



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Obesity-related risk factors for impaired lung function

Thijs, W.

Citation

Thijs, W. (2018, March 7). *Obesity-related risk factors for impaired lung function*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/61041>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/61041>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/61041> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Thijs, W.

Title: Obesity-related risk factors for impaired lung function

Issue Date: 2018-03-07



Nederlandse samenvatting

INLEIDING

Obesitas kan longfunctie op meerdere manieren beïnvloeden. In dit proefschrift zijn effecten van obesitas die niet van mechanische aard zijn onderzocht. In het eerste deel van dit proefschrift is de invloed van obesitas en in het bijzonder de invloed van visceraal vet en de daarmee gepaard gaande insulineresistentie en systemische ontsteking op longfunctie onderzocht. Obesitas gaat vaak samen met vitamine D deficiëntie^{1;2}. In het tweede deel van dit proefschrift is daarom het verband tussen serum vitamine D concentraties, longfunctie en luchtweginfecties bekeken. Om meer inzicht te verkrijgen in het mogelijk onderliggend mechanisme is in dit deel ook de invloed van behandeling met vitamine D op antimicrobiële peptiden getest.

Astma is een heterogene ziekte die gekarakteriseerd wordt door chronische luchtwegontsteking. Astma wordt gedefinieerd door klachten als een piepende ademhaling, kortademigheid, benauwdheid en hoest. De klachten zijn over het algemeen niet altijd aanwezig en de intensiteit van de klachten varieert. Wanneer patiënten met astma klachten hebben, wordt de longfunctie gekenmerkt door een beperking van de luchtstroom bij het uitademen door vernauwing van de luchtwegen³. COPD wordt meestal veroorzaakt door roken en geeft kortademigheid en hoesten. Bij COPD wordt de longfunctie gekenmerkt door een onomkeerbare beperking van de luchtstroom bij het uitademen⁴. Omdat beide ziektes gepaard gaan met een beperking bij het uitademen worden astma en COPD aangeduid met obstructieve longziekten.

Mensen met obesitas hebben vaker astma dan mensen zonder obesitas⁵⁻⁷. Daarnaast hebben mensen met astma en obesitas vaak samen een ernstiger vorm van astma^{8;9}, en heeft afvallen een gunstig effect op astma symptomen^{10;11}. Het is bekend dat obesitas de longfunctie beïnvloedt: de totale longcapaciteit is lager en het reservevolume neemt af¹². Dit wordt voornamelijk veroorzaakt door druk van de buik op het middenrif. Maar er zijn ook andere manieren waarop obesitas longfunctie kan beïnvloeden en in dit proefschrift worden de effecten van obesitas die niet van mechanische aard zijn onderzocht.

Het metabool syndroom is een cluster van symptomen die vaak samen voorkomen en het risico op aan obesitas gerelateerde aandoeningen verhoogt. Volgens de International Diabetes Federation is het metabool syndroom aanwezig als er naast een verhoogde middelomtrek ook twee van de volgende parameters aanwezig zijn: hyperglycaemie, hypertriglyceridemie, een lage high-density lipoprotein cholesterol concentratie en hypertensie of behandeling hiervoor¹³. Er wordt gesteld dat kenmerken van dit syndroom invloed kunnen hebben op longfunctie. In dit proefschrift hebben we het effect van insulineresistentie op longfunctie onderzocht. De middelomtrek geeft een indicatie van de hoeveelheid visceraal vet en is verwerkt in de definitie van het metabool syndroom. Vetweefsel geeft hormonen en cytokines af die een laaggradige ontstekingsreactie (inflammatie) veroorzaken, die kan bijdragen aan obesitas gerelateerde ziekten^{14;15}. Vooral visceraal vet zou samengaan met cardiometabole risicofactoren^{14;15}. In dit proefschrift hebben we dan ook het effect van de hoeveelheid visceraal vet op longfunctie en op ontsteking in de longen bestudeerd.

Vitamine D, longfunctie en luchtweg infecties

Obesitas gaat samen met lagere bloedconcentraties van vitamine D^{1,2}. Dit wordt mogelijk veroorzaakt doordat vitamine D wordt opgeslagen in subcutaan vetweefsel^{16;17}.

In observationeel onderzoek is een lagere concentratie van vitamine D geassocieerd met een verminderde longfunctie¹⁸⁻²¹. Vitamine D speelt een rol in de regulatie van de productie van antimicrobiële peptiden en eiwitten²²⁻²⁴. Door de rol van vitamine D in het immuunsysteem kan behandeling met vitamine D mogelijk luchtweginfecties en longfunctie beïnvloeden²⁵⁻³⁰. Vaak wordt astma veroorzaakt door allergieën en daarnaast hebben astmapatiënten ook meer kans op infecties^{31;32}. Deze allergische inflammatie en vooral de Th2 cytokineproductie die gepaard gaat met allergische inflammatie zou het immuunsysteem kunnen beïnvloeden door een verminderde expressie van antimicrobiële peptiden en eiwitten^{33;34}. Doordat vitamine D een rol speelt in de regulatie van de productie van antimicrobiële peptiden en eiwitten²²⁻²⁴ zou het negatieve effecten van allergische inflammatie op antimicrobiële peptiden en eiwitten in astma patiënten tegen kunnen werken.

RESULTATEN PROEFSCHRIFT

In **hoofdstuk 2** hebben we mannen met het metabool syndroom onderzocht. Er was geen verband tussen de kenmerken van het metabool syndroom met de longfunctie (gemeten met FEV₁, Forced Expiratory Volume in 1 seconde, en FVC, Forced Vital Capacity) of stikstofoxide in de uitademing. Visceraal vet was in tegenstelling tot subcutaan vet wel geassocieerd met FEV₁ en FVC. Dit kan een indicatie zijn dat visceraal vet een rol speelt in de achteruitgang van longfunctie. Dit zou mogelijk kunnen worden verklaard door de uitscheiding van pro-inflammatoire cytokines, leptine en adiponectine door visceraal vet³⁵⁻³⁸. In **hoofdstuk 3** is het verband tussen insulineresistentie en longfunctie onderzocht met de homeostasis model assessment-estimated insulin resistance index (HOMA-IR) als maat voor insulineresistentie. Het geobserveerde verband tussen insulineresistentie en longfunctie bleek voornamelijk verklaard door lichaamsvet. Ofwel, lichaamsvet lijkt eerder een oorzaak te zijn van zowel insulineresistentie als longfunctie, dan dat er een direct verband is tussen insulineresistentie en maten van longfunctie. In **hoofdstuk 4** hebben we de reproduceerbaarheid van stikstofoxide in de uitgeademde lucht van mensen met obesitas middels de NIOX MINO gemeten en aangetoond dat een enkelvoudige meting afdoende is in epidemiologisch onderzoek. Dit maakte het mogelijk om in **hoofdstuk 5** deze meting te gebruiken om het verband tussen visceraal vet en stikstofoxide in de uitademingslucht in de algemene bevolking te onderzoeken. Dit verband bleek niet klinisch relevant te zijn. Dit zou kunnen betekenen dat visceraal vet geen ontsteking in de longen veroorzaakt in de algemene bevolking, of dat de ontsteking die in de longen wordt veroorzaakt niet leidt tot stijging van stikstofoxide in de luchtwegen. In **hoofdstuk 6** laten we zien dat bij mensen met obesitas een lager vitamine D gehalte samenhangt met een lager FEV₁ en FVC. Dit komt overeen met resultaten uit eerdere observationele studies¹⁸⁻²¹. Dit verband zagen we niet in bij mensen zonder obesitas. Bij mensen met obesitas hing een hoger vitamine D gehalte samen met een lager stikstofoxide gehalte in de uitgeademde lucht, in tegenstelling tot bij de mensen zonder obesitas. Dit kan een indicatie zijn dat vitamine D een rol speelt in de luchtwegontsteking bij mensen met obesitas. Eerdere studies hebben dit verband niet gevonden maar onderzochten mensen met obesitas niet apart^{39;40}. In beide groepen is er geen verschil in het voorkomen van verkoudheden. Dit in tegenstelling tot studies waar specifiek werd gekeken naar het effect van vitamine D in longpatiënten. In astmapatiënten kan vitamine D exacerbaties voorkomen⁴¹. In onderzoek

waar COPD patiënten worden behandeld met vitamine D om exacerbaties van COPD te voorkómen valt het op dat die behandeling alleen een meetbaar effect heeft bij vitamine D deficiënte personen^{42;43}. In **hoofdstuk 7** beschrijven we dat de spiegels van antimicrobiële peptide (HNP1-3 and LCN2) in neussceerret lager zijn in astmapatiënten dan in de gezonde controlegroep. Behandeling met actief vitamine D (1,25(OH)₂D₃) liet deze waarden niet stijgen.

CONCLUSIE EN DISCUSSIE

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift draagt bij aan de ontrafeling van de relatie tussen obesitas en longfunctie. In het eerste deel van het proefschrift stellen we vast dat in mannen met het metabool syndroom meer visceraal vet samengaat met een verminderde longfunctie. We laten zien dat in de algemene populatie insulineresistentie niet direct gerelateerd is aan longfunctie. De geobserveerde verbanden in het eerste deel van het proefschrift tonen geen causaliteit aan; hiervoor is longitudinaal onderzoek nodig. Mocht uit longitudinaal onderzoek blijken dat er geen relatie is tussen insulineresistentie en longfunctie, maar wel tussen visceraal vet en longfunctie dan is verder onderzoek nodig naar de biologische mechanismen die hieraan ten grondslag liggen. Mogelijk veroorzaakt de systemische ontsteking die gepaard gaat met visceraal vet ontsteking in de longen en wordt op deze manier de longfunctie beïnvloed. In een onderzoek komt naar voren dat mensen met het metabool syndroom een hoger percentage eosinofielen in het bloed hebben dan mensen met obesitas maar zonder metabool syndroom⁴⁴. Dit zou een eosinofiele ontsteking in de longen kunnen veroorzaken en dat geeft een verhoogd stikstofoxide in de uitademingslucht. Omdat er in ons onderzoek geen verband was tussen visceraal vet en stikstofoxide in de uitademingslucht in de algemene bevolking is het bij het ontwerpen van toekomstige onderzoek belangrijk om ook niet-eosinofiele ontsteking in de longen te meten.

In het tweede deel van het proefschrift tonen we aan dat bij mensen met obesitas het vitamine D gehalte samenhangt met longfunctie. We vonden geen verband met het optreden van verkoudheden; dit komt overeen met eerder onderzoek waar vitamine D wordt gesuppleerd wordt⁴⁵⁻⁴⁷. Omdat vitamine D mogelijk infecties zou kunnen voorkómen in astma- en COPD-patiënten⁴¹⁻⁴³ is het van belang het mechanisme hierachter te ontrafelen. Daarom hebben we de invloed van vitamine D op antimicrobiële peptiden onderzocht in astmapatiënten en gezonde controlepersonen. Omdat onze groepsgrootte beperkt was konden we niet met voldoende zekerheid concluderen of vitamine D deze peptiden beïnvloedt. In de toekomst is groter opgezet onderzoek nodig om dit verband te onderzoeken.

Dit proefschrift geeft inzicht in de wijze waarop obesitas de gezondheid van de longen kan beïnvloeden. In onze cross-sectionele analyses lijkt visceraal vet longfunctie te kunnen beïnvloeden, maar dit lijkt niet via mechanismen als insulineresistentie of eosinofiele ontsteking te zijn. Deze informatie kan helpen bij de opzet van toekomstig onderzoek dat zich kan richten op de niet-eosinofiele systemische inflammatie die gepaard gaat met visceraal vet en of deze ontsteking terug te vinden is in de longen. In longitudinaal onderzoek kan het effect van vitamine D behandeling op longfunctie en verkoudheden bestudeerd worden. Een groter onderzoek naar het effect van vitamine D op antimicrobiële peptiden kan meer inzicht geven in de preventieve werking van vitamine D. Dit inzicht zou in de toekomst kunnen leiden tot nieuwe therapieën om luchtweg infecties te voorkomen.

REFERENCE LIST

1. Parikh, S. J., M. Edelman, G. I. Uwaifo, R. J. Freedman, M. Semega-Janneh, J. Reynolds, and J. A. Yanovski. 2004. The relationship between obesity and serum 1,25-dihydroxy vitamin D concentrations in healthy adults. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 89:1196-1199.
2. Lagunova, Z., A. C. Porojnicu, F. Lindberg, S. Hexeberg, and J. Moan. 2009. The dependency of vitamin D status on body mass index, gender, age and season. *Anticancer Res.* 29:3713-3720.
3. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Revised 2014 Vancouver, *GINA*, 2014. 2014.
4. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global Strategy for Diagnosis, Management and Prevention of COPD. 2015.
5. Brumpton, B., A. Langhammer, P. Romundstad, Y. Chen, and X. M. Mai. 2013. General and abdominal obesity and incident asthma in adults: the HUNT study. *Eur.Respir.J.* 41:323-329.
6. Beuther, D. A. and E. R. Sutherland. 2007. Overweight, obesity, and incident asthma: a meta-analysis of prospective epidemiologic studies. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 175:661-666.
7. Assad, N., C. Qualls, L. J. Smith, A. Arynchyn, B. Thyagarajan, M. Schuyler, D. R. Jacobs, Jr, and A. Sood. 2013. Body mass index is a stronger predictor than the metabolic syndrome for future asthma in women. The longitudinal CARDIA study. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 188:319-326.
8. Saint-Pierre, P., A. Bourdin, P. Chanez, J. P. Daures, and P. Godard. 2006. Are overweight asthmatics more difficult to control? *Allergy* 61:79-84.
9. Clerisme-Beaty, E. M., S. Karam, C. Rand, C. M. Patino, A. Bilderback, K. A. Riekert, S. O. Okelo, and G. B. Diette. 2009. Does higher body mass index contribute to worse asthma control in an urban population? *J.Allergy Clin.Immunol.* 124: 207-212.
10. A van Huisstede, A. Rudolphus, C. M. Castro, L.U. Biter, G. J. van de Geijn, C.Taube, P. S. Hiemstra, and G. J. Braunstahl. 2015. Effect of bariatric surgery on asthma control, lung function and bronchial and systemic inflammation in morbidly obese subjects with asthma. *Thorax* 70:659-667.
11. Boulet, L. P., H. Turcotte, J. Martin, and P. Poirier. 2012. Effect of bariatric surgery on airway response and lung function in obese subjects with asthma. *Respir.Med.* 106:651-660.
12. Jones, R. L. and M. M. Nzekwu. 2006. The effects of body mass index on lung volumes. *Chest* 130: 827-833.
13. Alberti, K. G., P. Zimmet, and J. Shaw. 2006. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet.Med.* 23:469-480.
14. Ferrante, A. W., Jr. 2007. Obesity-induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation. *J.Intern.Med.* 262:408-414.
15. Bastard, J. P., M. Maachi, C. Lagathu, M. J. Kim, M. Caron, H. Vidal, J. Capeau, and B. Feve. 2006. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur.Cytokine Netw.* 17:4-12.
16. Earthman, C. P., L. M. Beckman, K. Masodkar, and S. D. Sibley. 2012. The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications. *Int.J.Obes.(Lond)* 36:387-396.
17. Piccolo, B. D., G. Dolnikowski, E. Seyoum, A. P. Thomas, E. R. Gertz, E. C. Souza, L. R. Woodhouse, J. W. Newman, N. L. Keim, S. H. Adams, et al. 2013. Association between subcutaneous white adipose tissue and serum 25-hydroxyvitamin D in overweight and obese adults. *Nutrients.* 5:3352-3366.
18. Niruban, S. J., K. Alagiakrishnan, J. Beach, and A. Senthilselvan. 2015. Association between vitamin D and respiratory outcomes in Canadian adolescents and adults. *J.Asthma*1-33.
19. Black, P. N. and R. Scragg. 2005. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin d and pulmonary function in the third national health and nutrition examination survey. *Chest* 128:3792-3798.
20. Berry, D. J., K. Hesketh, C. Power, and E. Hypponen. 2011. Vitamin D status has a linear association with seasonal infections and lung function in British adults. *Br.J.Nutr.* 106:1433-1440.
21. Choi, C. J., M. Seo, W. S. Choi, K. S. Kim, S. A. Youn, T. Lindsey, Y. J. Choi, and C. M. Kim. 2013. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin D and lung function among Korean adults in Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES), 2008-2010. *J.Clin.Endocrinol. Metab* 98:1703-1710.
22. Wang, T. T., F. P. Nestel, V. Bourdeau, Y. Nagai, Q. Wang, J. Liao, L. Tavera-Mendoza, R. Lin, J. W. Hanrahan, S. Mader, et al. 2004. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J.Immunol.* 173:2909-2912.
23. Gombart, A. F., N. Borregaard, and H. P. Koeffler. 2005. Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *FASEB J.* 19:1067-1077.

9. Nederlandse samenvatting

24. Schruppf, J. A., M. A. van Sterkenburg, R. M. Verhoosel, S. Zuyderduyn, and P. S. Hiemstra. 2012. Interleukin 13 Exposure Enhances Vitamin D-Mediated Expression of the Human Cathelicidin Antimicrobial Peptide 18/LL-37 in Bronchial Epithelial Cells. *Infect.Immun.* 80:4485-4494.
25. Prietl, B., G. Treiber, T. R. Pieber, and K. Amrein. 2013. Vitamin D and immune function. *Nutrients.* 5:2502-2521.
26. Gunville, C. F., P. M. Mourani, and A. A. Ginde. 2013. The role of vitamin D in prevention and treatment of infection. *Inflamm.Allergy Drug Targets.* 12:239-245.
27. Laaksi, I., J. P. Ruohola, V. Mattila, A. Auvinen, T. Ylikomi, and H. Pihlajamaki. 2010. Vitamin D supplementation for the prevention of acute respiratory tract infection: a randomized, double-blinded trial among young Finnish men. *J.Infect.Dis.* 202:809-814.
28. Ginde, A. A., J. M. Mansbach, and C. A. Camargo, Jr. 2009. Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch.Intern.Med.* 169:384-390.
29. Monlezun, D. J., E. A. Bittner, K. B. Christopher, C. A. Camargo, and S. A. Quraishi. 2015. Vitamin D status and acute respiratory infection: cross sectional results from the United States national health and nutrition examination survey, 2001-2006. *Nutrients.* 7:1933-1944.
30. Berry, D. J., K. Hesketh, C. Power, and E. Hypponen. 2011. Vitamin D status has a linear association with seasonal infections and lung function in British adults. *Br.J.Nutr.* 106:1433-1440.
31. Talbot, T. R., T. V. Hartert, E. Mitchel, N. B. Halasa, P. G. Arbogast, K. A. Poehling, W. Schaffner, A. S. Craig, and M. R. Griffin. 2005. Asthma as a risk factor for invasive pneumococcal disease. *N.Engl.J.Med.* 352:2082-2090.
32. Zambrano, J. C., H. T. Carper, G. P. Rakes, J. Patrie, D. D. Murphy, T. A. Platts-Mills, F. G. Hayden, J. M. Gwaltney, Jr., T. K. Hatley, A. M. Owens, et al. 2003. Experimental rhinovirus challenges in adults with mild asthma: response to infection in relation to IgE. *J.Allergy Clin.Immunol.* 111:1008-1016.
33. Beisswenger, C., K. Kandler, C. Hess, H. Garn, K. Felgentreff, M. Wegmann, H. Renz, C. Vogelmeier, and R. Bals. 2006. Allergic airway inflammation inhibits pulmonary antibacterial host defense. *J.Immunol.* 177:1833-1837.
34. Ong, P. Y., T. Ohtake, C. Brandt, I. Strickland, M. Boguniewicz, T. Ganz, R. L. Gallo, and D. Y. Leung. 2002. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N.Engl.J.Med.* 347:1151-1160.
35. Lemieux, I., A. Pascot, D. Prud'homme, N. Almeras, P. Bogaty, A. Nadeau, J. Bergeron, and J. P. Despres. 2001. Elevated C-reactive protein: another component of the atherothrombotic profile of abdominal obesity. *Arterioscler. Thromb.Vasc.Biol.* 21:961-967.
36. Fried, S. K., D. A. Bunkin, and A. S. Greenberg. 1998. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 83:847-850.
37. He, G., S. B. Pedersen, J. M. Bruun, A. S. Lihn, P. F. Jensen, and B. Richelsen. 2003. Differences in plasminogen activator inhibitor 1 in subcutaneous versus omental adipose tissue in non-obese and obese subjects. *Horm.Metab Res.* 35:178-182.
38. Good, M., F. M. Newell, L. M. Haupt, J. P. Whitehead, L. J. Hutley, and J. B. Prins. 2006. TNF and TNF receptor expression and insulin sensitivity in human omental and subcutaneous adipose tissue— influence of BMI and adipose distribution. *Diab.Vasc.Dis.Res.* 3:26-33.
39. Yao, T. C., Y. L. Tu, S. W. Chang, H. J. Tsai, P. W. Gu, H. C. Ning, M. C. Hua, S. L. Liao, M. H. Tsai, C. Y. Chiu, et al. 2014. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in relation to lung function and exhaled nitric oxide in children. *J.Pediatr.* 165:1098-1103.
40. Dabbah, H., Y. R. Bar, G. Livnat, F. Hakim, and L. Bentur. 2015. Bronchial Reactivity, Inflammatory and Allergic Parameters, and Vitamin D Levels in Children With Asthma. *Respir.Care* 60:1157-1163.
41. Martineau, A. R., C. J. Cates, M. Urashima, M. Jensen, A. P. Griffiths, U. Nurmatov, A. Sheikh, and C. J. Griffiths. 2016. Vitamin D for the management of asthma. *Cochrane.Database.Syst.Rev.* 9:CD011511.
42. Lehouck, A., C. Mathieu, C. Carremans, F. Baeke, J. Verhaegen, E. J. Van, B. Decallonne, R. Bouillon, M. Decramer, and W. Janssens. 2012. High doses of vitamin D to reduce exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease: a randomized trial. *Ann.Intern.Med.* 156:105-114.
43. Martineau, A. R., W. Y. James, R. L. Hooper, N. C. Barnes, D. A. Jolliffe, C. L. Greiller, K. Islam, D. McLaughlin, A. Bhowmik, P. M. Timms, et al. 2015. Vitamin D3 supplementation in patients with chronic obstructive pulmonary disease (ViDiCO): a multicentre, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Respir.Med.* 3:120-130.
44. A. van Huisstede, M. C. Cabezas, E. Birnie, G. J. van de Geijn, A. Rudolphus, G. Mannaerts, T. L. Njo, P. S. Hiemstra, and G. J. Braunstaal. 2013. Systemic inflammation and lung function impairment in morbidly obese subjects with the metabolic syndrome. *J.Obes.* 2013:131349.

45. Li-Ng, M., J. F. Aloia, S. Pollack, B. A. Cunha, M. Mikhail, J. Yeh, and N. Berbari. 2009. A randomized controlled trial of vitamin D3 supplementation for the prevention of symptomatic upper respiratory tract infections. *Epidemiol.Infect.* 137:1396-1404.
46. Murdoch, D. R., S. Slow, S. T. Chambers, L. C. Jennings, A. W. Stewart, P. C. Priest, C. M. Florkowski, J. H. Livesey, C. A. Camargo, and R. Scragg. 2012. Effect of vitamin D3 supplementation on upper respiratory tract infections in healthy adults: the VIDARIS randomized controlled trial. *JAMA* 308:1333-1339.
47. Rees, J. R., K. Hendricks, E. L. Barry, J. L. Peacock, L. A. Mott, R. S. Sandler, R. S. Bresalier, M. Goodman, R. M. Bostick, and J. A. Baron. 2013. Vitamin D3 supplementation and upper respiratory tract infections in a randomized, controlled trial. *Clin.Infect.Dis.* 57:1384-1392.

