

**C-3 EPIMER OF 25-HYDROXYVITAMIN D: GENETIC  
VARIATION AND THE EFFECT ON GLYCEMIC OUTCOMES**

The image shows a large, faint watermark of the Mahidol University logo in the background. The logo is circular and contains a central emblem with Thai script around it. The text 'SIRIKUNYA TORUGSA' is centered over the logo.

**SIRIKUNYA TORUGSA**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE  
OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (NUTRITION)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

Copyright by Mahidol University

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

**C-3 EPIMER OF 25-HYDROXYVITAMIN D: GENETIC VARIATION AND THE EFFECT ON GLYCEMIC OUTCOMES**

SIRIKUNYA TORUGSA 5236673 NUNU/D

Ph.D. (NUTRITION)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: BOONSONG ONGPHIPHADHANAKUL, M.D., HATAIKARN NIMITPHONG, M.D., DARUNEEWAN WARODOMWICHIT, M.D.

**ABSTRACT**

The difference in the forms of C3-epimer and basic metabolites may disturb the interpretation between vitamin D and glucose homeostasis. Therefore, this study aims to investigate causal relationship between non-C3-epimeric and C3-epimeric forms and glycemic outcomes by using both the Mendelian randomization (MR) analysis and a randomized controlled clinical trial (RCT) to obtain concrete results.

The data and specimen sources were based on two projects. With regard to MR approach, they came from 1,727 participants in the third project of Electricity Generating Authority of Thailand (EGAT3/1) cohort. The other data and specimens came from a total of 79 prediabetic participants who were randomly assigned to receive vitamin D<sub>3</sub> supplementation (VD group: dose 15,000 IU/weekly; n=45) or control groups (ND group: did not receive vitamin D<sub>3</sub>; n=34) during 12 month-follow-up period were used in a part of RCT.

After being tested by MR analysis, the results indicated that based on additive effects: 1.) each copy of the minor T allele in the *DHCR7/NADSYN1* (rs12785878) gene significantly increased in Ln(C3-epimer), 2.) each copy of the minor A allele in the *CYP2R1* (rs2060793) gene significantly increased in Ln(non-C3-epimer), and 3.) each copy of the minor G allele in the *GC* (rs2282679) gene resulting in significantly decreased Ln(non-C3-epimer), and would be resulting significantly in the decreased in Ln(C3-epimer). All of these models did not reveal the change in levels of non-C3- or C3-epimeric forms affected the variation on FPG. Hence, these can be interpreted that there is no casual pathway between serum non-C3-epimeric/ C3-epimeric forms of vitamin D and FPG concentrations. Moreover, as for RCT, non-C3-epimer and C3-epimer levels significantly increased in only among VD group. Using ANCOVA with Bonferroni adjustment, absolute changes in both non-C3-epimer and C3-epimer forms did not show any significant difference in the effect on improving FPG concentration, fasting insulin, HOMA-IR, HOMA-B and disposition index in pre-diabetic subjects.

Interestingly, this research provided novel knowledge. First of all, the rs12785878 in *DHCR7/NADSYN1* was a strong association with only Ln(C3-epimer) (variant G>T,  $F = 27.625$ ;  $P = 1.66 \times 10^{-7}$ ). These provided the possible genetic explanation for C3-epimeric form of vitamin D<sub>3</sub> made by the process in the skin. Secondly, rs2060793 in the *CYP2R1* gene polymorphism (variant G>A) was found strongly associated only with Ln(non-C3-epimer) ( $F = 31.383$ ;  $P = 2.4612 \times 10^{-8}$ ) by fitting in additive genetic model. This interpreted that the enzyme responsible for C3-epimerization differs from the nature vitamin D metabolic pathway. Finally, The SNP on *GC* gene, rs2282679 polymorphism demonstrated strong association with Ln(non-C3-epimer) ( $F = 85.297$ ;  $P = 7.3012 \times 10^{-20}$ ), and Ln(C3-epimer) ( $F = 19.429$ ;  $P = 1.10 \times 10^{-5}$ ). Both forms of vitamin D metabolites decreased progressively with the presence of the minor G allele (risk allele). This indicated that the polymorphism on *GC* gene (rs2282679) have more influence on the increased risk of vitamin D deficiency.

In conclusion, in addressing the causality, MR strategy and RCT analysis have confirmed that there are no causal links between vitamin D metabolites and glycemic outcomes.

**KEY WORDS: VITAMIN D/ EPIMER/ DIABETES/ GLUCOSE/ GENETIC VARIATION**

109 pages

การศึกษาอนุพันธ์ของวิตามินดี: ความแปรผันทางพันธุกรรมและผลต่อการจัดการระดับน้ำตาลในเลือดด้านต่างๆ

C-3 EPIMER OF 25-HYDROXYVITAMIN D: GENETIC VARIATION AND THE EFFECT ON GLYCEMIC OUTCOMES

สิริกัญญา ไตรักษา 5236673 NUNU/D

ปร.ด. (โภชนศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: บุญส่ง องค์พิพัฒนกุล, พ.บ.,ว.ว., หทัยกาญจน์ นิมิตพงษ์, พ.บ.,ว.ว., ครุณีวัลย์ วิชากรมจิตร, พ.บ.,ว.ว.

#### บทคัดย่อ

ความแตกต่างของอนุพันธ์วิตามินดีที่มีโครงสร้าง C3-epimer อาจส่งผลกระทบต่อผลในการจัดการสมดุกระดับกลูโคสในร่างกาย ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ในเชิงการเป็นสาเหตุและผลของวิตามินดี โดยแยกตามชนิดโครงสร้างที่เป็น non-C3-epimer และ C3-epimer ต่อการจัดการระดับน้ำตาลในเลือดด้านต่างๆ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ 2 แบบร่วมกัน คือ Mendelian randomization (MR) และ การศึกษาทางคลินิกแบบสุ่ม (RCT)

ข้อมูลและสิ่งส่งตรวจที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้ นำมาจาก 2 โครงการ ได้แก่ โครงการวิจัยการศึกษาระยะยาวถึงอิทธิพลของปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจหลอดเลือดและเมแทบอลิซึมในพนักงานการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย (EGAT3/1) จำนวน 1,727 คน และ โครงการวิจัยทางคลินิกแบบสุ่มในกลุ่มคนที่มีภาวะเสี่ยงเป็นโรคเบาหวาน (prediabetes) จำนวน 79 คน โดยมีการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับวิตามินดี (45 คน) และไม่ได้รับวิตามินดี (34 คน) ทำการติดตามเป็นระยะเวลา 12 เดือน

โดยผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย MR แสดงให้เห็นว่า ภายใต้อาณาเขต additive genetic model 1.) ลักษณะของ genotype เมื่อมีการเพิ่ม minor T allele บนยีนส์ *DHCR7/NADSYN1* ตำแหน่ง rs12785878 จะส่งผลกระทบต่อเพิ่มขึ้นของระดับ C3-epimeric form 2.) เมื่อมีการเพิ่ม minor A allele ของยีนส์ *CYP2R1* ที่ตำแหน่ง rs2060793 จะส่งผลกระทบต่อเพิ่มขึ้นของ non-C3-epimer 3.) การเพิ่ม minor G allele บนยีนส์ *GC* ที่ตำแหน่ง rs2282679 จะส่งผลกระทบต่อลดระดับของทั้ง non-C3-epimer และ C3-epimer โดยทุกการเปลี่ยนแปลงที่กล่าวมา ไม่ส่งผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงระดับกลูโคสในช่วงงอดอาหาร (Fasting Plasma Glucose; FPG) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ในการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จาก RCT แสดงให้เห็นว่า การให้วิตามินดี ส่งผลกระทบต่อเพิ่มขึ้นของระดับ non-C3-epimer และ C3-epimer อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อใช้สถิติ ANCOVA เพื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงระดับของอนุพันธ์ทั้ง 2 ชนิด ต่อการจัดการระดับน้ำตาลด้านต่างๆ พบว่า การเพิ่มขึ้นของระดับ non-C3-epimer และ C3-epimer ไม่ส่งผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงของ ค่าระดับกลูโคสขณะงอดอาหาร, ระดับอินซูลินขณะงอดอาหาร, ค่าการคือของอินซูลิน (HOMA-IR), ค่าการทำงานของเบต้าเซลล์ (HOMA-B) และค่า disposition index (DI)

นอกจากนี้ องค์ความรู้ใหม่ที่ได้จากการวิจัยค้นพบว่า ความผันแปรบนตำแหน่ง rs12785878 บนยีนส์ *DHCR7/NADSYN1* สัมพันธ์กับระดับ C3-epimer เท่านั้น (variant G>T,  $F = 27.625$ ;  $P = 1.66 \times 10^{-7}$ ) ขณะที่ความผันแปรที่ตำแหน่ง rs2060793 บนยีนส์ *CYP2R1* สัมพันธ์กับระดับ non-C3-epimer (variant G>A,  $F = 31.383$ ;  $P = 2.4612 \times 10^{-6}$ ) ซึ่งผลดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่า กระบวนการ C3-epimerization น่าจะมีความแตกต่างกับการสร้างอนุพันธ์ของวิตามินดีที่อยู่ในโครงสร้าง non-C3-epimer และนอกจากนี้ ตำแหน่ง rs2282679 บนยีนส์ *GC* พบว่า มีความสัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลงทั้งระดับ non-C3-epimer ( $F = 85.297$ ;  $P = 7.3012 \times 10^{-20}$ ) และ C3-epimer ( $F = 19.429$ ;  $P = 1.10 \times 10^{-5}$ ) แสดงให้เห็นว่า ความผันแปรบนตำแหน่งดังกล่าวนี้ มีอิทธิพลมากต่อการลดลงของระดับวิตามินดี (25OHD) ในร่างกาย

ดังนั้นผลสรุปของการวิจัยในครั้งนี้ เมื่อพิจารณาในเชิงการเป็นสาเหตุและผล การวิเคราะห์จากทั้ง MR และ RCT ยืนยันตรงกันว่า การเปลี่ยนแปลงระดับวิตามินดีไม่ได้เป็นสาเหตุที่จะส่งผลกระทบต่อจัดการระดับสมดุลของกลูโคสในร่างกาย