

From the Institute of Genome Biology
Research Institute for Farm Animal Biology (FBN) in Dummerstorf
and the Professorship of Animal Breeding and Genetics
of the Faculty of Agricultural and Environmental Sciences

Summary of the cumulative Dissertation

**Molecular mechanisms of vitamin D metabolism and phosphorus
utilization to maintain mineral homeostasis**

to obtain the academic degree of
Doctor of Agricultural Sciences (doctor agriculturæ, Dr. agr.)

at the Faculty of Agriculture and Environmental Sciences
of University of Rostock

submitted by

M. Sc. / DVM (Doctor of Veterinary Medicine) Maruf Hasan
born in Sirajganj, Bangladesh

Defence on 12 July 2024

Calcium (Ca) and phosphorus (P) homeostasis in pigs are intricately regulated by key factors, including vitamin D and fibroblast growth factor 23 (FGF23). This research (1st study) investigated the cross-tissue expression of candidate genes involved in vitamin D metabolism and FGF23 signaling, including cytochromes (CYP) mediating biosynthesis, activation and degradation and receptors, in pigs exposed to a conventional and a divergent P diet. Expression patterns revealed non-renal tissues and cells actively contributing to vitamin D synthesis based on site-specific requirements. A low P diet elevated serum calcitriol level and *CYP24A1* expression in the small intestine, indicating local vitamin D signaling suppression. A high P diet increased *CYP27B1* expression in bone, promoting local vitamin D synthesis. Ubiquitous expression of fibroblast growth factor receptor 1-4 (*FGFR1-4*) and tissue-specific expression of klotho (*KL*) in FGF23 signaling were observed. Skeletal *FGF23* remained unaffected by dietary P, but *FGFR4* and *KL* exhibited increased expression in bone with high P supply, suggesting a regulatory role in mineralization balance. Specific non-renal tissue responses influence vitamin D metabolism and P homeostasis, highlighting considerations for optimal P supply in pig nutrition.

In current pig husbandry systems, vitamin D status is predominantly reliant on dietary supply. This research (2nd study) explored the potential benefits of endogenous vitamin D production through daily UVB exposure in growing pigs. Transcriptomic profiling of the liver revealed differential gene expressions associated with vitamin D metabolism, particularly the significant upregulation of *CYP2R1*. Serum analysis showed elevated calcidiol concentrations in response to UVB exposure, indicating enhanced vitamin D status. The overall study suggests that UVB exposure could complement dietary vitamin D supply in pig husbandry, offering opportunities for functional food development and improved animal welfare.

In pig husbandry, the dietary use of vitamin D₃ and 25(OH)D₃ as sources of active vitamin D has diverse effects beyond the primary target organs. A comprehensive literature review (3rd study) comparing the impact of vitamin D₃ and 25(OH)D₃ on pig physiology, including reproductive capacities, growth performance, immunity, and bone development, revealed nuanced differences. Maternal intake of 25(OH)D₃ positively influenced piglet growth, immune markers, and bone mineralization, surpassing the effects of vitamin D₃. These findings emphasize the importance of selecting the appropriate form of vitamin D for optimal utilization efficiency, nutritional benefits, and therapeutic potency in pigs.

Die Kalzium (Ca)- und Phosphor (P)-Homöostase bei Schweinen wird durch Schlüsselfaktoren wie Vitamin D und Fibroblastenwachstumsfaktor 23 (FGF23) auf komplexe Weise reguliert. In dieser Studie wurde die gewebeübergreifende Expression wesentlicher Gene im Zusammenhang mit dem Vitamin-D-Stoffwechsel und der FGF23-Signalübertragung bei Schweinen untersucht, die einer konventionellen und einer abweichenden P-Diät unterzogen wurden. Expressionsmuster zeigten, dass nicht-renale Gewebe und Zellen aktiv zur Vitamin-D-Synthese beitragen, basierend auf spezifischen Anforderungen des Standorts. Eine Diät mit niedrigem P-Gehalt erhöhte die Serum-Calcitriol-Konzentration und *CYP24A1*-Expression im Dünndarm, was auf eine Unterdrückung der lokalen Vitamin-D-Signalübertragung hindeutet. Eine Ernährung mit hohem P-Gehalt erhöhte die *CYP27B1*-Expression in den Knochen, was die lokale Vitamin-D-Synthese fördert. Es wurde eine allgegenwärtige Expression von *FGFR1-4* und eine gewebespezifische Expression von *KL* bei der FGF23-Signalübertragung beobachtet. *FGF23* im Skelett blieb von der P-Diät unbeeinflusst, aber *FGFR4* und *KL* zeigten eine erhöhte Expression im Knochen bei hoher P-Zufuhr, was auf eine regulierende Rolle im Mineralisierungsgleichgewicht hindeutet. Spezifische nicht-renale Gewebereaktionen beeinflussen den Vitamin-D-Stoffwechsel und die P-Homöostase, was auf Überlegungen zur optimalen P-Versorgung in der Schweineernährung hinweist.

In den derzeitigen Haltungssystemen für Schweine hängt der Vitamin-D-Status überwiegend von der Ernährung ab. Diese Studie untersuchte die potenziellen Vorteile einer endogenen Vitamin-D-Produktion durch tägliche UVB-Exposition bei wachsenden Schweinen. Die Transkriptom-Profilierung der Leber ergab eine unterschiedliche Genexpression im Zusammenhang mit dem Vitamin-D-Stoffwechsel, insbesondere die deutliche Hochregulierung von *CYP2R1*. Die Serumanalyse zeigte erhöhte Calcidiol-Konzentrationen als Reaktion auf die UVB-Exposition, was auf einen verbesserten Vitamin-D-Status hinweist. Die Studie legt insgesamt nahe, dass die UVB-Exposition die Vitamin-D-Versorgung in der Schweinehaltung ergänzen könnte, was Möglichkeiten für die Entwicklung funktioneller Lebensmittel und eine Verbesserung des Tierschutzes bietet.

In der Schweinehaltung hat die diätetische Verwendung von Vitamin D₃ und 25(OH)D₃ als Quellen für aktives Vitamin D vielfältige Auswirkungen über die primären Zielorgane hinaus. Eine umfassende Literaturübersicht, in der die Auswirkungen von Vitamin D₃ und 25(OH)D₃ auf die Physiologie von Schweinen, einschließlich Fortpflanzungsfähigkeit, Wachstumsleistung, Immunität und Knochenentwicklung, verglichen wurden, ergab nuancierte Unterschiede. Die mütterliche Zufuhr von 25(OH)D₃ wirkte sich positiv auf das Ferkelwachstum, die Immunmarker und die Knochenmineralisierung aus und übertraf die Wirkung von Vitamin D₃. Diese Ergebnisse unterstreichen, wie wichtig es ist, die geeignete Form von Vitamin D auszuwählen, um eine optimale Verwertungseffizienz, ernährungsphysiologische Vorteile und therapeutische Wirksamkeit in den Schweinen zu erzielen.