1,23 mU/l; T₄: Median 17,20 pmol/l). Im nächsten Schritt suchten wir in Subgruppenanalysen nach Hinweisen für mögliche gleichgerichtete Effekte von VDR-SNPs und Vitamin-D-Status auf die Schilddrüsenfunktion. Da Patienten mit insuffizientem Vitamin-D-Status niedrigere Serumkonzentrationen für T₃ ($p < 0,004$) und TSH (nicht signifikant), sowie höhere Werte für T₄ (nicht signifikant) aufwiesen, verglichen mit Patienten mit Vitamin-D-Mangel, formulierten wir die folgende Hypothese: Wenn die Annahme zutrifft, dass der Vitamin-D-Stoffwechsel diese Schilddrüsenwerte beeinflusst, dann sollten Genotypen eines VDR-SNPs, die Assoziation zu niedrigen TSH- oder T₃-Serumwerten aufweisen, gleichgerichtete Wirkungen auf diese Schilddrüsenparameter ausüben wie ein unzureichender

Vitamin-D-Status. Folglich sollten diese VDR-SNPs, genau wie ein unzureichender Vitamin-D-Status, mit einer Tendenz für relativ niedrige T₃- und TSH-Serumkonzentrationen assoziiert sein. Insgesamt waren die Ergebnisse unserer Subgruppenanalyse mit dieser Hypothese vereinbar. Dies konnte z.B. für Assoziationen der SNPs rs3819545 sowie rs2239186 (jeweils Genotyp AA) mit der TSH-Serumkonzentration gezeigt werden. Während Genotyp AA im jeweiligen SNP zu einem Absinken des TSH-Serumwertes geführt hat, konnte in Subgruppenanalysen unter Berücksichtigung des 25(OH)D-Status ein gleichgerichteter Effekt gezeigt werden. Ebenfalls im SNP rs2239186 zeigten Genotyp und Vitamin-D-Status gleichgerichtete Effekte bei der Untersuchung des Parameters Triiodthyronin in Subgruppenanalysen. Polymorphismen mit den stärksten Abweichungen vom Gesamtkollektiv, die jedoch keine Signifikanz zeigten, waren: rs11574085 (Genotyp AA, Median TSH 1,11 mU/l), rs2239181 (Genotyp CC, Median TSH 1,11 mU/l), rs11574143 (Genotyp TT, Median T₃ 4,45 pmol/l), rs2189480 (Genotyp TT, Median T₄ 16,80 pmol/l), rs2238136 (Genotyp TT, Median T₄ 17,60 pmol/l). Da der VDR über die transkriptionale Regulation der CYP24A1 den Metabolismus von Vitamin D reguliert, wurden die 36 VDR-SNPs auf eine mögliche Assoziation mit 25(OH)D- sowie 1,25(OH)₂D-Serumwerten untersucht. Ein SNP (rs3782905) zeigte initial eine Assoziation zur 25(OH)D-Serumkonzentration, wobei Genotyp CC durchschnittlich niedrigere Werten im Vergleich zu Genotyp GC aufwies (p=0,014). Der Genotyp TC eines weiteren SNPs (rs2408876) zeigte zunächst signifikant niedrigere 1,25(OH)₂D-Serumkonzentrationen im Vergleich zu CC (p=0,017). Allerdings konnten auch diese Werte das geforderte Signifikanzniveau nach Korrektur für multiples Testen nicht erreichen.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse unserer Untersuchung sind insgesamt mit der Hypothese einer möglichen Assoziation von VDR-SNPs und/oder Vitamin-D-Status mit Parametern der Schilddrüsenfunktion vereinbar, und somit auch mit einer möglichen Regulation der Schilddrüsenfunktion durch den Vitamin-D-Stoffwechsel. Allerdings erreichen die in unserer Untersuchung gefundenen Assoziationen, teils nach Korrektur für multiples Testen, das geforderte Signifikanzniveau nicht. Das Verfehlen könnte durch verschiedene Faktoren, z.B. durch niedrige Power bei zu geringen Fallzahlen, bedingt sein. Zudem bewegten sich die gefundenen Unterschiede für alle Schilddrüsenparameter in der Spannungsbreite der jeweiligen Normalwerte und waren nur sehr gering ausgeprägt. Die Ergebnisse von Subgruppenuntersuchungen liefern aber Hinweise, die im Einklang mit der Hypothese sind, dass der Vitamin-D-Stoffwechsel die Schilddrüsenfunktion im Sinne einer Feinabstimmung beeinflusst. Zukünftige, gut konzipierte Studien, bevorzugt randomisierte Interventionsstudien sind notwendig, um diese Zusammenhänge abschließend zu klären.

1.2 Abstract

Association of variants (Single Nucleotide Polymorphisms) of the vitamin D receptor gene and vitamin D status with parameters of the thyroid function

Background: Vitamin D deficiency is common in a major part of the world population. The relevance for diseases related to calcium metabolism like rickets and osteomalacia are well known. Several studies in the last years showed the importance of vitamin D in the development of cancer, cardiovascular, autoimmune, infectious and metabolic diseases. We analysed associations of vitamin D metabolism and the function of the thyroid system.

Patients and methods: Data of a prospectively designed cohort study including caucasian patients with heart disease (Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study/ LURIC-Study, n=3316) were analysed with the SPSS statistic program (SPSS 25, IBM Co., Armonk, NY (USA)) on associations of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs; n=36) of the vitamin D receptor gene and the 25-hydroxyvitamin D concentration with parameters of the hormonal thyroid system (serum concentrations of TSH - thyroid-stimulating hormone; T₄ – thyroxine; and T₃ – triiodothyronine).

Results: Two VDR-SNPs showed initially a significant association to TSH (rs2239186, rs3819545), one SNP for T₃ (rs2239186). This could not be received after correction for multiple testing (Bonferroni). Patients with vitamin D deficiency (25(OH)D < 20 ng/ml) pointed out lower serum concentrations for T₃ compared to those with a sufficient vitamin D status (25(OH)D > 30 ng/ml) (p= 0,004). Also this correlation lost significance after correction for multiple testing. Probands with high 25(OH)D serum concentrations of > 30 ng/ml showed only small differences in TSH (Median 1,30 mU/l) and T₄ (Median 17,0 pmol/l) compared to patients with vitamin D deficiency ((25(OH)D < 20 ng/ml; TSH: Median 1,23 mU/l; T₄: Median 17,20 pmol/l), but no significance could be identified. In a next step, we analysed in subgroups for similar effects of VDR-SNPs and vitamin D status on parameters of the thyroid system. Given that probands with vitamin D deficiency showed lower concentration for TSH (not significant) and T₃ (p=0,004) and higher values for T₄ (not significant), compared to those with a sufficient vitamin D status, we made the following hypothesis: if there is an influence of the thyroid system by vitamin D metabolism, VDR-SNPs, which show negative, therefore lowering effects on TSH and T₃, should exert influence on this thyroid parameters in the same direction as a deficient vitamin D status. Accordingly, those VDR-SNPs, as well as a deficient vitamin D status, should be associated with a tendency for relatively lower TSH and T₃ serum concentrations. Altogether, our results of the subgroup analysis are compatible with this hypothesis. This could be shown for example for associations of SNP rs3819545 and rs2239186 (genotype AA) with serum concentration of TSH. While genotype AA of the

particular polymorphism lead to a lowering of TSH, an aligned effect under consideration of the vitamin D status could be indicated. Also for rs2239186, genotype and vitamin D status showed an equal effect when analyzing for T₃ in subgroups. Polymorphisms with strong divergence, but without significance, were: rs11574085 (genotype AA, median TSH 1,11 mU/l), rs2239181 (genotype CC, median TSH 1,11 mU/l), rs11574143 (genotype TT, median T₃ 4,45 pmol/l), rs2189480 (genotype TT, median T₄ 16,80 pmol/l), rs2238136 (genotype TT, median T₄ 17,60 pmol/l). Due to the VDR transcriptional regulation of vitamin D, we analysed the 36 VDR-SNPs on an association with 25(OH)D and 1,25(OH)₂D levels. SNP rs3782905 genotype CC showed significant lower 25(OH)D concentrations compared to GC (p=0,014). Genotype TC of rs2408876 showed lower 1,25(OH)₂D levels in comparison to CC (p=0,017). Also those data could not reach significance after correction for multiple testing.

Conclusion: Overall, our results are conformable with the hypothesis of an association of VDR-SNPs and/or vitamin D status with parameters of thyroid function, and so with a possible regulation of the thyroid system by vitamin D metabolism. To miss the requested significance level could be caused by several factors for example low number of cases and therefore low power. Moreover, the differences found for thyroid parameters were all in range of normal thyroid hormone levels. The results of our subgroup analyses give indications for a possible hypothesis, that vitamin D metabolism influences the thyroid function in terms of a fine adjustment. Further randomised intervention studies are necessary aimed at investigating the connection between those hormonal systems.

2 Einleitung

2.1 Vitamin-D-Physiologie

2.1.1 Der humane Vitamin-D-Stoffwechsel

Vitamin D spielt eine wichtige Rolle im menschlichen Organismus. Neben der regulatorischen Aufgabe im Calcium-Phosphat-Haushalt wurden zahlreiche weitere Funktionen, zum Beispiel im kardiovaskulären, dem zentralen Nerven- und dem Immunsystem nachgewiesen. Auch in Zelldifferenzierung und Zellwachstum zeigt das Hormon regulierende Effekte [160][160][160][160][162][51,160]. Vitamin D gehört zur Gruppe der fettlöslichen Vitamine. Es ist ein Vertreter der Secosteroide, einer natürlich vorkommenden, sich von den Steroiden ableitenden Verbindung. Der Begriff Vitamin D umfasst dabei zwei Hauptformen: Vitamin D₃, auch Cholecalciferol genannt, welches mit Hilfe von Sonnenlicht in der Haut synthetisiert, oder aber auch oral aufgenommen werden kann, und Vitamin D₂ oder Ergocalciferol, dessen Bereitstellung ausschließlich über Nahrungsmittel oder Supplementation erfolgt [99]. Dabei findet man Vitamin D₃ vor allem in Fisch wie Lachs, Makrele oder Hering, sowie in Leberölen [61,71,161], während Vitamin D₂ kommerziell für die orale Supplementation produziert wird, und des Weiteren beispielsweise in sonnengetrockneten Pilzen vorkommt [78].

Grundlage für das in der Haut synthetisierte Vitamin D₃ ist 7-Dehydrocholesterol, das mit Hilfe von UVB-Strahlung (290 - 315 nm) in Prävitamin D₃ umgewandelt wird. Prävitamin D₃ ist hitzelabil, wird durch Körperwärme in Vitamin D₃ umgewandelt, welches wiederum im Blut an das Vitamin-D-Bindeprotein gebunden, zur Leber transportiert wird. Die Hitzelabilität ist deshalb von Bedeutung, da bei zu viel Sonnenexposition sowohl Prävitamin D₃ als auch Vitamin D₃ in inaktive Formen umgewandelt werden können und somit einer Intoxikation durch Überproduktion vorgebeugt wird [51]. In der Leber werden Vitamin D₃ und Vitamin D₂ mit Hilfe von zwei Enzymen (CYP27A1 sowie CYP2R1) an Position C-25 hydroxyliert, und dadurch in 25(OH)D (auch als Calcidiol oder 25-Hydroxycholecalciferol bezeichnet) umgewandelt [51,61,160]. In der Niere wird 25-Hydroxyvitamin-D mit Hilfe eines weiteren Enzyms (CYP27B1) an Position C-1 hydroxyliert und in die aktive Form, das 1,25(OH)₂D (25-Dihydroxycholecalciferol oder Calcitriol) umgewandelt [61]. Das auf diese Weise renal synthetisierte 1,25-Dihydroxycholecalciferol entfaltet seine Wirkung auf endokrinem Weg (siehe 2.2). Das Enzym CYP27B1 wurde auch in zahlreichen anderen Geweben nachgewiesen, beispielsweise in Knochengewebe, in Gewebe von Plazenta, Prostata und Nebenschilddrüse, in diversen Krebszellen, dendritischen Zellen sowie T- Lymphozyten. Gewebe, welches über das Enzym CYP27B1 verfügt, ist in der Regel zur ortsständigen intrazellulären Produktion von aktivem 1,25(OH)₂D in der Lage. Die auf diese Weise produzierte, aktive Form des Vitamin D kann über autokrine und parakrine Stoffwechselwege

wirken [51,52,70]. In der Niere unterliegt das Enzym CYP27B1, und somit die Produktion von ins Blut abgegebenem aktivem 1,25(OH)₂D einer strengen Regulation. Dieses wird über Feedbackmechanismen, u.a. auch durch die humorale 1,25(OH)₂D-Konzentration, reguliert. Hohe Calcium- und Phosphatspiegel hemmen die CYP27B1 und somit die Produktion von aktivem 1,25(OH)₂D. Niedrige Blutspiegel dieser Mineralien hingegen aktivieren das Enzym direkt, oder indirekt durch Stimulation der Parathormonsynthese. Der in Osteoklasten synthetisierte FGF-23 (fibroblast growth factor 23) hemmt ebenfalls die CYP27B1, fördert die Aktivität des 1,25(OH)₂D-metabolisierenden (abbauenden) Enzyms CYP24A1 und übernimmt dadurch ebenfalls eine hemmende Wirkung auf die humorale Konzentration an aktivem 1,25(OH)₂D. Durch Aktivierung der CYP24A1 erfolgt der Abbau von 25(OH)D als auch 1,25(OH)₂D in wasserlösliche, unwirksame Metabolite [61,160].

2.1.2 Der Vitamin-D-Rezeptor (VDR)

Der Vitamin-D-Rezeptor gehört zur Familie der Steroidhormonrezeptoren. Er wirkt im Nukleus der Zelle als Liganden-abhängiger Transkriptionsfaktor [17]. Dabei bindet die aktive Form 1,25-Dihydroxyvitamin-D etwa 100 mal stärker an den Rezeptor als 25(OH)D und 24,25(OH)₂D [18,114]. Um als Transkriptionsfaktor aktiv zu werden, bildet der VDR ein Heterodimer mit einem Retinsäurerezeptor, dem sogenannten Retinoid-X-Rezeptor (RXR), welches in der Lage ist, an Vitamin-D-responsive Elemente (VDRE), die in der Promotorregion direkter Vitamin-D-Zielgene liegen, zu binden. Mit Hilfe von Korepressor- sowie Koaktivatorproteinen wird auf diese Weise die Transkription und somit die Synthese von Proteinen reguliert, sowohl verstärkt, als auch gehemmt [74,125]. Es wird angenommen, dass Vitamin D auf diese Weise bis zu 2000 verschiedene Gene in diversen Geweben und Organen reguliert [160].

Der Vitamin-D-Rezeptor liegt auf Chromosom 12, ist etwa 100 Kilobasen (kb) lang (1 kb entspricht 1000 Basenpaaren) [153], und besteht aus 427 Aminosäuren [35]. Er besitzt eine große Promotorregion am 5'-Ende des Gens sowie 11 Exons, von denen alle alternativ gespliced werden [28,41,89,119], wodurch letztlich durch Unterschiede in der mRNA viele verschiedene Proteine synthetisiert werden können. Das regulatorischen 3'UTR-Ende des Rezeptorgens, das am Ende des Exon 9 startet, übernimmt hauptsächlich Aufgaben der Expression und Stabilität der mRNA [153]. In dieser Region sind bereits viele Polymorphismen bekannt. Ebenso befinden sich die heute am meist untersuchtesten Polymorphismen des Vitamin-D-Rezeptors BsmI, Apal und TaqI in der Nähe des 3' UTR- Endes [153,154]. Es sind heute mehr als 470 solcher Polymorphismen im Vitamin-D-Rezeptorgen bekannt [111].

Ursprünglich wurde der VDR in Gewebe gefunden, welches maßgeblich an der Regulation des Calcium-Phosphat-Stoffwechsels beteiligt ist, so vor allem in Darm, Niere, Knochen und

Nebenschilddrüse [54]. Heut zu Tage weiß man, dass der VDR von vielen anderen Zellen exprimiert wird, wie beispielsweise von solchen des Immunsystems, von kardiovaskulären und pankreatischen Zellen [164], aber auch von Gewebe der Schilddrüse [83]. Die große Auswirkung von Vitamin D auf zahlreiche verschiedene Gewebe im menschlichen Organismus wird somit deutlich.

2.1.3 Einzelnukleotid-Polymorphismen im Vitamin-D-Rezeptor

Polymorphismen sind Variationen im menschlichen Genom, die im Gegensatz zu Mutationen mit einer Allelhäufigkeit von mindestens einem Prozent vorliegen. Bei den meisten Polymorphismen handelt es sich um Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNP, engl.: *single nucleotide polymorphism*), bei denen es nur zum Austausch eines einzelnen Basenpaares auf der DNA kommt [20], in zwei Drittel der Fälle ein Austausch der Aminobase Cytosin durch Thymin [121]. Diese SNPs sind für etwa 90 % aller genetischen Variationen der Menschheit verantwortlich [20]. Je nach Auswirkung kann man sie in drei verschiedene Klassen einteilen. Liegt der Polymorphismus auf einem kodierenden Abschnitt der DNA, spricht man von einem kodierenden SNP. Kommt es durch den Austausch der Aminobase zur Kodierung einer anderen Aminosäure, spricht man von einem nicht-synonymen SNP. Kodiert das Basentriplet trotz Austausch der Aminobase die gleiche Aminosäure, spricht man von einem synonymen SNP. Regulatorische SNPs liegen auf nicht kodierenden Abschnitten der DNA (Introns) und können auf Transkription und somit Genregulation einwirken, wenn sie auf DNA-Abschnitten liegen, an die Transkriptionsfaktoren binden. Strukturelle SNPs greifen in den Ablauf der RNA-Prozessierung ein. Kommt es beispielsweise zu einer veränderten Abfolge der Aminosäuren an Splicestellen, werden Introns und Exons nur unvollständig voneinander getrennt, wodurch wiederum unterschiedliche mRNA-Abschnitte entstehen können [7].

Auf Grund der Tatsache, dass solche genetische Veränderungen die Transkription und somit die Proteinbiosynthese beeinflussen können, sind Polymorphismen von großer medizinischer Relevanz [20]. Je nachdem welcher Polymorphismus vorliegt, können unterschiedliche Auswirkungen auf die Transkription, die verstärkt, aber auch abgeschwächt werden kann, erfolgen. Das veränderte Genprodukt kann mit dem Auftreten bestimmter Krankheiten korrelieren [95,141].

Die DNA besteht aus zwei komplementären Strängen, ein Chromosom besitzt somit an jeder Stelle zwei Basen. Da Chromosomen im menschlichen Genom paarweise vorliegen (2 x 23 Chromosomen), gibt es für jeden SNP zwei verschiedene Ausprägungen, man spricht von zwei verschiedenen Allelen [27]. Am Beispiel eines am meist untersuchtesten SNPs im VDR, FokI (rs2228570), zeigt sich, dass dieser die beiden Allele C und T aufweist, wobei eines der

Allele oftmals häufiger vorkommt. Durch die Vererbung des mütterlichen und väterlichen Allels auf ein Nachkommen entstehen somit drei verschiedene Genotypen: CC (homozygot), CT (heterozygot) und TT (homozygot). Der am häufigsten vorkommende Genotyp wird auch als Wildtyp bezeichnet und kann in verschiedenen Ethnizitäten gravierende Unterschiede aufweisen [27,104].

Die meisten Polymorphismen im Vitamin-D-Rezeptor sind Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismen, kurz RFLPs (engl.: *restriction fragment length polymorphism*) [153]. Diese Polymorphismen weisen unterschiedliche Schnittstellen für Restriktionsenzyme auf; durch verlängerte oder verkürzte DNA-Fragmente können unterschiedliche Proteine entstehen.

Um individuelle Unterschiede im Vitamin-D-System und dessen Auswirkung auf andere Organe verstehen zu können, ist die Analyse von DNA-Variationen essentiell und obwohl man bereits viele SNPs im VDR-Gen kennt, ist über ihre Funktion und Auswirkung bisher wenig bekannt [154]. Die Tatsache, dass viele Polymorphismen im VDR als nicht-synonyme RFLPs vorliegen, erschwert die Interpretation. Um dennoch Aussagen über die Auswirkungen der SNPs machen zu können, ist eine strukturelle Analyse des VDR-Gens notwendig. Hierbei untersucht man zusätzlich benachbarte Gene und deren Polymorphismen, da diese häufig mit den Polymorphismen des VDR-Gens gemeinsam weitervererbt werden. Man versucht auf diese Weise, einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen in benachbarten Genen und den nicht-synonymen SNPs im VDR herzustellen. Dies wird auch als Untersuchung des Kopplungsungleichgewichts (*Linkage Disequilibrium*) bezeichnet [79,90,154].

Die Abkürzung rs steht für *reference sequence* (Referenzsequenz). Zur Identifizierung und Beschreibung wurde für jeden einzelnen Polymorphismus eine Nummer vom NCBI (National Center for Biotechnology Information) festgelegt.

Die Datenlage über die Auswirkung von SNPs im VDR ist kontrovers und wird derzeit intensiv untersucht. Die am meist untersuchten SNPs im VDR sind die vier Polymorphismen ApaI, BsmI, FokI, and TaqI, die nachweislich mit bestimmten Krankheiten wie beispielsweise Autoimmun- oder Krebserkrankungen assoziiert sind [29,172]. So konnten unter anderem starke Assoziationen zwischen dem Auftreten von Brustkrebs und dem SNP BsmI und FokI, Prostatakrebs und FokI, sowie dem Auftreten eines malignen Melanoms und FokI, aufgezeigt werden [86].

2.1.4 Funktion von Vitamin D im menschlichen Organismus

Vitamin D entfaltet seine Wirkung im menschlichen Organismus auf drei verschiedenen Wegen: endokrin, parakrin und autokrin.

Bei der endokrinen Wirkweise gelangt das renal gebildete $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ zunächst in die Blutbahn und so zu den Zielzellen. Auf diesem Weg übernimmt die aktive Form des Vitamin D eine wichtige Rolle im Calcium- und Phosphatstoffwechsel. Die Blutspiegel dieser Mineralien müssen aufrecht und konstant gehalten werden, da sie für viele Funktionen wie beispielsweise Muskelkontraktion, Mineralisation des Knochens, Knochenstabilität, für die Blutgerinnung und die neuromuskuläre Erregbarkeit mitverantwortlich sind [35,155]. Hierfür bewirkt Vitamin D zum einen den Einbau von epithelialen Calciumkanälen (ECaC) und Calcium bindenden Proteinen (Calbindin) im Dünndarm und erhöht somit die intestinale Calciumresorption von 10% auf bis zu 40%, sowie die intestinale Phosphatresorption von 50% auf 80% [61,160]. Zum anderen aktiviert $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ Osteoblasten, die vermehrt RANKL (engl.: *receptor activator nuclear factor kB ligand*) exprimieren. RANKL wiederum ist in der Lage, ruhende Osteoklasten zu aktivieren, die dann die Bereitstellung von Calcium aus dem Knochen bewirken [61,63]. Durch die Aktivierung von Osteoblasten einerseits, aber auch von Osteoklasten andererseits, ist Vitamin D für eine gesunde Regulation von Knochenaufbau und Knochenabbau verantwortlich [35]. Außerdem ist Vitamin D in der Lage, die renale Calciumrückresorption zu fördern und im Bedarfsfall mehr Calcium für den menschlichen Organismus bereitzustellen [173]. Zusätzlich kann es ein weiteres, am Knochenstoffwechsel beteiligtes Hormon, das in der Nebenschilddrüse gebildete Parathormon, regulieren. Über einen negativen Feedbackmechanismus ist Vitamin D in der Lage, die Synthese von Parathormon zu hemmen, und somit regulierend in den Calcium- und Phosphathaushalt einzuwirken [67]. Parathormon selbst stimuliert die renale Calciumreabsorption, aktiviert Osteoklasten, erhöht somit den Calciumblutspiegel, fördert die renale alpha-1-Hydroxylase und regt zur vermehrten Produktion von aktivem Vitamin D an [51].

Des Weiteren wird zirkulierendes $25(\text{OH})\text{D}$ in aktives $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ durch eine, sich in der Zielzelle befindende alpha-1-Hydroxylase, enzymatisch umgewandelt. Das auf diese Weise gebildete aktive Vitamin D kann direkt auf diese Zelle (autokrin) oder auf benachbarte Zellen (parakrin), wirken. Die Erkenntnis, dass unter anderem Zellen des Immunsystems, der Prostata, der Brust, des Pankreas sowie Zellen einiger Tumore über eine alpha-1-Hydroxylase verfügen und somit in der Lage sind, eigenständig $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ zu produzieren, erklärt mögliche Auswirkungen von Vitamin D auf zahlreiche Gewebe [94].

So werden Zellen des Immunsystems moduliert, indem infektiöse Erreger die Expression von Vitamin-D-Rezeptoren und des Enzyms alpha-1-Hydroxylase in Makrophagen und Monozyten stimulieren. Ausreichende $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Spiegel bewirken wiederum die Produktion von Cathelicidin, welches die Aktivierung des Immunsystems, und somit die Zerstörung des Erregers, initiiert [67]. Andere Studien konnten weitere Auswirkungen des Vitamin D aufzeigen, so zum Beispiel einen antiproliferativen, sowie proapoptotischen Effekt in diversen Krebszellen

wie etwa Brustkrebs [22]. Dabei ist $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ in der Lage, die Aktivität des antiapoptotischen Gens Bcl-2 zu mindern [11], sowie die des proapoptotischen Gens Bax zu steigern [32]. Antineoplastische Effekte des Vitamin D konnten aber auch in weiteren malignen Zellen, unter anderem von Prostata [45,144], Kolon [127,152], oder in leukämischen Zellen [128,148] nachgewiesen werden. Eine antiangiogenetische Wirkung des Vitamin D in tumorösem Gewebe verstärkt die antikanzerogene Wirkung [13]. Eine verbesserte Zelldifferenzierung wird durch Reduktion des c-myc-Onkogens erreicht [87,135]. Außerdem konnte gezeigt werden, dass Vitamin D einen positiven Effekt auf die Funktion von Endothelzellen und Zellen der glatten Muskulatur hat [13], eine direkte Hemmung der Reninsynthese auf Grund dem Vorhandensein Vitamin-D-responsiver Elemente im Renin-Gen bewirken kann [96,98,171], und somit in der Regulation des Blutdrucks eine Rolle spielt. Auch die Ausschüttung von Insulin durch Stimulation der β -Zellen des Pankreas wird beeinflusst [13,93,124].

Die Erkenntnis, dass Vitamin D nicht nur im Calcium-Phosphathaushalt-Haushalt, sondern auch in vielen weiteren Prozessen des menschlichen Organismus involviert ist, stellt die Grundlage für derzeitige intensive Forschungen in diesem Bereich dar. Folgendes Schaubild fasst nochmals übersichtlich die einzelnen Schritte der Vitamin-D-Synthese, die Bindung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ an den Vitamin-D-Rezeptor, sowie die endokrinen, autokrinen und parakrinen Wirkweisen des Vitamin D zusammen.

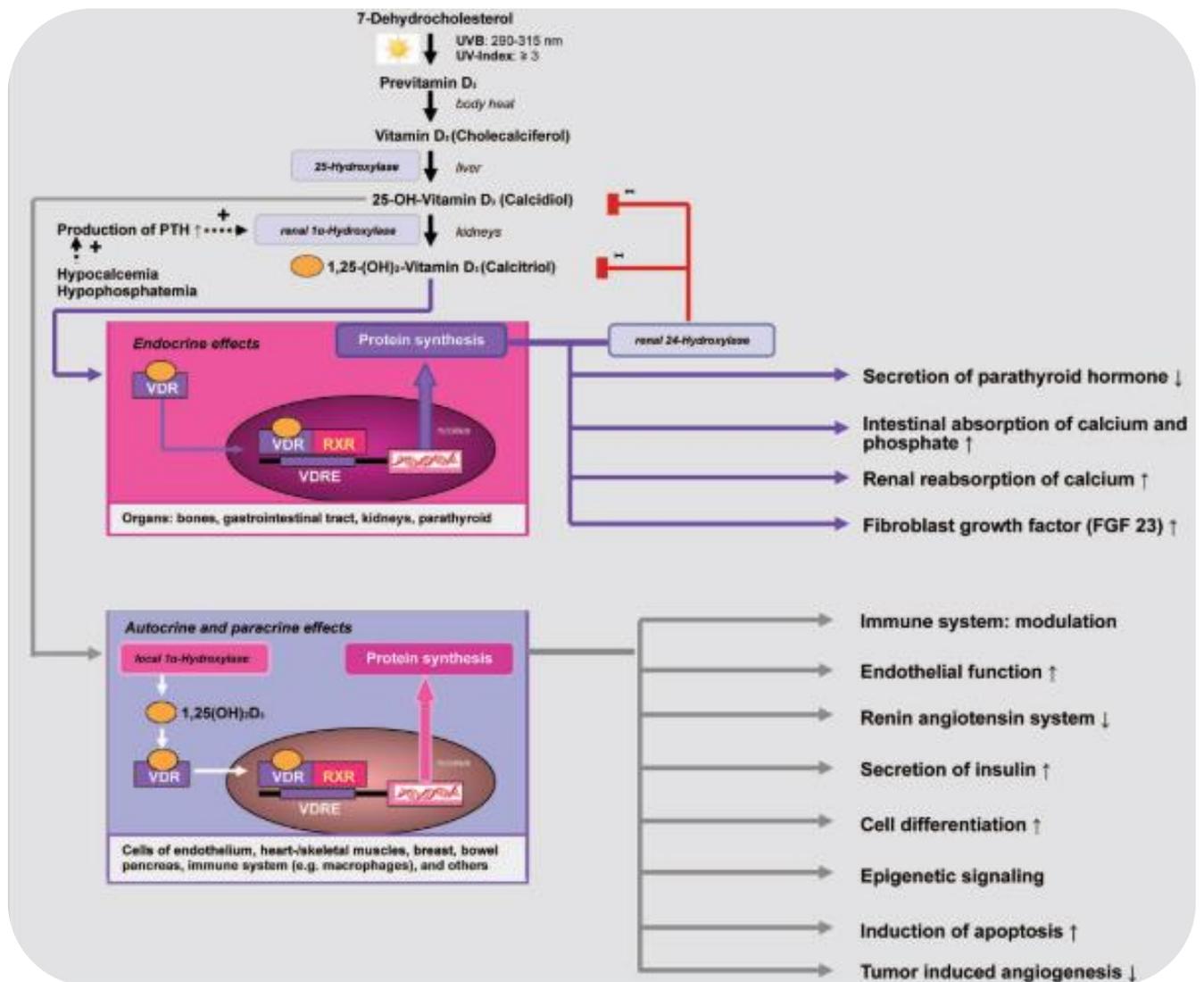


Abbildung 1: Vitamin D: Update 2013 – from rickets prophylaxis to general preventive healthcare [51]

Darstellung der Vitamin-D-Synthese, der Bindung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ an den Vitamin-D-Rezeptor sowie der endokrinen, autokrinen und parakrinen Wirkweisen im menschlichen Organismus.

2.2 Vitamin-D-Mangel

2.2.1 Definition

Ein Großteil der Menschheit leidet an einem Vitamin-D-Mangel. Dessen Assoziation zur Entstehung zahlreicher Erkrankungen führt zu der Erkenntnis, dass ein solcher Mangel von großer Bedeutung ist und nicht unterschätzt werden sollte [67]. Dabei stellt $25(\text{OH})\text{D}$ die Hauptform des zirkulierenden Vitamin D dar und liegt mit 1000-fach höherer Dosierung als $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ im Blut vor. $25\text{-Dihydroxycholecalciferol}$ hat eine wesentlich längere Halbwertszeit (2-3 Wochen) im Gegensatz zu ihrer biologisch aktiven Form (4 Stunden) und wird weniger durch die regulatorischen Mechanismen von Parathormon, Calcium und Phosphat beeinflusst

[61][60][60][60][35,50,61]. 1,25-Dihydroxyvitamin-D kann sogar auf Grund eines sekundären Hyperparathyreoidismus im Rahmen eines Vitamin-D-Mangels erhöht sein. Auf Grund dessen eignet sich 25(OH)D besser als 1,25(OH)₂D zur Messung und Interpretation des Vitamin-D-Blutspiegels [10,65]. 25-Hydroxyvitamin-D repräsentiert hierbei sowohl das durch die Haut synthetisierte, als auch durch die Nahrung aufgenommene Vitamin D [59,60].

Ein Vitamin-D-Mangel ist letztlich nicht einheitlich definiert. Zahlreiche Studien zeigten allerdings einen inversen Zusammenhang zwischen 25(OH)D- und Parathormonspiegel im Blut. Die Erkenntnis, dass bei steigenden Vitamin-D-Werten ein Abfall des Parathormonspiegels resultiert, und dieser bei 25(OH)D-Werten von etwa 30 ng/ml stagniert, ein Plateau bildet und nicht mehr weiter absinkt, ließ die Vermutung zu, dass es sich in diesem Bereich um physiologische Vitamin-D-Werte handelt [64,151]. Weitere Studien zeigten, dass ein 25(OH)D-Spiegel von mindestens 30 ng/ml notwendig ist, um das Risiko für Knochenstoffwechsel bedingte Erkrankungen zu minimieren [65,67]. Es folgte die Einstufung eines 25(OH)D-Serumspiegels von mehr als 30 ng/ml als suffizient. Andere Studien zeigten eine weiterhin erhöhte Inzidenz für die Vitamin-D-Mangel assoziierte Erkrankung Osteomalazie bei Probanden mit 25(OH)D-Werten von 21-29 ng/ml, sodass in diesem Wertebereich von einem insuffizienten Vitamin-D-Status ausgegangen werden darf [55,131]. Ein Vitamin-D-Mangel wurde demnach definiert als ein 25(OH)D-Serumspiegel von weniger als 20 ng/ml [65]. Folgende Tabelle 1 stellt dies übersichtlich dar.

Tabelle 1: Definition von Vitamin-D-Mangel, -Insuffizienz sowie -Suffizienz an Hand der 25(OH)D-Konzentration

	25(OH)D-Status (ng/ml)
Vitamin-D-Mangel	≤ 20
Vitamin-D-Insuffizienz	21- 29
Vitamin-D-Suffizienz	≥ 30

Angesichts der großen Bedeutung eines Vitamin-D-Mangels wird deshalb empfohlen, den 25(OH)D-Status bei Risikopatienten zu erheben [65]. Dazu gehören unter anderem Schwangere, übergewichtige Kinder (BMI >30), Menschen in hohem Alter oder Patienten mit Verdacht auf Vitamin-D-Mangel assoziierte Erkrankungen wie beispielsweise Rachitis oder Osteomalazie. Ausdrücklich nicht empfohlen ist ein generelles Screening aller Patienten. Derzeit gibt es keine Beweise dafür, dass durch eine grundsätzliche Erhebung des 25(OH)D-Status ein medizinischer und gesundheitlicher Vorteil erzielt werden kann [65].

2.2.2 Ursachen eines Vitamin-D-Mangels

Zahlreiche Ursachen, die zu einem Vitamin-D-Mangel führen können, sind bekannt. Dabei stellt mangelnde Sonnenlichtexposition den Hauptgrund für einen verminderten 25(OH)D-Serumspiegel dar, für viele Menschen weltweit ist Sonnenlicht die wichtigste Quelle für Vitamin D [66,102,161]. Unsere Haut ist in der Lage, 7-Dehydrocholesterol, die direkte Vorstufe des Vitamin D, in das Prävitamin D₃ umzuwandeln [61]. Dazu absorbiert 7-Dehydrocholesterol UVB-Licht, die Bindestelle zwischen Carbon-9 und Carbon-10 wird gebrochen [60,68]. Wie viel Sonnenlicht dem menschlichen Organismus zur Verfügung steht ist aber nicht nur abhängig von der Dauer der Sonnenlichtexposition, auch weitere Faktoren wie Hauttyp und Aufenthalt in hohen Breiten zeigen Auswirkungen auf den 25(OH)D-Status. Demnach ist die Zeitspanne, die man sich für eine ausreichende Produktion in der Sonne aufhalten sollte, für dunkelhäutige Personen länger als für solche hellen Hauttyps. Menschen mit Hauttyp VI, verglichen mit Hauttyp II, benötigen etwa 5- bis 10-fach länger zur Herstellung suffizienter 25(OH)D-Spiegel. Ausschlaggebend hierfür ist der erhöhte Gehalt an Melanin in der Haut Dunkelfarbiger, welches UVB-Strahlung absorbiert [25]. Ähnlich wie Melanin wirken sonnenprotektive Hautcremes, deren richtige Applikation (2 mg/ cm²) die Absorption der UVB-Strahlung und somit auch die Vitamin-D-Produktion um 97,5 % reduziert. Kleidung und Glas absorbiert UVB-Strahlung vollständig. Ein überwiegender Aufenthalt im Innern von Gebäuden kann durch fehlende Sonneneinstrahlung maßgeblich zu einem Vitaminmangel beitragen [46,109,110,161]. Die Menge an UVB-Strahlung, die auf der Erde ankommt, und somit dem Menschen potentiell zur Verfügung steht, ist von weiteren Faktoren wie Abschwächung durch Luft sowie Absorption durch molekularen Sauerstoff und Ozon, abhängig. Da Ozon Strahlung sehr effizient absorbiert und die Wegstrecke, die diese Strahlung durch die Ozonschicht zurücklegen muss mit hohen Breiten länger wird, steht Menschen, die in diesen Breiten leben, weniger Sonnenlicht zur Produktion von Vitamin D zur Verfügung [16,106,120,139,161]. Diese Erkenntnisse geben Anlass dazu, dass die UVB-Strahlung im Winter jenseits des 33. Breitengrades sowie eine Sonnenlichtexposition generell vor 9 Uhr morgens und nach 3 Uhr mittags nicht ausreicht, um suffiziente 25(OH)D-Serumspiegel zu erreichen [66,120,161,165]. Eine weitere Ursache liegt in der Tatsache, dass nur wenige Nahrungsmittel wie Fisch oder sonnengetrocknete Pilze Vitamin D beinhalten. Andere Nahrungsmittel wie beispielsweise Milch sind nicht ausreichend mit Vitamin D versetzt, so dass eine orale Aufnahme erschwert ist [68]. Des Weiteren können Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts durch Malabsorption sowie chronische Leber- und Nierenerkrankungen durch reduzierte Hydroxylierung und somit reduzierter Bereitstellung biologisch aktiv wirksamer Formen Mangelercheinungen hervorrufen [151,170]. Bei älteren Menschen liegt nachweislich weniger 7-Dehydrocholesterol in der Haut vor. Die Kapazität, Vitamin D über die Haut zu produzieren, ist somit im Vergleich zu jüngeren Menschen um bis zu 75 % reduziert [56]. Bei Übergewichtigen wird auf Grund der

fettlöslichen Eigenschaft von Vitamin D vermutet, dass dieses in Fettzellen sequestriert wird, somit im Blut in geringer Dosierung vorliegt und dem menschlichen Organismus nicht ausreichend zur Verfügung steht [169]. Da auch verschiedene Medikamente wie beispielsweise Antiepileptika, aber auch die häufig eingesetzten Glukokortikoide, einen Vitamin-D-Mangel hervorrufen können, sollte auch bei dieser Patientengruppe auf ausreichende 25(OH)D-Blutspiegel geachtet werden [177].

Personen, die besonders häufig an einem Vitamin-D-Mangel leiden, sind vor allem Schwangere, Dunkelhäutige, übergewichtige Kinder und Erwachsene, Ältere sowie jene mit mangelnder Sonnenlichtexposition [65,71,122].

2.2.3 Geographische Situation

Auf Grund der großen Bedeutung und der hohen Anzahl an betroffenen Menschen weltweit, soll an dieser Stelle kurz die geographische Verteilung eines Vitamin-D-Mangels erläutert werden. Schätzungsweise sind 30 % aller Kinder sowie 60 % aller Erwachsenen weltweit von einem Vitamin-D-Mangel betroffen [30], Frauen häufiger als Männer [100].

Aus Literaturangaben wird ersichtlich, dass durchschnittlich höhere Werte in Nordamerika als in Europa, und in Nordeuropa höhere als in Südeuropa, vorherrschen [113]. Während man auf Grund der Sonneneinstrahlung in höheren Breiten einen stärker ausgeprägten Vitamin-D-Mangel erwarten würde, kann der durchschnittlich höhere 25(OH)D-Spiegel in Norwegen und Schweden durch hohen Verzehr von Vitamin-D-reicher Kost wie Fischölen erklärt werden [19]. Studien konnten zeigen, dass innerhalb Europas der Vitamin-D-Mangel am stärksten bei älteren Menschen in südeuropäischen Ländern ausgeprägt ist [158]. Mitunter die niedrigsten globalen Serumspiegel wiesen Probanden im Mittleren Osten auf, was möglicherweise auf den, den gesamten Körper bedeckenden Kleidungsstil, zurückzuführen ist [1]. In Nordamerika ist der Vitamin-D-Mangel verhältnismäßig weniger ausgeprägt. Mit 25(OH)D versetzte Nahrungsmittel wie beispielsweise Milch werden als Grund für höhere Blutspiegel in den USA und Kanada verantwortlich gemacht [100]. In Afrika belegen Studien eine starke, länderabhängige Differenz. Während Länder wie Algerien, Ägypten und Äthiopien stärkere Mängel aufwiesen, zeigten Menschen in anderen Ländern, darunter Gambia, Kongo und Südafrika, durchschnittlich ausreichende Vitamin-D-Spiegel [100]. Auch in Australien wurden starke Mangelzustände ersichtlich. Bis zu 73 % der dort lebenden Bevölkerung wies einen 25(OH)D-Status von weniger als 30 ng/ml auf [30].

Zusammenfassend kann Vitamin-D-Mangel als globales und ubiquitär auftretendes Problem angesehen werden. Unter anderem trägt dieser Sachverhalt zu derzeitig intensiven Forschungen bei.

2.3 Vitamin-D-Mangel assoziierte Erkrankungen

Die weitreichenden Funktionen des Vitamin D nicht nur im Calcium- und Phosphathaushalt erklären die Assoziation eines Vitamin-D-Mangels mit zahlreichen anderen Erkrankungen wie Autoimmun-, kardiovaskulären und infektiösen Erkrankungen sowie der Entstehung einiger Malignome [160].

Da Vitamin D eine große Rolle im Calcium-Phosphat- und somit im Knochenstoffwechsel zuteilwird, führt ein Vitaminmangel und somit eine fehlende Mineralisation des Knochens zu einer Erkrankung, die bei Kindern Rachitis, bei Erwachsenen Osteomalazie genannt wird [155]. Da durch Vitamin-D-Mangel nicht genügend Calcium und Phosphat resorbiert werden kann, wird der Calciumblutspiegel durch Demineralisierung des Knochens aufrechterhalten. Es resultiert eine Erkrankung mit Knochen deformierenden, Längenwachstums mindernden und Muskel schwächenden Auswirkungen [59,132], die Gefahr von Knochenbrüchen etwa bei Stürzen steigt signifikant an [57,63]. Ein Zusammenhang von Vitamin D und dem in der Nebenschilddrüse gebildeten Parathormon ist bekannt. So kann ein Mangel ursächlich für einen sekundären Hyperparathyreoidismus sein. Das vermehrt produzierte Parathormon aktiviert Osteoklasten und verstärkt somit den Knochenabbau. Dies ist die zugrundeliegende Pathogenese der Erkrankung Osteoporose [58,62,63], die mit vermehrter Sturzneigung und somit auch erhöhter Gefahr für Knochenfrakturen einhergeht [8,31,62,77]. Die Erkenntnis Vitamin-D-modulatorischer Effekte auf Zellproliferation, Zelldifferenzierung und Apoptose erklärt die Beteiligung des Vitamins an der Entstehung diverser maligner Prozesse. So konnten Zusammenhänge zwischen niedrigem 25(OH)D-Serumspiegel und der Inzidenz, aber auch der Mortalität verschiedener Tumore nachgewiesen werden, vorrangig in folgenden Organen: Blase, Brust, Vulva, Ovarien, Endometrium, Zervix, Rektum, Kolon, Magen und Ösophagus, Lunge, Niere, Pankreas sowie in lymphatischem Gewebe [49]. In einigen Studien konnte sogar gezeigt werden, dass eine tägliche, adaptierte Supplementation von Calcium und Vitamin D das relative Krebsrisiko um bis zu 60 Prozent reduzieren kann [92]. Ebenso wird der Vitamin-D-Insuffizienz eine Rolle in der Entstehung von Hautkrebs zugeschrieben. So ist heute bekannt, dass es eine Assoziation zwischen dem Vorliegen bestimmter Polymorphismen im Vitamin-D-Rezeptor-Gen (u.a. FokI und BsmI) und der Entstehung von Hautkrebs gibt. Dabei unterscheidet man Maligne Melanome von so genannten Nicht-Melanom-Hautkrebs [44]. In der Gesamtheit muss allerdings beachtet werden, dass ein Vitamin-D-Mangel ebenfalls mit anderen, das Krebsrisiko steigernden Faktoren wie beispielsweise Fettleibigkeit korreliert, sodass ein Mangel unter Umständen nicht alleine für die höhere Inzidenz von Krebserkrankungen verantwortlich gemacht werden kann [107]. Auch konnte ein inverser Zusammenhang zwischen der 25(OH)D-Konzentration und dem kardiovaskulären Risiko gezeigt werden. Vitamin-D-Rezeptoren wurden bereits in Zellen des Endothels, der glatten

Gefäßmuskulatur und in Kardiomyozyten detektiert [133]. Studien belegen, dass ein niedriger Vitamin-D-Spiegel die Wahrscheinlichkeit erhöht, unter peripheren vaskulären- oder koronaren Herzerkrankungen, an Diabetes Mellitus Typ 2, arterieller Hypertonie und Hyperlipidämie zu erkranken, sowie einen Myokardinfarkt oder einen Apoplex zu durchleben [37,48,130,156]. Durch reduzierte Cholesterinaufnahme, reduzierte Zellproliferation in den Zellen der glatten Gefäßmuskulatur und durch verringerte Ausschüttung von Zytokinen durch Lymphozyten, wird dem Vitamin D an dieser Stelle ein protektiver Effekt gegen Atherosklerose zuteil [51]. Die Mortalität auf Grund kardiovaskulärer Erkrankungen steigt bei Vitamin-D-Mangel signifikant an [36]. Durch antiinflammatorische und immunregulatorische Effekte lassen sich Zusammenhänge zu Autoimmunerkrankungen wie beispielsweise Morbus Crohn, Diabetes Mellitus Typ I, Multipler Sklerose, oder auch Autoimmunkrankheiten der Schilddrüse, erkennen [4,78]. So konnte gezeigt werden, dass eine Vitamin-D-Supplementation und somit ein ausreichender 25(OH)D-Status das Risiko, an Diabetes Mellitus Typ I [51] oder Rheumatoider Arthritis [116] zu erkranken, reduziert werden kann. Bei Patienten mit Multipler Sklerose konnte durch ausreichende Vitamin-D-Blutspiegel die Anzahl an Rückfällen deutlich reduziert werden [21]. Durch Auswirkungen auf das Immunsystem ist das Vitamin ebenfalls an der Regulation und Bekämpfung von Infektionskrankheiten wie beispielsweise Tuberkulose oder Influenza beteiligt [174]. Bei der Entwicklung des Gehirns und des Zentralen Nervensystems, und somit den kognitiven Fähigkeiten eines Menschen, wird Vitamin D eine wichtige Rolle beigemessen [146]. So übernimmt dies wichtige Aufgaben in Neuroprotektion und Neurotransmission. Vitaminmangelzustände können zu starken neurologischen Defiziten führen [34]. Des Weiteren kann ein Vitamin-D-Mangel an der Entstehung psychoneurologischer Erkrankungen wie Morbus Parkinson [38,39,149], Demenz [3,101], oder Alzheimer [88], beteiligt sein. In Studien wiesen 97 % aller an Schizophrenie erkrankten Patienten einen Vitamin-D-Mangel auf [143,157]. Andere Studien zeigen eine Verbesserung depressiver Symptomatik unter Vitamin-D-Substitution [76,91]. Es wird deshalb bei allen Patienten mit degenerativen Hirnerkrankungen empfohlen, den 25(OH)D-Status zu erheben und gegebenenfalls eine adäquate Therapie einzuleiten [51].

Obwohl bereits zahlreiche Wirkweisen bekannt sind, werden einige Wirkungen und Ausprägungen von Vitamin D bis heute nicht ausreichend verstanden. Jährlich neue wissenschaftliche Erkenntnisse treiben die Forschung in diesem Bereich stetig voran.

2.4 Physiologie der Schilddrüse und Einflüsse durch Vitamin D

Die Schilddrüse ist die größte endokrine Drüse des Menschen, normwertige Volumina sind bei Frauen bis zu 18 ml, bei Männern bis zu 25 ml. Ihre Hauptfunktion liegt in der Synthese, Speicherung und Freisetzung der Schilddrüsenhormone Thyroxin (T₄) und Triiodthyronin (T₃),

welche in zahlreichen Zellen und Geweben des menschlichen Organismus ihre Wirkung entfalten. So übernehmen diese Hormone eine bedeutende Rolle in der Entwicklung des Neugeborenen, indem sie das Auswachsen von Nervengewebe und somit die intellektuelle Entwicklung fördern. Ebenso stimulieren Schilddrüsenhormone das Längenwachstum der Knochen. Beim Erwachsenen sorgen sie für eine adäquate Aktivierung des Energiestoffwechsels durch Stimulation der Proteinsynthese, der Glykolyse sowie der Lipolyse. Sie sensibilisieren das Herz für Katecholamine und steigern somit Herzkraft und -frequenz. Aktivität von Niere und Darm werden durch T_3 und T_4 angekurbelt, die neuromuskuläre Erregbarkeit wird gesteigert. Eine weitere Funktion der Schilddrüse liegt in der Produktion von Calcitonin in den parafollikulären Zellen des Organs. Bei hohen Calciumspiegeln übernimmt Calcitonin eine gegenregulatorische Funktion zu Parathormon und greift somit in den Calcium-Phosphat-Stoffwechsel ein [15].

Das über die Nahrung aufgenommene Iod wird in seiner Ionenform Iodid über die Blutbahn zur Schilddrüse befördert. Über einen aktiven Transport an der basolateralen Membran der Thyreozyten wird Iodid mit Hilfe des Natrium-Iodid-Cotransporters zunächst in die Zelle geschleust. An der apikalen Seite gelangt Iodid in das Follikellumen der Zelle und wird dort durch organspezifische Enzyme zunächst oxidiert, die dadurch entstandenen Iod-Atome an Thyreoglobulin gebunden, iodiert. Es resultieren die iodierten Tyrosinverbindungen Thyroxin und Triiodthyronin, die wiederum ins Blutsystem gelangen und in der Peripherie ihre biologischen Funktionen ausüben. Die beiden Schilddrüsenhormone unterscheiden sich in der Anzahl der Iodatome, wobei T_3 hauptsächlich in der Peripherie durch Deiodierung aus T_4 synthetisiert wird. Dort liegt T_4 in etwa 10-fach höherer Konzentration als T_3 vor, letzteres besitzt aber eine 3 bis 8-fach stärkere biologische Wirkung [15].

Die Produktion der Schilddrüsenhormone unterliegt der Regulation durch den thyreotropen Regelkreis. Das im Hypothalamus produzierte TRH (engl.: *Thyreotropin Releasing Hormone*) fördert die Sekretion von TSH (Thyroidea-stimulierendes Hormon, engl.: *Thyroidea Stimulating Hormone*) aus dem Hypophysenvorderlappen, welches wiederum die Aufnahme von Iod in die Zelle und die Freisetzung von Thyroxin und Triiodthyronin fördert. Über einen so genannten negativen Rückkoppelungsmechanismus können T_3 und T_4 die Expression von TRH und TSH hemmen. Des Weiteren wird die Ausschüttung von TRH aus dem Hypothalamus durch Leptin gefördert sowie durch Somatostatin, Noradrenalin, Dopamin und Glukokortikoide gehemmt. Die Ausschüttung von TSH aus der Hypophyse wird ebenfalls durch Somatostatin gehemmt [168]. Folgendes Schaubild zeigt nochmals übersichtlich den thyreotropen Regelkreis.

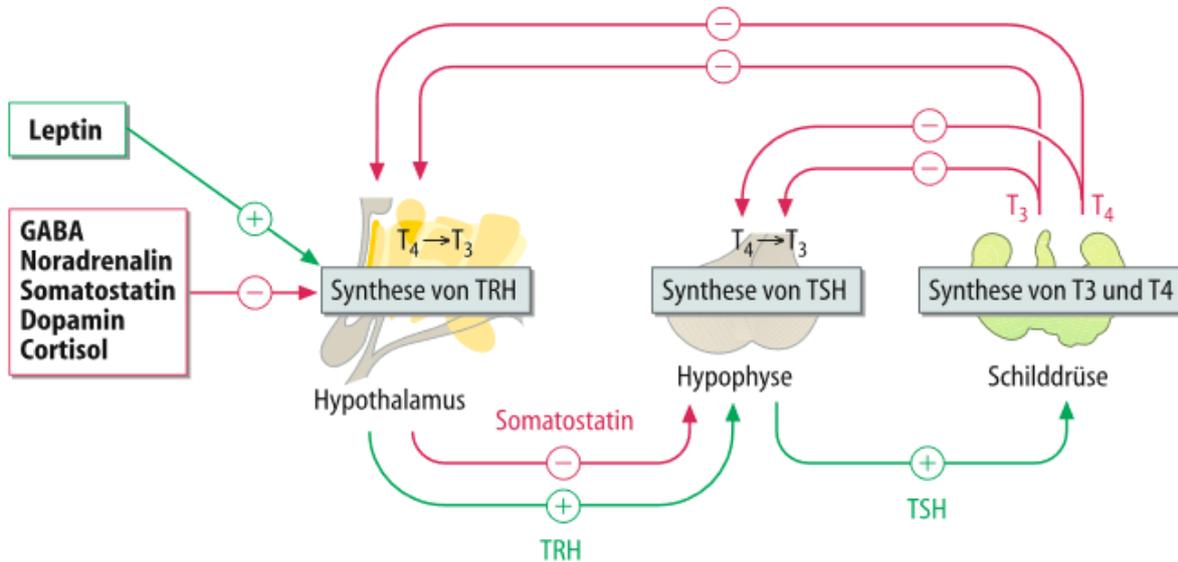


Abbildung 2: Hypothalamisch-hypophysäre-glanduläre Achse und Regelkreis zur Kontrolle der Schilddrüsenhormonkonzentration [43]

Assoziationen zwischen Vitamin D- und Schilddrüsensystem werden auf Grund kontroverser Datenlage derzeit intensiv diskutiert. Zum Einen liegen wenige Studien vor, die diesen Zusammenhang analysieren, zum Anderen liefern die existierenden Untersuchungen unterschiedliche Ergebnisse [123]. Grundlage zur Annahme, dass der Vitamin-D-Stoffwechsel eine Auswirkung auf das Hormonsystem der Schilddrüse haben könnte, liegt im Nachweis von Vitamin-D-Rezeptoren sowie des zur Synthese von aktivem Vitamin D benötigten Enzyms alpha-1-Hydroxylase in sehr vielen Geweben des menschlichen Organismus, so auch in der Schilddrüse [83,147,159].

Da Vitamin D regulatorische Funktion im angeborenen und adaptiven Immunsystem übernimmt, scheinen Auswirkungen von Vitamin D auf Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse möglich [2,175]. Dieser Aspekt ist auch deshalb von großem Interesse, da solche Erkrankungen sehr häufig sind und in etwa 5 % der Weltpopulation auftreten [23,115]. Durch Lymphozyteninfiltration resultieren maßgeblich zwei Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse. So kommt es beim so genannten Morbus Basedow zu hyperthyreotischen, bei der Hashimoto-Thyreoiditis zu hypothyreotischen Stoffwechsellagen [5,33]. In einigen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen niedrigen 25(OH)D-Werten und der Entstehung von Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse mit Erhöhung von Schilddrüsenautoantikörpern nachgewiesen werden [47,80]. So zeigten Patienten mit Morbus Basedow oder Hashimoto-Thyreoiditis durchschnittlich niedrigere Vitamin-D-Blutspiegel auf [144,152], eine Studie von Bozkurt et.al. sowie eine Weitere mit 56 ägyptischen Kindern zeigten eine negative Korrelation zwischen Vitamin-D-Spiegel und der Dauer der Erkrankung, der Höhe der Antikörperspiegel

im Serum (Thyreoperoxidase-Antikörper, Thyreoglobulin-Antikörper), dem BMI, sowie dem Schilddrüsenvolumen und dem Schilddrüsenparameter TSH. Es liegt die Vermutung nahe, dass Vitamin D zumindest mitunter eine wichtige Rolle in der Entstehung autoimmuner Schilddrüsenerkrankungen spielt [14,117]. Durch die physiologischen Wirkungen in Zelldifferenzierung und -proliferation sowie Regulation der Apoptose kann Vitamin D Auswirkungen auf die Entstehung von tumorösen Erkrankungen haben. Hinsichtlich der Entstehung von Schilddrüsentumoren ist die Datenlage ebenfalls sehr kontrovers. Einige Studien zeigten bei Probanden mit Schilddrüsenkarzinom durchschnittlich niedrigere 25(OH)D-Werte < 20 ng/ml [136]. Andere Studien zeigten wiederum keine Assoziation zwischen Vitamin-D-Status und der Entstehung von Schilddrüsenkarzinomen [123].

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Datenlage über die Zusammenhänge und Auswirkungen von Vitamin-D- und Schilddrüsensystem uneinheitlich ist. Bisherige Studien weisen auf einen Zusammenhang zwischen Vitamin-D-Mangel und der Entstehung von Autoimmun- sowie Krebserkrankungen der Schilddrüse hin. Weitere Studien werden notwendig sein, um diese Zusammenhänge abschließend erklären zu können.

2.5 Fragestellung der Arbeit

Forschungsergebnisse der letzten Jahre belegen die große Bedeutung des Vitamin-D-Stoffwechsels für den menschlichen Organismus. Assoziationen von Vitamin-D-Mangel und Vitamin-D-Rezeptor-Polymorphismen konnten nicht nur mit Krankheiten mit Bezug zum Kalzium-Phosphat-Haushalt, wie beispielsweise Rachitis oder Osteomalazie, sondern auch mit zahlreichen kardio-vaskulären, Autoimmun-, Krebs- und Stoffwechselerkrankungen in Verbindung gebracht werden. Wenig bekannt ist über die Bedeutung des Vitamin-D-Stoffwechsels für die Schilddrüsenfunktion. Ziel dieser Arbeit ist es, in einer Kohorte kaukasischer Probanden (LURIC-Studie) die Assoziation zwischen Einzelnukleotid-Polymorphismen im Vitamin D-Rezeptor-Gen und/oder dem Vitamin D-Status (gemessen als 25(OH)D-Konzentration im Serum) und Veränderungen in den Konzentrationen der Schilddrüsenparameter TSH, T_3 und T_4 im Serum zu untersuchen.

3 Material und Methoden

3.1 LURIC-Studie

Diese Arbeit basiert auf Daten der sogenannten LURIC-Studie, welche im Zeitraum von 1997 bis 2002 erhoben wurden. LURIC ist eine englische Abkürzung für *Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study*, es handelt sich um eine prospektive Kohortenanalyse, in der ökologische, biochemische sowie genetische Risikofaktoren für das Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen untersucht werden [81,167]. Die Studie zeigt Daten von 3316 kaukasischen Probanden, die im Herzzentrum des Klinikums Ludwigshafen für eine Koronarangiographie hospitalisiert waren, wobei Brustschmerz einerseits und nicht-invasive Tests mit Hinweisen einer Myokardischämie andererseits, Indikationen zu einer solchen Untersuchung darstellten. Weitere Einschlusskriterien wie eine deutsche Abstammung, ein Zustand klinischer Stabilität mit Ausnahme des akuten Koronarsyndroms sowie der Möglichkeit zur Durchführung koronarangiographischer Untersuchungen wurden berücksichtigt. Probanden mit begleitender anderer akuter oder chronischer Erkrankung sowie jene mit malignem Geschehen in den letzten fünf Jahren wurden zur Limitierung der Heterogenität aller Personen von der Studie ausgeschlossen [167]. Eine Ethikkommission der Ärztekammer Rheinland-Pfalz hat die LURIC-Studie genehmigt. Eine schriftliche Einwilligungserklärung aller Probanden liegt vor [81].

Das Vorhandensein einer koronaren Herzkrankheit wurde mittels koronarangiographischer Untersuchung festgelegt. Dabei war das Ausmaß der Stenosierung ausschlaggebend: in der LURIC-Studie wurde eine sichtbare Stenose von mehr als 20 Prozent des gesamten Gefäßdurchmessers in mindestens einer von 15 Koronararterien als Kriterium für das Vorliegen einer koronaren Herzerkrankung definiert [81]. Personen mit einem Stenosierungsgrad von weniger als 20 Prozent wurden einer Kontrollgruppe zugeordnet.

Nach einer nächtlichen Nüchternphase wurde den Studienteilnehmern morgens 115 ml venöses Blut unter Standardbedingungen entnommen. Aus EDTA-antikoaguliertem Blut wurde durch standardisierte Aussalzungsprozesse (Salting-out-Methode) die DNA zur Genotypisierung extrahiert. Nach der direkten Bestimmung der Standardlaborparameter wurde das restliche Blutvolumen für 15 Minuten bei 4 Grad Celsius und 3800 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, auf Mikrotitrierplatten aliquotiert (DNA-Konzentration 50 ng/ μ l), und bei -80 Grad Celsius für weitere Analysen schockgefroren und aufbewahrt [167]. Die 25(OH)D-Serumwerte wurden mittels eines Radioimmunoassays (DiaSorin Antony, France; Stillwater, USA) ermittelt. Der Intra- und Interassaykoeffizient variierte zwischen 8,6 % und 9,2%, wodurch eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gewährleistet wurde [129]. Die im Serum bestimmten Werte für TSH, T₃ und T₄ wurden mit Hilfe eines Elektrochemilumineszenz-

Immunoassays (ECLIA, Roche Mannheim, Germany) erhoben [167]. Die Genotypisierung der Probanden erfolgte unter Zuhilfenahme des Affymetrix Human SNP Array 6.0 im LURIC-Studienzentrum in Heidelberg, wobei die Genotyp-Imputationen durch MACH1.0 und HapMap II CEU als Referenz galten. Nach der Imputation liegen derzeit 2 543 887 Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) vor [81,97,108].

3.2 Relevante Daten der LURIC-Studie

Die Daten der LURIC-Studie lagen zunächst als Excel-Tabelle vor. Es wurden alle Daten extrahiert, die für unsere Untersuchung von Interesse waren. So wurden insgesamt 36 verschiedene Einzelnukleotid-Polymorphismen im Vitamin-D-Rezeptor-Gen von 3316 Probanden untersucht, unter anderem die vier bisher in diesem Gen am meist untersuchtesten SNPs Apal, FokI, TaqI und BsmI. Das Vitamin-D-Rezeptor-Gen wurde in der Einleitung bereits ausführlich beschrieben. Für jeden Probanden liegen neben Genotyp im jeweiligen SNP auch Messwerte für Thyroidea-stimulierendes Hormon (TSH), Triiodthyronin (T₃), Thyroxin (T₄), sowie Vitamin D (25(OH)D, 1,25(OH)₂D) vor. Probanden, bei denen einer dieser Messwerte fehlte, wurden von unseren Untersuchungen ausgeschlossen.

Die SNPs sind mit rs-Nummer codiert (z.B. rs2239186). Für jeden Patienten wurde der vorliegende Genotyp im Polymorphismus bestimmt und mit den Anfangsbuchstaben der jeweiligen Nukleoside angegeben. Dabei steht A für die Aminobase Adenosin, T für Thymin, C für Cytosin und G für Guanin. So weist beispielsweise im SNP rs2239186 der Proband mit der ID 1 den Genotypen AA auf, das bedeutet, dieser Proband zeigt an genau dieser Stelle im SNP auf beiden Allelen die Aminobase Adenosin. Der Proband mit der ID 8 weist dort den Genotypen GA, der Proband mit der ID 12 den Genotypen GG auf.

3.3 Statistische Methoden

Zunächst wurden alle drei möglichen Genotypen jedes einzelnen Polymorphismus, die in der Excel-Tabelle mit den Anfangsbuchstaben der Aminobase angegeben waren (A,T,G,C), durch Ziffern (0,1,2) kodiert, um Berechnungen mit dem Statistikprogramm SPSS zu ermöglichen. Die Analysen wurden mit der Version SPSS 25, IBM Co., Armonk, NY (USA) angefertigt.

3.3.1 Assoziation von Einzel-Nukleotid-Polymorphismen im VDR-Gen und

Schilddrüsenparameter TSH, T₃, T₄

Im ersten Schritt errechneten wir für alle drei möglichen Genotypen (zum Beispiel AA, GA, GG) der 36 SNPs Mittelwert, Median und Standardabweichung der TSH-, T₃- und T₄-Serumwerte sowie die Anzahl der Probanden n. Beispiele zeigen die folgenden Tabellen.

Tabelle 2: Beispiel für die Bestimmung des Mittelwertes (MW), Medians (M), Standardabweichung (SD) im TSH-Wert für die Genotypen eines Polymorphismus, n beschreibt die Anzahl der Probanden pro Genotyp.

rs2239186	n	TSH (mU/l)		
		MW	M	SD
AA	1882	1,63	1,21	3,14
GG	132	1,73	1,29	1,41
GA	1005	1,92	1,28	5,96
Insgesamt	3019	1,73	1,24	4,25

Die Abweichung der an dieser Stelle inkludierten Probanden (n= 3019) im Vergleich zu allen Studienteilnehmern (n= 3316) kommt durch fehlende Genotypisierung oder fehlende Messwerte für TSH zustande. Ebenso verhält es sich in den folgenden Tabellen mit Messparameter T₃ und T₄.

Tabelle 3: Beispiel für die Bestimmung des Mittelwertes (MW), Medians (M), Standardabweichung (SD) im T₃-Wert für die Genotypen eines Polymorphismus, n beschreibt die Anzahl der Probanden pro Genotyp.

		T₃ (pmol/l)		
rs2239186	n	MW	M	SD
AA	1646	4,84	4,80	3,897
GG	117	4,64	4,50	0,89
GA	861	4,88	4,70	1,81
Insgesamt	2624	4,84	4,80	1,396

Tabelle 4: Beispiel für die Bestimmung des Mittelwertes (MW), Medians (M), Standardabweichung (SD) im T₄-Wert für die Genotypen eines Polymorphismus, n beschreibt die Anzahl der Probanden pro Genotyp.

		T₄ (pmol/l)		
rs2239186	n	MW	M	SD
AA	1646	17,61	17,30	3,40
GG	117	17,31	16,70	3,32
GA	860	17,47	17,00	3,71
Insgesamt	2623	17,55	17,20	3,81

Test auf Normalverteilung

Im Anschluss führten wir einen Kolmogorov-Smirnov-Test durch, um die Schilddrüsenparameter TSH, T₃ und T₄ im jeweiligen Genotyp eines Polymorphismus auf Normalverteilung zu untersuchen. Die Nullhypothese lautete: „Die Werte der Schilddrüsenparameter liegen im Genotyp des Polymorphismus normalverteilt vor“. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

Kruskal-Wallis-Test/ ANOVA-Test

Zur Untersuchung, inwiefern Genotypen im Einzelnukleotid-Polymorphismus Assoziationen zu Schilddrüsenparametern TSH, T₃ oder T₄ zeigen, schlossen wir weitere statistische Tests an. Zeigten sich Schilddrüsenwerte für verschiedene Genotypen normalverteilt, wendeten wir einen ANOVA-Test (Analysis of Variance) an. Diese einfaktorische Varianzanalyse vergleicht Mittelwerte und ist somit ein geeignetes Testverfahren bei normalverteilten Datensätzen.

Waren die Schilddrüsenparameter nicht normalverteilt, schlossen wir einen Kruskal-Wallis-Test an. Die Nullhypothese bei beiden Testverfahren lautete: „Beim Vergleich der Genotypen eines Einzelnukleotid-Polymorphismus besteht kein signifikanter Unterschied in der Höhe des Schilddrüsenparameters TSH, T₃ oder T₄“. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgesetzt.

T-Test / Mann-Whitney-U-Test

Um zu untersuchen, zwischen welchen Genotypen ein signifikanter Unterschied in der Höhe des Schilddrüsenparameters besteht, unterzogen wir jene Polymorphismen, die in vorigen Untersuchungen ein signifikantes Ergebnis zeigten, weiteren Tests für paarweise Vergleiche. Bei normalverteilter Datenlage der Schilddrüsenwerte wurde an dieser Stelle ein t-Test, bei nicht normalverteilter Datenlage ein Mann-Whitney-U-Test angefügt. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

3.3.2 Assoziation von Vitamin-D-Status und Schilddrüsenparametern TSH, T₃, T₄

Um Assoziationen von Vitamin-D-Status und Schilddrüsenparametern untersuchen zu können, wurden die Werte für 25(OH)D zunächst in drei Gruppen eingeteilt. Die Bereiche wurden an Hand der Definition von Vitamin-D-Mangel (25(OH)D \leq 20 ng/ml), - Insuffizienz (25(OH)D 20 – 30 ng/ml) sowie suffizientem Vitamin-D-Spiegel (25(OH)D $>$ 30 ng/ml) gewählt. In den drei Gruppen wurden zunächst Mittelwert, Median und Standardabweichung für die Schilddrüsenparameter TSH, T₃ und T₄ bestimmt.

Test auf Normalverteilung und Kruskal-Wallis-Test

Da die Schilddrüsenparameter in den erstellten Gruppen nicht normalverteilt vorlagen, schlossen wir einen Kruskal-Wallis-Test an, um signifikante Assoziationen von Vitamin-D-Status und Schilddrüsenparameter zu detektieren. Die Nullhypothese lautete: „In den drei, nach Vitamin-D-Status eingeteilten Gruppen gibt es keine signifikanten Unterschiede in der Höhe der Schilddrüsenparameter“. Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$.

Mann-Whitney-U-Test

Zeigte sich in voran gegangenem Test ein signifikantes Ergebnis, wurde mittels Mann-Whitney-U-Test für paarweise Vergleiche untersucht, zwischen welchen der drei Gruppen ein signifikanter Unterschied besteht. Die Nullhypothese lautete auch hier: „Es besteht kein

signifikanter Unterschied in der Verteilung der Schilddrüsenparameter je nach Vitamin-D-Status“. Ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde angenommen.

3.3.3 Assoziation von Einzelnukleotid-Polymorphismen und Schilddrüsenparametern TSH, T₃, T₄: Subgruppenanalyse in Abhängigkeit des 25(OH)D-Status

In diesem Schritt suchten wir in Subgruppenanalysen nach Hinweisen für mögliche gleichgerichtete Effekte von VDR-SNPs und Vitamin-D-Status auf die Schilddrüsenfunktion. Wenn die Annahme zutrifft, dass der Vitamin-D-Stoffwechsel Schilddrüsenwerte beeinflusst, dann sollten VDR-SNPs, die negative Effekte auf Schilddrüsenparameter zeigen, gleichgerichtete Wirkungen auf diese Schilddrüsenparameter ausüben wie ein unzureichender Vitamin-D-Status.

In die Untersuchung wurden jene Polymorphismen einbezogen, die zuvor eine signifikante Assoziation zu den Schilddrüsenparametern TSH, T₃ oder T₄ zeigten. Es handelt sich dabei um rs3819545, der eine Assoziation zum Parameter TSH zeigte, sowie um rs2239186 mit Assoziation zu TSH sowie T₃. Untersucht wurde, ob die genannten Assoziationen unter Beachtung des Vitamin-D-Status, gemessen als 25-Hydroxyvitamin-D, bestehen bleiben, verstärkt oder abgeschwächt werden.

Inkludiert wurden jene Probanden, bei denen Daten zu Genotyp im jeweiligen Polymorphismus, 25(OH)D-Status sowie Schilddrüsenparameter vorlagen.

Alle Probanden wurden an Hand der 25(OH)D-Konzentration in Gruppen eingeteilt. Unterschieden wurden Probandengruppen mit Vitamin-D-Mangel (25(OH)D < 20 ng/ml respektive < 10 ng/ml) und höheren Vitamin-D-Spiegeln (25(OH)D > 20 ng/ml respektive > 10 ng/ml).

Test auf Normalverteilung

Mit Hilfe eines Kolmogorov-Smirnov-Tests wurden die Schilddrüsenparameter in den erstellten Gruppen auf Normalverteilung untersucht. Die Nullhypothese lautete: „Die Werte der Schilddrüsenparameter sind normalverteilt“. Ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde gewählt.

T-Test / Mann-Whitney-U-Test

Es erfolgte die weitere Untersuchung mittels Tests für paarweise Vergleiche. Bei normalverteilter Datenlage der Schilddrüsenserumwerte wurde an dieser Stelle ein t-Test, bei nicht normalverteilter Datenlage ein Mann-Whitney-U-Test zur Untersuchung eines signifikanten Unterschiedes in der Höhe der Schilddrüsenparameter in den erstellten Gruppen, angefügt. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

3.3.4 Assoziation von Einzelnukleotid-Polymorphismen und Vitamin-D-Status

Zur Untersuchung von Assoziationen zwischen Vorliegen eines bestimmten Genotyps im VDR und Vitamin-D-Status wurde zunächst wieder für jeden Genotypen der 36 SNPs Mittelwert, Median und Standardabweichung der 25(OH)D- sowie der 1,25(OH)₂D-Werte berechnet.

Tabelle 5: Beispiel für die Bestimmung des Mittelwertes (MW), Medians (M), Standardabweichung (SD) im 25(OH)D-Wert für die Genotypen eines Polymorphismus, n beschreibt die Anzahl der Probanden pro Genotyp

25(OH)D (ng/ml)				
rs2239186	n	MW	M	SD
AA	1906	17,13	15,30	10,01
GG	131	17,62	15,90	9,22
GA	1009	17,77	16,40	10,31
Insgesamt	3046	17,32	15,50	9,77

Tabelle 6: Beispiel für die Bestimmung des Mittelwertes (MW), Medians (M), Standardabweichung (SD) im 1,25(OH)₂-D-Wert für die Genotypen eines Polymorphismus, n beschreibt die Anzahl der Probanden pro Genotyp

1,25(OH)₂D (ng/l)				
rs2239186	n	MW	M	SD
AA	1911	34,71	33,00	14,17
GG	133	35,58	32,80	15,35
GA	1016	35,22	33,25	13,70
Insgesamt	3060	34,92	33,10	14,07

Test auf Normalverteilung

Mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests wurde wiederum untersucht, ob im jeweiligen Genotyp die Werte für 25(OH)D und 1,25(OH)₂D normalverteilt vorliegen. Die Nullhypothese lautete: „Die Vitamin-D-Werte sind normalverteilt“. Das Signifikanzniveau wurde auch hier auf $p < 0,05$ festgelegt.

Kruskal-Wallis-Test

Bei nicht normalverteilter Datenlage schlossen wir zur Untersuchung möglicher Assoziationen von Einzelnukleotid-Polymorphismen und Vitamin-D-Status einen Kruskal-Wallis-Test an. Die Nullhypothese lautete: „Es gibt keine signifikanten Unterschiede in der Höhe des Vitamin-D-Spiegels je nach vorliegendem Genotyp.“ Das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde gewählt.

Mann-Whitney-U-Test

Die im Kruskal-Wallis-Test für signifikant empfundenen SNPs wurden einem weiteren Testverfahren unterzogen. Wir schlossen einen Mann-Whitney-U-Test an. Die Nullhypothese lautete: „Beim Vergleich zweier Genotypen gibt es keinen Unterschied in der Höhe des Vitamin D- Spiegels“. Auch hier lag das Signifikanzniveau bei $p < 0,05$.

3.3.5 Multiples Testen nach Bonferroni

Signifikante Ergebnisse wurden weiteren Untersuchungen für Multiples Testen unterzogen. Durch zahlreiche Analysen in derselben Stichprobe wird die Alpha-Fehler-Wahrscheinlichkeit, auch Fehler 1. Art genannt, stark erhöht und somit die Nullhypothese fälschlicherweise abgelehnt und die Alternativhypothese angenommen. Das multiple Testen nach Bonferroni ermöglicht durch Errechnen eines adjustierten Signifikanzniveaus den Fehler 1. Art zu neutralisieren. Dabei wird das ursprünglich festgelegte Signifikanzniveau ($p = 0,05$) durch die Anzahl aller, mit dem Datensatz durchgeführten Tests (k), dividiert. [9].

$$p^* = p / k$$

Dabei steht p^* für den adjustierten p-Wert, der das neue Signifikanzniveau anzeigt. Ist der p-Wert des für initial für signifikant empfundenen Ergebnisses größer als das adjustierte Signifikanzniveau, gilt dieses Ergebnis für statistisch nicht mehr signifikant und die Nullhypothese wird wiederum angenommen. k beschreibt die Anzahl aller durchgeführten Tests, p das in vorigen Tests errechnete signifikante Ergebnis [140].

4 Ergebnisse

In dieser Arbeit wurde am Kollektiv der LURIC-Studie (n=3316, 30,3 % weibliche und 69,7 % männliche Probanden) geprüft, ob bestimmte Einzelnukleotid-Polymorphismen im Vitamin-D-Rezeptor-Gen (n=36) oder der Vitamin-D-Status mit den Schilddrüsenparametern TSH, T₃ oder T₄ assoziiert sind. Im Anschluss suchten wir in Subgruppenanalysen nach Hinweisen für mögliche gleichgerichtete Effekte von VDR-SNPs und Vitamin-D-Status auf diese Parameter der Schilddrüsenfunktion.

Da der Vitamin-D-Rezeptor in seinen Zielzellen über die Stimulation der Expression des mitochondrialen Enzyms CYP24A1 (Cytochrom P450, Familie 24, Subfamilie A, Polypeptid 1; kurz 24-Hydroxylase) den Abbau zahlreicher Vitamin-D-Metabolite, darunter auch 25-Hydroxyvitamin-D und 1,25-Dihydroxyvitamin-D reguliert, testeten wir das LURIC-Kollektiv auch auf eine mögliche Assoziation von VDR-SNPs und Vitamin-D-Status. Einen Überblick über Mittelwerte und Mediane der untersuchten Blutwerte im LURIC-Kollektiv zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7: Kollektiv der LURIC-Studie: Mittelwert (MW) und Median (M) von Vitamin-D-Status und Parametern der Schilddrüsenfunktion. Berücksichtigt wurden Probanden (n), bei denen zu den jeweiligen Blutwerten auch Angaben zu VDR-Genotypen vorlagen.

	TSH (mU/l)	fT₃ (pmol/l)	fT₄ (pmol/l)	25(OH)D (ng/ml)	1,25(OH)₂D (ng/l)
n	3271	2857	2856	3046	3060
MW	1,73	4,85	17,55	17,32	34,92
M	1,24	4,80	17,20	15,50	33,10

Tabelle 8 zeigt die Verteilung (absolute und relative Häufigkeiten) der verschiedenen Genotypen der untersuchten VDR-Polymorphismen (n=36).

Tabelle 8: Kollektiv der LURIC-Studie: Absolute (n) und relative (%) Häufigkeiten der untersuchten VDR-Genotypen (n=36)

SNP	Absolute (n) und relative (%) Häufigkeiten des Genotyps										
		n	%		n	%		n	%	n Ges.	% Ges.
rs11574143	CC	2548	83,2	TC	480	15,7	TT	33	1,1	3061	100
rs11574129	AA	2964	96,9	GA	96	3,1				3060	100
rs38477987	CC	2442	79,8	CA	573	18,7	AA	46	1,5	3061	100
rs1544410	CC	1086	35,5	TC	1465	47,9	TT	510	16,7	3061	100
rs2239185	GG	737	24,1	AA	845	27,6	GA	1479	48,3	3061	100
rs11574085	TA	313	10,2	TT	2732	89,3	AA	16	0,5	3061	100
rs11168268	GG	644	21,0	AA	963	31,5	GA	1454	47,5	3061	100
rs2238140	GG	772	25,2	AA	792	25,9	GA	1497	48,9	3061	100
rs11574079	CC	3051	99,7	TC	10	0,3				3061	100
rs2248098	AA	772	25,2	GG	792	25,9	GA	1497	48,9	3061	100
rs12370156	CC	787	25,7	TT	789	25,8	TC	1485	48,5	3061	100
rs2239182	CT	1541	50,3	CC	727	23,8	TT	793	25,9	3061	100
rs2107301	GG	1564	51,5	GA	1219	39,8	AA	278	9,1	3061	100
rs2239181	AA	2433	79,5	CA	592	19,3	CC	36	1,2	3061	100
rs1540339	CC	1205	39,4	TC	1415	46,2	TT	441	14,4	3061	100
rs2239179	TT	1062	34,7	TC	1468	48,0	CC	531	17,3	3061	100
rs12717991	CC	1196	39,1	TC	1420	46,4	TT	445	14,5	3061	100
rs2189480	GG	1238	40,4	GT	1403	45,8	TT	420	13,7	3061	100
rs3819545	AA	1129	36,9	GA	1440	47,1	GG	491	16,0	3060	100
rs3782905	GG	1454	47,5	GC	1312	42,9	CC	295	9,6	3061	100
rs2239186	AA	1912	62,5	GG	133	4,3	GA	1016	33,2	3061	100
rs10735810	GA	1466	47,9	GG	1137	37,1	AA	458	15,0	3061	100
rs2408876	CC	441	14,4	TT	1138	37,2	TC	1482	48,4	3061	100
rs2238136	CC	1615	52,8	TC	1218	39,8	TT	228	7,4	3061	100
rs1989969	GG	1117	36,5	AA	455	14,9	GA	1489	48,6	3061	100
rs2238135	GC	1170	36,5	GG	1684	55,0	CC	207	6,8	3061	100
rs4760648	CC	964	31,5	TC	1534	50,1	TT	563	18,4	3061	100
rs11168287	GA	1545	50,5	GG	755	24,7	AA	761	24,9	3061	100
rs4334089	GG	1644	53,7	GA	1208	39,5	AA	209	6,8	3061	100
rs3890733	CC	1380	45,1	TC	1328	43,7	TT	343	11,2	3061	100
rs10783219	TT	393	12,8	AA	1254	41,0	TA	1414	46,2	3061	100
rs4516035	TT	1017	33,2	TC	1498	48,9	CC	546	17,8	3061	100
rs7139166	CC	1019	33,3	GC	1493	48,8	GG	549	17,9	3061	100
rs2228570	GG	1076	36,6	GA	1424	48,4	AA	440	15,0	2940	100
rs731236	AA	1070	36,4	GA	1391	47,3	GG	479	16,3	2940	100
rs7975232	CC	706	24,0	CA	1422	48,4	AA	812	27,6	2940	100

4.1 Assoziation von VDR-Genotypen und Schilddrüsenparametern TSH, T₃, T₄

Test auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test)

Zunächst untersuchten wir die Genotypen der 36 SNPs im VDR mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung der Schilddrüsenparameter TSH, T₃ und T₄. Es zeigte sich, dass die Schilddrüsenparameter für alle Genotypen der Polymorphismen nicht normalverteilt vorlagen. Die Nullhypothese wurde somit abgelehnt.

Kruskal-Wallis-Test

Im Anschluss erfolgte die Prüfung, ob im LURIC-Kollektiv bestimmte Einzelnukleotid-Polymorphismen im Vitamin-D-Rezeptor-Gen (n=36) mit den Schilddrüsenparametern TSH, T₃ oder T₄ assoziiert sind (Kruskal-Wallis-Test). 2 der 36 VDR-SNPs (rs2239186, rs3819545) waren mit Unterschieden in der TSH-Serumkonzentration (Median) assoziiert, die das geforderte Signifikanzniveau ($p < 0,05$) erreichten (Tabelle 9). Ein VDR-SNP (rs2239186) war mit einem signifikanten Unterschied in der T₃-Serumkonzentration (Median) assoziiert (Tabelle 10). Für diese Polymorphismen wurde die Nullhypothese „Es besteht keine Assoziation von Genotyp und den Schilddrüsenparametern TSH und/oder T₃“ abgelehnt. Bei den übrigen VDR-Polymorphismen zeigten sich keine Assoziationen mit den Serumkonzentrationen von TSH (Median) oder T₃-(Median), die das geforderte Signifikanzniveau ($p < 0,05$) erreichten (Tabellen 9, 10). In diesen Fällen resultierten jeweils p-Werte $> 0,05$, wodurch das geforderte Signifikanzniveau nicht erreicht wurde und die Nullhypothese angenommen werden konnte. Bei der Untersuchung der VDR-Polymorphismen (n=36) zeigten sich keine signifikanten Assoziationen mit den Serumwerten (Median) für das Schilddrüsenhormon Thyroxin (T₄) (Tabelle 11).

Tabelle 9: LURIC-Kollektiv: VDR-Genotypen (n=36) und jeweilige Serumwerte (Median) des Schilddrüsenhormons TSH. Inkludiert wurden alle Probanden, bei denen sowohl Genotyp als auch TSH-Wert vorlagen (Kruskal- Wallis- Test, Signifikanzniveau $p < 0,05$, signifikante Assoziationen fett gedruckt)

SNP	Genotyp + Median TSH (mU/l)						p-Wert
	Genotyp	Median	Genotyp	Median	Genotyp	Median	
rs11574143	CC	1,24	TC	1,20	TT	1,23	0,973
rs11574129	AA	1,24	GA	1,21			0,664
rs38477987	CC	1,24	CA	1,21	AA	1,27	0,922
rs1544410	CC	1,26	TC	1,24	TT	1,20	0,778
rs2239185	GG	1,29	AA	1,23	GA	1,22	0,217
rs11574085	TA	1,17	TT	1,25	AA	1,11	0,181
rs11168268	GG	1,29	AA	1,23	GA	1,22	0,220
rs2238140	GG	1,29	AA	1,23	GA	1,22	0,391
rs11574079	CC	1,24	TC	1,00			0,585
rs2248098	AA	1,28	GG	1,23	GA	1,22	0,473
rs12370156	CC	1,29	TT	1,22	TC	1,22	0,396
rs2239182	CT	1,23	CC	1,22	TT	1,27	0,368
rs2107301	GG	1,23	GA	1,27	AA	1,16	0,648
rs2239181	AA	1,24	CA	1,25	CC	1,11	0,505
rs1540339	CC	1,22	TC	1,26	TT	1,21	0,443
rs2239179	TT	1,24	TC	1,25	CC	1,20	0,690
rs12717991	CC	1,22	TC	1,26	TT	1,21	0,595
rs2189480	GG	1,22	GT	1,28	TT	1,19	0,286
rs3819545	AA	1,21	GA	1,30	GG	1,18	0,033
rs3782905	GG	1,26	GC	1,24	CC	1,13	0,401
rs2239186	AA	1,21	GG	1,29	GA	1,28	0,045
rs10735810	GA	1,24	GG	1,23	AA	1,24	0,959
rs2408876	CC	1,26	TT	1,24	TC	1,23	0,981
rs2238136	CC	1,27	TC	1,21	TT	1,17	0,107
rs1989969	GG	1,22	AA	1,27	GA	1,24	0,454
rs2238135	GC	1,22	GG	1,26	CC	1,13	0,254
rs4760648	CC	1,25	TC	1,23	TT	1,23	0,551
rs11168287	GA	1,24	GG	1,22	AA	1,25	0,968
rs4334089	GG	1,23	GA	1,23	AA	1,31	0,446
rs3890733	CC	1,24	TC	1,22	TT	1,27	0,368
rs10783219	TT	1,21	AA	1,27	TA	1,21	0,584
rs4516035	TT	1,24	TC	1,22	CC	1,27	0,653
rs7139166	CC	1,24	GC	1,22	GG	1,26	0,803
rs2228570	GG	1,20	GA	1,24	AA	1,25	0,706
rs731236	AA	1,24	GA	1,24	GG	1,19	0,559
rs7975232	CC	1,27	CA	1,22	AA	1,21	0,447

Tabelle 10: 36 VDR-SNPs, Genotypen, Mediane des Schilddrüsenparameters T_3 . Inkludiert wurden alle Probanden, bei denen sowohl Genotyp als auch T_3 -Wert vorlagen (Kruskal- Wallis- Test, Signifikanzniveau $p < 0,05$, signifikante Assoziationen fett gedruckt)

SNP	Genotyp + Median fT_3 (pmol/l)						p- Wert
	Genotyp	Median	Genotyp	Median	Genotyp	Median	
rs11574143	CC	4,80	TC	4,80	TT	4,45	0,192
rs11574129	AA	4,80	GA	4,90			0,526
rs38477987	CC	4,80	CA	4,80	AA	4,80	0,911
rs1544410	CC	4,70	TC	4,80	TT	4,80	0,971
rs2239185	GG	4,70	AA	4,80	GA	4,80	0,554
rs11574085	TA	4,80	TT	4,80	AA	4,50	0,355
rs11168268	GG	4,70	AA	4,80	GA	4,80	0,412
rs2238140	GG	4,70	AA	4,80	GA	4,80	0,731
rs11574079	CC	4,80	TC	5,00			0,608
rs2248098	AA	4,70	GG	4,80	GA	4,80	0,676
rs12370156	CC	4,70	TT	4,80	TC	4,80	0,547
rs2239182	CT	4,80	CC	4,80	TT	4,70	0,829
rs2107301	GG	4,80	GA	4,80	AA	4,70	0,493
rs2239181	AA	4,80	CA	4,70	CC	5,00	0,483
rs1540339	CC	4,80	TC	4,80	TT	4,70	0,424
rs2239179	TT	4,70	TC	4,80	CC	4,80	0,717
rs12717991	CC	4,80	TC	4,70	TT	4,70	0,550
rs2189480	GG	4,80	GT	4,70	TT	4,70	0,350
rs3819545	AA	4,80	GA	4,70	GG	4,70	0,640
rs3782905	GG	4,70	GC	4,80	CC	4,80	0,206
rs2239186	AA	4,80	GG	4,50	GA	4,70	0,021
rs10735810	GA	4,70	GG	4,80	AA	4,80	0,542
rs2408876	CC	4,70	TT	4,80	TC	4,70	0,326
rs2238136	CC	4,75	TC	4,80	TT	4,80	0,870
rs1989969	GG	4,70	AA	4,80	GA	4,70	0,347
rs2238135	GC	4,80	GG	4,80	CC	4,70	0,877
rs4760648	CC	4,80	TC	4,70	TT	4,80	0,599
rs11168287	GA	4,70	GG	4,80	AA	4,80	0,569
rs4334089	GG	4,75	GA	4,80	AA	4,70	0,676
rs3890733	CC	4,80	TC	4,70	TT	4,80	0,663
rs10783219	TT	4,80	AA	4,80	TA	4,70	0,759
rs4516035	TT	4,80	TC	4,80	CC	4,70	0,828
rs7139166	CC	4,80	GC	4,80	GG	4,70	0,805
rs2228570	GG	4,80	GA	4,70	AA	4,70	0,638
rs731236	AA	4,70	GA	4,80	GG	4,80	0,995
rs7975232	CC	4,70	CA	4,80	AA	4,80	0,615

Tabelle 11: 36 VDR-SNPs, Genotypen, Mediane des Schilddrüsenparameters T_4 . Inkludiert wurden alle Probanden, bei denen sowohl Genotyp als auch T_4 -Wert vorlagen (Kruskal- Wallis- Test, Signifikanzniveau $p < 0,05$)

SNP	Genotyp + Median fT_4 (pmol/l)					p- Wert	
	Genotyp	Median	Genotyp	Median	Genotyp		Median
rs11574143	CC	17,20	TC	17,05	TT	17,40	0,399
rs11574129	AA	17,10	GA	17,40			0,534
rs38477987	CC	17,20	CA	17,10	AA	16,75	0,320
rs1544410	CC	17,10	TC	17,20	TT	17,20	0,746
rs2239185	GG	17,10	AA	17,20	GA	17,10	0,088
rs11574085	TA	17,45	TT	17,10	AA	16,90	0,629
rs11168268	GG	17,00	AA	17,10	GA	17,20	0,214
rs2238140	GG	17,00	AA	17,10	GA	17,20	0,367
rs11574079	CC	17,15	TC	17,70			0,707
rs2248098	AA	17,00	GG	17,10	GA	17,20	0,357
rs12370156	CC	17,00	TT	17,15	TC	17,20	0,432
rs2239182	CT	17,10	CC	17,30	TT	17,20	0,890
rs2107301	GG	17,20	GA	16,90	AA	17,60	0,072
rs2239181	AA	17,20	CA	17,20	CC	16,90	0,561
rs1540339	CC	17,20	TC	17,10	TT	17,30	0,990
rs2239179	TT	17,10	TC	17,10	CC	17,30	0,637
rs12717991	CC	17,20	TC	17,30	TT	17,10	0,984
rs2189480	GG	17,30	GT	17,20	TT	16,80	0,203
rs3819545	AA	17,20	GA	17,20	GG	17,10	0,700
rs3782905	GG	17,10	GC	17,20	CC	17,50	0,866
rs2239186	AA	17,30	GG	16,70	GA	17,00	0,394
rs10735810	GA	17,30	GG	16,90	AA	17,00	0,107
rs2408876	CC	17,20	TT	17,20	TC	17,10	0,903
rs2238136	CC	17,10	TC	17,10	TT	17,60	0,306
rs1989969	GG	17,10	AA	17,40	GA	17,10	0,155
rs2238135	GC	17,05	GG	17,20	CC	17,40	0,460
rs4760648	CC	17,20	TC	17,10	TT	17,15	0,604
rs11168287	GA	17,10	GG	17,00	AA	17,30	0,416
rs4334089	GG	17,20	GA	17,00	AA	17,15	0,142
rs3890733	CC	17,00	TC	17,20	TT	17,50	0,055
rs10783219	TT	17,20	AA	17,30	TA	17,00	0,308
rs4516035	TT	16,90	TC	17,20	CC	17,40	0,082
rs7139166	CC	16,95	GC	17,20	GG	17,40	0,121
rs2228570	GG	16,90	GA	17,20	AA	17,00	0,125
rs731236	AA	17,10	GA	17,20	GG	17,20	0,743
rs7975232	CC	17,10	CA	17,20	AA	17,10	0,178

Identifizierung der mit TSH- und T₃ -Serumkonzentrationen assoziierten VDR-Genotypen (Mann-Whitney-U-Test)

Im nächsten Schritt untersuchten wir mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests, welche Genotypen der VDR-SNPs rs22239186 und rs3819545 für die zuvor im Kruskal-Wallis-Test festgestellten signifikanten Assoziationen dieser SNPs mit den Serumkonzentrationen für TSH und T₃ verantwortlich waren.

Im von uns untersuchten LURIC-Kollektiv war der Genotyp AA des VDR-SNP rs22239186 mit signifikant niedrigeren TSH-Serumkonzentrationen (Median: 1,21 mU/l, p=0,039 (vs GG, Median: 1,29 mU/l)) assoziiert (Tabelle 12). Des Weiteren waren Genotypen dieses SNPs mit Unterschieden in der T₃-Serumkonzentration assoziiert (Tabelle 13). Genotyp GG zeigte signifikant niedrigere T₃-Serumkonzentrationen (Median 4,50 pmol/l, p= 0,006 (vs AA; Median= 4,80 pmol/l), p=0,021 (vs GA, Median= 4,70 pmol/l)). Der Genotyp AA des VDR-SNP rs3819545 war mit signifikant niedrigeren TSH-Werten (Median: 1,21 mU/l, p= 0,011 (vs GA, Median: 1,30 mU/l)) (Tabelle 12) assoziiert. Die nachfolgenden Tabellen (Tabellen 12-13) und Abbildungen (Abb. 3-5) fassen Assoziationen, bei denen das geforderte Signifikanzniveau erreicht wurde, nochmals anschaulich zusammen.

Tabelle 12: signifikante Assoziation von VDR-Genotypen (n: Anzahl der Probanden) und Schilddrüsenparameter TSH

SNP	Genotyp	Konzentration TSH (Median, mU/l)	$\Delta 1$ TSH (mU/l)	$\Delta 2$ TSH (mU/l)	p-Wert	Normwerte TSH (mU/l)	M _{TSH} Gesamtkollektiv
rs22239186	AA (n=1882)	1,21	0,08	- 0,03	0,039	0,27 - 4,2	1,24 mU/l
	GG (n= 132)	1,29		+0,05			
rs3819545	AA (n=1116)	1,21	0,09	- 0,03	0,011		
	GA (n=1415)	1,30		+0,06			

$\Delta 1$ TSH: Differenz der Mediane (TSH) der signifikanten Genotypen

$\Delta 2$ TSH: Differenz des Medians in Bezug auf den Median des Gesamtkollektivs (1,24 mU/l). Das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt.

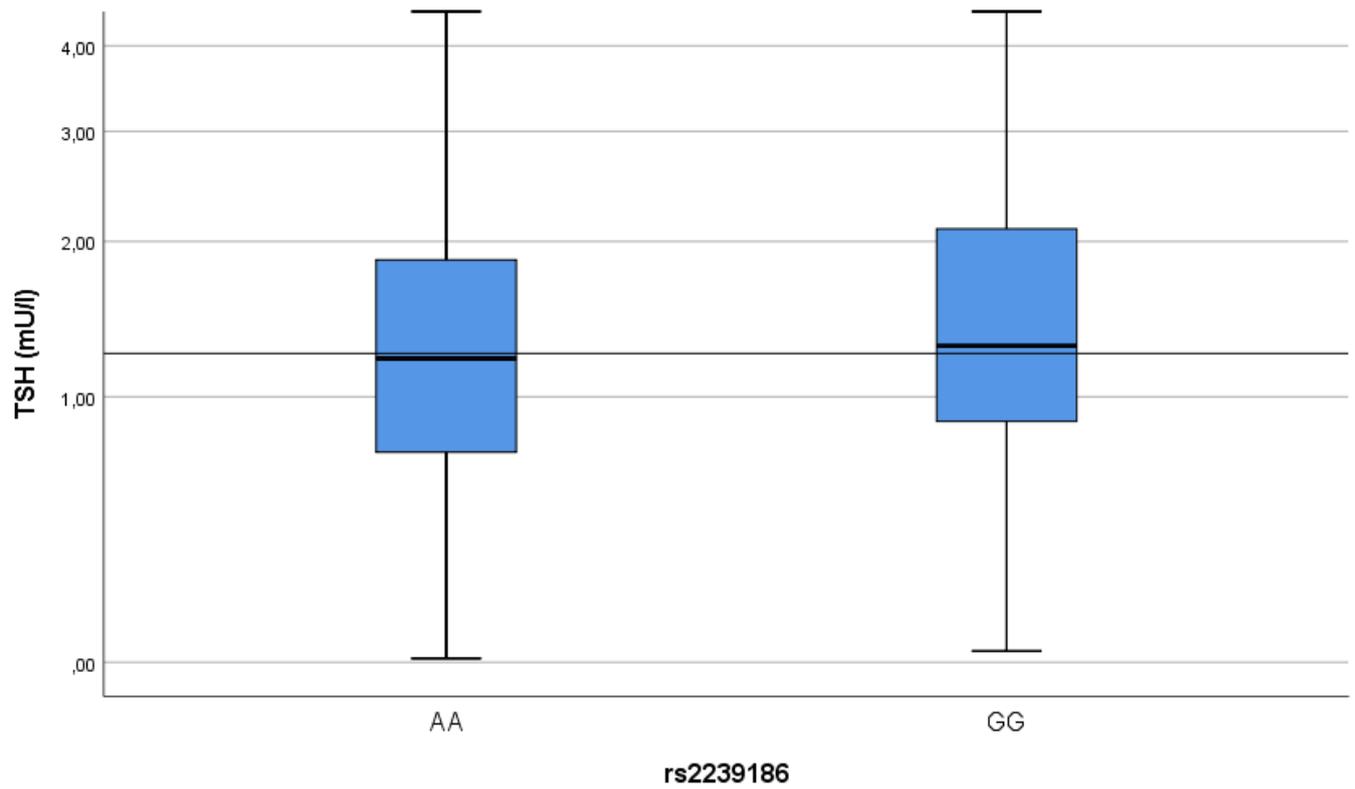


Abbildung 3: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation von TSH-Serumkonzentration und Genotyp AA und GG des VDR-SNPs 2239186. Genotyp AA des SNPs ist mit signifikant niedrigen TSH-Serumwerten assoziiert. Waagerechte Linie: Median TSH der Gesamtkohorte (1,24 mU/l). Nicht dargestellt sind Ausreißer nach oben, die in die Analyse eingeschlossen wurden.

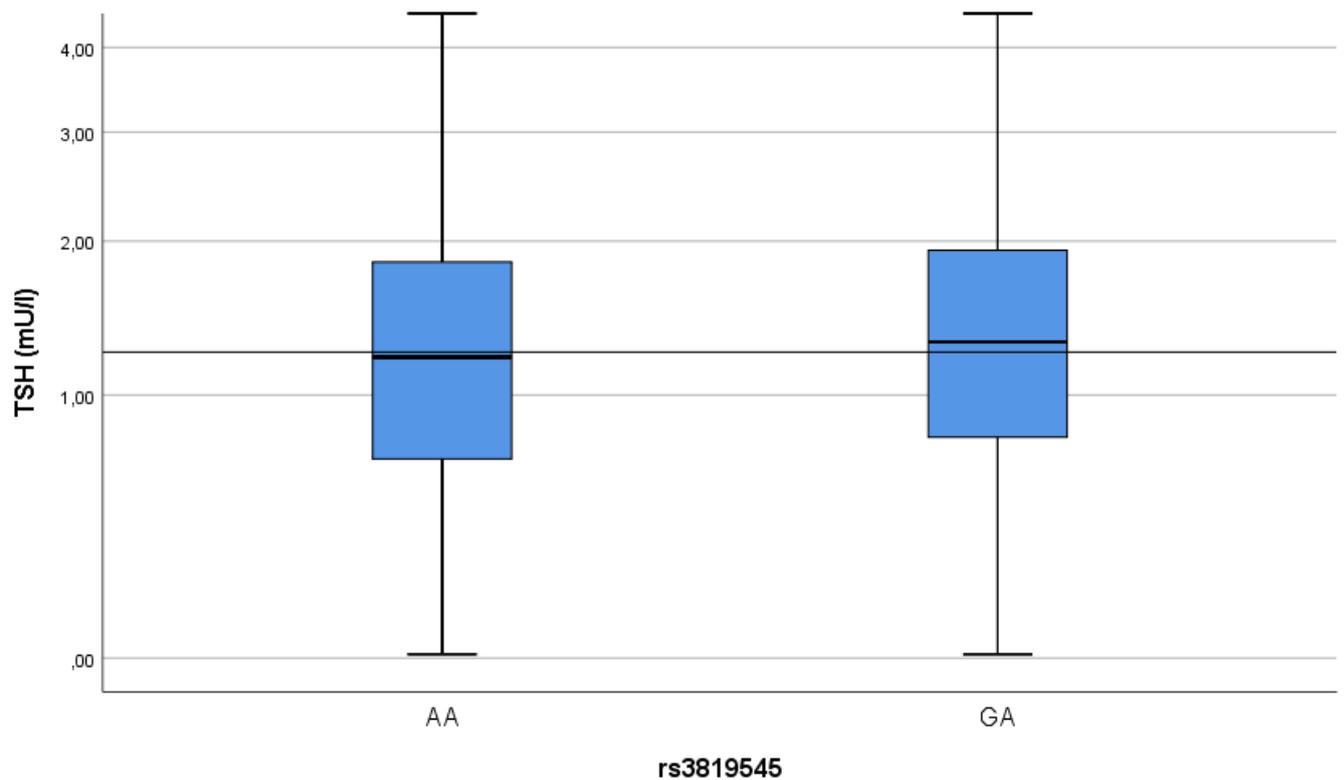


Abbildung 4: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation von TSH-Serumkonzentration und Genotyp AA und GA des VDR-SNPs rs3819545. Genotyp AA des SNPs ist mit signifikant niedrigen TSH-Serumwerten assoziiert. Waagerechte Linie: Median TSH der Gesamtkohorte (1,24 mU/l). Nicht dargestellt sind Ausreißer nach oben, die in die Analyse eingeschlossen wurden.

Tabelle 13: signifikante Assoziation von Genotyp (n: Anzahl der Probanden) und Schilddrüsenparameter T_3

SNP	Genotyp	Konz. Median T_3 (pmol/l)	$\Delta 1 T_3$ (pmol/l)	$\Delta 2 T_3$ (pmol/l)	p-Wert	Normwerte T_3 (pmol/l)	M_{T_3} Gesamtkollektiv
rs2239186	GG (n= 117)	4,50	0,3	- 0,3	0,006	3,4 - 7,2	4,80
	AA (n= 1646)	4,80		± 0			
rs2239186	GG (n= 117)	4,50	0,2	- 0,3	0,021		
	GA (n= 861)	4,70		- 0,1			

$\Delta 1 T_3$: Differenz der Mediane (T_3) der signifikanten Genotypen

$\Delta 2 T_3$: Differenz des Medians in Bezug auf den Median des Gesamtkollektivs (4,80 pmol/l). Das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt.

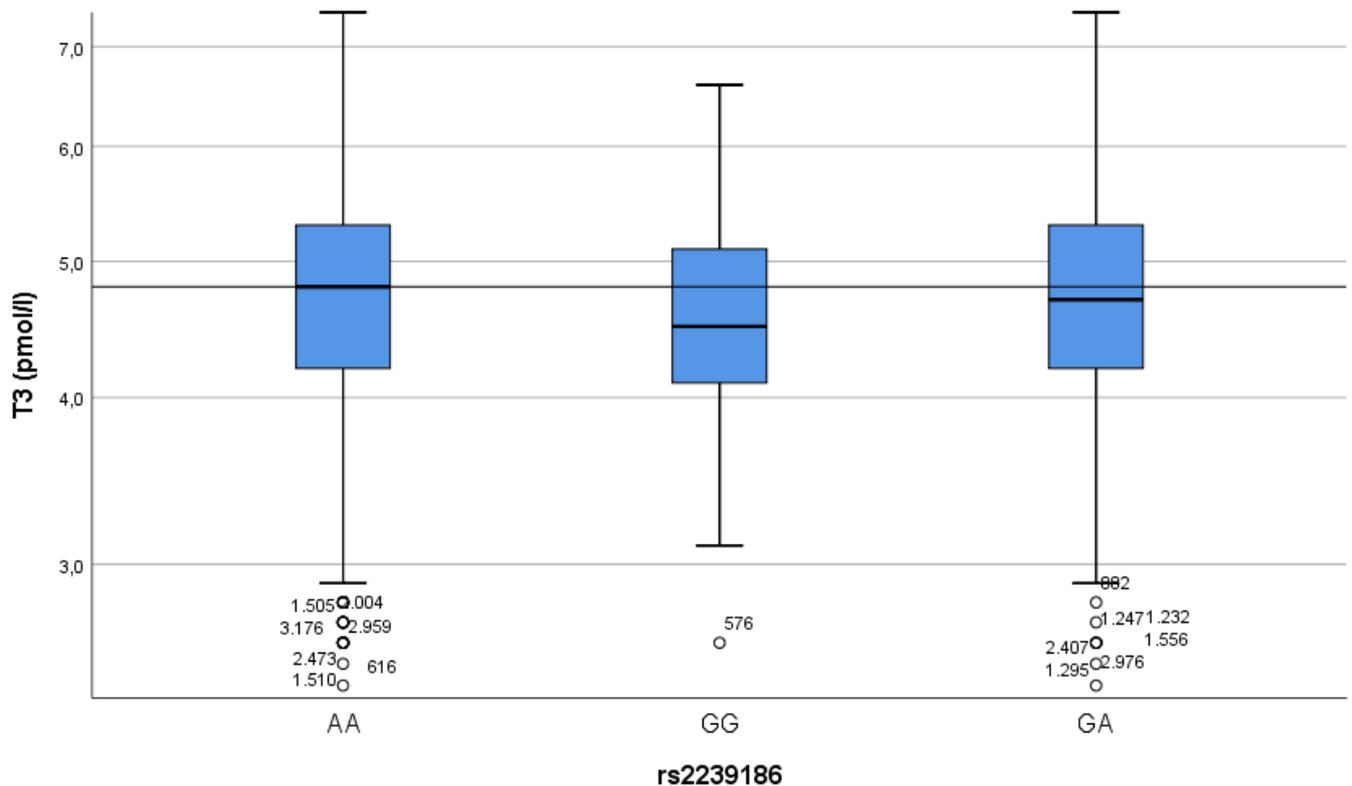


Abbildung 5: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der T₃-Serumkonzentration mit den Genotypen AA, GG und GA des VDR-SNPs 2239186. Genotyp GG ist mit niedrigeren T₃-Werten assoziiert im Vergleich zu Genotypen AA und GA. Waagerechte Linie: Median T₃ der Gesamtkohorte (4,80 pmol/l). Nicht alle Ausreißer nach oben und unten, die in die Untersuchung eingeschlossen wurden, sind dargestellt.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass Probanden mit Genotyp AA im VDR-SNP rs2239186 ein im Schnitt 0,03 mU/l niedrigeres TSH, jene mit dem Genotypen GG ein durchschnittlich 0,05 mU/l höheres TSH im Vergleich zum Gesamtdurchschnitt aller Studienteilnehmer (Median TSH: 1,24 mU/l) aufweisen. Analog zeigen Probanden mit dem Genotyp AA im SNP rs3819545 im Vergleich zum Durchschnitt der Gesamtkohorte ein 0,03 mU/l niedrigeres und solche mit dem Genotyp GA ein 0,06 mU/l höheres TSH auf.

Im Polymorphismus rs2239186 des VDR lässt sich erkennen, dass Probanden mit Genotyp GG ein 0,3 pmol/l niedrigeres, jene mit Genotyp GA ein 0,1 pmol/l niedrigeres T₃ zeigen, verglichen zum Median der Gesamtpopulation (Median T₃= 4,80 pmol/l). Studienteilnehmer mit Genotyp AA liegen genau im Durchschnitt.

4.2 Assoziation von Vitamin-D-Status und Schilddrüsenparametern TSH, T₃, T₄

Die folgende Tabelle (Tabelle 14) zeigt die Einteilung des Vitamin-D-Status in Gruppen für Vitamin-D-Mangel, -Insuffizienz sowie -Suffizienz, die sich an den, in der Einleitung beschriebenen Definitionen, orientiert. Zur Quantifizierung des Vitamin-D-Status wurde der Parameter 25-Hydroxyvitamin-D (25(OH)D) gewählt. Im Rahmen der deskriptiven Statistik zeigt die Tabelle Median, Mittelwert und Standardabweichung der Schilddrüsenparameter TSH, T₃ und T₄ in den verschiedenen Gruppen.

Tabelle 14: Median (M), Mittelwert (MW) sowie Standardabweichung (SD) für die Schilddrüsenparameter TSH, T₃, T₄ nach Vitamin-D-Status

25(OH)D im Blut	TSH (mU/l)			T ₃ (pmol/l)			T ₄ (pmol/l)		
	M	MW	SD	M	MW	SD	M	MW	SD
< 10 ng/ml	1,21	1,88	4,64	4,70	4,74	1,36	17,20	17,59	4,65
<20 ng/ml	1,23	1,73	4,54	4,80	4,82	1,32	17,20	17,63	4,05
> 20 ng/ml	1,25	1,66	2,98	4,80	4,91	1,44	17,20	17,51	3,16
20- 30 ng/ml	1,24	1,72	3,49	4,80	4,88	1,55	17,20	17,45	2,80
> 30 ng/ml	1,30	1,52	1,01	4,90	4,97	1,14	17,00	17,67	3,87
Gesamt	1,24	1,71	4,08	4,80	4,85	1,36	17,20	17,59	3,77

Inkludiert wurden alle Probanden, bei denen Messdaten zu den Parametern 25(OH)D, TSH, T₃ und T₄ vorlagen. Studienteilnehmer, bei denen einer der Angaben fehlte, wurden von der Untersuchung ausgeschlossen.

Untersuchung der Verteilung der Schilddrüsenparameter in den Vitamin-D-Status-Subgruppen (Kruskal-Wallis-Test)

Da die Serumwerte der untersuchten Schilddrüsenparameter in den jeweils nach 25(OH)D-Status, in Subgruppen mit Vitamin-D-Mangel, -Insuffizienz und -Suffizienz unterteilten Kollektiven keine Normalverteilung zeigten (Kolmogorov-Smirnov-Test), schlossen wir zur weiteren Analyse einen Kruskal-Wallis-Test an.

Tabelle 15: LURIC-Kollektiv (Kruskal-Wallis-Test). Keine signifikante Assoziation zwischen Vitamin-D-Status und Schilddrüsenhormon TSH

25(OH)D-Status (ng/ml)	N
< 20	2148
20 – 30	780
> 30	328
Gesamt	3256

Statistik für Test^{a,b}

	TSH
Kruskal-Wallis H	3,453
df	2
Asymptotische Signifikanz	,178

a. Kruskal-Wallis-Test

b. Gruppenvariable: 25(OH)D-Status

Die Prüfung des LURIC-Kollektivs auf einen möglichen Zusammenhang von Vitamin-D-Status und TSH-Serumwerten (Median) zeigte mit einem resultierenden p-Wert von 0,178 keine Assoziation, die das geforderte Signifikanzniveau ($p < 0.05$) erreichte (Tabelle 15). Bei Betrachtung der absoluten Größen zeigte sich lediglich ein Trend, der auf einen Zusammenhang von Vitamin-D-Mangel und niedrigen TSH-Serumwerten hinweisen könnte. Die Nullhypothese wurde beibehalten.

Tabelle 16: LURIC-Kollektiv: (Kruskal-Wallis-Test): Assoziation zwischen Vitamin-D-Status und Schilddrüsenhormon T₃

	25(OH)D-Status (ng/ml)	N
T ₃	< 20	1864
	20- 30	683
	> 30	296
	Gesamt	2843

Statistik für Test^{a,b}

	T ₃
Kruskal-Wallis H	10,141
df	2
Asymptotische Signifikanz	,006

a. Kruskal-Wallis-Test

b. Gruppenvariable: 25(OH)D-Status

Die Prüfung des LURIC-Kollektivs auf einen möglichen Zusammenhang von Vitamin-D-Status und T₃-Serumwerten (Median) zeigte mit einem resultierenden p-Wert von 0,006 eine Assoziation, die das geforderte Signifikanzniveau ($p < 0.05$) erreichte (Tabelle 16). Die Nullhypothese wird somit abgelehnt und die Alternativhypothese, „es besteht eine Assoziation zwischen Triiodthyronin und Vitamin-D-Status“, angenommen. Dabei zeigt sich, dass Probanden mit niedrigerem 25(OH)D-Serumspiegel mit niedrigeren T₃-Serumwerten assoziiert sind.

Tabelle 17: LURIC-Kollektiv: (Kruskal-Wallis-Test): Assoziation zwischen Vitamin-D-Status und T₄

	25(OH)D-Status (ng/ml)	N
T ₄	< 20	1863
	20- 30	683
	> 30	296
	Gesamt	2842

Statistik für Test^{a,b}

	T ₄
Kruskal-Wallis H	,096
df	2
Asymptotische Signifikanz	0,953

a. Kruskal-Wallis-Test

b. Gruppenvariable: 25(OH)-D-Status

Die Prüfung des LURIC-Kollektivs auf einen möglichen Zusammenhang von Vitamin-D-Status und T₄-Serumwerten (Median) zeigte mit einem resultierenden p-Wert von 0,953 keine Assoziation, die das geforderte Signifikanzniveau ($p < 0.05$) erreicht (Tabelle 17). Die Nullhypothese wurde somit beibehalten.

Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Vitamin-D-Status und T₃-Serumwerten (Mann-Whitney-U-Test)

Da sich im Kruskal-Wallis-Test zwischen den drei Vitamin-D-Status-Subgruppen signifikante Unterschiede in der Höhe der T₃-Serumwerte zeigten, erfolgte eine Analyse mittels Mann-Whitney-U-Test verglichen. Es zeigte sich eine signifikante Assoziation ($p = 0,004$) in der Höhe der T₃-Serumwerte beim Vergleich der beiden Gruppen von Probanden mit Vitamin-D-Mangel (25(OH)D-Serumwert < 20 ng/ml) und von Probanden mit suffizienten Vitamin-D-Serumspiegeln (25(OH)D-Serumwert > 30 ng/ml). Beim Vergleich der Gruppen von Probanden mit Vitamin-D-Mangel und von Probanden mit 25(OH)D-Serumspiegeln von 20–30 ng/ml ($p = 0,059$), sowie beim Vergleich letzterer Gruppe und Probanden mit hohen 25(OH)D-Serumspiegeln (> 30 ng/ml; $p = 0,201$) zeigte sich keine signifikante Assoziation mit den Serumwerten des Schilddrüsenparameters T₃. Folgende Abbildung und Tabelle zeigen die Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests.

Tabelle 18: LURIC-Kollektiv: Ergebnis des Mann-Whitney-U-Tests zur Untersuchung einer möglichen Assoziation der Serumwerte des Schilddrüsenhormons T_3 bei Probanden mit 25(OH)D-Serumwerten <20 ng/ml und >30 ng/ml

25(OH)D-Status (ng/ml)		N
T_3	< 20 ng/ml	1864
	> 30 ng/ml	296
	Gesamt	2160

Statistik für Test^a

T_3	
Mann-Whitney-U	246983,000
Wilcoxon-W	1985163,000
Z	-2,900
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,004

a. Gruppenvariable: 25(OH)D-Status

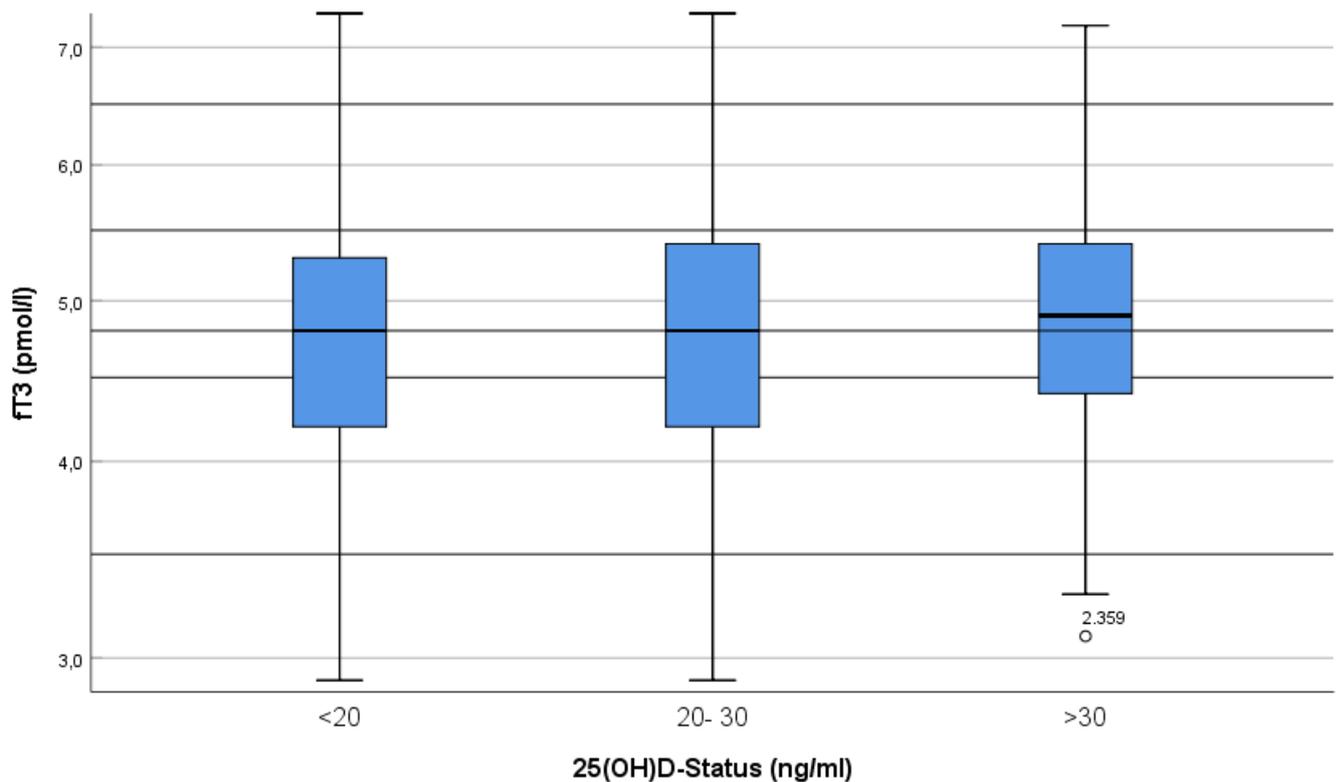


Abbildung 6: LURIC-Kollektiv: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der T_3 -Serumkonzentration und Vitamin-D-Status. Waagerechte Linie: Median des T_3 -Wertes der Gesamtkohorte (4,80 pmol/l). Die Probandengruppe mit 25(OH)D-Status < 20 ng/ml zeigt signifikant niedrigere T_3 -Serumspiegel als jene Probandengruppe mit 25(OH)D-Status > 30 ng/ml. Ausreißer nach oben, die in die Untersuchung eingeschlossen wurden, sind nicht dargestellt.

Das Ergebnis des Mann-Whitney-U-Tests gibt Hinweise auf etwaige Assoziationen von Vitamin-D-Status und Schilddrüsenparameter Triiodthyronin. Probanden mit Vitamin-D-Mangel zeigten einen durchschnittlich niedrigeren T₃-Spiegel (Median des T₃-Serumwerts: 4,80 pmol/l bei Probanden mit 25(OH)D-Serumwert < 20 ng/ml), als jene mit hohem Vitamin D-Spiegel (Median des T₃-Serumwerts: 4,90 pmol/l bei Probanden mit 25(OH)D-Serumwert > 30 ng/ml). Man kann also schlussfolgern, dass ein hoher Vitamin-D-Spiegel mit höheren Triiodthyronin-Blutwerten korreliert. (p=0,004).

Die folgende Tabelle zeigt zusammenfassend die signifikanten Ergebnisse der Untersuchung einer Assoziation zwischen Vitamin-D-Status und Schilddrüsenparameter Triiodthyronin.

Tabelle 19: signifikante Assoziation von Vitamin-D-Status (n beschreibt die Anzahl jener, dieser Gruppe zugehörigen, Probanden) und Schilddrüsenparameter T₃

25(OH)D-Status (ng/ml)	Konzentration T ₃ (Median pmol/l)	$\Delta 1$ T ₃ (pmol/l)	$\Delta 2$ T ₃ (pmol/l)	Median T ₃ Gesamtkollektiv	Normwerte T ₃ (pmol/l)	p-Wert (M-W-U-Test)
< 20	4,80	0,1	± 0	4,80	3,4 - 7,2	0,004
> 30	4,90		+ 0,1			

$\Delta 1$ T₃ beschreibt die Differenz der Mediane der Genotypen.

$\Delta 2$ T₃ zeigt die Differenz des jeweiligen Medians in Bezug auf den Median der (T₃: 4,80 pmol/l). Das Signifikanzniveau von p < 0,05 wurde festgelegt.

4.3 Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukleotid-Polymorphismen und Schilddrüsenparametern (TSH, T₃, T₄)

Diese Untersuchungen sollten weitere Hinweise dafür liefern, ob die von uns gefundenen Zusammenhänge zwischen VDR-Genotypen und bestimmten Schilddrüsenserumwerten lediglich Assoziationen darstellen oder kausal bedingt sind. Im Falle einer Kausalität sollten die Auswirkungen der einzelnen VDR-Genotypen, sofern deren Assoziation mit Schilddrüsenwerten auf VDR-vermittelten Wirkungen besteht, sich einheitlich zu den Auswirkungen des Vitamin-D-Status verhalten. Anders ausgedrückt: ist der Zusammenhang bestimmter VDR-Genotypen mit verschiedenen Schilddrüsenwerten immer übereinstimmend gleichgerichtet entweder mit den Auswirkungen eines hohen oder niedrigen Vitamin-D-Status auf die jeweiligen Schilddrüsenserumwerte assoziiert, ist dies mit Kausalität vereinbar. Die jetzt vorgenommenen Subgruppenanalysen sollten unter Berücksichtigung dieser Annahmen weitere Hinweise für oder gegen eine mögliche Kausalität der gefundenen Zusammenhänge liefern. Der Vitamin-D-Status wurde als 25(OH)D-Serumkonzentration berücksichtigt. Inkludiert wurden jene Polymorphismen, die initial eine signifikante Assoziation zu Schilddrüsenparameter TSH oder T₃ zeigten.

rs3819545: Für die Genotypen AA und GA des rs3819545 wurden Subgruppen mit niedrigen (<20/<10 ng/ml) und hohen (>20/ > 10 ng/ml) 25(OH)D-Status gebildet. Danach erfolgte die Untersuchung des Merkmals „TSH-Serumwert“ auf Normalverteilung. Da sich im Kolmogorov-Smirnov-Test eine Nicht-Normalverteilung der Daten zeigte wurde ein Mann-Whitney-U-Test zur Prüfung von möglichen Assoziationen dieser Subgruppen mit dem Schilddrüsenparameter TSH angeschlossen (Tabelle 20).

Tabelle 20: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukleotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter TSH (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test)

SNP	Subgruppen	Konzentration TSH (Median, mU/l)	$\Delta 1$ TSH (mU/l)	$\Delta 2$ TSH (mU/l)	p- Wert (M-W-U-Test)
rs3819545	AA + 25(OH)D \leq 20 (n= 746)	1,17	0,1	- 0,07	0,013
	GA + 25(OH)D > 20 (n= 468)	1,27		+ 0,03	
rs3819545	AA + 25(OH)D \leq 10 (n= 298)	1,17	0,13	-0,07	0,034
	GA + 25(OH)D > 10 (n=1062)	1,30		+0,06	

$\Delta 1$ TSH: Differenz der Mediane zwischen den Gruppen.

$\Delta 2$ TSH: Differenz des jeweiligen Medians in Bezug auf den Median aller gemessenen TSH-Werte (1,24 mU/l). Das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt. Signifikante Ergebnisse sind fett gedruckt.

Tabelle 21: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukleotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter TSH (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test).

SNP	Subgruppen	Konzentration TSH (Median, mU/l)	$\Delta 1$ TSH (mU/l)	$\Delta 2$ TSH (mU/l)	p- Wert (M-W-U-Test)
rs3819545	AA + 25(OH)D > 20 (n= 366)	1,31	0,01	+ 0,07	0,839
	GA + 25(OH)D \leq 20 (n= 940)	1,30		+0,06	
rs3819545	AA +25(OH) D > 10 (n= 814)	1,22	0,05	-0,02	0,226
	GA + 25(OH)D \leq 10 (n=346)	1,27		+0,03	

$\Delta 1$ TSH beschreibt die Differenz der Mediane zwischen den Gruppen.

$\Delta 2$ TSH: Differenz des jeweiligen Medians in Bezug auf den Median aller gemessenen TSH-Werte (1,24 mU/l). Das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt.

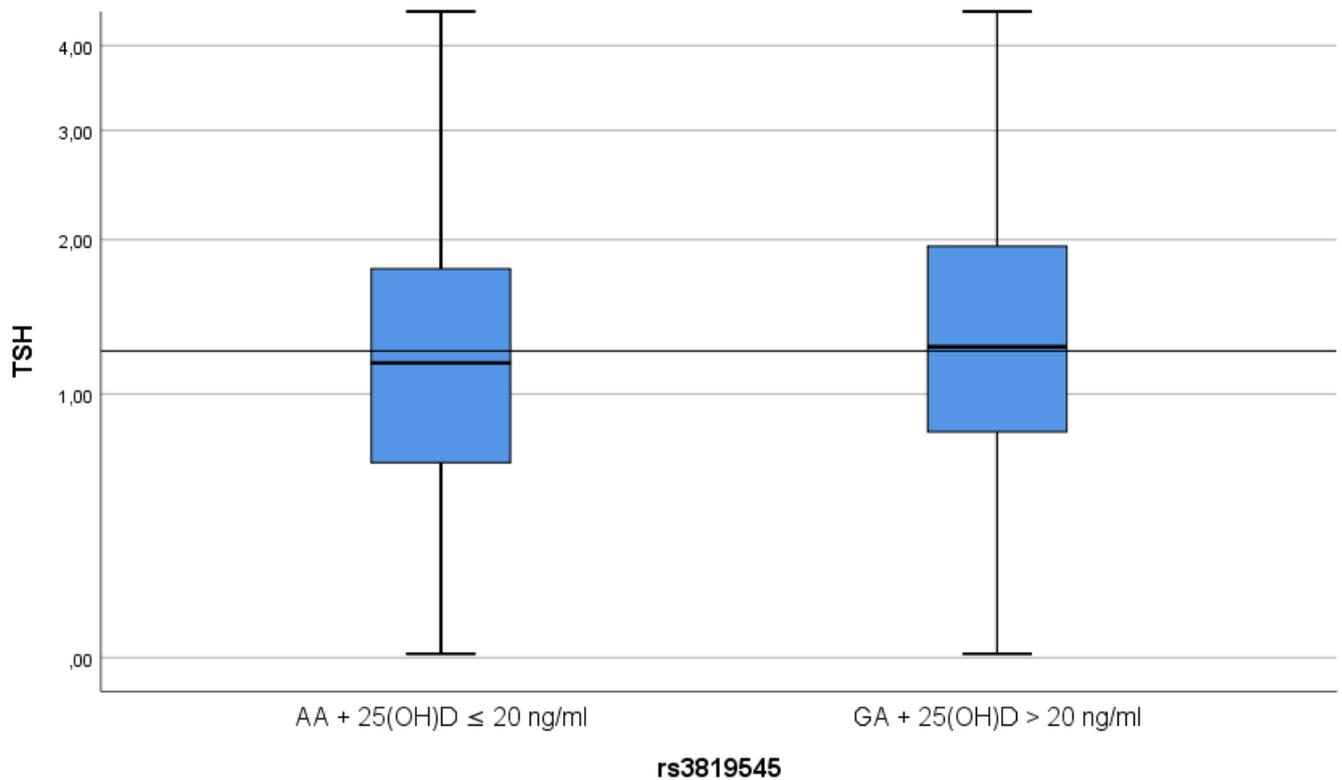


Abbildung 7: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der TSH-Serumkonzentration mit den Genotypen AA und GA des VDR-SNPs rs3819545 unter Berücksichtigung des 25(OH)D-Status. Waagerechte Linie: Median TSH der Gesamtkohorte. Ausreißer nach oben, die in die Analyse eingeschlossen wurden, sind nicht abgebildet.

Es besteht eine signifikante Assoziation von Genotyp AA und GA im rs3819545, wobei Genotyp AA mit niedrigen TSH-Werten korreliert (Median TSH= 1,21 mU/l). In der Subgruppenanalyse, bei der jene Probanden mit Genotyp AA und Vitamin-D-Mangel, verglichen mit Probanden des Genotyps GA und hohen 25(OH)D-Spiegeln, untersucht werden, bleibt die signifikante Assoziation bestehen ($p= 0,013$; $p=0,034$). Es zeigt sich, dass Genotyp und Vitamin-D-Mangel gleichgerichtet zu einem Absinken, Genotyp und ein suffizienter Vitamin-D-Status gleichgerichtet zu einem Anstieg des Schilddrüsenhormons TSH führen (Tabelle 20).

Tabelle 21 zeigt die Untersuchung von Probanden mittels Mann-Whitney-U-Test mit Genotyp AA und hohen Vitamin-D-, verglichen mit Probanden des Genotyps GA und insuffizienten 25(OH)-Level. Wie zu erwarten bleibt hier die signifikante Assoziation nicht bestehen. Die Korrelation von Genotyp AA und niedrigen TSH-Werten wird durch einen hohen Vitamin-D-Spiegel ausgeglichen. Graphisch dargestellt sind die Ergebnisse mittels Boxplot in Abbildung 7. Die Untersuchung stützt die Hypothese der Beeinflussung des hormonellen Systems der Schilddrüse durch das Vitamin-D-System.

rs2239186: Analog wurde mit diesem Polymorphismus verfahren, der signifikante Assoziationen von Genotyp und Schilddrüsenparameter TSH aufwies.

Tabelle 22: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukleotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter TSH (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test).

SNP	Subgruppen	Konzentration TSH (Median, mU/l)	$\Delta 1$ TSH (mU/l)	$\Delta 2$ TSH (mU/l)	p- Wert (M-W-U-Test)
rs2239186	AA + D \leq 20 (n= 1261)	1,19	0,23	- 0,05	0,066
	GG + D > 20 (n= 51)	1,42		+ 0,18	
rs2239186	AA + D \leq 10 (n= 502)	1,16	0,29	- 0,08	0,009
	GG + D > 10 (n= 97)	1,45		+ 0,21	

$\Delta 1$ TSH: Differenz der Mediane zwischen den Gruppen.

$\Delta 2$ TSH: Differenz des jeweiligen Medians in Bezug auf den Median aller gemessenen TSH-Werte (1,24 mU/l). Das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt. Signifikante Ergebnisse sind fett gedruckt.

Tabelle 23: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukleotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter TSH (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test).

SNP	Subgruppen	Konzentration TSH (Median, mU/l)	$\Delta 1$ TSH (mU/l)	$\Delta 2$ TSH (mU/l)	p- Wert (M-W-U-Test)
rs2239186	AA + D > 20 (n=616)	1,25	0,01	+ 0,01	0,329
	GG + D \leq 20 (n= 80)	1,26		+ 0,02	
rs2239186	AA + D > 10 (n=1375)	1,22	0,06	- 0,02	0,996
	GG + D \leq 10 (n= 34)	1,16		- 0,08	

$\Delta 1$ TSH: Differenz der Mediane zwischen den Gruppen.

$\Delta 2$ TSH: Differenz des jeweiligen Medians in Bezug auf den Median aller gemessenen TSH-Werte (1,24 mU/l). Das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt.

Auch im Einzelnukleotid-Polymorphismus rs2239186 ist Genotyp AA assoziiert mit niedrigen (Median TSH= 1,21 mU/l) und Genotyp GG mit höheren (Median TSH=1,29 mU/l) TSH-Serumspiegeln.

In Subgruppenanalysen konnten wir ein weiteres Absinken von TSH bei Probanden des Genotyps AA und Vitamin-D-Mangel eruieren. Probanden mit Genotyp GG und hohen Vitamin-D-Spiegeln zeigten einen Anstieg im Schilddrüsenparameter. Bei der Untersuchung mittels Mann-Whitney-U-Test konnte in der Gruppe, erstellt nach 25(OH)-D-Status \leq / $>$ 10 ng/ml, eine signifikante Assoziation gezeigt werden ($p=0,009$) (Tabelle 22). Im Umkehrschluss konnte keine signifikante Assoziation gezeigt werden beim Vergleich von Gruppen mit Genotyp, assoziiert mit niedrigen TSH-Werten und hohem Vitamin-D-Status, respektive Genotyp, assoziiert mit hohen TSH- und niedrigen 25(OH)D-Serumspiegeln (Tabelle 23). Abbildung 8 zeigt die Ergebnisse, dargestellt graphisch mittels Boxplot. Auch diese Untersuchung liefert Hinweise auf eine gleichgerichtete Beeinflussung von Genotyp und Vitamin-D-Status auf den Schilddrüsenparameter TSH und stützt somit unsere Hypothese einer Beeinflussung des Schilddrüsen- durch das Vitamin-D-System.

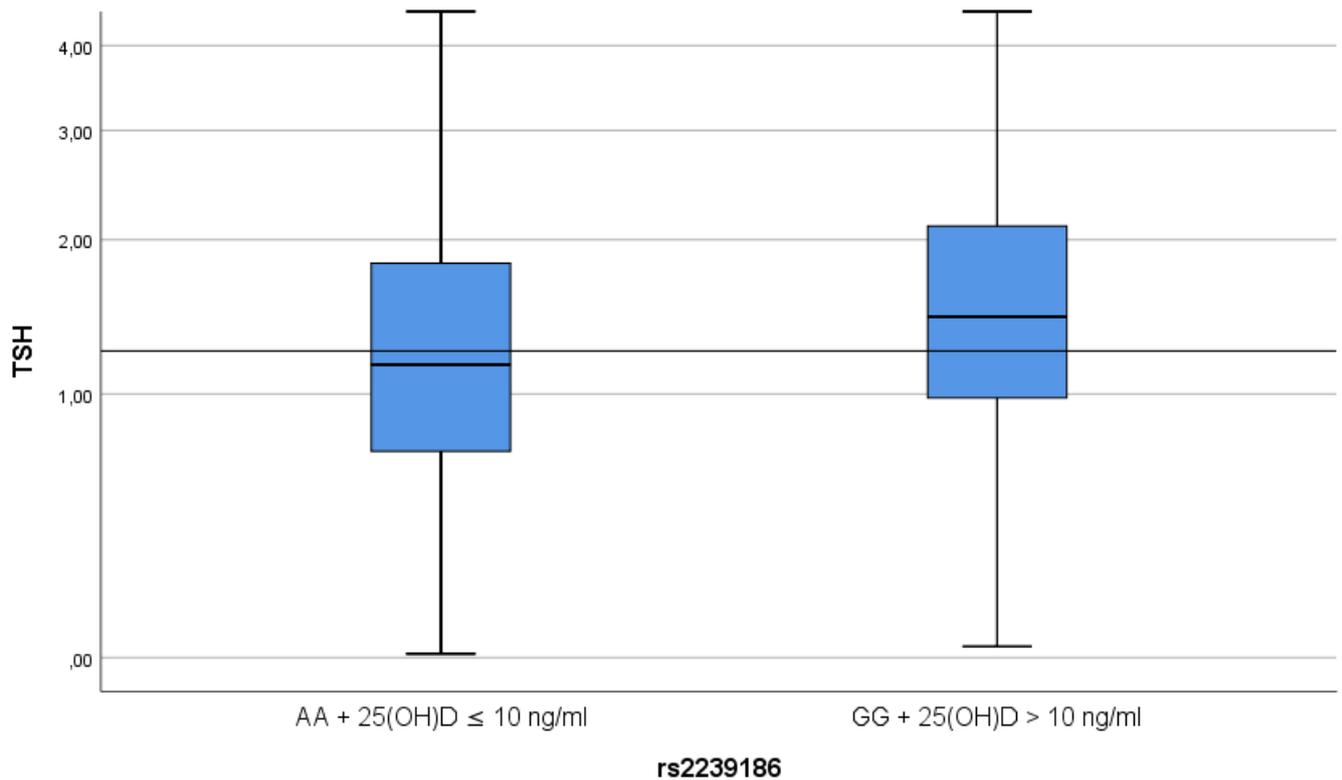


Abbildung 8: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der TSH-Serumkonzentration mit den Genotypen AA und GG des VDR-SNPs rs2239186 unter Berücksichtigung des 25(OH)D-Status. waagerechte Linie: Median TSH der Gesamtkohorte. Ausreißer nach oben, die in die Analyse eingeschlossen wurden, sind nicht dargestellt.

rs2239186: Analog wurde mit Einzelnukleotid-Polymorphismus rs2239186 verfahren, der signifikante Assoziationen zu Schilddrüsenparameter T_3 aufwies.

Tabelle 24: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukleotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter T_3 (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test).

SNP	Subgruppen	Konzentration T_3 (Median, pmol/l)	$\Delta 1 T_3$ (pmol/l)	$\Delta 2 T_3$ (pmol/l)	p- Wert (M-W-U-Test)
rs2239186	GG + D \leq 20 (n= 70)	4,45	0,35	- 0,35	0,007
	(GA+AA) + D > 20 (n= 844)	4,80		\pm 0,0	
rs2239186	GG + D \leq 10 (n= 31)	4,50	0,30	- 0,30	0,257
	(GA+AA) + D > 10 (n= 1848)	4,80		\pm 0,0	

$\Delta 1 T_3$: Differenz der Mediane zwischen den Gruppen (%).

$\Delta 2 T_3$: Differenz des jeweiligen Medians in Bezug auf den Median aller gemessenen T_3 -Werte (4,80 pmol/l). Das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt. Signifikante Ergebnisse sind fett gedruckt.

Tabelle 25: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukleotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter T_3 (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test).

SNP	Subgruppen	Konzentration T_3 (Median, pmol/l)	$\Delta 1 T_3$ (pmol/l)	$\Delta 2 T_3$ (pmol/l)	p-Wert (M-W-U-Test)
rs2239186	GG + D > 20 (n= 45)	4,60	0,10	- 0,2	0,179
	(GA+AA) + D ≤ 20 (n= 1652)	4,70		- 0,1	
rs2239186	GG + D > 10 (n= 84)	4,45	0,25	- 0,35	0,171
	(GA+AA) + D ≤ 10 (n= 648)	4,70		- 0,1	

$\Delta 1 T_3$: Differenz der Mediane zwischen den Gruppen.

$\Delta 2 T_3$: Differenz des jeweiligen Medians in Bezug auf den Median aller gemessenen T_3 -Werte (4,80 pmol/l). Das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt.

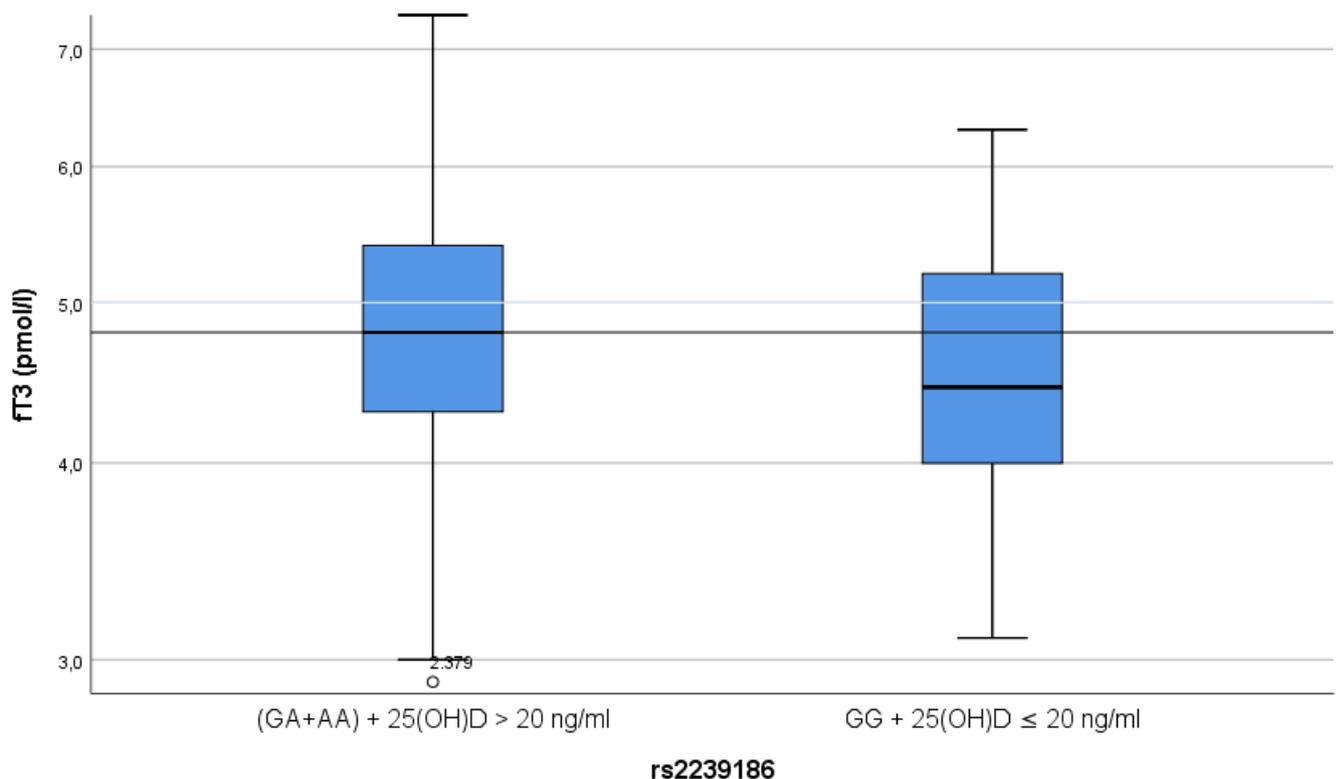


Abbildung 9: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der T_3 -Serumkonzentration mit den Genotypen GA, AA und GG des VDR-SNPs rs2239186 unter Berücksichtigung des 25(OH)D-Status. Waagerechte Linie: Median T_3 der Gesamtkohorte. Nicht alle Ausreißer nach oben und unten, die in die Analyse eingeschlossen wurden, sind abgebildet.

Einzelnukleotid-Polymorphismus rs2239186 zeigt ebenfalls Assoziation zu Schilddrüsenparameter Triiodthyronin, wobei Genotyp GG mit signifikant niedrigeren T₃-Werten (Median T₃= 4,50 pmol/l) im Vergleich zu Genotyp GA (Median T₃= 4,70 pmol/l) und AA (Median T₃= 4,80 pmol/l) assoziiert ist. Ein Vitamin-D-Mangel zeigte Assoziation zu niedrigem T₃-Serumspiegel.

In Subgruppenanalysen konnten wir ein weiteres Absinken von T₃ bei Probanden des Genotyps GG und Vitamin-D-Mangel eruieren. Probanden mit Genotyp GA und AA sowie hohen Vitamin-D-Spiegeln zeigten keine Veränderung im Parameter Triiodthyronin. Bei der Untersuchung mittels Mann-Whitney-U-Test konnte in der Gruppe, erstellt nach 25(OH)-D-Status \leq /> 20 ng/ml, eine signifikante Assoziation zwischen den Gruppen gezeigt werden ($p=0,007$) (Tabelle 24). Im Umkehrschluss konnte keine signifikante Assoziation gezeigt werden beim Vergleich von Gruppen mit Genotyp, assoziiert mit niedrigen T₃-Werten und hohem Vitamin-D-Status, respektive Genotypen, assoziiert mit hohen T₃- und niedrigen 25(OH)D-Serumspiegeln (Tabelle 25). Abbildung 9 veranschaulicht dies graphisch. Es zeigen sich auch hier gleichgerichtete Effekte von Vitamin-D-Status und VDR-Genotyp, welche unsere Hypothese einer Kausalität dieser Hormonsysteme stützt.

Folgende Tabellen 26/27 zeigen alle Schilddrüsenwerte in den, je nach Vitamin-D-Status erstellten, Gruppen.

Tabelle 26: signifikanter VDR-SNP rs2239186 im Kruskal-Wallis-Test, Genotyp, Schilddrüsenparameter TSH, T₃, T₄, in den nach 25(OH)D-Status erstellten Gruppen

Tabelle 27: signifikanter VDR-SNP rs3819545 im Kruskal-Wallis-Test, Genotyp, Schilddrüsenparameter TSH, T₃, T₄, in den nach 25(OH)D-Status erstellten Gruppen

SNP	GT	25(OH)D-Status					TSH (mU/l)		ρ	T ₃ (pmol/l)		ρ	T ₄ (pmol/l)		ρ
		alle	≤ 10 ng/ml	≤ 20 ng/ml	> 10ng/ml	>20 ng/ml	Med	Δ Med		Med	Δ Med		Med	Δ Med	
							(Med(ges)-			(Med(ges)-			(Med(ges)-		
							Med(SNP)			Med(SNP)			Med(SNP)		
rs2239186	alle	+				1,24		0,045	4,80		0,021	17,20		0,394	
	alle	⊗	+			1,22	0,02		4,70	0,1		17,20	0,0		
	alle	⊗	⊗	+		1,24	0,0		4,80	0,0		17,20	0,0		
	alle	⊗	⊗	⊗	+	1,23	0,01		4,80	0,0		17,20	0,0		
	alle	⊗	⊗	⊗	⊗	+	1,22		0,02	4,80		0,0	17,20		0,0
	AA	+				1,21	0,03		4,80	0,0		17,30	-0,1		
	AA	⊗	+			1,16	0,08		4,70	0,1		17,10	0,1		
	AA	⊗	⊗	+		1,19	0,05		4,80	0,0		17,30	-0,1		
	AA	⊗	⊗	⊗	+	1,22	0,02		4,80	0,0		17,30	-0,1		
	AA	⊗	⊗	⊗	⊗	+	1,25		-0,01	4,80		0,0	17,10		0,1
	GA	+				1,28	-0,04		4,70	0,1		17,00	0,2		
	GA	⊗	+			1,28	-0,04		4,80	0,0		16,90	0,3		
	GA	⊗	⊗	+		1,30	-0,06		4,70	0,1		17,00	0,2		
	GA	⊗	⊗	⊗	+	1,29	-0,05		4,80	0,0		17,10	0,1		
	GA	⊗	⊗	⊗	⊗	+	1,24		0,0	4,80		0,0	17,10		0,1
	GG	+				1,29	-0,05		4,50	0,3		16,70	0,5		
	GG	⊗	+			1,15	0,09		4,50	0,3		17,50	-0,3		
	GG	⊗	⊗	+		1,26	-0,02		4,45	0,35		16,70	0,5		
	GG	⊗	⊗	⊗	+	1,45	-0,19		4,45	0,35		16,60	0,6		
	GG	⊗	⊗	⊗	⊗	+	1,42		-0,16	4,60		0,2	16,70		0,5

SNP	GT	25(OH)D-Status					TSH (mU/l)		p	T3 (pmol/l)		p	T4 (pmol/l)		p
		alle	≤ 10 ng/ml	≤ 20 ng/ml	> 10ng/ml	>20 ng/ml	Med	Δ Med		Med	Δ Med		Med	Δ Med	
							(Med(ges)-			(Med(ges)-			(Med(ges)-		
							Med(SNP)			Med (SNP)			Med (SNP)		
rs3819545	alle	+				1,24		0,033	4,80		0,640	17,20		0,700	
	alle	⊗	+			1,24	0,0		4,80	0,0		17,20	0,0		
	alle	⊗	⊗	+		1,24	0,0	4,80	0,0	17,10	0,1				
	alle	⊗	⊗	⊗	+	1,24	0,0	4,80	0,0	17,20	0,0				
	alle	⊗	⊗	⊗	⊗	+	1,24	0,0	4,80	0,0	17,20	0,0			
	AA	+				1,21	0,03	4,80	0,0	17,20	0,0				
	AA	⊗	+			1,17	0,07	4,70	0,1	16,90	0,3				
	AA	⊗	⊗	+		1,17	0,07	4,80	0,0	17,30	-0,1				
	AA	⊗	⊗	⊗	+	1,22	0,02	4,80	0,0	17,30	-0,1				
	AA	⊗	⊗	⊗	⊗	+	1,31	-0,07	4,80	0,0	16,90	0,3			
	GA	+				1,30	-0,06	4,70	0,1	17,20	0,0				
	GA	⊗	+			1,27	-0,03	4,70	0,1	17,20	0,0				
	GA	⊗	⊗	+		1,30	-0,06	4,70	0,1	17,20	0,0				
	GA	⊗	⊗	⊗	+	1,30	-0,06	4,80	0,0	17,10	0,1				
	GA	⊗	⊗	⊗	⊗	+	1,27	-0,03	4,80	0,0	17,10	0,1			
	GG	+				1,18	0,06	4,70	0,1	17,10	0,1				
	GG	⊗	+			1,12	0,12	4,70	0,1	17,00	0,2				
	GG	⊗	⊗	+		1,17	0,07	4,70	0,1	16,70	0,5				
	GG	⊗	⊗	⊗	+	1,22	0,02	4,70	0,1	17,10	0,1				
	GG	⊗	⊗	⊗	⊗	+	1,19	0,05	4,80	0,0	16,70	0,5			

4.4 Assoziation von Einzelnukleotid-Polymorphismen und Vitamin-D-Status

Da für alle 36 VDR-Polymorphismen und deren Genotypen die Werte des Vitamin-D-Status nicht normalverteilt vorlagen, wurde ein Kruskal-Wallis-Test angeschlossen. Signifikante Assoziationen zeigten sich für VDR-Polymorphismus rs3782905 und 25(OH)D-Status ($p=0,031$) sowie VDR-Polymorphismus rs2408876 mit dem Serumwert für 1,25-Dihydroxyvitamin-D ($p=0,05$).

Folgende Tabelle gibt zunächst eine Übersicht über die 36 untersuchten Polymorphismen, die Mediane der 25(OH)D-Serumkonzentrationen des jeweiligen Genotyps, sowie die mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests ermittelten p-Werte (Tabelle 28).

Tabelle 28: VDR-SNPs, Genotypen, Median 25(OH)D-Serumlevel. Inkludiert wurden alle Probanden, bei denen sowohl Genotyp als auch 25(OH)D-Status vorlagen (Kruskal-Wallis-Test, Signifikanzniveau $p < 0,05$, signifikante Assoziationen fett gedruckt)

SNP	Genotyp + Median 25(OH)D (ng/ml)						p-Wert
	Genotyp	Median	Genotyp	Median	Genotyp	Median	
rs11574143	CC	15,50	TC	15,40	TT	15,35	0,919
rs11574129	AA	15,50	GA	14,15			0,345
rs38477987	CC	15,50	CA	15,45	AA	14,70	0,512
rs1544410	CC	15,15	TC	15,70	TT	15,60	0,396
rs2239185	GG	15,60	AA	15,60	GA	15,40	0,883
rs11574085	TA	15,65	TT	15,50	AA	18,65	0,932
rs11168268	GG	15,70	AA	15,70	GA	15,30	0,629
rs2238140	GG	15,30	AA	15,60	GA	15,50	0,761
rs11574079	CC	15,50	TC	10,30			0,136
rs2248098	AA	15,30	GG	15,60	GA	15,50	0,790
rs12370156	CC	15,60	TT	15,60	TC	15,50	0,939
rs2239182	CT	15,40	CC	15,85	TT	15,40	0,950
rs2107301	GG	15,65	GA	15,40	AA	15,10	0,985
rs2239181	AA	15,60	CA	15,10	CC	13,50	0,254
rs1540339	CC	15,60	TC	15,20	TT	16,20	0,521
rs2239179	TT	15,30	TC	15,50	CC	15,90	0,639
rs12717991	CC	15,50	TC	15,50	TT	15,80	0,568
rs2189480	GG	15,50	GT	15,50	TT	15,55	0,725
rs3819545	AA	15,50	GA	15,60	GG	15,40	0,719
rs3782905	GG	15,30	GC	16,00	CC	14,80	0,031
rs2239186	AA	15,30	GG	16,40	GA	15,90	0,062
rs10735810	GA	15,50	GG	15,30	AA	16,10	0,397
rs2408876	CC	15,90	TT	16,00	TC	15,10	0,078
rs2238136	CC	15,30	TC	15,90	TT	15,15	0,895
rs1989969	GG	15,80	AA	14,90	GA	15,50	0,549
rs2238135	GC	15,90	GG	15,30	CC	14,70	0,598
rs4760648	CC	15,20	TC	15,85	TT	15,65	0,820
rs11168287	GA	15,60	GG	15,65	AA	15,20	0,847
rs4334089	GG	15,60	GA	15,50	AA	15,20	0,652
rs3890733	CC	15,35	TC	15,90	TT	14,90	0,523
rs10783219	TT	15,55	AA	15,30	TA	15,70	0,836
rs4516035	TT	15,35	TC	15,60	CC	15,50	0,960
rs7139166	CC	15,35	GC	15,60	GG	15,50	0,979
rs2228570	GG	15,10	GA	15,20	AA	16,05	0,212
rs731236	AA	15,10	GA	15,45	GG	15,50	0,405
rs7975232	CC	15,45	CA	15,10	AA	15,50	0,983

Für den Polymorphismus rs3782905, der das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ erreichte, wurde ein Mann-Whitney-U-Test für paarweise Vergleiche angeschlossen. Das Ergebnis dieses Tests zeigte einen signifikanten Unterschied in der Höhe des 25(OH)D-Blutspiegels bei Probanden mit dem Genotyp GC verglichen mit Probanden mit dem Genotyp CC ($p = 0,014$). Keine signifikante Assoziation wurde ersichtlich beim Vergleich der Genotypen GG und GC ($p = 0,089$) sowie der Genotypen GG und CC ($p = 0,158$). Tabelle 29 und Abbildung 10 fassen die signifikanten Ergebnisse übersichtlich zusammen.

Tabelle 29: LURIC-Kollektiv: signifikante Assoziation der VDR-Genotypen GG und GC (n: Anzahl der Probanden) des rs3782905 und 25(OH)D-Serumspiegel

SNP	Genotyp	Konzentration 25(OH)D (Median, ng/ml)	$\Delta 1$ 25(OH)D (ng/ml)	$\Delta 2$ 25(OH)D (ng/ml)	p	Median Gesamtkollektiv (ng/ml)
rs3782905	GC (n= 1305) CC (n= 293)	16,00 14,80	1,2	+ 0,5 - 0,7	0,014	15,50

$\Delta 1$ 25(OH)D beschreibt die Differenz der Mediane der Genotypen.

$\Delta 2$ 25(OH)D zeigt die Differenz des jeweiligen Medians in Bezug auf den Median aller gemessenen 25(OH)D-Werte (15,5 ng/ml). Das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt.

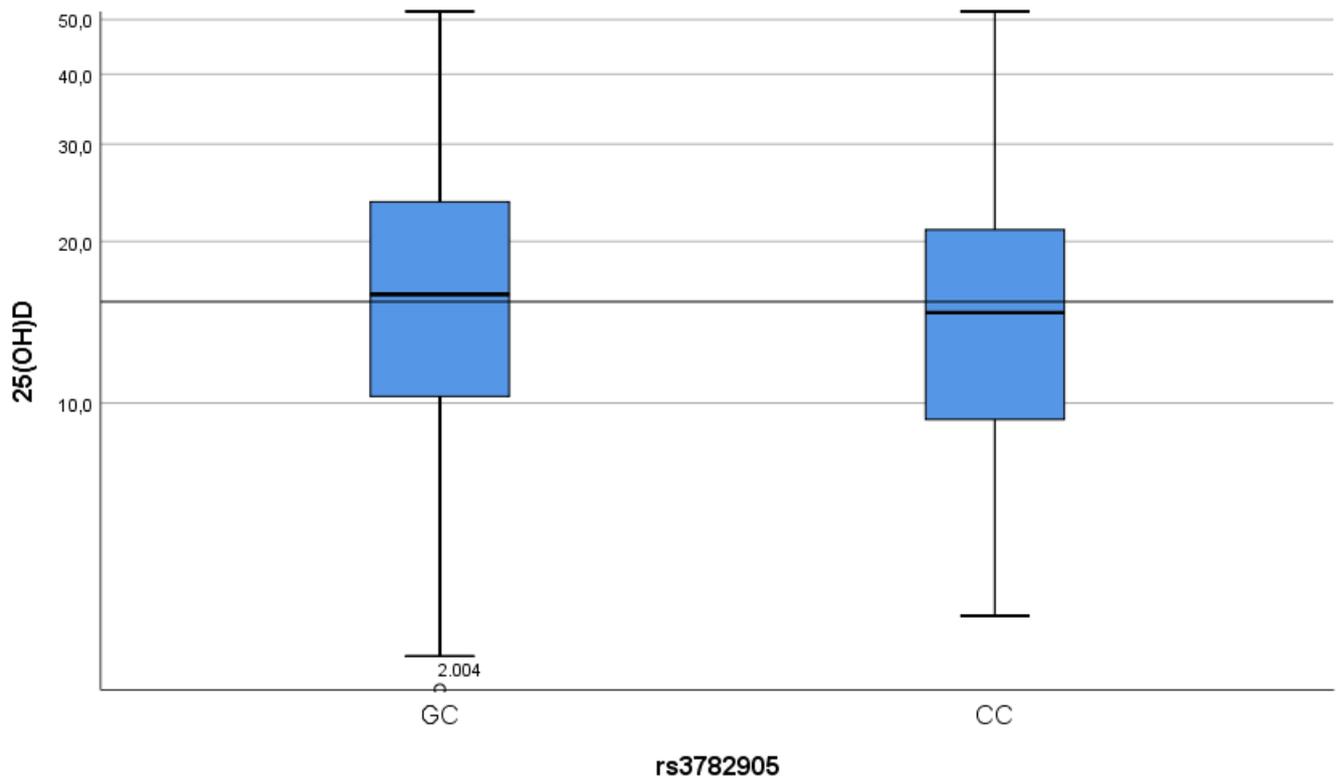


Abbildung 10: LURIC-Kollektiv: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der 25(OH)D-Serumkonzentration in ng/ml mit den Genotypen GC und CC des VDR-SNPs rs3782905. Waagerechte Linie zeigt den Median des Parameters 25(OH)D der Gesamtkohorte (15,50 ng/ml). Nicht alle Ausreißer nach oben und unten, die in die Analyse inkludiert wurden, sind dargestellt.

Man kann schlussfolgern, dass Probanden des Genotyps CC im Polymorphismus rs3782905 über einen durchschnittlich niedrigeren 25(OH)D-Blutspiegel von 14,80 ng/ml verfügen, verglichen zu jenen des Genotyps GC (Median 25(OH)D= 16,00 ng/ml). Die Differenz jedoch ist mit 1,20 ng/ml relativ gering.

Analog zeigte folgende Tabelle 30 eine Übersicht über die 36 untersuchten Polymorphismen, die für jeden Genotypen bestimmten Mediane der 1,25(OH)₂D-Konzentration und die mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests ermittelten p-Werte.

Tabelle 30: VDR-SNPs, Genotypen, Median 1,25-OH₂D-Serumlevel. Inkludiert wurden alle Probanden, bei denen sowohl Genotyp als auch 1,25(OH)₂D-Status vorlagen (Kruskal-Wallis-Test, Signifikanzniveau p<0,05, signifikante Assoziationen sind fett gedruckt)

SNP	Genotyp + Median 1,25(OH) ₂ D (ng/l)					p-Wert	
rs11574143	CC	33,10	TC	32,70	TT	37,15	0,553
rs11574129	AA	33,10	GA	31,90			0,627
rs38477987	CC	33,10	CA	32,70	AA	36,00	0,577
rs1544410	CC	32,40	TC	33,20	TT	34,50	0,230
rs2239185	GG	32,20	AA	33,80	GA	33,20	0,438
rs11574085	TA	33,00	TT	33,10	AA	30,35	0,789
rs11168268	GG	32,40	AA	33,90	GA	32,85	0,334
rs2238140	GG	32,35	AA	33,80	GA	33,20	0,449
rs11574079	CC	33,10	TC	32,75			0,900
rs2248098	AA	32,40	GG	33,85	GA	33,10	0,487
rs12370156	CC	32,40	TT	33,70	TC	33,25	0,769
rs2239182	CT	32,95	CC	33,60	TT	32,80	0,905
rs2107301	GG	33,00	GA	33,45	AA	31,65	0,199
rs2239181	AA	33,30	CA	32,40	CC	28,85	0,224
rs1540339	CC	33,20	TC	33,30	TT	31,60	0,249
rs2239179	TT	32,45	TC	33,00	CC	34,50	0,223
rs12717991	CC	33,25	TC	33,30	TT	31,40	0,174
rs2189480	GG	33,20	GT	32,90	TT	33,25	0,951
rs3819545	AA	33,20	GA	33,20	GG	32,20	0,417
rs3782905	GG	32,70	GC	33,30	CC	33,70	0,482
rs2239186	AA	33,00	GG	32,80	GA	33,25	0,368
rs10735810	GA	33,30	GG	33,10	AA	32,50	0,419
rs2408876	CC	34,45	TT	32,80	TC	32,75	0,050
rs2238136	CC	33,30	TC	33,10	TT	30,80	0,112
rs1989969	GG	33,10	AA	31,80	GA	33,50	0,111
rs2238135	GC	33,00	GG	33,20	CC	30,90	0,064
rs4760648	CC	32,50	TC	33,30	TT	33,20	0,119
rs11168287	GA	33,20	GG	33,00	AA	33,00	0,592
rs4334089	GG	32,80	GA	33,30	AA	33,00	0,237
rs3890733	CC	33,20	TC	33,10	TT	32,60	0,753
rs10783219	TT	33,50	AA	33,20	TA	33,00	0,307
rs4516035	TT	33,30	TC	33,00	CC	33,00	0,977
rs7139166	CC	33,30	GC	32,80	GG	33,40	0,789
rs2228570	GG	33,20	GA	33,00	AA	32,75	0,628
rs731236	AA	32,40	GA	33,10	GG	34,30	0,377
rs7975232	CC	32,15	CA	33,00	AA	33,90	0,483

Auch an dieser Stelle wurde für den Polymorphismus rs2408876, der im Kruskal-Wallis-Test das Signifikanzniveau erreichte, ein Mann-Whitney-U-Test angeschlossen. Ein signifikanter Unterschied in der 1,25(OH)₂D-Konzentration konnte zwischen Genotyp CC und TC beobachtet werden (p= 0,017). Keine signifikanten Assoziationen ließen sich beim Vergleich der Gruppen CC und TT (p= 0,158) sowie der Gruppen TT und TC (p= 0,201) erkennen. Folgende Tabelle und Graphik fasst die signifikanten Ergebnisse übersichtlich zusammen.

Tabelle 31: LURIC-Kollektiv: signifikante Assoziation der VDR-Genotypen CC und TC (n: Anzahl der Probanden) des rs2408876 und 1,25(OH)₂D-Serumspiegel

SNP	Genotyp	Konzentration 1,25(OH) ₂ D (Median, ng/l)	Δ1 1,25(OH) ₂ D (ng/l)	Δ2 1,25(OH) ₂ D (ng/l)	p- Wert	Median Gesamt kollektiv (ng/l)
rs2408876	CC (n= 440) TC (n=1482)	34,45 32,75	1,7	+ 1,35 - 0,35	0,017	33,10

Δ1 1,25(OH)₂D beschreibt die Differenz der Mediane der Genotypen.

Δ2 1,25(OH)₂D zeigt die Differenz des jeweiligen Medians in Bezug auf den Median aller gemessenen 1,25(OH)₂D-Werte (33,10 ng/l). Das Signifikanzniveau von p < 0,05 wurde festgelegt.

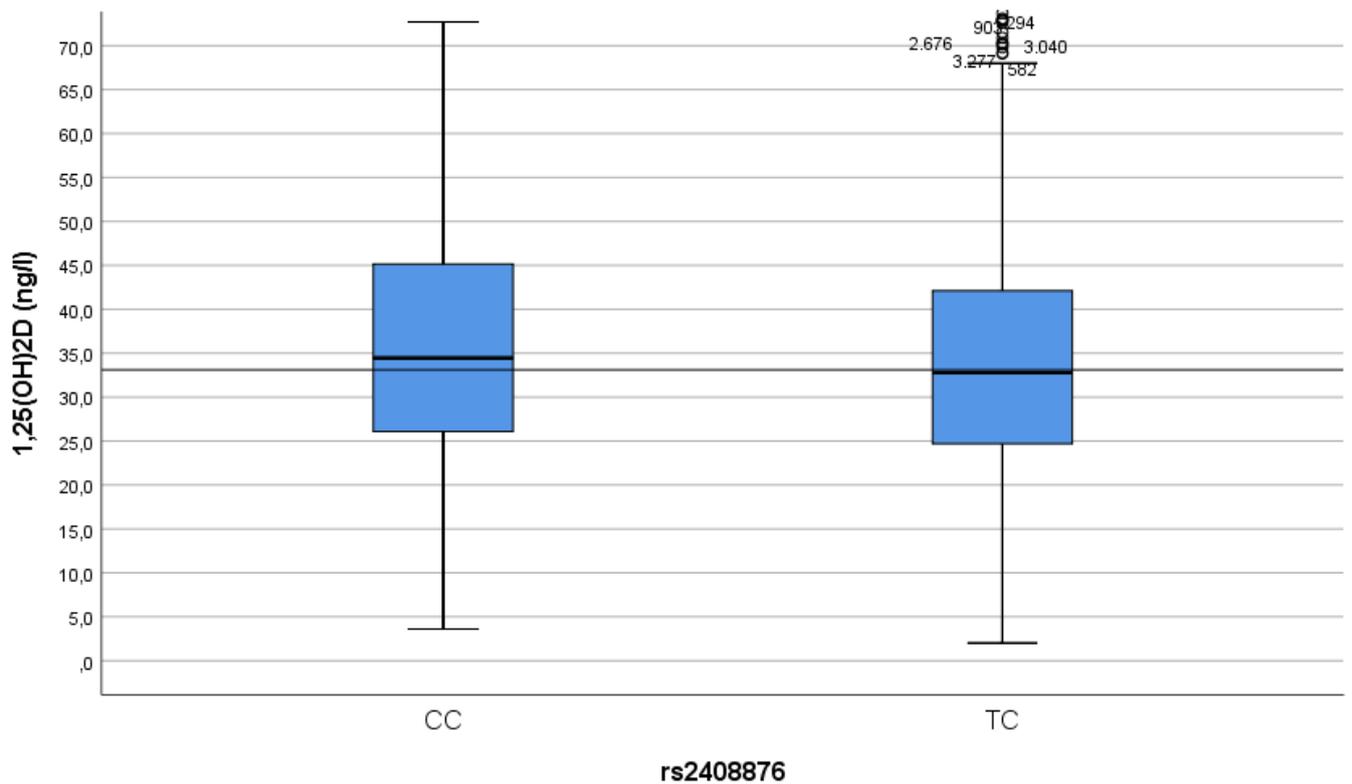


Abbildung 11: LURIC-Kollektiv: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der 1,25(OH)₂D-Serumkonzentration in ng/l mit den Genotypen CC und TC des VDR-SNPs rs2408876. Waagerechte Linie: Median 1,25(OH)₂D der Gesamtkohorte (33,10 ng/l). Nicht alle Ausreißer nach oben, die in die Analyse inkludiert wurden, sind abgebildet.

Hieraus lässt sich schlussfolgern, dass Probanden mit Genotyp TC im Polymorphismus rs2408876 einen durchschnittlich niedrigeren 1,25-Dihydroxyvitamin-D-Spiegel von 32,75 ng/l zeigten, verglichen mit Studienteilnehmern mit Genotyp CC und durchschnittlichen Serumspiegeln von 34,45 ng/l. Die Differenz lag bei 1,7 ng/l.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass es Hinweise auf Assoziationen zwischen dem Vorliegen bestimmter Polymorphismen des Vitamin-D-Rezeptor-Gens und Vitamin-D-Status gibt.

4.5 Korrektur für multiples Testen nach Bonferroni

Um Fehler 1. Art zu neutralisieren, wurden alle signifikanten Ergebnisse, wie im Schritt 3.3.5 beschrieben, dem Korrekturverfahren für multiples Testen nach Bonferroni unterzogen.

$$p^* = p / k = 0,05 / 206 = 0,00024.$$

Korrekturverfahren nach Bonferroni. p^ beschreibt das neue Signifikanzniveau, das aus dem Quotienten des ursprünglichen Signifikanzniveaus (p) und der Anzahl aller, im gleichen Datensatz durchgeführten Tests (k), berechnet wird.*

Alle zunächst für signifikant eruierten Ergebnisse wurden mit diesem errechneten, adjustierten p-Wert verglichen. Bei Untersuchungen, deren p-Werte das neue Signifikanzniveau von 0,00025 nicht erreichten, wurde die Alternativhypothese verworfen und die Nullhypothese angenommen.

Die folgenden Tabellen geben einen Überblick über alle für signifikant eruierten Ergebnisse. Ersichtlich wird, ob diese das adjustierte Signifikanzniveau von 0,00024 erreichten.

Zu 4.1

Tabelle 32: signifikante Testergebnisse aus 4.1 mit jeweiligem p-Wert. Bei $p > p^$ wurde nach Korrektur für multiples Testen die Nullhypothese nochmals angenommen*

SNP	Parameter	Durchgeführter Test	p-Wert	Adjustierter p^* -Wert	Bonferroni-Korrektur: Alternativ- / Nullhypothese
rs3819545	TSH	Kruskal-Wallis-Test	0,033	0,00024	Nullhypothese
rs2239186	TSH	Kruskal-Wallis-Test	0,045	0,00024	Nullhypothese
rs2239186	T ₃	Kruskal-Wallis-Test	0,021	0,00024	Nullhypothese
rs2239186	TSH	M-W-U-Test AA vs GG	0,039	0,00024	Nullhypothese
rs3819545	TSH	M-W-U-Test AA vs GA	0,011	0,00024	Nullhypothese
rs2239186	T ₃	M-W-U-Test AA vs GG	0,006	0,00024	Nullhypothese
rs2239186	T ₃	M-W-U-Test GG vs GA	0,021	0,00024	Nullhypothese

Zu 4.2

Tabelle 33: signifikante Testergebnisse aus 4.2 mit jeweiligem p-Wert. Bei $p > p^*$ wurde nach Korrektur für multiples Testen die Nullhypothese nochmals angenommen.

25-OH-D-Status (ng/ml)	Parameter	Durchgeführter Test	p-Wert	Adjustierter p*-Wert	Bonferroni-Korrektur: Alternativ- / Nullhypothese
<20 20- 30 >30	T ₃	Kruskal-Wallis-Test	0,006	0,00024	Nullhypothese
<20 >30	T ₃	M-W-U-Test	0,004	0,00024	Nullhypothese

Zu 4.3

Tabelle 34: signifikante Testergebnisse aus 4.3 mit jeweiligem p-Wert. Bei $p > p^*$ wurde nach Korrektur für multiples Testen die Nullhypothese nochmals angenommen

SNP	Parameter	Durchgeführter Test	p-Wert	Adjustierter p*-Wert	Bonferroni-Korrektur: Alternativ- / Nullhypothese
rs3819545	TSH	M-W-U-Test	0,013	0,00024	Nullhypothese
Rs3819545	TSH	M-W-U-Test	0,034	0,00024	Nullhypothese
rs2239186	TSH	M-W-U-Test	0,009	0,00024	Nullhypothese
rs2239186	T ₃	M-W-U-Test	0,007	0,00024	Nullhypothese

Zu 4.4

Tabelle 35: signifikante Testergebnisse aus 4.4 mit jeweiligem p-Wert. Bei $p > p^*$ wurde nach Korrektur für multiples Testen die Nullhypothese nochmals angenommen

SNP	Parameter	Durchgeführter Test	p-Wert	Adjustierter p*-Wert	Bonferroni-Korrektur: Alternativ- / Nullhypothese
rs3782905	25(OH)D	Kruskal-Wallis-Test	0,031	0,00024	Nullhypothese
rs3782905	25(OH)D	M-W-U-Test	0,014	0,00024	Nullhypothese
rs2408876	1,25(OH) ₂ D	Kruskal-Wallis-Test	0,05	0,00024	Nullhypothese
rs2408876	1,25(OH) ₂ D	M-W-U-Test	0,017	0,00024	Nullhypothese

Nach Korrektur für multiples Testen nach Bonferroni erreichte kein Ergebnis das neu definierte Signifikanzniveau von $p < 0,00025$. Die Nullhypothese wurde in jedem der oben untersuchten Fälle angenommen, die Alternativhypothese verworfen.

VDR- SNPs mit im Vergleich höchsten/ niedrigsten Schilddrüsenparametern, die im Kruskal-Wallis-Test keine Signifikanz zeigen:

Tabelle 36: SNPs mit hohen/ niedrigen Schilddrüsenparametern TSH, T₃, T₄, die in der Untersuchung mittels Kruskal-Wallis-Test das geforderte Signifikanzniveau $p < 0,05$ nicht erreichten. n= Anzahl der Probanden.

SNP	Genotyp	TSH (mU/l)	Δ Med (M _{ges.} - M _{SNP})	n
rs11574085	AA	1,11	0,13	15
rs2239181	CC	1,11	0,13	36
rs3782905	CC	1,13	0,11	292

SNP	Genotyp	T ₃ (pmol/l)	Δ Med (M _{ges.} - M _{SNP})	n
rs11574143	TT	4,45	0,35	33
rs2239181	CC	5,00	-0,2	36

SNP	Genotyp	T ₄ (pmol/l)	Δ Med (M _{ges.} - M _{SNP})	n
rs11574085	AA	16,90	0,3	16
rs2189480	TT	16,80	0,4	420
rs2238136	TT	17,60	-0,4	228
rs3890733	TT	17,50	-0,3	343
rs4516035	TT	16,90	0,3	1017

5 Diskussion

Ein Großteil der Erdbevölkerung leidet an Vitamin-D-Mangel. Seit langem ist dessen Relevanz für Erkrankungen mit Bezug zum Kalziumstoffwechsel, darunter die Knochenerkrankungen Rachitis und Osteomalazie, bekannt [103]. In den letzten Jahren zeigte eine Vielzahl von Studien, dass der Vitamin-D-Status auch für zahlreiche Herz/Kreislauf- [138], Krebs-, Autoimmun-, Infektions- und Stoffwechselerkrankungen von Bedeutung ist [51]. Für die Versorgung des Menschen mit Vitamin D sind zahlreiche Faktoren von Bedeutung. Verschiedene Ursachen können zu Vitamin-D-Mangel führen. Der größte Teil des vom Körper benötigten Vitamin D wird unter unseren Lebensbedingungen unter Einwirkung von UV-Strahlen in der Haut synthetisiert, nur ein geringer Teil wird mit der Nahrung aufgenommen. Mangelnde Sonnenlichtexposition stellt einen der Hauptgründe für einen Vitamin-D-Mangel dar. Für die Ausübung der physiologischen Funktion von Vitamin D ist der Vitamin-D-Rezeptor (VDR) von großer Bedeutung. Auch das Hormonsystem der Schilddrüse kann durch mehrere Faktoren reguliert und beeinflusst werden. Die physiologische Regulation erfolgt mittels thyreotropem Regelkreis. Daneben können auch andere Faktoren wie beispielsweise Medikamente oder geographische Aspekte die Funktion der Schilddrüse beeinflussen [168]. Über die gegenseitige Beeinflussung von Vitamin-D- und Schilddrüsenstoffwechsel ist bislang allerdings nur wenig bekannt. Bouillon et al. konnte bei der Untersuchung von 23 Probanden mit Hyperthyreose sowie 12 mit Hypothyreose, keinerlei Veränderung im 25(OH)D-Blutspiegel feststellen. Alle Blutentnahmen fanden zur gleichen Jahreszeit statt. Verzerrungen durch schwankende Vitamin-D-Spiegel im Jahresverlauf konnten hierdurch minimiert werden [12]. Obwohl bisher bereits über 470 SNPs im VDR-Gen bekannt sind, weiß man bis heute wenig über die Auswirkungen dieser SNPs auf die Schilddrüsenfunktion [111].

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, einen Beitrag zur Beantwortung der bislang ungeklärten Frage zu leisten, ob der Vitamin-D-Metabolismus die Schilddrüsenfunktion beeinflusst. Dazu wurden Daten einer großen prospektiven Kohortenstudie herzkranker kaukasischer Patienten (*Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study/ LURIC-Studie*, n=3316) mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS (SPSS 25, IBM Co., Armonk, NY (USA)) auf eine mögliche Assoziation von Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs; n=36) im für den Vitamin-D-Rezeptor kodierenden Gen und der 25-Hydroxyvitamin-D-Serumkonzentration mit verschiedenen Schilddrüsenparametern (Blutwerte für Thyroidea-stimulierendes Hormon – TSH; Thyroxin - T₄; und Triiodthyronin - T₃) untersucht. Mittels genomweiten Assoziationsstudien gelingt es in zunehmendem Maße, Erkenntnisse über genetische Variationen und deren Auswirkungen auf das Vitamin-D-System zu erlangen.

Zwei VDR-SNPs (rs2239186, rs3819545) erreichten das für eine mögliche Assoziation mit dem TSH-Serumspiegel zunächst geforderte Signifikanzniveau ($p < 0,05$), einer (rs2239186)

das für eine mögliche Assoziation mit T_3 . Der homozygote Genotyp AA des Polymorphismus rs3819545 im Vitamin-D-Rezeptor-Gen war mit einem durchschnittlich etwas niedrigeren TSH-Wert im Vergleich zur Gruppe mit Genotyp GA (1,21 mU/l vs 1,3 mU/l, $p= 0,011$) assoziiert. Probanden mit dem VDR-Genotyp AA des Polymorphismus rs2239186 zeigten ebenfalls einen etwas niedrigeren durchschnittlichen TSH-Wert im Vergleich zu Probanden mit dem Genotyp GG (1,21 mU/l vs 1,29 mU/l, $p= 0,039$). In der von uns untersuchten Kohorte war der VDR-Genotyp AA des SNPs rs2239186 mit einem durchschnittlich etwas höherem Serumspiegel für Triiodthyronin (Median T_3 : 4,80 pmol/l vs GG: 4,50 pmol/l, $p= 0,006$) assoziiert. Nach Korrektur für multiples Testen (Bonferroni) wurde allerdings in keinem Fall Signifikanz erreicht. Somit konnten unsere Untersuchungen die Annahme unserer Ausgangshypothese, dass VDR-Genotypen mit Parametern der Schilddrüsenfunktion assoziiert sind, nicht bestätigen.

Mehrere Studien konnten jedoch bereits Assoziationen von Allelen bestimmter Polymorphismen des VDR-Gens und Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse nachweisen [83]. Eine Metaanalyse von Feng et al. aus dem Jahre 2013 zeigte eine Reduzierung des Erkrankungsrisikos für autoimmune Schilddrüsenerkrankungen bei Vorliegen der gut untersuchten VDR-SNPs Bsm-I sowie Taq-I, während dies für die VDR-SNPs Fok-I und Apa-I nicht dargelegt werden konnte [42]. Eine andere Studie von Inoue et al. wies wiederum hohe Frequenzen des C-Allels in den VDR-SNPs Apa-I und Fok-I bei der Untersuchung von Probanden mit Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse nach [73]. Obwohl die große Zahl an Probanden im von uns untersuchten Kollektiv eine Stärke der vorliegenden Arbeit darstellt, kann trotz der dadurch bedingten vergleichsweise großen Power unserer Studie ein sogenannter Fehler 2. Art nicht sicher ausgeschlossen werden. Ein solcher Fehler 2. Art läge in unserer Untersuchung vor, wenn in der analysierten Kohorte eine Assoziation von Einzelnukleotid-Polymorphismen im für den Vitamin-D-Rezeptor kodierenden Gen mit bestimmten Schilddrüsenparametern (Blutwerte für Thyroidea-stimulierendes Hormon – TSH; Thyroxin - T_4 ; oder Triiodthyronin - T_3) bestünde, diese aber nicht erkannt würde. Die Nullhypothese würde somit fälschlicherweise beibehalten.

Bei der Interpretation unserer Ergebnisse muss auch berücksichtigt werden, dass wir in die hier vorliegende Arbeit lediglich 36 der mehr als 470 bekannten Polymorphismen im Vitamin-D-Rezeptor einschließen konnten, weshalb zusätzliche Studien notwendig sind, um endgültige Aussagen über den Einfluss von VDR-SNPs auf den Hormonhaushalt der Schilddrüse zu erlangen. Zudem bewegten sich die für alle Schilddrüsenparameter gefundenen Unterschiede unserer Analyse in der Spannungsbreite der jeweiligen Normalwerte und waren somit nur sehr gering ausgeprägt. Des Weiteren konnten Polymorphismen gefunden werden mit vergleichsweise großer Abweichung zum Median der Gesamtkohorte im jeweiligen Schilddrüsenparameter. Diese zeigten jedoch im Kruskal-Wallis-Test keine Signifikanz.

Ursächlich könnte eine geringe Fallzahl pro untersuchter Gruppe sein. Die Anzahl der Probanden in den nach Genotyp erstellten Gruppen war teils gering, mit beispielsweise lediglich 15 oder 16 Probanden. Es müssten mehr Patienten in die Untersuchung eingeschlossen werden, um eine Repräsentativität auf die Gesamtbevölkerung zu erreichen.

Um weitere Erkenntnisse über einen möglichen Zusammenhang von Vitamin-D-System und Schilddrüsenparametern zu gewinnen, untersuchten wir in unserem Kollektiv anschließend eine mögliche Assoziation von Vitamin-D-Status und Schilddrüsenparametern. Patienten mit Vitamin-D-Mangel ($25(\text{OH})\text{D} < 20 \text{ ng/ml}$) wiesen eine durchschnittlich niedrigere Serumkonzentration für T_3 auf, als Studienteilnehmer mit suffizientem Vitamin-D-Status ($25(\text{OH})\text{D} > 30 \text{ ng/ml}$) ($p = 0,004$). Aber auch dieser Zusammenhang verlor nach Korrektur für multiples Testen die Signifikanz. Studienteilnehmer mit suffizientem Vitamin-D-Status ($25(\text{OH})\text{D} > 30 \text{ ng/ml}$) zeigten sowohl in den Serumkonzentrationen von TSH (Median $1,30 \text{ mU/l}$) als auch von T_4 (Median $17,0 \text{ pmol/l}$) lediglich sehr geringe, nicht signifikante Unterschiede, verglichen mit Patienten mit Vitamin-D-Mangel ($25\text{-OH-D} < 20 \text{ ng/ml}$; TSH: Median $1,25 \text{ mU/l}$; T_4 : Median $17,20 \text{ pmol/l}$).

Eine Studie von Chailurkit 2012, die eine Kohorte von 2582 Asiaten im Alter von 15 bis 98 Jahren untersuchte, und bei welcher männliche und weibliche Probanden in gleicher Anzahl berücksichtigt wurden, zeigte zwar eine inverse Korrelation zwischen $25(\text{OH})\text{D}$ - und TSH-Werten, jedoch lediglich in der Gruppe der jüngsten Studienteilnehmer. Dieser Zusammenhang konnte bei allen anderen Altersklassen nicht nachgewiesen werden [24]. Im Gegenzug zeigte eine Studie von Barchetta, Baroni, Leonetti et al. [6] im Jahr 2015 einen Zusammenhang zwischen Vitamin-D-Mangel und erhöhten TSH-, bei unveränderten T_3 - und T_4 -Werten. Jedoch wurden in dieser Studie lediglich 294 Probanden eingeschlossen. Zhang et al. [176] und Mackawy et al. [105] konnten diesen Sachverhalt bestätigen.

Im nächsten Schritt suchten wir in Subgruppenanalysen nach Hinweisen für mögliche gleichgerichtete Effekte von VDR-SNPs und Vitamin-D-Status auf die Schilddrüsenfunktion. Die optimale Funktion des Vitamin-D-Systems kann bei uns Menschen auf verschiedenen Ebenen beeinträchtigt sein. So können neben bestimmten genetischen Faktoren, zu denen SNPs im VDR-Gen gehören, auch niedrige 25-Hydroxyvitamin-D Serumspiegel eine optimale Funktion des Vitamin-D-Systems verhindern. Da Patienten mit suffizientem Vitamin-D-Status in unserer Untersuchung höhere Serumkonzentrationen für T_3 ($p < 0,004$) und TSH (nicht signifikant), sowie geringere Werte für T_4 (nicht signifikant) aufwiesen, verglichen mit Patienten mit Vitamin-D-Mangel, formulierten wir die folgende Hypothese: Wenn die Annahme zutrifft, dass der Vitamin-D-Stoffwechsel bestimmte Schilddrüsenwerte beeinflusst, dann sollten VDR-SNPs, die negative Effekte auf die Funktion des VDR und somit auf die Vitamin D Wirkung haben, gleichgerichtete Wirkungen auf diese jeweiligen Schilddrüsenparameter ausüben wie

ein unzureichender Vitamin-D-Status. Folglich sollten diese VDR-SNPs, genau wie ein unzureichender Vitamin-D-Status, mit einer Tendenz sowohl für relativ niedrige T₃- und TSH-Serumkonzentrationen, als auch für relativ hohe T₄-Serumkonzentrationen assoziiert sein. Obwohl sich in der Literatur keine genauen Angaben fanden, die einen Aufschluss über die möglichen Auswirkungen der von uns untersuchten VDR-SNPs auf die VDR-Aktivität (fördernd oder hemmend) hätten geben können, waren die Ergebnisse unserer Subgruppenanalyse mit dieser Hypothese vereinbar. So waren die Assoziationen der einzelnen VDR-SNPs mit den drei untersuchten Schilddrüsenparametern in der Regel nicht zufallsverteilt, sondern stimmten entweder mit den Werten bei suffizientem (relativ höhere Serumkonzentrationen für T₃ und TSH, relativ niedrigere Werte für T₄) oder unzureichendem (relativ niedrigere Serumkonzentrationen für T₃ und TSH, relativ höhere Werte für T₄) Vitamin-D-Status überein.

Für einige VDR-SNPs liegen Informationen über die Rezeptoraktivität vor. So bewirkt beispielsweise das A-Allel des Polymorphismus Cdx2 (rs11568820) eine Aktivitätssteigerung des Rezeptors mit verstärkter Transkriptionsaktivität und somit dem vermehrten Einbau von Calciumtransportproteinen im Darm mit gesteigerter Calciumresorption [40]. Es wird postuliert, dass Personen, die dieses A- Allel aufweisen, ein deutlich reduziertes Frakturrisiko zeigen [40]. Auch für den intensiv untersuchten Polymorphismus Fok I (rs2228570) konnte in Studien von Arai et al sowie Jurutka et al eine Assoziation des C-Allels mit stärkerer Transkriptionsaktivität nachgewiesen werden [153]. Im Gegensatz zeigte der FokI-Polymorphismus des VDR in unserer Untersuchung keine Assoziation zu Veränderungen in Schilddrüsenparametern. Interessant wäre an dieser Stelle zu prüfen, ob die Polymorphismen, die unserer Studie zunächst signifikante Assoziationen zu Schilddrüsenparametern zeigen, mit höherer oder reduzierter VDR-Aktivität vergesellschaftet sind. Jedoch liefert die aktuelle Literatur diesbezüglich keine Angaben.

Die Tatsache, dass VDR-SNPs (rs2239186, rs3819545), welche das für eine mögliche Assoziation mit dem TSH-Serumspiegel zunächst geforderte Signifikanzniveau ($p < 0,05$) erreichten, im Bereich von Introns, das heißt, nicht kodierenden Abschnitten des Vitamin-D-Rezeptor-Gens, liegen, schließt funktionelle Auswirkungen nicht aus. Gensequenzen eines Chromosoms werden nicht zwangsläufig gemeinsam vererbt. Durch Crossing-over in der Meiose, in der sich zwei Kopien jedes Chromosoms nebeneinander lagern, können einzelne Chromosomenarme überlappen, auseinanderbrechen und folglich falsch verknüpft werden. Je dichter jedoch Polymorphismen auf einem Chromosom lokalisiert sind, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit einer gemeinsamen Vererbung, desto höher ist das so genannte Linkage Disequilibrium [162]. Umso höher das Linkage Disequilibrium ist, desto eher treten Allele benachbarter Polymorphismen gemeinsam auf. Das Vorhandensein eines Polymorphismus sagt gewissermassen das Vorhandensein eines weiteren Polymorphismus voraus. Liegt jedoch

ein Kopplungsgleichgewicht (Linkage Equilibrium) vor, ist das Auftreten zweier Allele rein zufällig [86,162]. Gemeinsam vererbte Sequenzvarianten bilden Haplotypen. Diese wiederum sind sehr wichtig für das Auffinden von Krankheitsgenen [86,162]. Die in unserer Untersuchung für zunächst signifikant eruierten Polymorphismen könnten dementsprechend durch ein hohes Linkage Disequilibrium mit Polymorphismen, die beispielsweise auf codierenden Abschnitten der DNA liegen, gemeinsam vererbt werden. Ein auf einem nicht codierenden Abschnitt liegender Polymorphismus könnte somit dennoch Effekte bewirken [156,165]. Für einige Polymorphismen des Vitamin-D-Rezeptorgens konnte bereits ein hohes Linkage Disequilibrium nachgewiesen werden, beispielsweise am 3'-Ende zwischen den gut untersuchten SNPs BsmI, Apal und TaqI [72,153].

In der Literatur wird ein direkter Einfluss von Vitamin D auf thyreotrope Zellen sowie Thyreozyten diskutiert [6,24]. Der Nachweis des VDR in TSH-produzierenden Zellen der Hypophyse spricht für eine Beeinflussung von TSH durch Vitamin D, welches wiederum für die Regulation der Schilddrüsenhormone T_3 und T_4 verantwortlich ist [137]. Aber auch in Thyreozyten wurde der Vitamin-D-Rezeptor detektiert. Man vermutet, dass ein Vitamin-D-Mangel zu einer reduzierten Aktivierung der Thyreozyten durch TSH führen kann [6]. Es folgen eine abgeschwächte, TSH-vermittelte Iodidaufnahme in die Zelle und konsekutiv niedrige Serumspiegel für Triiodthyronin sowie Thyroxin, die aktiven Metabolite im Hormonhaushalt der Schilddrüse [53,69]. Zusammenhänge über Vitamin-D- und Schilddrüsenstatus sind wenig untersucht und die bislang vorliegenden Erkenntnisse werden aktuell auf Grund unterschiedlicher Ergebnisse kontrovers diskutiert [123]. Bislang ist es nicht abschließend geklärt, ob der Vitamin-D-Rezeptorsignalweg in der Entwicklung und Funktion der Thyreozyten und somit der Physiologie der Schilddrüse eine Rolle spielt [26].

Zahlreiche Faktoren wie Lifestyle, Alter, Medikamente, aber auch geographische Aspekte und Hauttyp, welche die Produktion von Vitamin D beeinflussen, sind bereits bekannt [67]. Genetische Faktoren werden derzeit intensiv diskutiert [163]. Da der VDR über die transkriptionale Regulation der CYP24A1 (24-Hydroxylase) den Metabolismus von 25(OH)D sowie 1,25(OH) $_2$ D reguliert, wurden die 36 VDR-SNPs auf eine mögliche Assoziation mit 25(OH)D- sowie 1,25(OH) $_2$ D-Serumwerten untersucht.

In der vorliegenden Arbeit konnte von den 36 untersuchten SNPs im VDR-Gen zunächst ein Polymorphismus gefunden werden, der mit signifikanten Unterschieden in der 25(OH)D-Konzentration korreliert. Es handelt sich dabei um rs3782905, Probanden mit Genotyp CC wiesen an dieser Stelle signifikant niedrigere 25(OH)D-Werte auf als jene mit Genotyp GC (14,80 ng/ml vs. 16,00 ng/ml, $p=0,031$). Auch konnte ein SNP eruiert werden, der eine Assoziation zur 1,25-Dihydroxyvitamin-D-Konzentration zeigt. Studienteilnehmer, die im Polymorphismus rs2408876 den Genotypen TC hatten, hatten signifikant niedrigere

Serumlevel auf als Probanden mit Genotyp CC (32,75 ng/l vs. 34,45 ng/l, $p=0,05$). Nach Korrektur für multiples Testen erwiesen sich diese Ergebnisse jedoch als nicht mehr signifikant.

Einer der am meist untersuchtesten Polymorphismen im VDR-Gen ist der so genannte Fok-I (rs2228570). Bei Vorliegen des T-Allels werden längere Proteine generiert als bei Vorliegen des C-Allels [72], mit folglich gesteigerter Transkriptionsaktivität des kürzeren Proteins. In einer Studie von Orton et al. konnte eine Assoziation von Fok-I und 25(OH)D-Serumkonzentration gezeigt werden. Probanden mit dem Genotyp GG wiesen durchschnittlich niedrigere Vitamin D-Spiegel (26,0 ng/ml) als jene mit Genotyp AA oder GA (33,20 ng/ml) auf [126]. In unserer Arbeit korrelierte ebenfalls Genotyp GG mit den niedrigsten 25(OH)D-Serumspiegeln (15,1 ng/ml), allerdings ließ sich kein signifikanter Unterschied zu den anderen möglichen Genotypen im Polymorphismus nachweisen. Auch in einer Studie von Smolders et al. konnte dieser Zusammenhang gezeigt werden. Wieder korrelierte die homozygote Form GG des Fok-I mit den durchschnittlich niedrigsten 25(OH)D-Werten [145]. Die Populationen von jeweils weniger als 500 Probanden, auf die sich die oben genannten Studien beziehen, stellen eine geringe Power bei kleiner Fallzahl dar, und sind eventuell nicht auf die Allgemeinheit übertragbar. Des Weiteren zeigten die Ergebnisse dieser Untersuchungen des Fok-I-Polymorphismus hinsichtlich der Auswirkung auf den 25(OH)D-Status keine starke Signifikanz, das Signifikanzniveau von $p<0,05$ wurde nur leicht unterschritten [126]. Gerade wäre es hier interessant zu überprüfen, ob die Polymorphismen, die in unserer Studie zunächst signifikante Assoziationen zu Schilddrüsenparametern gezeigt haben, auch hier eine Assoziation zu Vitamin D-Serumwerten aufweisen. In einer Studie von Yao et al aus dem Jahre 2012 konnten Assoziationen von rs2239186, Genotyp GG, mit im Durchschnitt höheren 25(OH)D-Serumwerten gezeigt werden (21,2 ng/ml; AA= 13,5 ng/ml), bei amerikanischen Probanden afrikanischer Abstammung. Dies korreliert ebenfalls mit unseren Ergebnissen. Genotyp GG des rs2239186 zeigte auch in unserer Untersuchung durchschnittlich höhere 25(OH)D-Werte an (16,40 ng/ml; AA 15,30 ng/ml), allerdings war die Differenz gering und statistisch nicht signifikant. Assoziationen von Vitamin-D-Rezeptorpolymorphismen und deren Auswirkung auf den Vitamin-D-Status sind derzeit nicht ausreichend untersucht, um diesen Sachverhalt abschließend erklären zu können. Es scheint möglich, dass je nach vorliegendem Genotyp Differenzen im Vitamin-D-Serumspiegel vorliegen, die das Risiko für Vitamin-D-Mangel assoziierte Erkrankungen beeinflussen [112].

In einer großen Genomweiten-Assoziationsstudie (GWAS) aus dem Jahre 2010, in der 33.996 Probanden inkludiert wurden, untersuchte man die Auswirkungen von genetischen Variationen von Genen, die in den Vitamin-D-Stoffwechsel integriert sind, auf den Vitamin-D-Status. Dabei konnte für drei Genloci ein signifikanter Zusammenhang zur 25(OH)D-Konzentration gezeigt

und in einer Kontrollgruppe bestätigt werden. Im Einzelnen handelt es sich dabei um die Polymorphismen rs2282679 im GC-Gen (Vitamin D-Bindeproteingen), rs12785878 in der Nähe des DHCR7-Gens (7-Dehydrocholesterolreduktasegen) sowie rs10741657 in der Nähe des CYP2R1-Gens (25-Hydroxylasegen) [163]. Probanden mit einem Genotypscore (Kombination dieser drei Genloci) der höchsten Quartile zeigten ein signifikant höheres Risiko für Vitamin-D-Mangelzustände ($25(\text{OH})\text{D} < 20 \text{ ng/ml}$), verglichen mit Probanden der untersten Quartile. Diese Studie von Wang führte zu der Erkenntnis, dass Polymorphismen in Genen, involviert in Cholesterolsynthese, Hydroxylierung sowie Vitamin-D-Transport, gravierende Auswirkungen auf den Vitamin-D-Status haben können. Personen mit bestimmten Genomvarianten an diesen Stellen haben ein besonders hohes Risiko, an Vitamin-D-Mangel zu leiden [163]. Die vorliegende Studie weist Vorteile, aber auch Nachteile auf. In die Wang-Studie wurden 33.996 Studienteilnehmer inkludiert. Ein sehr großes Patientenkollektiv stellt optimale Voraussetzungen dar, genetische Variationen, die Auswirkungen auf den Vitamin-D-Status zeigen, zu detektieren. Auf der anderen Seite war die Datenauswertung in dieser Studie sehr konservativ, das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 5 * 10^{-8}$ festgelegt. Dies könnte unter anderem dazu führen, dass SNPs auf Grund eines Fehlers 2. Art übersehen wurden, die Alternativhypothese fälschlicherweise abgelehnt wurde. Des Weiteren erfolgte bei verschiedenen Subgruppen die genetische Bestimmung sowie die Messung der Parameter für Vitamin D auf unterschiedliche Weise, was eventuell zu unterschiedlichen Messergebnissen führen könnte [163]. Im Gegensatz dazu wurden in der vorliegenden Studie für alle inkludierten 3316 Probanden Vitamin-D- und Schilddrüsenparameter in gleichen Tests ermittelt [167]. Positiv zu erwähnen ist, dass die Wang-Studie mehrere, in den Vitamin-D-Haushalt involvierte Gene (25-Hydroxylase, Vitamin D-Bindeprotein u.a.), analysiert [163]. Im Gegensatz dazu untersuchten wir Polymorphismen im Vitamin-D-Rezeptorgen. Um Zusammenhänge zwischen genetischen Variationen und deren Assoziation zu Vitamin-D- und Schilddrüsenhaushalt zu erlangen, ist eine Untersuchung aller, im Vitamin-D-Stoffwechsel involvierten Gene, anzustreben. Im Gegensatz zur Wang-Studie, die Probanden von verschiedenen Kontinenten großer Heterogenität untersuchte [163], liegt eine Stärke dieser Arbeit in der Homogenität der untersuchten Gruppe. Faktoren, die den Vitamin-D-Status beeinflussen können, wie beispielsweise geographische Aspekte, hatten alle Studienteilnehmer gemeinsam. Auch wurden in der vorliegenden Arbeit lediglich Kaukasier aus dem Umkreis Ludwigshafen, Rheinland-Pfalz, welche alle auf Grund derselben Erkrankung, dem Akuten Koronarsyndrom, hospitalisiert waren, in die Analyse inkludiert. Ein ähnlicher Lebensstil der Probanden führt zur Minimierung von Faktoren, die den Vitamin-D- sowie Schilddrüsenhaushalt beeinflussen. Auf Grund der Homogenität der untersuchten Kohorte ist das Ergebnis gut auf die Gesamtbevölkerung Deutschlands übertragbar. Letztlich muss angemerkt werden, dass genetischen Varianten, wie wir sie im Vitamin-D-Rezeptor-Gen

untersuchten, große ethnische Unterschiede aufweisen. Es ist nicht auszuschließen, dass bei der Untersuchung anderer Ethnizitäten andere Ergebnisse resultieren. Zu erwähnen ist ebenfalls, dass Probanden, die an chronischen Erkrankungen litten, von unserer Untersuchung exkludiert wurden. Gerade Patienten mit Leber- und Nierenerkrankungen können geringere 25(OH)D- beziehungsweise 1,25(OH)₂D-Blutspiegel aufweisen, da diese Organe über Hydroxylierungsenzyme verfügen, die für die Synthese des aktiven Vitamin D essentiell sind [86].

Neben oben erwähnten, positiven Aspekten unserer Studie ist anzumerken, dass keinerlei Information zu Vitamin-D-Supplementation vorliegen. Es könnte demnach sein, dass bereits manche Probanden, die einen niedrigen Vitamin-D-Status aufwiesen, oral therapiert wurden. Da dieser Aspekt nicht berücksichtigt wurde, könnten etwaige Zusammenhänge zwischen genetischen Variationen und Vitamin-D-Status nicht erkannt werden. Da bereits Studien zeigen, dass eine Verbesserung der Schilddrüsenfunktion nach Vitamin-D-Supplementation und somit hohen Vitamin-D-Spiegeln erreicht werden kann [118], ist dies ein wichtiger Aspekt.

Mirhosseini et al konnte in einer retrospektiven Untersuchung von 11.017 Probanden zeigen, dass eine orale Vitamin-D-Supplementation zu einer deutlichen Reduktion des Risikos, an einer Hypothyreose zu leiden, führt. Während vor Supplementation 2 % aller Probanden an einer Hypothyreose erkrankt waren (23% im Rahmen einer latenten Hypothyreose), so waren es nach Supplementation und Erreichen eines suffizienten 25(OH)D-Status von mehr als 50 ng/ml lediglich 0,4 % (respektive 6 % im Rahmen einer latenten Hypothyreose) im Follow-up nach 12 Monaten [118]. Optimale Vitamin-D-Level würden folglich zu einer verbesserten Schilddrüsenfunktion beitragen.

Die 3316 in die LURIC-Studie inkludierten Probanden wurden in unserer Analyse nochmals in Gruppen respektive Subgruppen, je nach vorliegendem Genotyp sowie Vitamin-D-Status aufgeteilt. Teilweise verfügten diese Gruppen über lediglich wenige Probanden von 15 Personen, sodass hier das Problem der geringen Power zu diskutieren ist. Mögliche Assoziationen könnten auf Grund geringer Fallzahlen, gerade in erstellten Subgruppen, nicht erkannt worden sein. Anzumerken ist ebenfalls, dass die Untersuchung von Assoziationen bestimmter Genomvarianten auf den Parameter 1,25-Dihydroxyvitamin-D zu Erkenntnissen über etwaige Zusammenhänge beitragen könnte. Allerdings unterliegt dieser Parameter einer kurzen Halbwertszeit sowie wesentlich stärkeren Einflüssen und somit Schwankungen durch beispielsweise Calcium, Phosphat oder Parathormon [35,50], was die Bestätigung einer genetischen Ursache als Auswirkung auf diesen Parameter erschwert.

Geographische Aspekte spielen auch bei der Untersuchung des Schilddrüsen-system eine Rolle. Ein Iodmangel mit Iod als essentiellstem Baustein zur Synthese von Triiodthyronin sowie Thyroxin, gilt als Risikofaktor für hypothyreotische Stoffwechselzustände. Die Ursachen für

diese Mangelgebiete konnten noch nicht abschließend geklärt werden. De facto handelt es sich aber bei Deutschland um ein so genanntes Iodmangelgebiet. Studien zeigen, dass Länder, die nicht diesen Iodmangelgebieten zuzuordnen sind (beispielsweise die Schweiz), eine geringere Inzidenz für Langzeitfolgen wie autonome Schilddrüsenerkrankungen, aufweisen [82]. Für unsere Studie bedeutet dies auf der einen Seite, dass durch die Homogenität der Studienpopulation geographische Einflüsse auf einzelne, gemessene Schilddrüsenparameter, und somit für zunächst signifikant eruierte Assoziationen, minimiert werden konnten. Auf der anderen Seite gilt es aber zu bedenken, dass gerade unter Beachtung der Tatsache, dass Deutschland und somit der Inklusionsraum aller Probanden der LURIC-Studie, einem Iodmangelgebiet zuzuordnen sind, geographische Einflüsse auf unsere Studienpopulation nicht auszuschließen sind. Zusammenfassend vermindert die Homogenität der in dieser Arbeit untersuchten Population, im Gegensatz zur Wang-Studie, das Auftreten einer Populationsstratifikation, welches ein häufig diskutiertes Problem in genetischen Studien darstellt [85]. Es kann zu Verzerrungen in der statistischen Auswertung bei der Untersuchung von Probanden unterschiedlicher Ethnizität kommen, auch wenn die Probandenzahl sehr groß und die Signifikanz der Ergebnisse stark ist [84,85]. Neben Iodmangelgebieten gibt es weitere Faktoren wie Medikamente, die Einfluss auf das Hormonsystem der Schilddrüse nehmen. Während Antiepileptika und Lithium, das häufig zur Behandlung von Depressionen eingesetzt wird, eine stimulierende Wirkung auf TSH zeigen, wirken Glukokortikoide und Heparine hemmend auf die Expression dieses Hormons [168]. Da die Probanden der LURIC-Studie zur koronarangiographischen Untersuchung mit Verdacht auf eine koronare Herzkrankheit mit Symptomen wie Brustschmerz oder Zeichen einer Myokardischämie hospitalisiert waren, liegt gerade hier der Verdacht nahe, dass einige Probanden zur Akuttherapie Heparin appliziert bekamen. Die Einnahme solcher Medikamente wurde bei unserer Untersuchung nicht berücksichtigt. Auch wenn nach Korrektur für multiples Testen keine Assoziation bestehen bleibt, und zudem die Mediane der Schilddrüsenparameter in unseren Untersuchungen im Normbereich liegen, sind Verzerrungen durch genannte Einflussfaktoren nicht auszuschließen. Ebenfalls wichtig zu erwähnen ist die Tatsache, dass der Hormonhaushalt der Schilddrüse durch weitere Faktoren beeinflusst werden kann, welche in dieser Studie nicht berücksichtigt wurden. Neben Iodmangelgebieten, die bereits erläutert wurden, zeigen Studien ebenfalls einen Einfluss von Spurenelementen auf den Schilddrüsenmetabolismus. Selen beispielsweise, Bestandteil der Iodthyronin-Deiodinase, ist involviert in Synthese und Abbau der biologisch aktiven Form T_3 . Bei weiteren Spurenelemente wie Zink, Eisen oder Kupfer konnte gezeigt werden, dass deren Mangel den Schilddrüsenhormonhaushalt negativ beeinflusst [75]. Auch der Body-Mass-Index sowie das Alter scheinen bedeutende Einflussfaktoren auf die Schilddrüse darzustellen. So konnten Studien höhere Werte für TSH, T_3 und auch T_4 in Gruppen übergewichtiger Kinder [134], als auch Assoziation von hohem

Alter und niedrigeren TSH- und T₃-Serumwerten zeigen [166]. Neben genetischen Variationen, die in dieser Analyse betrachtet wurden, muss deshalb beachtet werden, dass es weitere Einflussfaktoren sowohl auf das Vitamin-D- als auch Schilddrüsensystem gibt.

Zusammenfassend liefert diese Arbeit einen Beitrag zur Untersuchung eines Zusammenhangs zwischen Vitamin-D- und Schilddrüsensystem. Die Ergebnisse unserer Untersuchung sind vereinbar mit der Hypothese einer möglichen Assoziation von VDR-SNPs und/oder Vitamin-D-Status mit Parametern der Schilddrüsenfunktion, und somit auch mit einer möglichen Regulation der Schilddrüsenfunktion durch den Vitamin-D-Stoffwechsel. Allerdings erreichen die in unserer Untersuchung gefundenen Assoziationen zwischen VDR-Genvarianten und/oder Vitamin-D-Status mit dem Hormonhaushalt der Schilddrüse, teils nach Korrektur für multiples Testen, das geforderte Signifikanzniveau nicht. Das Verfehlen des geforderten Signifikanzniveaus könnte durch verschiedene Faktoren, z.B. durch zu niedrige Power bei zu geringen Fallzahlen, bedingt sein. Zudem bewegten sich die gefundenen Unterschiede für alle Schilddrüsenparameter in der Spannungsbreite der jeweiligen Normalwerte und waren nur sehr gering ausgeprägt. Die Ergebnisse von Subgruppenuntersuchungen liefern aber Hinweise, die im Einklang mit der auch durch unsere Untersuchung nicht abschließend geklärten Hypothese sind, dass der Vitamin-D-Stoffwechsel die Schilddrüsenfunktion im Sinne einer Feinabstimmung beeinflusst. Zukünftige, gut konzipierte Studien werden notwendig sein, um diese Zusammenhänge abschließend zu klären.

6 Literaturverzeichnis

1. Alagöl F, Shihadeh Y, Boztepe H, Tanakol R, Yarman S, Azizlerli H, Sandalci Ö (2000) Sunlight exposure and vitamin D deficiency in Turkish women. *J Endocrinol Invest*
2. Animal N, Universitv IS (1987) Role of Vitamin D in the Immune System. 3:952–962
3. Annweiler C, Rolland Y, Schott AM, Blain H, Vellas B, Beauchet O (2012) Serum vitamin D deficiency as a predictor of incident non-Alzheimer dementias: A 7-year longitudinal study. *Dement Geriatr Cogn Disord*
4. Antico A, Tampoia M, Tozzoli R, Bizzaro N (2012) Can supplementation with vitamin D reduce the risk or modify the course of autoimmune diseases? A systematic review of the literature. *Autoimmun Rev*
5. Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, Di Domenicantonio A, Fallahi P (2015) Autoimmune thyroid disorders. *Autoimmun Rev*
6. Barchetta I, Baroni MG, Leonetti F, De Bernardinis M, Bertocchini L, Fontana M, Mazzei E, Fraioli A, Cavallo MG (2015) TSH levels are associated with vitamin D status and seasonality in an adult population of euthyroid adults. *Clin Exp Med* 15:389–396
7. Barr S, Schneider JR (2008) News and views. *Synchrotron Radiat News* 8:36–38
8. Becker DJ, Kilgore ML, Morrissey MA (2010) The societal burden of osteoporosis. *Curr Rheumatol Rep*
9. Bender R, Lange S, Ziegler A (2007) Multiple testing. *Dtsch Med Wochenschr* 132 Suppl:26–29
10. Bischoff-Ferrari HA, Shao A, Dawson-Hughes B, Hathcock J, Giovannucci E, Willett WC (2010) Benefit-risk assessment of vitamin D supplementation. *Osteoporos Int*
11. Blutt SE, McDonnell TJ, Polek TC, Weigel NL (2000) Calcitriol-induced apoptosis in LNCaP cells is blocked by overexpression of Bcl-2. *Endocrinology*
12. Bouillon R, Muls E, De Moor P (1980) Influence of thyroid function on the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *J Clin Endocrinol Metab*
13. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, Van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, Lieben L, Mathieu C, Demay M (2008) Vitamin D and human health: Lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev* 29:726–776
14. Bozkurt N, Karbek B, Ucan B, Sahin M, Cakal E, Ozbek M, Delibasi T (2013) The Association Between Severity of Vitamin D Deficiency and Hashimoto's Thyroiditis. *Endocr Pract*
15. Brandes R, Lang F, Schmidt RF (2019) *Physiologie des Menschen*.
16. Brinkmann RT, Green AES, Barth CA (1967) Atmospheric Scattering of the Solar Flux in the Middle Ultraviolet. *Appl Opt*
17. Brown AJ, Dusso AS, Slatopolsky E, Biber Capuano JP, Radanovic T, Wagner CA, Bacic D, Kato S, Uchiyama Y, St R, Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E, Terry AH, Sandrock T, Meikle AW, Park JW, Bae EH, Kim IJ, Ma SK, Choi C, Lee J, Kim SW (1999) DiaSorin RIA, and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Renoprotective effects of paricalcitol on gentamicin-induced kidney injury in rats.
18. Brumbaugh PF, Haussler MR (1974) 1 α ,25 dihydroxycholecalciferol receptors in intestine. I. Association of 1 α ,25 dihydroxycholecalciferol with intestinal mucosa chromatin. *J Biol Chem*

19. Brustad M, Sandanger T, Aksnes L, Lund E (2004) Vitamin D status in a rural population of northern Norway with high fish liver consumption. *Public Health Nutr*
20. Buddecke E (2002) *Molekulare Medizin: eine systematische Einführung* - Eckhart Buddecke - Google Books. *Mol Medizin eine Syst Einführung* - Eckhart Buddecke 53
21. Burton JM (2010) Erratum: A phase I/II dose-escalation trial of vitamin D3 and calcium in multiple sclerosis (*Neurology* (2010) 74 (1852-1859)). *Neurology* 75:1029
22. Byrne B, Welsh JE (2007) Identification of novel mediators of Vitamin D signaling and 1,25(OH)₂D₃ resistance in mammary cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*
23. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR (2014) Hashimoto thyroiditis: Clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun Rev*
24. Chailurkit L, Aekplakorn W, Ongphiphadhanakul B (2012) High Vitamin D Status in Younger Individuals Is Associated with Low Circulating Thyrotropin. *Thyroid*
25. Clemens TL, Henderson SL, Adams JS, Holick MF (1982) INCREASED SKIN PIGMENT REDUCES THE CAPACITY OF SKIN TO SYNTHESISE VITAMIN D₃. *Lancet*
26. Clinckspoor I, Gérard A-C, Van Sande J, Many M-C, Verlinden L, Bouillon R, Carmeliet G, Mathieu C, Verstuyf A, Decallonne B (2012) The Vitamin D Receptor in Thyroid Development and Function. *Eur Thyroid J* 1:168–175
27. Crawford DC, Nickerson DA (2005) Definition and Clinical Importance of Haplotypes. *Annu Rev Med*
28. Crofts LA, Hancock MS, Morrison NA, Eisman JA (1998) Multiple promoters direct the tissue-specific expression of novel N-terminal variant human vitamin D receptor gene transcripts. *Proc Natl Acad Sci*
29. D'Aurizio F, Villalta D, Metus P, Doretto P, Tozzoli R (2015) Is vitamin D a player or not in the pathophysiology of autoimmune thyroid diseases? *Autoimmun Rev*
30. Daly RM, Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Sikaris KA, Zimmet PZ, Ebeling PR, Shaw JE (2012) Prevalence of vitamin D deficiency and its determinants in Australian adults aged 25 years and older: A national, population-based study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 77:26–35
31. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R (2005) Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int*
32. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS (2007) Vitamin D signalling pathways in cancer: Potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer*
33. DeGroot LJ (2000) Graves' Disease and the Manifestations of Thyrotoxicosis.
34. DeLuca GC, Kimball SM, Kolasinski J, Ramagopalan S V., Ebers GC (2013) Review: The role of vitamin D in nervous system health and disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*
35. DeLuca HF (2004) Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*
36. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, Renner W, Seelhorst U, Wellnitz B, Kinkeldei J, Boehm BO, Weihrauch G, Maerz W (2008) Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med*
37. Eaton CB, Young A, Allison MA, Robinson J, Martin LW, Kuller LH, Johnson KC, Curb

- JD, Van Horn L, McTiernan A, Liu S, Manson JAE (2011) Prospective association of vitamin D concentrations with mortality in postmenopausal women: Results from the Women's Health Initiative (WHI). *Am J Clin Nutr*
38. Elisabeth James L (2013) Parkinson ' s Disease and the " Sunshine " Vitamin. *J Alzheimer's Dis Park* 03:
 39. Evatt ML (2014) Parkinson disease: Low vitamin D and Parkinson disease - A causal conundrum. *Nat Rev Neurol*
 40. Fang Y, Van Meurs JBJ, Bergink AP, Hofman A, Van Duijn CM, Van Leeuwen JPTM, Pols HAP, Uitterlinden AG (2003) Cdx-2 polymorphism in the promoter region of the human vitamin D receptor gene determines susceptibility to fracture in the elderly. *J Bone Miner Res*
 41. Fang Y, van Meurs JBJ, d'Alesio A, Jhamai M, Zhao H, Rivadeneira F, Hofman A, van Leeuwen JPT, Jehan F, Pols HAP, Uitterlinden AG (2005) Promoter and 3'-Untranslated-Region Haplotypes in the Vitamin D Receptor Gene Predispose to Osteoporotic Fracture: The Rotterdam Study. *Am J Hum Genet*
 42. Feng M, Li H, Chen SF, Li WF, Zhang F Bin (2013) Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and risk of autoimmune thyroid diseases: A meta-analysis. *Endocrine*
 43. Freissmuth M Weiterführende Literatur – 626. 617–626
 44. Gandini S, Raimondi S, Gnagnarella P, Doré JF, Maisonneuve P, Testori A (2009) Vitamin D and skin cancer: A meta-analysis. *Eur J Cancer* 45:634–641
 45. Getzenberg RH, Light BW, Lapco PE, Konety BR, Nangia AK, Acierno JS, Dhir R, Shurin Z, Day RS, Trump DL, Johnson CS (1997) Vitamin D inhibition of prostate adenocarcinoma growth and metastasis in the dunning rat prostate model system. *Urology*
 46. Godar DE, Pope SJ, Grant WB, Holick MF (2011) Solar UV doses of adult Americans and vitamin D 3 production. *Dermatoendocrinol*
 47. Goswami R, Marwaha RK, Gupta N, Tandon N, Sreenivas V, Tomar N, Ray D, Kanwar R, Agarwal R (2009) Prevalence of vitamin D deficiency and its relationship with thyroid autoimmunity in Asian Indians: A community-based survey. *Br J Nutr*
 48. Grandi NC, Breitling LP, Brenner H (2010) Vitamin D and cardiovascular disease: Systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Prev Med (Baltim)*
 49. Grant WB (2012) Ecological studies of the UVB-vitamin D-cancer hypothesis.
 50. Greene-Finestone LS, Berger C, De Groh M, Hanley DA, Hidiroglou N, Sarafin K, Poliquin S, Krieger J, Richards JB, Goltzman D (2011) 25-Hydroxyvitamin D in Canadian adults: Biological, environmental, and behavioral correlates. *Osteoporos Int*
 51. Grober U, Spitz J, Reichrath J, Kisters K, Holick M. (2013) Vitamin D: Update 2013 - From rickets prophylaxis to general preventive healthcare. *Dermatoendocrinol* 5:331–347
 52. Gröber U, Mücke R, Adamietz IA, Holzhauer P, Kisters K, Büntzel J, Micke O (2013) Komplementärer Einsatz von Antioxidanzien und Mikronährstoffen in der Onkologie: Update 2013. *Onkologe*
 53. Haussler MR, Manolagas SC, Deftos LJ (1982) Receptor for 1,25-Dihydroxyvitamin D3 in GH3 pituitary cells. *J Steroid Biochem* 16:15–19
 54. Haussler MR, Jurutka PW, Hsieh JC, Thompson PD, Selznick SH, Haussler CA, Whitfield GK (1995) New understanding of the molecular mechanism of receptor-

mediated genomic actions of the vitamin D hormone. Bone

55. Heaney RP (2012) Vitamin D and bone health-discussion points following the recent institute of medicine recommendations. *Eur Endocrinol*
56. Holick MF, Matsuoka LY, Wortsman J (1989) AGE, VITAMIN D, AND SOLAR ULTRAVIOLET. *Lancet*
57. Holick MF (2004) Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*
58. Holick MF (2004) Vitamin D: Importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis.
59. Holick MF (2006) Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest*
60. Holick MF (2006) High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc*
61. Holick MF (2007) Vitamin D & Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*
62. Holick MF (2007) Optimal vitamin D status for the prevention and treatment of osteoporosis. *Drugs and Aging*
63. Holick MF (2009) Vitamin D and health: Evolution, biologic functions, and recommended dietary intakes for vitamin D. *Clin Rev Bone Miner Metab*
64. Holick MF (2010) Vitamin D Status: Measurement, Interpretation, and Clinical Application. *Ann Epidemiol* 19:73–78
65. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM (2011) Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 96:1911–1930
66. Holick MF (2016) Biological Effects of Sunlight, Ultraviolet Radiation, Visible Light, Infrared Radiation and Vitamin D for Health. *Anticancer Res*
67. Holick MF (2017) The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord* 18:153–165
68. Holick MFM (2010) The Vitamin D Deficiency Pandemic: a Forgotten Hormone Important for Health. *Public Health Rev* 32:267–283
69. Hospital A, Norwegian T, Hospital R (1991) (FRTL-5). 76:201–206
70. Hossein-nezhad A, Spira A, Holick MF (2013) Influence of Vitamin D Status and Vitamin D3 Supplementation on Genome Wide Expression of White Blood Cells: A Randomized Double-Blind Clinical Trial. *PLoS One*
71. Hossein-Nezhad A, Holick MF (2013) Vitamin D for health: A global perspective.
72. Hou W, Wan X, Fan J (2015) Variants Fok1 and Bsm1 on VDR are associated with the melanoma risk: Evidence from the published epidemiological studies. *BMC Genet* 16:
73. Inoue N, Watanabe M, Ishido N, Katsumata Y, Kagawa T, Hidaka Y, Iwatani Y (2014) The functional polymorphisms of VDR, GC and CYP2R1 are involved in the pathogenesis of autoimmune thyroid diseases. *Clin Exp Immunol*
74. Jakobsen J, Jäpelt RB (2012) Vitamin d. *Handb Anal Act Compd Funct Foods* 219–240

75. Jerry Kaneko J (2008) Thyroid Function. *Clin Biochem Domest Anim* 55:623–634
76. Jorde R, Sneve M, Figenschau Y, Svartberg J, Waterloo K (2008) Effects of vitamin D supplementation on symptoms of depression in overweight and obese subjects: Randomized double blind trial. *J Intern Med*
77. Kanis JA, Bianchi G, Bilezikian JP, Kaufman JM, Khosla S, Orwoll E, Seeman E (2011) Towards a diagnostic and therapeutic consensus in male osteoporosis. *Osteoporos Int*
78. Keegan RJH, Lu Z, Bogusz JM, Williams JE, Holick MF (2013) Photobiology of vitamin D in mushrooms and its bioavailability in humans. *Dermatoendocrinol*
79. Khoury MJ, Yang Q (1998) The future of genetic studies of complex human diseases. *Epidemiology*
80. Kivity S, Agmon-Levin N, Zisappl M, Shapira Y, Nagy E V., Dankó K, Szekanez Z, Langevitz P, Shoenfeld Y (2011) Vitamin D and autoimmune thyroid diseases. *Cell Mol Immunol*
81. Kleber ME, Seppälä I, Pilz S, Hoffmann MM, Tomaschitz A, Oksala N, Raitoharju E, Lyytikäinen LP, Mäkelä KM, Laaksonen R, Kähönen M, Raitakari OT, Huang J, Kienreich K, Fahrleitner-Pammer A, Drechsler C, Krane V, Boehm BO, Koenig W, Wanner C, Lehtimäki T, März W, Meinitzer A (2013) Genome-wide association study identifies 3 genomic loci significantly associated with serum levels of homoarginine: The atheroremo consortium. *Circ Cardiovasc Genet* 6:505–513
82. Klett M, Wrede B (2012) 1.4 Einflussfaktoren auf die Strumaentwicklung – Ergebnisse einer retrospektiven Analyse an einem Kollektiv von 304 strumektomierten Patienten der Chirurgischen Universitätsklinik Heide/berg.
83. Kmiec P, Sworzak K (2015) Vitamin D in Thyroid Disorders. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*
84. Knowler WC, Williams RC, Pettitt DJ, Steinberg AG (1988) Gm(3;5,13,14) and type 2 diabetes mellitus: An association in American Indians with genetic admixture. *Am J Hum Genet* 43:520–526
85. Köhler K, Bickeböller H (2006) Case-control association tests correcting for population stratification. *Ann Hum Genet* 70:98–115
86. Köstner KIM, Denzer N, Müller CSL, Klein R, Tilgen W, Reichrath J (2009) The vitamin D endocrine system regulates a broad variety of independent biological processes including bone metabolism. *3536:3511–3536*
87. Krishnan A V., Feldman D (2011) Mechanisms of the Anti-Cancer and Anti-Inflammatory Actions of Vitamin D. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*
88. L'O'Ng KVQ, Nguyen LTH (2013) The role of vitamin D in Alzheimer's disease: Possible genetic and cell signaling mechanisms. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*
89. Labuda M, Fujiwara TM, Ross M V., Morgan K, Garcia-Heras J, Ledbetter DH, Hughes MR, Glorieux FH (1992) Two hereditary defects related to vitamin D metabolism map to the same region of human chromosome 12q13–14. *J Bone Miner Res*
90. Lander ES, Schork NJ (1994) Genetic dissection of complex traits. *Science* (80-)
91. Lansdowne ATG, Provost SC (1998) Vitamin D3 enhances mood in healthy subjects during winter. *Psychopharmacology (Berl)*
92. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP (2007) Vitamin

- D and calcium supplementation reduces cancer risk: Results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr*
93. Lee S, Clark SA, Gill RK, Christakos S (1994) 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and pancreatic β -cell function: Vitamin D receptors, gene expression, and insulin secretion. *Endocrinology*
 94. Lehmann B (2019) Zur Physiologie von Vitamin D Einleitung und Begriffsbestimmung. 1–7
 95. Li WH, Gu Z, Wang H, Nekrutenko A (2001) Evolutionary analyses of the human genome. *Nature*
 96. Li X, Zheng W, Li YC (2003) Altered gene expression profile in the kidney of vitamin D receptor knockout mice. *J Cell Biochem*
 97. Li Y, Willer CJ, Ding J, Scheet P, Abecasis GR (2010) MaCH: Using sequence and genotype data to estimate haplotypes and unobserved genotypes. *Genet Epidemiol*
 98. Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP (2002) 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest*
 99. Lips P (2006) Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol*
 100. Lips P (2010) Worldwide status of vitamin D nutrition. *J Steroid Biochem Mol Biol* 121:297–300
 101. Littlejohns TJ, Henley WE, Lang IA, Annweiler C, Beauchet O, Chaves PHM, Fried L, Kestenbaum BR, Kuller LH, Langa KM, Lopez OL, Kos K, Soni M, Llewellyn DJ (2014) Vitamin D and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Neurology*
 102. Looker AC, Johnson CL, Lacher DA, Pfeiffer CM, Schleicher RL, Sempos CT (2011) Vitamin D status: United States, 2001-2006. *NCHS Data Brief*
 103. Lopez Payares GM, Ali FA (2015) Vitamin D deficiency. *5-Minute Clin Consult Stand* 2016 Twenty Fourth Ed 266–281
 104. Lozano-Kühne J (2013) *SNPedia*.
 105. Mackawy AMH, Al-Ayed BM, Al-Rashidi BM (2013) Vitamin D Deficiency and Its Association with Thyroid Disease. *Int J Health Sci (Qassim)*
 106. Manicourt DH, Devogelaer JP (2008) Urban tropospheric ozone increases the prevalence of vitamin d deficiency among belgian postmenopausal women with outdoor activities during summer. *J Clin Endocrinol Metab*
 107. Manson JE, Mayne ST, Clinton SK (2011) Vitamin D and prevention of cancer: Ready for prime time? *Obstet Gynecol Surv*
 108. Marchini J (2011) Genotype Imputation. *Anal Complex Dis Assoc Stud* 157–175
 109. Matsuoka LY, Ide L, Wortsman J, Maclaughlin JA, Holick MF (1987) Sunscreens Suppress Cutaneous Vitamin D₃ Synthesis. *J Clin Endocrinol Metab*
 110. Matsuoka LY, Wortsman J, Hanifan N, Holick MF (1988) Chronic Sunscreen Use Decreases Circulating Concentrations of 25-Hydroxyvitamin D: A Preliminary Study. *Arch Dermatol*
 111. McCullough ML, Bostick RM, Mayo TL (2009) Vitamin D Gene Pathway Polymorphisms and Risk of Colorectal, Breast, and Prostate Cancer. *Annu Rev Nutr* 29:111–132
 112. McGrath JJ, Saha S, Burne THJ, Eyles DW (2010) A systematic review of the

- association between common single nucleotide polymorphisms and 25-hydroxyvitamin D concentrations. *J Steroid Biochem Mol Biol*
113. McKenna MJ (1992) Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. *Am J Med*
 114. Mellon WS, DeLuca HF (1979) An equilibrium and kinetic study of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ binding to chicken intestinal cytosol employing high specific activity 1,25-dihydroxy[³H-26, 27]vitamin D₃. *Arch Biochem Biophys*
 115. Menconi F, Marcocci C, Marinò M (2014) Diagnosis and classification of Graves' disease. *Autoimmun Rev*
 116. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG (2004) Vitamin D Intake Is Inversely Associated With Rheumatoid Arthritis: Results From the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum*
 117. Metwalley KA, Farghaly HS, Sherief T, Hussein A (2016) Vitamin D status in children and adolescents with autoimmune thyroiditis. *J Endocrinol Invest*
 118. Mirhosseini N, Brunel L, Muscogiuri G, Kimball S (2017) Physiological serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with improved thyroid function—observations from a community-based program. *Endocrine* 58:563–573
 119. Miyamoto K, Kesterson RA, Yamamoto H, Taketani Y, Nishiwaki E, Tatsumi S, Inoue Y, Morita K, Takeda E, Pike JW (2014) Structural Organization of the Human Vitamin D Receptor Chromosomal Gene and Its Promoter. *Mol Endocrinol*
 120. Moan J, Dahlback A, Porojnicu AC (2008) At what time should one go out in the sun? *Adv Exp Med Biol*
 121. National Human Genome Research Institute (NHGRI) (2010) Fact Sheet - Human Genome Project. *Natl Institutes Heal* 1–2
 122. Nesby-O'Dell S, Scanlon KS, Cogswell ME, Gillespie C, Hollis BW, Looker AC, Alien C, Dougherty C, Gunter EW, Bowman BA (2002) Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr*
 123. Nettore IC, Albano L, Ungaro P, Colao A, Macchia PE (2017) Sunshine vitamin and thyroid. *Rev Endocr Metab Disord* 18:347–354
 124. Norman AW, Frankel BJ, Heldt AM, Grodsky GM (1980) Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. *Science* (80-)
 125. Norman AW (2002) 1 α ,25(OH)₂ Vitamin D₃. *Princ Bone Biol* 545–XXX
 126. Orton SM, Morris AP, Herrera BM, Ramagopalan S V., Lincoln MR, Chao MJ, Vieth R, Sadovnick AD, Ebers GC (2008) Evidence for genetic regulation of vitamin D status in twins with multiple sclerosis. *Am J Clin Nutr* 88:441–447
 127. Pálmer HG, González-Sancho JM, Espada J, Berciano MT, Puig I, Baulida J, Quintanilla M, Cano A, García De Herreros A, Lafarga M, Muñoz A (2001) Vitamin D₃ promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of β -catenin signaling. *J Cell Biol*
 128. Park WH, Seol JG, Kim ES, Jung CW, Lee CC, Binderup L, Koeffler HP, Kim BK, Lee YY (2000) Cell cycle arrest induced by the vitamin D₃ analog EB1089 in NCI-H929 myeloma cells is associated with induction of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27. *Exp Cell Res*
 129. Pilz S, Tomaschitz A, Drechsler C, Ritz E, Boehm BO, Grammer TB, März W (2010)

- Parathyroid hormone level is associated with mortality and cardiovascular events in patients undergoing coronary angiography. *Eur Heart J* 31:1591–1598
130. Pilz S, Tomaschitz A, März W, Drechsler C, Ritz E, Zittermann A, Cavalier E, Pieber TR, Lappe JM, Grant WB, Holick MF, Dekker JM (2011) Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clin Endocrinol (Oxf)*
 131. Priemel M, Von Demarsh C, Klatte TO, Kessler S, Schlie J, Meier S, Proksch N, Pastor F, Netter C, Streichert T, Püschel K, Amling M (2010) Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: Histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-Hydroxyvitamin D in 675 patients. *J Bone Miner Res*
 132. Rajakumar K (2003) Vitamin D, Cod-Liver Oil, Sunlight, and Rickets: A Historical Perspective. *Pediatrics*
 133. Reid IR, Bolland MJ (2012) Role of vitamin D deficiency in cardiovascular disease. *Heart*
 134. Reinehr T, Andler W (2002) Thyroid hormones before and after weight loss in obesity. *Arch Dis Child*
 135. Rohan JNP, Weigel NL (2009) 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ reduces c-Myc expression, inhibiting proliferation and causing G₁ accumulation in C4-2 prostate cancer cells. *Endocrinology*
 136. Şahin M, Uçan B, Giniş Z, Topaloğlu O, Güngüneş A, Bozkurt NÇ, Arslan MS, Ünsal İÖ, Akkaymak ET, Demirci T, Karaköse M, Çalışkan M, Çakal E, Özbek M, Delibaşı T (2013) Vitamin D₃ levels and insulin resistance in papillary thyroid cancer patients. *Med Oncol*
 137. Sar M, Stumpf WE, DeLuca HF (1980) Thyrotropes in the pituitary are target cells for 1,25 dihydroxy vitamin D₃. *Cell Tissue Res* 209:161–166
 138. Schöttker B, Haug U, Schomburg L, Köhrle J, Perna L, Müller H, Holleczeck B, Brenner H (2013) Strong associations of 25-hydroxyvitamin D concentrations with all-cause, cardiovascular, cancer, and respiratory disease mortality in a large cohort study. *Am J Clin Nutr* 97:782–793
 139. Seckmeyer G, Glandorf M, Wichers C, McKenzie R, Henriques D, Carvalho F, Webb A, Siani AM, Bais A, Kjeldstad B, Brogniez C, Werle P, Koskela T, Lakkala K, Gröbner J, Slaper H, DenOuter P, Feister U (2008) Europe's darker atmosphere in the UV-B. *Photochem Photobiol Sci*
 140. Sedgwick P (2012) Multiple significance tests: The Bonferroni correction. *BMJ* 344:1–2
 141. Shastry BS (2002) SNP alleles in human disease and evolution. *J Hum Genet*
 142. Shin DY, Kim KJ, Kim D, Hwang S, Lee EJ (2014) Low serum vitamin D is associated with anti-thyroid peroxidase antibody in autoimmune thyroiditis. *Yonsei Med J*
 143. Shivakumar V, Kalmady S V., Amaresha AC, Jose D, Narayanaswamy JC, Agarwal SM, Joseph B, Venkatasubramanian G, Ravi V, Keshavan MS, Gangadhar BN (2015) Serum vitamin D and hippocampal gray matter volume in schizophrenia. *Psychiatry Res - Neuroimaging*
 144. Skowronski RJ, Peehl DM, Feldman D (1993) Vitamin d and prostate cancer: 1, 25 dihydroxy vitamin d₃ receptors and actions in human prostate cancer cell lines. *Endocrinology*
 145. Smolders J, Damoiseaux J, Menheere P, Tervaert JWC, Hupperts R (2009) Fok-I vitamin D receptor gene polymorphism (rs10735810) and vitamin D metabolism in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 207:117–121

146. Soni M, Kos K, Lang IA, Jones K, Melzer D, Llewellyn DJ (2012) Vitamin D and cognitive function. *Scand J Clin Lab Invest*
147. Stöcklin E, Eggersdorfer M (2013) Vitamin D, an essential nutrient with versatile functions in nearly all organs. *Int J Vitam Nutr Res*
148. Studzinski GP, Rathod B, Wang QM, Rao J, Zhang F (1997) Uncoupling of cell cycle arrest from the expression of monocytic differentiation markers in HL60 cell variants. *Exp Cell Res*
149. Suzuki M, Yoshioka M, Hashimoto M, Murakami M, Noya M, Takahashi D, Urashima M (2013) Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of vitamin D supplementation in Parkinson disease. *Am J Clin Nutr*
150. Tamer G, Arik S, Tamer I, Coksert D (2011) Relative Vitamin D Insufficiency in Hashimoto's Thyroiditis. *Thyroid*
151. Thomas MK, Lloyd-Jones DM, Thadhani RI, Shaw AC, Deraska DJ, Kitch BT, Vamvakas EC, Dick IM, Prince RL, Finkelstein JS (1998) Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N Engl J Med*
152. Tong WM, Kállay E, Hofer H, Hulla W, Manhardt T, Peterlik M, Cross HS (1998) Growth regulation of human colon cancer cells by epidermal growth factor and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ is mediated by mutual modulation of receptor expression. *Eur J Cancer*
153. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JBJ, Pols HAP, Van Leeuwen JPTM (2004) Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 338:143–156
154. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JBJ, Van Leeuwen H, Pols HAP (2004) Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to Vitamin D related disease states. *J Steroid Biochem Mol Biol* 89–90:187–193
155. Underwood JL, DeLuca HF (2017) Vitamin D is not directly necessary for bone growth and mineralization. *Am J Physiol Metab*
156. Vacek JL, Vanga SR, Good M, Lai SM, Lakkireddy D, Howard PA (2012) Vitamin D deficiency and supplementation and relation to cardiovascular health. *Am J Cardiol*
157. Valipour G, Saneei P, Esmailzadeh A (2014) Serum vitamin D levels in relation to schizophrenia: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Clin Endocrinol Metab*
158. van der Wielen RPJ, de Groot LCPGM, van Staveren WA, Löwik MRH, van den Berg H, Haller J, Moreiras O (1995) Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *Lancet*
159. Vondra K, Stárka L, Hampl R (2015) Vitamin D and thyroid diseases. *Physiol Res*
160. Wacker M, Holiack MF (2013) Vitamin D-effects on skeletal and extraskelatal health and the need for supplementation. *Nutrients*
161. Wacker M, Holick MF (2013) Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermatoendocrinol*
162. Wagener C, Müller O (2010) *Molekulare Onkologie: Entstehung, Progression, klinische Aspekte*. third edition. Wagener, Christoph
163. Wang TJ, Zhang F, Richards JB, Kestenbaum B, Van Meurs JB, Berry D, Kiel DP, Streeten EA, Ohlsson C, Koller DL, Peltonen L, Cooper JD, O'Reilly PF, Houston DK, Glazer NL, Vandenput L, Peacock M, Shi J, Rivadeneira F, McCarthy MI, Anneli P, De Boer IH, Mangino M, Kato B, Smyth DJ, Booth SL, Jacques PF, Burke GL, Goodarzi

- M, Cheung CL, Wolf M, Rice K, Goltzman D, Hidiroglou N, Ladouceur M, Wareham NJ, Hocking LJ, Hart D, Arden NK, Cooper C, Malik S, Fraser WD, Hartikainen AL, Zhai G, Macdonald HM, Forouhi NG, Loos RJJ, Reid DM, Hakim A, Dennison E, Liu Y, Power C, Stevens HE, Jaana L, Vasani RS, Soranzo N, Bojunga J, Psaty BM, Lorentzon M, Forouhi T, Harris TB, Hofman A, Jansson JO, Cauley JA, Uitterlinden AG, Gibson Q, Järvelin MR, Karasik D, Siscovick DS, Econs MJ, Kritchevsky SB, Florez JC, Todd JA, Dupuis J, Hyppönen E, Spector TD (2010) Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: A genome-wide association study. *Lancet* 376:180–188
164. Wang Y, Zhu J, DeLuca HF (2012) Where is the vitamin D receptor? *Arch Biochem Biophys*
 165. Webb AR, Kline L, Holick MF (1988) Influence of Season and Latitude on the Cutaneous Synthesis of Vitamin D₃: Exposure to Winter Sunlight in Boston and Edmonton Will Not Promote Vitamin D₃ Synthesis in Human Skin. *J Clin Endocrinol Metab*
 166. Weissel M (2006) Disturbances of thyroid function in the elderly. *Wien Klin Wochenschr* 118:16–20
 167. Winkelmann BR, März W, Boehm BO, Zotz R, Rosetta BM, Cf B, Pharm I, Universitätsklinik BBM, Variagenics DC, The FT, Centre S, Pharm HTA, Curagen HT, R JRC, Pharm JVM, Chrysalis KS, Trans DNX, Rc L, Corp D, Logic LGG, Roche LKH, Albert MW, Glycosciences MCO (2001) Rationale and design of the LURIC study prognosis of cardiovascular disease A Supplement to Pharmacogenomics. 1–73
 168. Wohlmann S (2008) *Pharmakologie und Toxikologie*.
 169. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF (2000) Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr*
 170. Wyskida M, Wiczorowska-Tobis K, Chudek J (2017) Prevalence and factors promoting the occurrence of vitamin D deficiency in the elderly. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*
 171. Xiang W, Kong J, Chen S, Cao L-P, Qiao G, Zheng W, Liu W, Li X, Gardner DG, Li YC (2005) Cardiac hypertrophy in vitamin D receptor knockout mice: role of the systemic and cardiac renin-angiotensin systems. *Am J Physiol Metab*
 172. Xu Y, He B, Pan Y, Deng Q, Sun H, Li R, Gao T, Song G, Wang S (2014) Systematic review and meta-analysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk. *Tumor Biol*
 173. Yamamoto M, Kawanobe Y, Takahashi H, Shimazawa E, Kimura S, Ogata E (1984) Vitamin D deficiency and renal calcium transport in the rat. *J Clin Invest*
 174. Yamshchikov A, Desai N, Blumberg H, Ziegler T, Tangpricha V (2009) Vitamin D for Treatment and Prevention of Infectious Diseases: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Endocr Pract*
 175. Yin K, Agrawal DK (2014) Vitamin D and inflammatory diseases. *J Inflamm Res*
 176. Zhang Q, Wang Z, Sun M, Cao M, Zhu Z, Fu Q, Gao Y, Mao J, Li Y, Shi Y, Yang F, Zheng S, Tang W, Duan Y, Huang X, He W, Yang T (2014) Association of high vitamin D status with low circulating thyroid-stimulating hormone independent of thyroid hormone levels in middle-aged and elderly males. *Int J Endocrinol* 2014:
 177. Zhou C, Assem M, Tay JC, Watkins PB, Blumberg B, Schuetz EG, Thummel KE (2006) Steroid and xenobiotic receptor and vitamin D receptor crosstalk mediates CYP24 expression and drug-induced osteomalacia. *J Clin Invest*

7 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Vitamin D: Update 2013 – from rickets prophylaxis to general preventive helthcare [51] _____ 15
- Abbildung 2: Hypothalamisch-hypophysäre-glanduläre Achse und Regelkreis zur Kontrolle der Schilddrüsenhormonkonzentration [43] _____ 22
- Abbildung 3: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation von TSH-Serumkonzentration und Genotyp AA und GG des VDR-SNPs 2239186. Genotyp AA des SNPs ist mit signifikant niedrigen TSH-Serumwerten assoziiert. Waagerechte Linie: Median TSH der Gesamtkohorte (1,24 mU/l). Nicht dargestellt sind Ausreißer nach oben, die in die Analyse eingeschlossen wurden. _____ 39
- Abbildung 4: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation von TSH-Serumkonzentration und Genotyp AA und GA des VDR-SNPs rs3819545. Genotyp AA des SNPs ist mit signifikant niedrigen TSH-Serumwerten assoziiert. Waagerechte Linie: Median TSH der Gesamtkohorte (1,24 mU/l). Nicht dargestellt sind Ausreißer nach oben, die in die Analyse eingeschlossen wurden. _____ 40
- Abbildung 5: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der T₃-Serumkonzentration mit den Genotypen AA, GG und GA des VDR-SNPs 2239186. Genotyp GG ist mit niedrigeren T₃-Werten assoziiert im Vergleich zu Genotypen AA und GA. Waagerechte Linie: Median T₃ der Gesamtkohorte (4,80 pmol/l). Nicht alle Ausreißer nach oben und unten, die in die Untersuchung eingeschlossen wurden, sind dargestellt. _____ 41
- Abbildung 6: LURIC-Kollektiv: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der T₃-Serumkonzentration und Vitamin-D-Status. Waagerechte Linie: Median des T₃-Wertes der Gesamtkohorte (4,80 pmol/l). Die Probandengruppe mit 25(H)D-Status < 20 ng/ml zeigt signifikant niedrigere T₃-Serumspiegel als jene Probandengruppe mit 25(OH)D-Status > 30 ng/ml. Ausreißer nach oben, die in die Untersuchung eingeschlossen wurden, sind nicht dargestellt. _____ 45
- Abbildung 7: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der TSH-Serumkonzentration mit den Genotypen AA und GA des VDR-SNPs rs3819545 unter Berücksichtigung des 25(OH)D-Status. Waagerechte Linie: Median TSH der Gesamtkohorte. Ausreißer nach oben, die in die Analyse eingeschlossen wurden, sind nicht abgebildet. _____ 49
- Abbildung 8: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der TSH-Serumkonzentration mit den Genotypen AA und GG des VDR-SNPs rs2239186 unter Berücksichtigung des 25(OH)D-Status. waagerechte Linie: Median TSH der Gesamtkohorte. Ausreißer nach oben, die in die Analyse eingeschlossen wurden, sind nicht dargestellt. _____ 52
- Abbildung 9: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der T₃-Serumkonzentration mit den Genotypen GA, AA und GG des VDR-SNPs rs2239186 unter Berücksichtigung des 25(OH)D-Status. Waagerechte Linie: Median T₃ der Gesamtkohorte. Nicht alle Ausreißer nach oben und unten, die in die Analyse eingeschlossen wurden, sind abgebildet. _____ 53
- Abbildung 10: LURIC-Kollektiv: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der 25(OH)D-Serumkonzentration in ng/ml mit den Genotypen GC und CC des VDR-SNPs

rs3782905. Waagerechte Linie zeigt den Median des Parameters 25(OH)D der Gesamtkohorte (15,50 ng/ml). Nicht alle Ausreißer nach oben und unten, die in die Analyse inkludiert wurden, sind dargestellt. _____ 60

Abbildung 11: LURIC-Kollektiv: Graphische Darstellung (Boxplot) der Assoziation der 1,25(OH)₂D-Serumkonzentration in ng/l mit den Genotypen CC und TC des VDR-SNPs rs2408876. Waagerechte Linie: Median 1,25(OH)₂D der Gesamtkohorte (33,10 ng/l). Nicht alle Ausreißer nach oben, die in die Analyse inkludiert wurden, sind abgebildet. _____ 63

8 Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Definitinon von Vitamin-D-Mangel, -Insuffizienz sowie -Suffizienz an Hand der 25(OH)D-Konzentration</i>	16
<i>Tabelle 2: Beispiel für die Bestimmung des Mittelwertes (MW), Medians (M), Standardabweichung (SD) im TSH-Wert für die Genotypen eines Polymorphismus, n beschreibt die Anzahl der Probanden pro Genotyp.</i>	26
<i>Tabelle 3: Beispiel für die Bestimmung des Mittelwertes (MW), Medians (M), Standardabweichung (SD) im T₃-Wert für die Genotypen eines Polymorphismus, n beschreibt die Anzahl der Probanden pro Genotyp.</i>	27
<i>Tabelle 4: Beispiel für die Bestimmung des Mittelwertes (MW), Medians (M), Standardabweichung (SD) im T₄-Wert für die Genotypen eines Polymorphismus, n beschreibt die Anzahl der Probanden pro Genotyp.</i>	27
<i>Tabelle 5: Beispiel für die Bestimmung des Mittelwertes (MW), Medians (M), Standardabweichung (SD) im 25(OH)D-Wert für die Genotypen eines Polymorphismus, n beschreibt die Anzahl der Probanden pro Genotyp</i>	30
<i>Tabelle 6: Beispiel für die Bestimmung des Mittelwertes (MW), Medians (M), Standardabweichung (SD) im 1,25(OH)₂-D-Wert für die Genotypen eines Polymorphismus, n beschreibt die Anzahl der Probanden pro Genotyp</i>	30
<i>Tabelle 7: Kollektiv der LURIC-Studie: Mittelwert (MW) und Median (M) von Vitamin-D-Status und Parametern der Schilddrüsenfunktion. Berücksichtigt wurden Probanden (n), bei denen zu den jeweiligen Blutwerten auch Angaben zu VDR-Genotypen vorlagen.</i>	32
<i>Tabelle 8: Kollektiv der LURIC-Studie: Absolute (n) und relative (%) Häufigkeiten der untersuchten VDR-Genotypen (n=36)</i>	33
<i>Tabelle 9: LURIC-Kollektiv: VDR-Genotypen (n=36) und jeweilige Serumwerte (Median) des Schilddrüsenhormons TSH. Inkludiert wurden alle Probanden, bei denen sowohl Genotyp als auch TSH-Wert vorlagen (Kruskal- Wallis- Test, Signifikanzniveau $p < 0,05$, signifikante Assoziationen fett gedruckt)</i>	35
<i>Tabelle 10: 36 VDR-SNPs, Genotypen, Mediane des Schilddrüsenparameters T₃. Inkludiert wurden alle Probanden, bei denen sowohl Genotyp als auch T₃-Wert vorlagen (Kruskal- Wallis- Test, Signifikanzniveau $p < 0,05$, signifikante Assoziationen fett gedruckt)</i>	36
<i>Tabelle 11: 36 VDR-SNPs, Genotypen, Mediane des Schilddrüsenparameters T₄. Inkludiert wurden alle Probanden, bei denen sowohl Genotyp als auch T₄-Wert vorlagen (Kruskal- Wallis- Test, Signifikanzniveau $p < 0,05$)</i>	37
<i>Tabelle 12: signifikante Assoziation von VDR-Genotypen (n: Anzahl der Probanden) und Schilddrüsenparameter TSH</i>	38
<i>Tabelle 13: signifikante Assoziation von Genotyp (n: Anzahl der Probanden) und Schilddrüsenparameter T₃</i>	40

Tabelle 14: Median (M), Mittelwert (MW) sowie Standardabweichung (SD) für die Schilddrüsenparameter TSH, T ₃ , T ₄ nach Vitamin-D-Status	42
Tabelle 15: LURIC-Kollektiv (Kruskal-Wallis-Test). Keine signifikante Assoziation zwischen Vitamin-D-Status und Schilddrüsenhormon TSH	43
Tabelle 16: LURIC-Kollektiv: (Kruskal-Wallis-Test): Assoziation zwischen Vitamin-D-Status und Schilddrüsenhormon T ₃	43
Tabelle 17: LURIC-Kollektiv: (Kruskal-Wallis-Test): Assoziation zwischen Vitamin-D-Status und T ₄	44
Tabelle 18: LURIC-Kollektiv: Ergebnis des Mann-Whitney-U-Tests zur Untersuchung einer möglichen Assoziation der Serumwerte des Schilddrüsenhormons T ₃ bei Probanden mit 25(OH)D-Serumwerten <20 ng/ml und >30 ng/ml	45
Tabelle 19: signifikante Assoziation von Vitamin-D-Status (n beschreibt die Anzahl jener, dieser Gruppe zugehörigen, Probanden) und Schilddrüsenparameter T ₃	46
Tabelle 20: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukeotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter TSH (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test)	48
Tabelle 21: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukeotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter TSH (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test).	48
Tabelle 22: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukeotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter TSH (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test).	50
Tabelle 23: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukeotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter TSH (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test).	50
Tabelle 24: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukeotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter T ₃ (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test).	52
Tabelle 25: LURIC-Kollektiv: Subgruppenanalysen zum möglichen Einfluss des Vitamin-D-Status auf die Assoziation von VDR-Einzelnukeotid-Polymorphismen und dem Schilddrüsenparameter T ₃ (n:Anzahl der Probanden) (Mann-Whitney-U-Test).	53
Tabelle 26: signifikanter VDR-SNP rs2239186 im Kruskal-Wallis-Test, Genotyp, Schilddrüsenparameter TSH, T ₃ , T ₄ , in den nach 25(OH)D-Status erstellten Gruppen	54
Tabelle 27: signifikanter VDR-SNP rs3819545 im Kruskal-Wallis-Test, Genotyp, Schilddrüsenparameter TSH, T ₃ , T ₄ , in den nach 25(OH)D-Status erstellten Gruppen	54
Tabelle 28: VDR-SNPs, Genotypen, Median 25(OH)D-Serumlevel. Inkludiert wurden alle Probanden, bei denen sowohl Genotyp als auch 25(OH)D-Status vorlagen (Kruskal- Wallis-Test, Signifikanzniveau p<0,05, signifikante Assoziationen fett gedruckt)	58

<i>Tabelle 29: LURIC-Kollektiv: signifikante Assoziation der VDR-Genotypen GG und GC (n: Anzahl der Probanden) des rs3782905 und 25(OH)D-Serumspiegel</i>	59
<i>Tabelle 30: VDR-SNPs, Genotypen, Median 1,25-OH₂D-Serumlevel. Inkludiert wurden alle Probanden, bei denen sowohl Genotyp als auch 1,25(OH)₂D-Status vorlagen (Kruskal-Wallis-Test, Signifikanzniveau $p < 0,05$, signifikante Assoziationen sind fett gedruckt)</i>	61
<i>Tabelle 31: LURIC-Kollektiv: signifikante Assoziation der VDR-Genotypen CC und TC (n: Anzahl der Probanden) des rs2408876 und 1,25(OH)₂D-Serumspiegel</i>	62
<i>Tabelle 32: signifikante Testergebnisse aus 4.1 mit jeweiligem p-Wert. Bei $p > p^*$ wurde nach Korrektur für multiples Testen die Nullhypothese nochmals angenommen</i>	64
<i>Tabelle 33: signifikante Testergebnisse aus 4.2 mit jeweiligem p-Wert. Bei $p > p^*$ wurde nach Korrektur für multiples Testen die Nullhypothese nochmals angenommen.</i>	65
<i>Tabelle 34: signifikante Testergebnisse aus 4.3 mit jeweiligem p-Wert. Bei $p > p^*$ wurde nach Korrektur für multiples Testen die Nullhypothese nochmals angenommen</i>	65
<i>Tabelle 35: signifikante Testergebnisse aus 4.4 mit jeweiligem p-Wert. Bei $p > p^*$ wurde nach Korrektur für multiples Testen die Nullhypothese nochmals angenommen</i>	65
<i>Tabelle 36: SNPs mit hohen/ niedrigen Schilddrüsenparametern TSH, T₃, T₄, die in der Untersuchung mittels Kruskal-Wallis-Test das geforderte Signifikanzniveau $p < 0,05$ nicht erreichten. n= Anzahl der Probanden.</i>	66

9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei all jenen bedanken, die mir bei der Vollendung meiner Dissertation geholfen haben.

Zunächst möchte ich mich bei *Herrn Professor Dr. med. Jörg Reichrath* für die Möglichkeit bedanken, die Dissertation im Bereich der Dermatologie absolvieren zu dürfen. Ich danke für die stets sehr zuverlässige Betreuung sowie den fachlichen Rückhalt beim Verfassen sowie Korrigieren der Arbeit.

Ebenfalls möchte ich den wissenschaftlichen Mitarbeitern vom Institut für medizinische Biometrie, Epidemiologie und medizinische Informatik *Herrn Jakob Schöpe und Frau Gudrun Wagenpfeil* für die geduldige Unterstützung der statistischen Auswertung der Daten danken. Ein weiterer Dank geht an *Herrn Dr. rer. nat. Marcus Kleber* und *Herrn Prof. Dr. med. Winfried März* vom Mannheimer Institut für Public Health zur Bereitstellung der erhobenen Daten der LURIC-Studie, welche die Grundlage für vorliegende Arbeit darstellen.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine Eltern *Gisela und Werner Reichert* für die bedingungslose und wertvolle Unterstützung während dem Medizinstudium sowie der Bearbeitung der Dissertation. Die Zuversicht, das Vertrauen und der stete Rückhalt haben wesentlich zum Erfolg der Arbeit beigetragen. Sehr dankbar bin ich ebenfalls meinen *Geschwistern Anna- Leena und Sven*, die mir stets mit Rat zur Seite standen und sowohl fachlich, als auch menschlich von enormer Wichtigkeit waren. Zuletzt möchte ich meiner Partnerin *Jacqueline Weiland* danken, die mich stets begleitet und auf wertvolle Art und Weise beim Anfertigen der Arbeit unterstützt hat.

10 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

Tag der Promotion: 15.06.2022

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Jörg Reichrath

Prof. Dr. med. Marcin Krawczyk