

PNEUMOLOGIA PEDIATRICA

RICERCA GIOVANE IN PNEUMOLOGIA PEDIATRICA

Associazione tra vitamina d totale e libera e concentrazioni sieriche della vitamina d-binding protein in una coorte di bambini asmatici

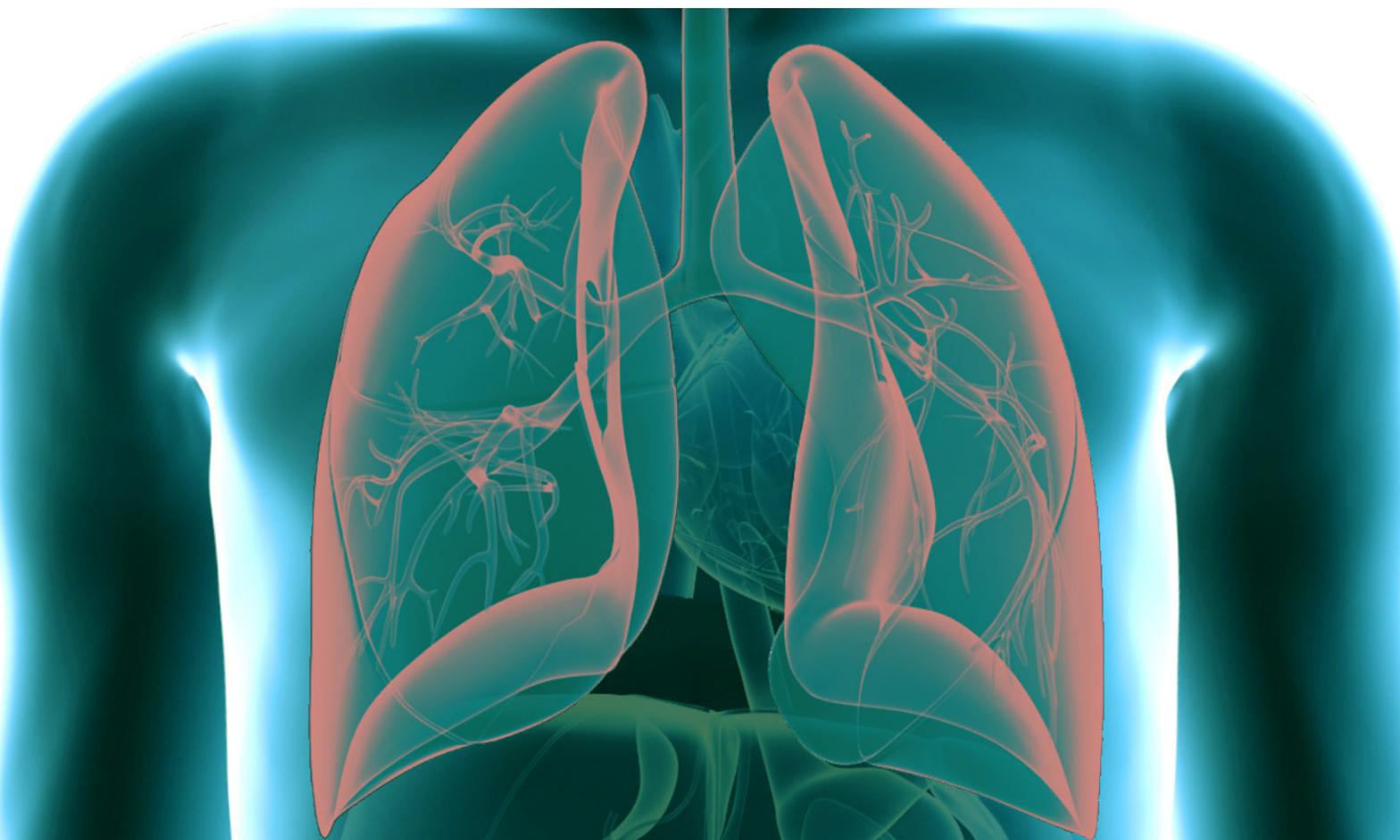
Ventilazione assistita nelle malattie neuromuscolari

Ruolo del test da sforzo cardiopolmonare (cpet) nel follow-up della fibrosi cistica in età pediatrica

L'asma nell'adolescenza

Eziologia della tosse cronica: studio retrospettivo su un'ampia casistica di pazienti in età pediatrica

La bronchiolite



INDICE

Editoriale

View point

Francesca Santamaria

Associazione tra vitamina d totale e libera e concentrazioni sieriche della vitamina d-binding protein in una coorte di bambini asmatici

Association between total vitamin d, free vitamin d and serum vitamin d-binding protein levels in a cohort of asthmatic children

Annalisa Allegorico, Laura Ruggiero, Michele Miraglia Del Giudice, Carlo Capristo

Ventilazione assistita nelle malattie neuromuscolari

Mechanical ventilation in neuromuscular disorders

Serena Caggiano, Martino Pavone, Elisabetta Verrillo, Maria Beatrice Chiarini Testa, Serena Soldini, Renato Cutrera

Ruolo del test da sforzo cardiopolmonare (cpet) nel follow-up della fibrosi cistica in età pediatrica

Role of cardiopulmonary exercise testing (cpet) during the follow-up of children with cistic fibrosis

Chiara Chiabotto, Lorenzo Appendini, Gabriela Ferrera, Sara Dal Farra, Aleksandar Veljkovic, Manuela Goia, Elisabetta Bignamini

L'asma nell'adolescenza

Asthma during adolescence

Diletta De Benedictis, Sara Macone

Eziologia della tosse cronica: studio retrospettivo su un'ampia casistica di pazienti in età pediatrica

Aetiology of chronic cough: a retrospective study on a large pediatric population

Violetta Mastrorilli, Anna Rita Cappiello, Paola Passoforte, Giorgia Borrelli, Giuseppina Mongelli, Arianna Goffredo, Fabio Cardinale

La bronchiolite

Bronchiolitis

Raffaella Nenna, Antonella Frassanito, Laura Petrarca, Fabio Midulla

Pneumologia Pediatria

Volume 16, n. 63 - settembre 2016

Direttore Responsabile

Francesca Santamaria (Napoli)

Direzione Scientifica

Stefania La Grutta (Palermo)

Luigi Terracciano (Milano)

Segreteria Scientifica

Silvia Montella (Napoli)

Comitato Editoriale

Angelo Barbato (Padova)

Filippo Bernardi (Bologna)

Alfredo Boccaccino (Misurina)

Attilio L. Boner (Verona)

Mario Canciani (Udine)

Carlo Capristo (Napoli)

Fabio Cardinale (Bari)

Salvatore Cazzato (Bologna)

Renato Cutrera (Roma)

Fernando M. de Benedictis (Ancona)

Fulvio Esposito (Napoli)

Mario La Rosa (Catania)

Massimo Landi (Torino)

Gianluigi Marseglia (Pavia)

Fabio Midulla (Roma)

Luigi Nespoli (Varese)

Giorgio L. Piacentini (Verona)

Giovanni A. Rossi (Genova)

Giancarlo Tancredi (Roma)

Marcello Verini (Chieti)

Editore

Giannini Editore

Via Cisterna dell'Olio 6b

80134 Napoli

e-mail: editore@gianninispa.it

www.gianninieditore.it

Coordinamento Editoriale

Center Comunicazioni e Congressi

Srl

e-mail: info@centercongressi.com

Napoli

Realizzazione Editoriale e

Stampa

Officine Grafiche F. Giannini & Figli

SpA

Napoli

© Copyright 2015 by SIMRI

Finito di stampare nel mese di ___

Associazione tra vitamina D totale e libera e concentrazioni sieriche della vitamina D-binding protein in una coorte di bambini asmatici

Association between total vitamin D, free vitamin D and serum vitamin D-binding protein levels in a cohort of asthmatic children

Annalisa Allegorico, Laura Ruggiero, Michele Miraglia del Giudice, Carlo Capristo
Dipartimento della Donna, del Bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica, Seconda Università degli Studi di Napoli

Corrispondenza: Annalisa Allegorico **email:** aallegorico@gmail.com

Riassunto: La recente scoperta che tutti i tessuti del corpo umano hanno recettori per la vitamina D e che la vitamina D ha effetti pleiotropici ha suscitato un crescente interesse per questo ormone. Si è scoperto che molti effetti della vitamina D sono indipendenti dal ciclo a *feedback* tra osso e sistema endocrino e dai livelli sierici di calcio, fosforo e paratormone. La carenza di vitamina D può essere causa di infezioni respiratorie e scatenare riacutizzazioni asmatiche. La vitamina D *binding protein* (DBP) è il principale *carrier* plasmatico della vitamina D e dei suoi metaboliti. La forma 25(OH)D è usata come *marker* dello stato metabolico della vitamina; quest'ultima circola per gran parte legata alla DBP, per circa il 10% ad altre proteine di trasporto come l'albumina e solo in minima parte (l'1% circa) è libera nel plasma. Scopo del nostro studio è valutare i livelli di vitamina D totale e libera in un gruppo di bambini con asma allergico con l'obiettivo di verificare se i loro livelli di vitamina D totale siano ridotti rispetto alla popolazione generale e se a ridotti livelli di vitamina D totale corrispondano anche bassi livelli di vitamina D libera. I risultati non hanno evidenziato alcuna differenza statisticamente significativa nei livelli di vitamina D (totale e libera) tra soggetti asmatici e non. La nostra attenzione si è focalizzata sul valutare l'affidabilità del valore ematico della vitamina D totale rispetto alla quota libera, che rappresenta la quota biologicamente attiva. Sono necessari ulteriori studi scientifici per confermare i nostri risultati.

Parole chiave: Vitamina D, Vitamina D *binding-protein*, asma allergico.

Summary: Recent discoveries about the distribution of vitamin D receptor in all human tissues and about vitamin D pleiotropic effects resulted in a growing interest in this hormone. Many effects of vitamin D are independent from the feedback system between bones and endocrine system and from serum levels of calcium, phosphorus and parathormone. Vitamin D deficiency can cause respiratory infections and asthma exacerbations. Vitamin D binding protein (DBP) is the main carrier of serum vitamin D and its metabolites. 25(OH)D is a marker of the vitamin metabolic status, as it is mostly carried by DBP. Only 10% of vitamin D is bound to other transport proteins such as albumin, while a small part circulates free in serum. Aim of our study is to determine serum total and free vitamin D levels in a group of children with allergic asthma compared to the general population in order to verify whether reduced total vitamin D levels are related to low free vitamin D levels. Our results showed no statistically significant difference in total and free vitamin D levels between asthmatic and non-asthmatic children. Our attention then focused on the reliability of the total vitamin D blood value compared to the free vitamin D value, which represents the biologically active portion. More studies are needed to confirm our findings.

Key words: Vitamin D, Vitamin D binding-protein, allergic asthma.

La recente scoperta che tutti i tessuti del corpo umano hanno recettori per la vitamina D e che la vitamina D ha effetti pleiotropici ha suscitato un crescente interesse per questo ormone. Si è scoperto che molti effetti della vitamina D sono indipendenti dal ciclo a *feedback* tra osso e sistema endocrino e dai livelli sierici di calcio, fosforo e paratormone. Recenti studi indicano che la carenza di vitamina D è associata a molte condizioni non riguardanti l'osso, come cancro, malattie autoimmuni, sindrome metabolica, malattie cardiovascolari e disturbi respiratori (1). Con il termine vitamina D indichiamo un gruppo di steroidi liposolubili, di cui la vitamina D₃ o colecalciferolo è il componente più importante per l'uomo (2). Il colecalciferolo può essere

assunto dall'uomo tramite gli alimenti oppure sintetizzato a livello cutaneo dopo esposizione alle radiazioni solari UVB. In realtà la quota di vitamina D assunta con gli alimenti è davvero scarsa e la fonte principale di vitamina per l'uomo è la luce solare. Numerosi fattori influenzano l'efficacia delle radiazioni solari, come la pigmentazione cutanea, la latitudine, il momento della giornata e la stagione dell'anno in cui ci si espone al sole, l'inquinamento atmosferico, la percentuale di cute esposta, il tipo di vestiario e l'utilizzo di filtri solari. Studi osservazionali in adulti e bambini sani hanno documentato una diffusa insufficienza di vitamina D nei bambini neri ispanici e non, con un andamento stagionale che dimostra livelli sierici più alti in estate (3, 4). Numerose evidenze epidemiologiche mostrano come i soggetti obesi siano una categoria a rischio di sviluppo di ipovitaminosi D. Il tessuto adiposo costituisce infatti il sito di deposito della 25(OH)D, sostanza liposolubile, che quindi si trova in concentrazioni sieriche ridotte (5). Attualmente gli studi indicano che l'obesità determina una riduzione dei livelli di vitamina D e non che la sua carenza predisponga all'obesità. L'esatta natura del rapporto tra obesità e deficit di vitamina D non è ancora del tutto chiara e le molecole chiave alla base di questo processo non sono perfettamente conosciute. Walker et al. hanno supposto che l'anello di congiunzione tra obesità e carenza di vitamina D sia l'adinopectina, un'adipochina prodotta dal tessuto adiposo, i cui livelli risultano essere ridotti nei soggetti obesi che presentino un deficit di vitamina D (6). Il deficit di vitamina D nel bambino obeso può incrementare la resistenza all'insulina, punto di partenza per lo sviluppo della sindrome metabolica. I pochi studi condotti sulla supplementazione di vitamina D nel bambino obeso suggeriscono che essa sia in grado di ridurre il rischio di insulino-resistenza e quindi di sindrome metabolica. La carenza di vitamina D può anche essere secondaria a celiachia, fibrosi cistica con malassorbimento ed utilizzo di farmaci come anticonvulsivanti, rifampicina ed antiretrovirali. La vitamina D è strettamente associata alla risposta contro infezioni diverse e la sintesi tessuto-specifica della forma attiva della vitamina D è implicata nella risposta immunitaria sia innata sia adattativa. È stato dimostrato che la vitamina D ha proprietà immuno-modulatorie potenti, esercitando un'azione d'inibizione della produzione di citochine pro-infiammatorie e di induzione della sintesi del peptide antimicrobico sulle cellule del sistema immunitario innato (7). Questo peptide è centrale nella difesa dell'ospite contro patogeni respiratori (8). La vitamina D sembra anche rafforzare la barriera fisica epiteliale, facilitando così le difese naturali (9). Inoltre modula il sistema immunitario adattativo con effetti diretti sull'attivazione delle cellule T e su fenotipo e funzione delle cellule presentanti l'antigene. I livelli di vitamina D sono associati ad una riduzione dose-dipendente della trascrizione di citochine Th-1 (IL-2, INF- γ) e ad un'aumentata espressione di citochine Th-2 (IL-4) (2,7,8). In conclusione la vitamina D è un modulatore della funzione innata ed adattativa del sistema immunitario e ha un ruolo chiave nell'equilibrio Th1-Th2. A causa del noto ruolo immunomodulante del recettore della vitamina D (VDR) e della sua associazione con severe malattie immuno-mediate, il gene che codifica per il VDR potrebbe essere responsabile della suscettibilità all'asma. Alcuni studi identificano le varianti del gene VDR come fattore di rischio genetico per asma/atopia (10). Vi sono numerosi studi sul ruolo della vitamina D nella difesa contro le infezioni delle vie aeree superiori ed inferiori. La carenza di vitamina D può essere causa di infezioni respiratorie e scatenare riacutizzazioni asmatiche (11). Livelli di vitamina D <30 ng/ml sono associati ad aumentata reattività delle vie aeree superiori e ad elevati livelli sierici di eosinofili e di IgE (12). Un secondo aspetto importante nel rapporto vitamina D-asma è la compromissione polmonare. I bambini con insufficienti livelli di vitamina D hanno un FEV₁ medio inferiore rispetto ai bambini con livelli normali (13). Un terzo aspetto relativo al rapporto vitamina D-asma riguarda il possibile ruolo della vitamina D nel rimodellamento delle vie aeree. È stato dimostrato che la vitamina D influenza l'espressione genica delle cellule muscolari lisce bronchiali, con effetti su rimodellamento, crescita e sopravvivenza cellulare, morfogenesi e matrice extracellulare (14). I livelli di vitamina D possono anche influenzare l'efficacia della terapia anti-asma. Bassi livelli di vitamina D, infatti, sono correlati ad un maggior uso di corticosteroidi per via orale o inalatoria. Una spiegazione potrebbe derivare dal fatto che la vitamina D modula gli effetti dei glucocorticoidi (15). La

vitamina D sembra anche essere coinvolta nello sviluppo di allergie alimentari e numerose malattie della pelle, come la psoriasi e l'eczema.

È stato dimostrato che la vita fetale è di fondamentale importanza per lo sviluppo futuro di malattie croniche come l'asma e le allergie. Numerosi sono gli studi di associazione tra asma infantile e/o sviluppo del sistema immunitario e l'assunzione materna di alcuni nutrienti durante la gravidanza (selenio, vitamina E, acidi grassi polinsaturi) (16,17). La vitamina D è stata implicata nello sviluppo e maturazione del sistema polmonare ed è stato suggerito che ci sia un sistema alveolare paracrino (18).

VITAMINA D BINDING PROTEIN

La vitamina D *binding protein* (DBP) è il principale *carrier* plasmatico della vitamina D e dei suoi metaboliti. La forma 25(OH)D è usata come *marker* dello stato metabolico della vitamina, che circola per gran parte legata alla DBP, per circa il 10% ad altre proteine di trasporto, come l'albumina, e solo in minima parte (l'1% circa) libera nel plasma. La DBP presenta almeno tre funzioni (19):

- inibisce la formazione di actina F (filamentosa), che viene rilasciata dalle cellule danneggiate e che induce vaso-occlusione;
- aumenta l'effetto chemiotattico dei peptidi del complemento nei confronti dei neutrofili e del complemento;
- attiva i macrofagi in seguito alla sua conversione in fattore di attivazione macrofagico da parte di enzimi linfocitari.

La DBP è una α_2 -globulina sierica con un peso molecolare di 52-59 kDa, è costituita di 458 aminoacidi e presenta tre domini, di cui due legano la vitamina D. Il gene che codifica la proteina (GC) è localizzato sul braccio lungo del cromosoma 4, contiene 13 esoni e 12 introni e fa parte di un *cluster* di geni che include anche quelli dell'albumina e dell' α -fetoproteina. Il GC è caratterizzato da numerosi polimorfismi a singolo nucleotide responsabili delle varianti fenotipiche della proteina, di cui le più frequenti sono GC1F, GC1S e GC2 (20). I polimorfismi influenzano sia l'attività intrinseca della proteina, sia la sua capacità di legame alla vitamina D. La variante GC2, ad esempio, mostra una minore tendenza ad essere convertita nel fattore di attivazione dei macrofagi, da cui deriva una minore attività macrofagica. La biodisponibilità di vitamina D dipende dalla concentrazione della DBP o di altre proteine, quali l'albumina, e dalla differente affinità delle diverse isoforme di DBP per la vitamina D. La forma biodisponibile è la quota di vitamina D non legata alla DBP, ossia la quota costituita dalla porzione libera più quella legata all'albumina, in considerazione della debole affinità per quest'ultima. Nei soggetti sani la concentrazione plasmatica di DBP è di 300-600 $\mu\text{g/ml}$. La sua sintesi epatica è estrogeno-dipendente ed aumenta significativamente durante la gravidanza e la terapia estrogenica. Mentre la vitamina D ha un'emivita di 12 giorni, la DBP ha un'emivita plasmatica più breve (circa 2.5 giorni). La DBP è rimossa dal circolo da diversi tessuti tra cui fegato, rene, muscolo scheletrico, cuore, intestino, polmone ed osso. In condizioni di malnutrizione, sindrome nefrosica o epatopatie, i livelli sierici di DBP sono ridotti per diminuita sintesi o eccessiva perdita della stessa. A differenza di altre proteine plasmatiche, non sono state osservate variazioni di concentrazione della DBP nel corso della vita. Nei bambini obesi è stata da sempre riscontrata una riduzione dei livelli totali di 25(OH)D circolante. Recenti studi hanno però dimostrato che la quota di vitamina D biodisponibile, e dunque biologicamente attiva, nei bambini obesi è simile a quella dei non obesi. Nei bambini obesi è stata però riscontrata una riduzione della concentrazione di DBP inversamente proporzionale all'aumento di insulina, suggerendo un possibile ruolo dell'insulino-resistenza nella soppressione della produzione della DBP come meccanismo di compenso in modo da mantenere sufficienti i valori di vitamina D biodisponibile. Una significativa correlazione è presente anche tra livelli di adiponectina e di DBP (21). Numerosi studi stanno concentrando l'attenzione sull'influenza che la vitamina D e la DBP possano avere sullo sviluppo di patologie polmonari, quali la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO),

l'asma e la tubercolosi (22). L'attivazione dei macrofagi e dell'infiammazione neutrofila sono alcune delle attività svolte dalla DBP e possono rilevarsi cruciali nella fisiopatologia delle patologie infiammatorie ed infettive a carico del polmone. Dato l'elevato polimorfismo del gene codificante la DBP, sono state identificate differenze di funzione della proteina che potrebbero aumentare o diminuire il rischio di queste patologie. Ad esempio, nell'insorgenza della BPCO sembrano avere un possibile ruolo le diverse varianti del gene GC. In particolare, la variante GC1S non è stata associata a BPCO in nessun gruppo razziale, la variante GC1F è stata associata con vari fenotipi di BPCO nella popolazione asiatica e la variante GC2 si è rilevata protettiva nei caucasici (23). Anche nell'asma la vitamina D e la DBP sembrano svolgere un importante ruolo. Ad esempio, Bratke et al. hanno riportato un aumento della DBP e della vitamina D nel secreto bronchiolo-alveolare di soggetti con asma allergico moderato (24). Altri studi hanno osservato come la variante GC2 rappresenti un fattore di rischio per asma nella popolazione cinese (25). Navas-Nazario et al. hanno osservato che il genotipo GC1S è protettivo nei bambini ispanici, mentre non hanno identificato alcuna correlazione tra genotipi ad alto rischio di sviluppare asma e livelli circolanti di vitamina D (26). Sono necessari ulteriori studi per chiarire il meccanismo con il quale alcuni genotipi influenzano la capacità della DBP di legare la vitamina D e, quindi, modificare la quota di vitamina D biodisponibile.

LA NOSTRA ESPERIENZA

La maggior parte degli studi condotti sull'associazione tra vitamina D ed asma si concentrano sui livelli circolanti totali di vitamina D, senza misurare né la sua quota libera né la concentrazione di DBP. Scopo del nostro studio è valutare i livelli di vitamina D totale e libera in un gruppo di bambini con asma allergico, con l'obiettivo di verificare se i loro livelli di vitamina D totale siano ridotti rispetto alla popolazione generale e, inoltre, se a ridotti livelli di vitamina D totale corrispondano anche bassi livelli di vitamina D libera. Abbiamo inoltre valutato il rapporto esistente tra livelli di vitamina D e grado di controllo della sintomatologia asmatica determinato con l'*asthma control test* (ACT), funzionalità respiratoria valutata mediante esame spirometrico basale e dopo somministrazione di 400 µg di salbutamolo per via inalatoria ed infiammazione eosinoflica bronchiale determinata mediante misurazione dell'ossido nitrico esalato. I pazienti reclutati sono stati suddivisi in asmatici e non asmatici. I primi hanno effettuato prelievo ematico per il dosaggio di paratormone, albumina, IgE totali, vitamina D totale, vitamina D libera e DBP. I risultati non hanno evidenziato differenze statisticamente significative nei livelli di vitamina D totale e libera tra soggetti asmatici e non. In particolare, non è stata riscontrata una correlazione inversa tra livelli di vitamina D totale e libera e gravità dell'asma, punteggio ACT o funzionalità respiratoria. I valori di DBP erano tendenzialmente più elevati nei pazienti con più basso FVC all'esame spirometrico, anche se tale correlazione non era statisticamente significativa. In conclusione, nei pazienti asmatici non sono stati riscontrati livelli di vitamina D totale e libera ridotti rispetto ai non asmatici. Con il nostro studio abbiamo voluto approfondire il rapporto tra vitamina D ed asma, tenendo conto del complesso metabolismo di tale vitamina. La nostra attenzione si è focalizzata sul valutare l'affidabilità del valore ematico della vitamina D totale rispetto alla quota libera, che rappresenta la quota biologicamente attiva. Sono necessari ulteriori studi per confermare i nostri risultati.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Holick MF. *Vitamin D deficiency*. N Engl J Med 2007; 357: 266-281.
- (2) Di Mauro G, Saggese G, Vierucci F, et al. . *CONSENSUS 2015-Vitamina D in età pediatrica*. Ped Prev Soc; Supp 3 2015; ISSN 1970: 8165.
- (3) Mansbach JM, Ginde AA, Camargo CA. *Serum 25-hydroxyvitamin D levels among US children aged 1 to 11 years: do children need more vitamin D?* Pediatrics 2009; 124: 1404-1410.
- (4) Gordon CM, De Peter KC, Feldman AH, et al. *Prevalence of vitamin D deficiency among healthy adolescents*. Arch Pediatr Adolesc Med 2004; 158: 531-537.
- (5) Vimalaswaran KS, Berry DJ, Lu C, et al. *Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts*. PLoS Med 2013; 10: e1001383.
- (6) Walker GE, Ricotti R, Roccio M, et al. *Pediatric obesity and vitamin D deficiency: a proteomic approach identifies multimeric adiponectin as a key link between these conditions*. PLoS One 2014; 9: e83685.
- (7) Adams JS, Hewison M. *Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity*. Nat Clin Pract Endocrinol Metab 2008; 4: 80-90.
- (8) White JH. *Vitamin D as an inducer of cathelicidin antimicrobial peptide expression: past, present and future*. J Steroid Biochem Mol Biol 2010; 121: 234-238.
- (9) Schwalfenberg GK. *A review of the critical role of vitamin D in the functioning of the immune system and the clinical implications of vitamin D deficiency*. Mol Nutr Food Res 2011; 55: 96-108.
- (10) Poon A, Laprise C, Jimnez-Corona A, et al. *Comparative genetic study of tuberculosis and asthma susceptibilities*. Am J Hum Genet 2003; 73: S385.
- (11) Jartti T, Ruuskanen O, Mansbach JM, et al. *Low serum 25-hydroxyvitamin D levels are associated with increased risk of viral coinfections in wheezing children*. J Allergy Clin Immunol 2010; 126: 1074-1076.
- (12) Brehm JM, Celedon JC, Soto-Quiros ME, et al. *Serum vitamin D levels and markers of severity of childhood asthma in Costa Rica*. Am J Respir Crit Care Med 2009; 179: 765-771.
- (13) Brehm JM, Schuemann B, Fuhlbrigge AL, et al. *Serum vitamin D levels and severe asthma exacerbations in the childhood asthma management program study*. J Allergy Clin Immunol 2010; 126: 52-58.
- (14) Bossé Y, Maghni K, Hudson TJ. *1 α ,25-dihydroxy-vitamin D₃ stimulation of bronchial smooth muscle cells induces autocrine, contractility, and remodeling processes*. Physiol Genomics 2007; 29: 161-168.
- (15) Bossé Y, Lemire M, Poon AH, et al. *Asthma and genes encoding components of the vitamin D pathway*. Respir Res 2009; 10: 98.
- (16) Marin L, Dufour ME, Nguyen TM, et al. *Maturation changes induced by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ in type II cells from fetal rat lung explants*. Am J Physiol 1993; 265: 45-52.
- (17) Nguyen M, Trubert CL, Rizk-Rabin M, et al. *1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and fetal lung maturation: immunogold detection of VDR expression in pneumocytes type II cells and effect on fructose 1,6 bisphosphatase*. J Steroid Biochem Mol Biol 2004; 89-90: 93-97.
- (18) Sakurai R, Shin E, Fonseca S, et al. *1 α ,25(OH)₂D₃ and its 3-epimer promoter at lung alveolar epithelial-mesenchymal interactions and inhibit lipofibroblast apoptosis*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2009; 297: 496-505.
- (19) Speeckaert M, Huang G, Delanghe JR, et al. *Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc – globulin) and its polymorphism*. Clin Chim Acta 2006; 372: 33-42.
- (20) Braun A, Bichlmaier R, Cleve H. *Molecular analysis of the gene for the human vitamin D-binding protein (group-specific component): allelic differences of the common genetic Gc types*. Hum Genet 1992; 89: 401-406.
- (21) Miraglia del Giudice E, Grandone A, Cirillo G, et al. *Bioavailable vitamin D in obese children: the role of insulin resistance*. J Clin Endocrinol Metab 2015; 100: 3949-3955.

- (22) Chishimba L, Thickett DR, Stockley RA, et al. *The vitamin D axis in the lung: a key role for vitamin D-binding protein*. Thorax 2010; 65: 456-462.
- (23) Hersh CP, Demeo DL, Lange C, et al. *Attempted Replication of Reported Chronic Obstructive Pulmonary Disease Candidate Gene Associations*. Am J Respir Cell Mol Biol 2005; 33: 71-78.
- (24) Bratke K, Wendt A, Garbe K, et al. *Vitamin D binding protein and vitamin D in human allergen-induced endobronchial inflammation*. Clin Exp Immunol 2014; 177: 366-372.
- (25) Li F, Jiang L, Willis-Owen SA, et al. *Vitamin D binding protein variants associate with asthma susceptibility in the Chinese han population*. BMC Med Genet 2011; 12: 103.
- (26) Navas-Nazario A, Li F, Shabanova V, et al. *Effect of Vitamin D Binding Protein (DBP) Genotype on the Development of Asthma in Children*. Ann Allergy Asthma Immunol 2014; 112: 519-524.