

Received: 2013.10.17
Accepted: 2014.02.21
Published: 2014.06.24

Immunomodulacyjne działanie witaminy D

The immunomodulatory role of Vitamin D

Marta Myszka, Marian Klinger

Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Streszczenie

Układ endokryny witaminy D odgrywa istotną rolę w regulacji homeostazy wapniowej oraz w metabolizmie kostnym. W badaniach ostatnich dwóch dekad udowodniono również rolę witaminy D w regulowaniu funkcji układu immunologicznego. Niedobór tej witaminy jest związany z licznymi chorobami nowotworowymi, autoimmunologicznymi i infekcyjnymi. Witamina D hamuje wydzielanie parathormonu, odporność nabytą i proliferację komórek, a jednocześnie promuje sekrecję insuliny, wrodzoną odporność oraz stymuluje różnicowanie komórek. W pracy przedstawiono usystematyzowane wiadomości na temat podstawowej roli witaminy D w modulowaniu różnych procesów immunologicznych, takich jak: aktywacja i proliferacja limfocytów, różnicowanie limfocytów Th, wytwarzanie swoistych przeciwciał oraz regulacja odpowiedzi immunologicznej. Opisano również potencjał kliniczny metabolitów witaminy D w modulowaniu antygenowoswoistej odpowiedzi immunologicznej oraz w profilaktyce i leczeniu chorób zapalnych oraz zaburzeń układu immunologicznego.

Poniższe opracowanie ma na celu syntetyczną prezentację aktualnego stanu wiedzy na temat mechanizmów działania witaminy D oraz wykazanie jej wpływu na tkanki organizmu.

Słowa kluczowe: witamina D • immunoregulacja • odporność wrodzona • odporność nabyta • choroby przewlekłe

Summary

The vitamin D endocrine system plays a crucial role in regulation of calcium homeostasis and bone metabolism. Over the past two decades of research, there is a growing appreciation for the immunoregulatory role of vitamin D. Vitamin D deficiency is associated with numerous diseases characterized by inflammation, including malignancies, autoimmune disorders and chronic infections. Vitamin D suppresses parathyroid hormone secretion, adaptive immune response, cell proliferation, and at the same time promotes insulin secretion, innate immune response and stimulates cell differentiation. The review discusses present state of knowledge of a basic role of vitamin D in modulating different immunological properties, including lymphocyte activation and proliferation, differentiation of Th lymphocytes, production of specific antibodies and regulation of the immune response. Finally, clinical potential of vitamin D metabolites for modulating tissue-specific immune responses and for preventing and treating inflammatory disease and immune system disorders has been reported.

Keywords: vitamin D • immunoregulation • innate immunity • adaptive immunity • chronic diseases

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1110168>

Word count: 5772

Tables: –

Figures: 1

References: 116

Adres autorki: mgr Marta Myszk, Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej, Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław; e-mail: myszka.ma@gmail.com

WPROWADZENIE

W przeszłości witamina D była kojarzona głównie z profilaktyką krzywicy u niemowląt. Jak powszechnie wiadomo witamina ta wzmacnia wchłanianie wapnia i fosforu z jelit, stymuluje różnicowanie osteoklastów, resorpcję wapnia z kości oraz promuje mineralizację macierzy kostnej [56].

Badania ostatnich lat zwracają szczególną uwagę na plejotropowy charakter działania witaminy D przez wpływ nie tylko na gospodarkę wapniowo-fosforanową, wodno-elektrolitową i hormonalną, ale także na zjawiska związane z proliferacją i różnicowaniem komórek układu immunologicznego, jak również z funkcją śródbłonka [37]. Chociaż pierwsze doniesienia o wpływie witaminy D na układ odpornościowy pojawiły się już 20 lat temu, to dopiero niedawno opisano mechanizmy jej działania.

Ekspresja 1 α -hydroksylazy 25-hydroksywitaminy D (CYP27B1), enzymu odpowiedzialnego za przekształcanie witaminy D do jej aktywnego metabolitu, stwierdzana jest nie tylko w nerkach, ale również w skórze, łożysku, komórkach kostnych, komórkach przytarczyc, płucach oraz w monocytach i makrofagach [21]. Overbergh i wsp. wykazali, iż lokalna regulacja aktywności CYP27B1 w komórkach układu immunologicznego nie jest zależna od wapnia, jak to się odbywa w nerkach, a od bodźca immunologicznego. Sugeruje to, że powstawanie 1,25(OH)₂D jest uzależnione od mechanizmów związanych z licznymi komórkami organizmu, co wskazuje na jej wszechstronny charakter [72].

Wykazano, że aktywny metabolit witaminy D (1,25(OH)₂D) jest hormonem, działającym auto- i parakrynnie. Na komórkach docelowych wiąże się ze swoim receptorem – VDR (vitamin D receptor), działającym na zasadzie czynnika transkrypcyjnego aktywowanego ligandem [70]. Wywołuje to zmiany w ekspresji na poziomie komórkowym. Według najnowszych badań 1,25(OH)₂D może kontrolować ponad 200 różnych genów, czyli 0,8-5% naszego genomu [21]. Odkrycie powszechnego występowania CYP27B1, ale również receptora witaminy D, wskazuje na szeroki zakres aktywności 1,25(OH)₂D. Udowodniono obecność VDR prawie w każdej jądrzastej komórce naszego organizmu. Małą ekspresję lub jej brak obserwuje się jedynie w erytrocytach, dojrzałych komórkach mięśni

poprzecznie prążkowanych i wysoce zróżnicowanych komórkach nerwowych kory mózgowej [21].

Niedobór witaminy D stał się powszechnie spotykanym zjawiskiem, szczególnie wśród osób zamieszkujących wyższe szerokości geograficzne. Wiąże się on z częstszym występowaniem u nich chorób o podłożu autoimmunologicznym, takich jak stwardnienie rozsiane, cukrzyca typu 1, choroba Leśniowskiego-Crohna [78]. Istnieją liczne dane epidemiologiczne wskazujące na związek niedoborów witaminy D z ryzykiem zachorowań na wiele nowotworów, takich jak: nowotwór stercza, jelita grubego, piersi czy nowotwory układu limfatycznego [7,112]. Doprowadziło to do postawienia tezy, iż utrzymanie na odpowiednim poziomie stężenia 25(OH)D we krwi jest niezbędne do prawidłowej regulacji wielu fizjologicznych funkcji organizmu, nie tylko klasycznych, zaangażowanych w metabolizm mineralno-kostny.

METABOLIZM WITAMINY D

Istnieją dwie postaci witaminy D, witamina D₂ (ergokalcyferol) oraz D₃ (cholekalcyferol). Różnią się pod względem budowy strukturalnej. Ergosterol ma podwójne wiązanie między węglami C22 i C23 oraz dodatkową grupę metylową na węglu C24. Witamina D₂ powstaje w organizmach roślin, drożdży i grzybów pod wpływem światła z ergosterolu (prowitaminy D₂). Witamina D₃ natomiast występuje w organizmach zwierzęcych w znacznie większych ilościach i jest syntetyzowana z udziałem promieni ultrafioletowych B (długość fal 290–315 nm) w skórze. Witamina D₃ pochodzenia skórniego zapewnia prawie 90% całkowitego stężenia witaminy D. Dodatkowo główne szlaki metaboliczne zaangażowane w metabolizm witaminy D₂ są właściwie identyczne jak u witaminy D₃. Zatem w tym artykule określenie witamina D obejmuje zarówno postać D₂, jak i D₃.

Pod wpływem promieniowania 7-dehydroksycholesterol (prowitamina D₃) przekształca się w prewitaminę D₃, ta zaś ulega spontanicznej izomeryzacji zależnej od temperatury do witaminy D₃. W przypadku nadmiernej ekspozycji na światło nie dochodzi do toksycznego zatrucia witaminą D₃, gdyż nadmiar jest rozkładany do postaci nieaktywnej. W wątrobie obie witaminy D₃ i D₂ ulegają hydroksylacji do 25-hydroksywitaminy D. W procesie uczestniczą różne izoforny cytochromu P450, takie jak: CYP27A1, CYP3A4, CYP2J3 oraz wykazujący największe powinowactwo CYP2R1 (25-hy-

droksylaza witaminy D) [37]. Następnie kalcydiol (25-hydroksywitamina D) jest transportowany do kanalików proksymalnych nerki, gdzie ulega aktywacji pod wpływem CYP27B1 (1 α -hydroksylazy 25-hydroksywitaminy D) do kalcytriolu [1,25(OH) $_2$ D]. Aktywny metabolit witaminy D podlega regulacji zwrotnej, stymulując wydzielanie CYP24 (24-hydroksylazy witaminy D), który unieczynnia zarówno 25(OH)D, jak i 1,25(OH) $_2$ D [115].

Różne postaci witaminy D są transportowe do tkanek docelowych w postaci kompleksów z cząsteczką transportującą, białkiem wiążącym witaminę D (DBP) [71].

Najwięcej CYP27B1 jest syntetyzowanych w nerkach i regulowanych przez prawie każdy czynnik zaangażowany w gospodarkę wapniową. Jego aktywność jest stymulowana przez PTH, kalcytoninę, wapń, GH oraz IGF-I, natomiast hamowana przez fosfor, FGF-23 i zwrótnie przez 1,25(OH) $_2$ D [20].

Pojęcia ciężkiego niedoboru i niedoboru witaminy D różnią się w zależności od przyjętej definicji. Większość danych literaturowych definiuje niedobór na podstawie stężenia 25-hydroksywitaminy D w surowicy. 25(OH)D wykazuje długi okres półtrwania cząsteczki, około 3 tygodni, w przeciwieństwie do jej aktywnej postaci (jedynie 4-6 h) [57]. Uważa się, że ciężki niedobór witaminy D obserwuje się przy stężeniu 25(OH)D (kalcydiolu) poniżej 10 ng/ml (25 nmol/l), a niedobór przy 20-32 ng/ml (50-80 nmol/l) [7,52]. Nadal nie przyjęto jednoznacznego zakresu wartości optymalnych lub toksycznych witaminy D.

MECHANIZM DZIAŁANIA WITAMINY D

1,25(OH) $_2$ D jest zdolna do inicjowania lub wyciszenia transkrypcji genów po związaniu się z receptorem witaminy D (VDR), należącym do nadrodziny receptorów jądrowych i pełniącym funkcję czynnika transkrypcyjnego aktywowanego ligandem [22]. VDR zbudowany jest z wysoce konserwatywnej N-terminalnej domeny wiążącej DNA oraz α -helikalnej C-terminalnej domeny wiążącej ligand. Umiejscowiony jest zarówno w cytoplazmie, jak i w jądrze komórkowym, chociaż w większości komórek jest białkiem jądrowym. Po związaniu się 1,25(OH) $_2$ D do domeny wiążącej ligand, VDR ulega heterodimeryzacji z receptorem retinoidalnym X (RXR). Jest to niezbędne do celu połączenia się z dużym powinowactwem do swojej sekwencji DNA, zwanej elementem odpowiedzi VDRE (vitamin D responsive element), umiejscowionym w regionie promotorowym genów docelowych 1,25(OH) $_2$ D [45]. Sugerowano, że heterodimeryzacja jest konieczna do migracji kompleksu RXR-VDR-ligand z cytoplazmy do jądra komórkowego, a w konsekwencji do uaktywnienia transkrypcji genów [14,81,82]. W badaniach z ostatnich lat z zastosowaniem testu immunoprecypitacyjnego chromatyny połączonego z sekwencjonowaniem DNA (CHIP-seq), analizującego interakcję DNA-białko wykazano, że RXR może się łączyć do miejsc wiązania VDR zanim dokona tego receptor witaminy D [77]. Dodatkowo udowodniono, że działanie RXR jest niezależne od liganda, w przeciwień-

stwie do VDR. Ci sami autorzy zaobserwowali również, że wiązanie się VDR/RXR dimeru może się odbywać nawet w odległości 1000 par zasad od regionu promotora genów docelowych [77].

Po związaniu się heterodimeru do nici DNA są uwalniane kompleksy białek, wpływające na strukturę chromatyny o aktywności acetylotransferaz HAT (histone acetyltransferase), zawierające m.in. białka CBP wiążące CREB (CREB-binding protein)/p300 oraz koaktywator receptora steroidowego SRC1 (steroid receptor coactivator) [28].

Inny mechanizm aktywacji transkrypcji opiera się na działaniu kompleksów remodelujących chromatynę z użyciem energii dostarczanej przez ATP (SWI/SNF), które destabilizują połączenie między nicią DNA a histonami, ułatwiając tym samym dostęp całej maszyny transkrypcyjnej [17].

Po rozluźnieniu chromatyny VDR/RXR rekrutuje kompleks wielobiałkowy DRIP (VDR-interacting protein), zwany mediatorem, który aktywuje transkrypcję genów docelowych, bezpośrednio zwiększając mobilizację polimerazy RNA II oraz stabilizując kompleks transkrypcyjny w regionie promotora genów regulatorowych [24]. Konformacyjna zmiana dimeru VDR-RXR powoduje również uwolnienie białek korepresorowych, np. jądrowego receptora korepresora 1 (NcoR1) lub NCoR2/SMRT (silencing mediator of retinoid and thyroid receptors), które mobilizują deacetylasy histonów oraz metyltransferazy DNA. Prowadzi to do silnej kondensacji chromatyny i blokowania sekwencji promotora danego genu, uniemożliwiając dostęp czynnikom transkrypcyjnym. Koregulatory te różnią się pod względem dystrybucji tkanek docelowych oraz specyficzności działania wobec zarówno 1,25(OH) $_2$ D, jak i VDR [15].

POLIMORFIZMY RECEPTORA DLA WITAMINY D

Rola witaminy D w leczeniu, w większym stopniu niż w profilaktyce chorób, nie jest jeszcze do końca znana, chociaż molekularny mechanizm działania witaminy D może odgrywać znaczącą rolę. Subtelne warianty alleliczne genu *VDR*, umiejscowionego na chromosomie 12-12q13.1, występują stosunkowo często wśród populacji, z małymi różnicami między osobami o różnym pochodzeniu etnicznym [59]. Witamina D, uczestnicząc w przekazywaniu sygnałów do wnętrza komórki m.in. zmniejsza liczbę podziałów komórkowych, powoduje ich różnicowanie i śmierć oraz zapobiega rozwojowi naczyń krwionośnych. Polimorfizmy w genie receptora witaminy D mogą mieć istotne znaczenie w powstawaniu m.in. chorób nowotworowych. Oprócz procesu nowotworzenia ich występowanie koreluje ze zmniejszoną gęstością kości, skłonnością do rozrostu przytarczyc, opornością na leczenie witaminą D oraz zwiększoną podatnością na infekcje oraz choroby autoimmunologiczne [26,39,58,97].

Do tej pory odkryto ponad 60 różnych polimorfizmów umiejscowionych w promotorze, w okolicy eksonów 2-9

oraz w regionie 3'UTR. Znaczenie polimorfizmów w różnych chorobach nadal nie jest w pełni poznane [96]. Do polimorfizmów funkcjonalnych genu *VDR* należą polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP), takie jak polimorfizm *BsmI* (G/A) (rs1544410) oraz *ApaI* (G/T) (rs7975232) umiejscowione w intronie między 8 a 9 eksonem oraz polimorfizm *TaqI* (T/C) (rs731236) zlokalizowany w eksonie 9, ale również powtórzenia poli-A w regionie 3'UTR. Wszystkie zmiany mogą wpływać na stabilność mRNA, a tym samym na translację mRNA receptora witaminy D. Polimorfizmem funkcjonalnym jest również polimorfizm *FokI* (C/T) (rs10735810) zlokalizowany w eksonie 2, powodujący powstawanie *VDR* o 3 aminokwasy krótszego niż postać natywna (pierwsze ATG), charakteryzującego się większą aktywnością biologiczną. Uczestniczy ona w aktywacji genu osteokalcyny w szczurzych fibroblastach oraz w hamowaniu dojrzewania komórek monojądrzastych krwi obwodowej [32,106].

Ponadto opisano polimorfizm genu *VDR* w obrębie miejsca wiązania czynnika transkrypcyjnego swoistego dla jelit, *Cdx2* (A/G) [10], wywołujący zmniejszoną ekspresję *VDR* w jelitach oraz jednocześnie zmniejszenie indukcji białek transportujących wapń przez $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ i jego absorpcję [40,109]. Dodatkowo na wielu liniach komórkowych zaobserwowano występowanie izoformy *VDRB1*, generowanej przez alternatywny splicing, wykazującą zwiększoną aktywność transkrypcyjną *VDR* [42].

Niedawno opisano istotny wpływ genotypu GG polimorfizmu *ApaI* (G/T) na odpowiedź chemioterapii u chorych z niedrobnokomórkowym rakiem płuc (NSCLC). Autorzy pracy sugerują, że polimorfizm *ApaI* w genie *VDR* może się okazać dobrym markerem w celu zastosowania zindywidualizowanej chemioterapii w leczeniu NSCLC [108].

Badano również wpływ polimorfizmów w genie *VDR* oraz ich allelicznych wariantów na ryzyko zachorowania na stwardnienie rozsiane (MS). W wielu pracach wykazano związek między ryzykiem rozwoju MS a występowaniem wariantów T polimorfizmu *FokI* oraz wariantu C polimorfizmu *TaqI* [34,73]. Agliardi i wsp. obserwowali wzrastające ryzyko zachorowania na MS jedynie wśród homozygot allelu *HLA-DRB1*1501* powiązanego z allelem C, aktywniejszą postacią polimorfizmu *FokI* [6]. Dodatkowo u osób o haplocybie *HLA-DRB1*15* powiązanego z allelem T polimorfizmu *TaqI* obserwuje się zmniejszone ryzyko rozwoju MS, odwrotnie jednak po skorelowaniu z allelem C polimorfizmu *TaqI* [6]. Pojawia się jednak coraz więcej prac, w tym wielośrodkowych metaanaliz, w których nie opisują żadnych korelacji z ryzykiem zachorowań na MS [41].

Trwają również liczne badania nad wpływem polimorfizmów *VDR* na podatność zachorowań na cukrzycę typu 2 (T2D – type 2 diabetes). Li i wsp. dokonali metaanalizy na podstawie 14 artykułów analizujących związek między czterema miejscami polimorficznymi genu *VDR* (*FokI*, *BsmI*, *ApaI*, *TaqI*) a podatnością ludzi na cukrzycę typu 2. Nie zaobserwowano jednak różnic istotnych statystycznie, z wyjątkiem jednej obserwacji, allel T po-

limorfizmu *FokI* genu *VDR* może być czynnikiem ryzyka T2D, zwłaszcza wśród azjatyckiej populacji [61]. Ta sama grupa badawcza wykazała, że występowanie wariantu AA lub AG polimorfizmu *BsmI* jest związane ze zwiększonym ryzykiem zachorowań na cukrzycę typu 1 (T1D – type 1 diabetes) wśród azjatyckiej populacji [114].

ROLA WITAMINY D W UKŁADZIE IMMUNOLOGICZNYM

Receptory witaminy D (*VDR*) są umiejscowione nie tylko w tkankach, takich jak kości, skóra, jelito, czy nerki, ale również w mózgu, oczach, sercu, wyspach trzustkowych (komórki β), mięśniach, tkance tłuszczowej, przytarczycach, nadnerczach i prawie we wszystkich komórkach układu immunologicznego [18]. *VDR* wykazuje wyraźną ekspresję w limfocytach T i B, monocytach, a także komórkach prezentujących antygen (APC), takich jak makrofagi i komórki dendrytyczne. Najlepiej jest ona widoczna po ich aktywacji [12,80]. Dodatkowo wiele z tych komórek wytwarza na swojej powierzchni enzymy aktywujące witaminę D, pozwalając na jej lokalną aktywację.

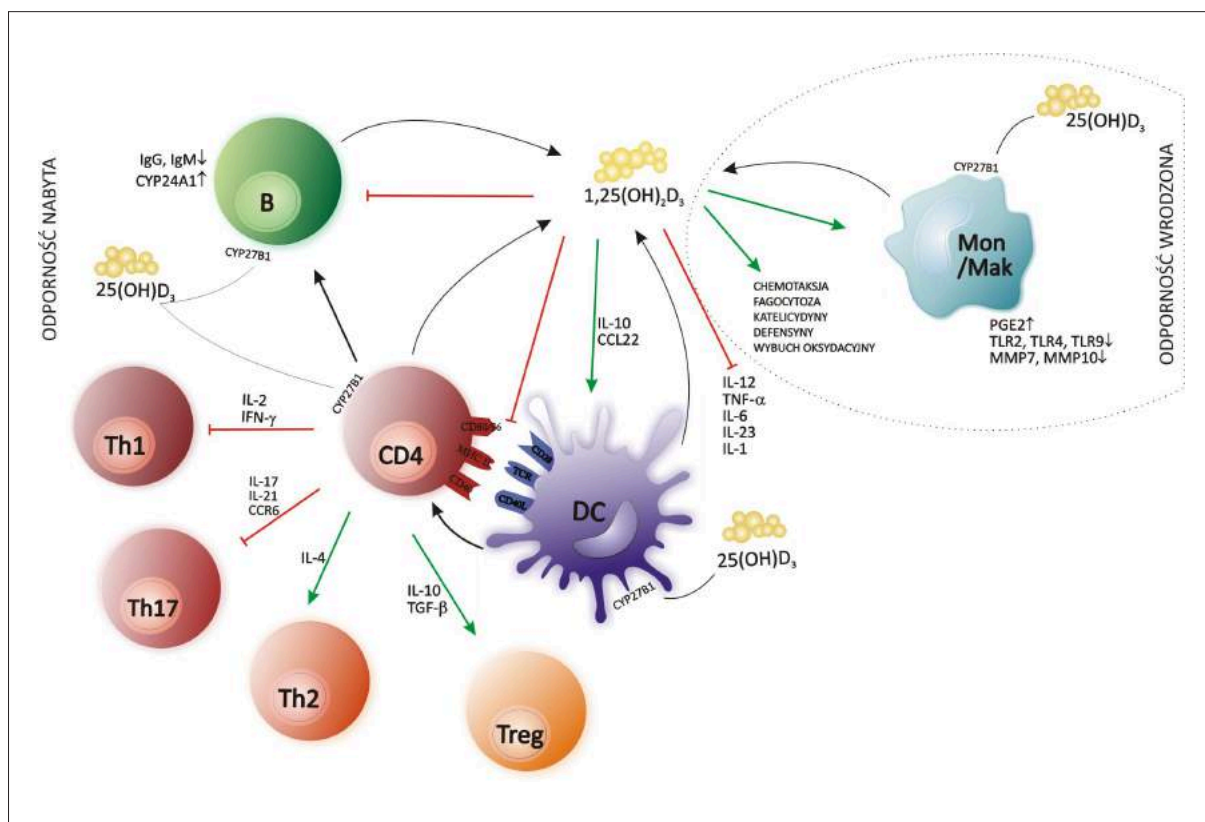
Ze względu na obecny stan wiedzy na temat witaminy D, wielu badaczy skupiło swoje zainteresowanie na immunomodulacyjnej roli $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ oraz jej plejotropowym charakterze (ryc. 1).

WPLYW WITAMINY D NA MONOCYTY/MAKROFAGI

Witamina D odgrywa istotną rolę w odpowiedzi wrodzonej organizmu, co zostało już wielokrotnie udowodnione w publikacjach naukowych. Już w 1985 r. zaobserwowano, że makrofagi wyizolowane z ziarniniaków sarkoidalnych lub płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego przekształcały $25(\text{OH})\text{D}$ do $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, wspierając tezę, że hiperkalcemia obecna u tych chorych, jest wynikiem pozanerkowego wytwarzania aktywnej witaminy D [4]. W późniejszych pracach powiązano duże stężenia aktywnej witaminy D również z innymi chorobami ziarniniakowymi, m.in. gruźlicą, chłoniakiem, ziarniniakami indukowanymi kontaktem z silikonem lub parafiną czy ziarniniakowością z zapaleniem naczyń [3]. Powodem dużych stężeń krążącej $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ jest zwiększona aktywność enzymu *CYP27B1*, umiejscowionego nie w nerce, ale w chorobowo zmienionych makrofagach, jak również gęsta ekspresja receptorów witaminy D w tych komórkach [4,49].

Witamina D stymuluje różnicowanie się monocytów i komórek z linii monocytarnej do ich dojrzałych postaci o cechach makrofagów [1]. Niedobór witaminy D zaburza dojrzewanie monocytów przez zmniejszenie aktywności kwaśnej fosfatazy (enzymu lizosomalnego) oraz wydzielania H_2O_2 , czynników niezbędnych do ich antybakteryjnej funkcji [2]. Zatem $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ wzmacnia potencjał chemoatyczny i fagocytotyczny makrofagów.

W przeciwieństwie do nerki, gdzie regulacja ekspresji *CYP27B1* odbywa się za pomocą jonów Ca^{2+} , w aktywowanych makrofagach regulacja ta przebiega za pośrednictwem sygnału immunologicznego, głównie INF- γ oraz



Ryc. 1. Wynik działania 1,25(OH)₂D₃ na komórki układu immunologicznego: 1,25(OH)₂D₃ stymuluje odpowiedź wrodzoną, wzmacniając funkcje makrofagów, m.in. własności chemotaktyczne oraz fagocytotyczne, jak również wytwarzanie peptydów antybakteryjnych, tj. katelicydyn. Wpływa również na odpowiedź swoistą organizmu. Hamuje dojrzewanie i różnicowanie komórek dendrytycznych; pośrednio wywołuje polaryzację limfocytów Th1 oraz Th17 w kierunku komórek o fenotypie Th2. 1,25(OH)₂D₃ bezpośrednio wpływa na odpowiedź limfocytów T poprzez zmniejszenie sekrecji cytokin przez komórki Th1 oraz Th17, jak i zwiększenie wydzielania cytokin wytwarzanych przez Th2. Jednocześnie promuje rozwój linii komórek T regulatorowych bezpośrednio oraz pośrednio przez działanie DC. Zmniejsza również produkcję IgG oraz IgM przez komórki plazmatyczne. Komórki układu immunologicznego wykazują również ekspresję CYP27B1, enzymu, przekształcającego 25(OH)D₃ do postaci aktywnej - 1,25(OH)₂D₃

agonistów receptorów Toll-like (TLR). Proces ten odbywa się w wyniku wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnałów JAK-STAT, p38 MAPK oraz NF-κB [89].

Liu i wsp. zaobserwowali, że stymulacja 1,25(OH)₂D₃ prowadzi do aktywacji heterodimeru TLR2/1 w makrofagach indukowała ekspresję VDR, wywołując wydzielanie katelicydyn (CAMP), peptydów o właściwościach bakteriobójczych w stosunku do wielu różnorodnych drobnoustrojów, powodując w tym przypadku zabicie prątków gruźlicy [62]. Dla potwierdzenia powyższych wyników, ci sami autorzy w kolejnej pracy obserwowali wzrost bakterii pomimo stymulacji monocytów 1,25(OH)₂D₃, wykorzystując tzw. małe interferujące RNA (siRNA - small interfering RNA) swoiste wobec katelicydyn. Potwierdzili ostatecznie, że antybakteryjne działanie 1,25(OH)₂D₃ jest uzależnione od wydzielania katelicydyn [63].

Wykazano również, że ludzka katelicydyna hCAP-18/LL-37 indukowana przez 1,25(OH)₂D₃ jest głównym łącznikiem na wczesnym etapie tworzenia autofagolizosomu. Uczestniczy w modulacji genów kodujących białka związanych z autofa-

gią, m.in. Beclin 1 oraz Atg5, w monocytach i makrofagach, a tym samym w procesie zabicia prątków gruźlicy [113].

Poza CAMP, 1,25(OH)₂D₃ stymuluje ekspresję receptorów rozpoznających wzory molekularne NOD₂/CARD₁₅/IBD₁, co autorzy potwierdzili zarówno na poziomie genetycznym, jak i białkowym w monocytach oraz komórkach złączającego się nabłonka. Aktywacja NOD2 dipeptydem muramylowym (muramyl dipeptyde - MDP), produktem peptydoglikanu, charakterystycznym dla bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych, indukuje czynnik transkrypcyjny NF-κB, powodując ekspresję genów kodujących peptyd antybakteryjny - defensynę b2 (DEFB2/HBD2) [104].

Sadeghi i wsp. zaobserwowali jednak zmniejszoną ekspresję receptorów TLR2 oraz TLR4 w hodowlach monocytów w obecności 1,25(OH)₂D₃. Kalcytriol zmniejsza odpowiedź na PAMPs (pathogen associated molecular patterns), co udowodniono na poziomie zarówno genetycznym, jak i białkowym. Działanie to jest najbardziej zaznaczone po 72 h od inkubacji komórek, stąd sugeruje się, że odpowiada

za negatywne sprzężenie zwrotne w późnej fazie od inicjacji procesu zapalnego [85].

Zakażeniu prątkami gruźlicy towarzyszy wyrzut białek z rodziny MMP przez makrofagi, których nadmierna aktywność przyczynia się do uszkodzenia tkanki śródmiąższowej płuc. Swoją rolę w patomechanizmie zakażenia ma również witamina D, której aktywna postać znacząco obniża ekspresję MMP-7 i MMP-10 oraz zmniejsza wydzielanie MMP-7 przez mononuklearne komórki krwi obwodowej (PBMC) zainfekowane prątkami gruźlicy. Niezależnie od obecności infekcji, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zmniejsza ekspresję genu kodującego MMP-9, jak również wydzielanie i aktywność samego białka. Nie obserwuje się jednak wpływu na ekspresję tkankowego inhibitora metaloproteiny (TIMP).

Kalcytriol indukuje również wydzielanie IL-10 oraz PGE2 przez PBMC zakażonych prątkami gruźlicy [33]. Cohen i wsp. wykazali również, że $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hamuje wydzielanie TNF- α po stymulacji bakteryjnym LPS [31]. Oprócz tego wykazano, że $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hamuje ekspresję innych prozapalnych cytokin, tj. IL-1, -6, -8 oraz IL-12 [8,44].

Warto również wspomnieć, że główny produkt palenia papierosów – benzopiren (BaP) wzmacnia indukcję cytochromu P450 2A1 (CYP2A1), enzymu unieczyniającego $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w ludzkich komórkach THP-1 pochodzenia monocytarnego oraz komórkach MCF-1 raka gruczołu piersiowego, przyczyniając się do rozkładu aktywnej postaci hormonu, a tym samym do osłabienia reakcji antibakteryjnej [68].

Makrofagi, podobnie jak komórki dendrytyczne, są zdolne do prezentowania antygenów i stymulowania limfocytów T. Pod wpływem aktywnej witaminy D zdolność ta jest zredukowana, co potwierdza zmniejszona ekspresja antygenów zgodności tkankowej MHC klasy II i cząsteczek kostymulujących, tj. CD40, CD80, CD86 [8]. Limfocyty CD4^+ hodowane w obecności $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ i makrofagów stymulowanych CD40L wykazywały zmniejszoną proliferację oraz wydzielaly zwiększoną ilość IL-10. Limfocyty T wydzielające tę cytokinę przypominały komórki o właściwościach regulacyjnych, hamując proliferację i funkcję limfocytów Th1. Eksperyment ten dowodzi, iż proces jest uzależniony przede wszystkim od interakcji komórka-komórka, potwierdzając parakryne działanie kalcytriolu na komórki układu immunologicznego [8].

WPLYW WITAMINY D NA KOMÓRKI DENDRYTYCZNE

Komórki dendrytyczne (dendritic cells - DC) to główna populacja komórek prezentujących antygen (antigen presenting cells - APC). Wykazują zdolność do immunoregulacji i immunotolerancji, inicjując odpowiedź immunologiczną limfocytów T w odpowiedzi na obce antygeny i komórki nowotworowe. DC są populacją heterogenną, zdolną do stymulacji naiwnych limfocytów T w kierunku różnicowania do limfocytów efektorowych, począwszy od komórek pomocniczych CD4^+ (Th), cytotoksycznych CD8^+ (Tc), a kończąc na tolerogennych komórkach regula-

torowych (Treg) [13]. Ingerencja w działanie komórek dendrytycznych może spowodować wiele różnych następstw w układzie immunologicznym. Kalcytriol reguluje również działanie APC, prowadząc do zahamowania aktywacji patogennych efektorowych limfocytów T oraz zwiększenia liczby komórek o właściwościach supresorowych, głównie przez działanie tolerogennych DC [5].

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hamuje różnicowanie się komórek dendrytycznych z monocytarnych prekursorów poprzez sygnał generowany przez obecny na nich VDR. Zaburza dojrzewanie DC w kierunku aktywnych komórek prezentujących antygen (APC). Zaobserwowano, że DC pochodzenia monocytarnego (monocyte-derived DC - mDC) są zdolne do syntezy $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ *in vitro*, w odpowiedzi na miejscowe działanie CYP27B1, sugerując również wśród DC auto- i parakrynną regulację. W miarę różnicowania się i dojrzewania komórek dendrytycznych, synteza kalcytriolu znacząco wzrasta. Wyniki badań sugerują, że synteza kalcytriolu w DC odbywa się głównie w celu ograniczenia niepotrzebnej reaktywności układu immunologicznego [50]. W przeciwieństwie do monocytów, w niedojrzałych DC ekspresja VDR jest obniżona. W niedojrzałych komórkach dendrytycznych $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zmniejsza ekspresję markerów powierzchniowych DC, tj. MHC klasy II oraz cząsteczek kostymulujących CD1a, CD80 oraz CD40 [23]. Kalcytriol stymuluje dojrzewanie monocytarnych prekursorów w kierunku dojrzałych makrofagów zdolnych do fagocytozy, m.in. podtrzymując ekspresję monocytarnego markera CD14 [5].

Witamina D moduluje również ekspresję cytokin lub chemokin wydzielanych przez mDC, głównie hamując wydzielanie IL-12 oraz IL-23 (stymulujących różnicowanie Th1 i Th17), a stymulując uwalnianie przeciwzapalnej IL-10. Hamowanie wytwarzania IL-12 przez dojrzałe DC jest wynikiem supresji czynnika transkrypcyjnego NF- κB , co przyczynia się do rozwoju komórek o fenotypie supresyjnym. Jednocześnie witamina D zwiększa wytwarzanie chemokiny CCL22, zdolnej do rekrutowania Treg. Nie wykazano natomiast wpływu kalcytriolu na plazmocytoidalne DC, które indukują niezależnie naiwne CD4^+ do różnicowania w kierunku komórek wytwarzających IL-10 oraz $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ komórek regulatorowych, o działaniu immunosupresyjnym [75].

Powyższe wnioski są spójne z wynikami Szelesa i wsp., którzy wykorzystując testy mikromacierzowe potwierdzili, że po aktywacji VDR dochodzi do przeprogramowania DC w kierunku komórek o fenotypie tolerogennym. Wykazano, że $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ reguluje w DC ekspresję genów odpowiedzialnych za tolerogenny fenotyp, niezależnie od ich różnicowania się i dojrzewania. Regulacja na poziomie genetycznym przez $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ jest kontrolowana globalnie [91].

Wiele genów o podobnych funkcjach jest regulowane przez $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, m.in. prezentacja antygenów, kostymulacja, cytokiny, chemokiny, przyczyniając się do wzmocnienia rozwoju komórek regulatorowych. Niektóre z tych genów tworzą klastery lub są umiejscowione w zbliżonych regionach chromosomalnych w obrębie genomu (MHC klasy II, CD1, skupiska LILRB). Autorzy sugerują, że tolerogenny

fenotyp jest wynikiem aktywnego procesu i mało prawdopodobne, że mógłby być jedynie konsekwencją hamowania różnicowania i dojrzewania samych DC, czyli jedynie przez zmniejszenie ekspresji markerów MHC klasy II i cząsteczek kostymulujących CD1a, CD80 oraz CD40 [23,91]. Niezależne różnicowanie i dojrzewanie DC może być aktywowane jednym z dwóch współzawodniczących programów transkrypcyjnych. Pierwszy ma charakter immunogeny, zapoczątkowany m.in. przez TLR, prozapalne cytokiny albo inne immunogenne sygnały. Drugi natomiast, tolerogeny, jest inicjowany przez sygnały tolerogenne, tj. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ oraz glukokortykosteroidy [91].

WPLYW WITAMINY D NA LIMFOCYTY B

Mimo kilku kontrowersyjnych doniesień w badaniach z ostatnich lat Chen i wsp. potwierdzili niewielką ekspresję VDR w ludzkich limfocytach B oraz wzrost ekspresji VDR w obecności $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w zależności od czasu stymulacji [29,46]. Dodatkowo odkryli, że witamina D może wzmacniać skutki różnicowania się wyraźniej w aktywowanych w porównaniu do spoczynkowych limfocytów B. Efekt ten może być różny w zależności od stężenia $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ we krwi.

Aktywny metabolit witaminy D hamuje proliferację limfocytów B. Inkubacja limfocytów B w obecności aktywnej postaci witaminy D zwiększa ekspresję CYP24A1, genu odpowiedzialnego za rozkład $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. W przeciwieństwie do VDR, ekspresja CYP24A1 nie zmienia się po aktywacji limfocytów. Odpowiedź spoczynkowych limfocytów B na działanie aktywnej witaminy D zależy zarówno od ekspresji VDR, jak i zdolności do rozkładania jej aktywnej postaci, natomiast odpowiedź aktywowanych limfocytów B jest uzależniona jedynie od obecności VDR [29].

Chen i wsp. zaobserwowali ekspresję CYP27B1 w spoczynkowych limfocytach B indukowaną m.in.: anty-CD40, IL-4, IL-21, ale nie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Dodatkowo $25(\text{OH})\text{D}_3$ podobnie działała jak aktywna postać na limfocyty B w spoczynku oraz po aktywacji, ale wymagało to większego stężenia [29].

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hamuje różnicowanie się komórek plazmatycznych oraz wytwarzanie przeciwciał. Zaobserwowano spowolnienie wyhamowania po 5 dniach hodowli limfocytów B w obecności $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sugerując, że kalcytriol hamuje powstawanie nowych komórek plazmatycznych, ale nie wpływa na liczbę już istniejących. Skutek hamowania nakłada się z aktywacją komórek oraz regulacją VDR zależną od $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Zatem Chen i wsp. sugerują istnienie granicznego stężenia VDR, w którym efekt antyproliferacyjny zostaje uwidoczniony. Proces hamowania jest wynikiem apoptozy aktywowanych i dzielących się limfocytów B, prowadzącej do ich eliminacji [29].

Pod wpływem $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wśród chorych z aktywnym toczeniem układowym obserwuje się obniżenie wytwarzania IgG przez limfocyty B stymulowane mitogenem, ale nie ich spontaniczne wytwarzanie [30]. Całkowicie zróżnicowane komórki B pamięci i komórki wydzielające przeciwciała (ASCs) są odporne na działanie witaminy D [29].

WPLYW WITAMINY D NA LIMFOCYTY T

Podobnie jak na wielu komórkach układu immunologicznego, również na limfocytach T obserwuje się zwiększoną ekspresję VDR w miarę postępu ich aktywacji. Sugeruje się, że może to być alternatywna droga bezpośredniego działania $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na odpowiedź generowaną przez same limfocyty T oraz kontroli nad sygnalizacją przez TCR. Baeke i wsp. odnotowali zwiększoną ekspresję VDR pod wpływem stymulacji anty-CD3/anty-CD28, czynników niezbędnych do pełnej aktywacji limfocytów T [12]. Dodatkowo podwyższone stężenia VDR obserwowali również w obecności innych czynników nasładowujących powyższe sygnały, m.in. lektyny, PHA oraz PMA/jonomycyny [12]. Jednak różne stymulanty indukują różne poziomy ekspresji VDR, co może być powodem sprzecznych wyników dotyczących wpływu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na proliferację limfocytów T [12,53,84]. Wzrost ekspresji VDR na powierzchni limfocytów T odbywa się również alternatywnie przez aktywację kinazy p38 poprzez receptory TCR. Po związaniu się $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ do VDR, kompleks przemieszcza się do jądra komórkowego i aktywuje geny kodujące C-g1(PLC-g1), białka odgrywającego główną rolę w transdukcji sygnału z TCR oraz aktywacji limfocytów T [103].

Aktywacji limfocytów T towarzyszy również wzrost ekspresji CYP27B1, pozwalając na odpowiedź komórek nie tylko ze strony aktywnego liganda, ale również jego prekursora. Zmiana w ekspresji enzymu odtwarza kinetykę ekspresji VDR po aktywacji limfocytów T. Ekspresja CYP27B1 jest kontrolowana przez sygnały wywodzące się z układu immunologicznego oraz miejscowego przekształcania $25(\text{OH})\text{D}$ do jej aktywnej postaci. Mechanizmy te zabezpieczają w ten sposób przed nadmiernym nasileniem procesu zapalnego w czasie epizodów aktywnej odpowiedzi immunologicznej [12].

Po związaniu się $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ do VDR na limfocytach T następuje zmiana profilu wydzielanych cytokin w kierunku hamowania aktywacji limfocytów T efektorowych i indukowania limfocytów T regulatorowych.

Kalcytriol dodany do hodowli limfocytów T pomocniczych hamuje ich proliferację i sekrecję cytokin, tj. IFN- γ , IL-2. Wymienione cytokiny mają duży udział we wspomaganiu odpowiedzi typu komórkowego. IL-2 stymuluje m.in. cytotoksyczność limfocytów, a IFN- γ uczestniczy w aktywacji makrofagów. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wzmacnia natomiast wydzielanie IL-4, IL-5 oraz IL-10. Ułatwia w ten sposób rozwój subpopulacji Th2 o funkcjach supresorowych, zwłaszcza wobec limfocytów Th1 i odpowiedzi typu komórkowego. Dodatkowo obserwuje się wzrost ekspresji swoistych dla Th2 czynników transkrypcyjnych GATA-3 oraz c-maf [19,65]. Pojawiają się również doniesienia o hamującym działaniu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ jedynie na subpopulację Th1 bez wpływu na Th2 [69].

Witamina D wpływa ponadto na trzecią grupę limfocytów T pomocniczych (Th17) przez zmniejszenie wydzielania cytokin prozapalnych, tj. IL-17 oraz IL-21 [107]. Wśród pa-

cjentów chorych na chorobę Behçeta, w której dochodzi do zaburzeń w populacjach Th17 oraz Th1, a także wśród zdrowej populacji, po zastosowaniu witaminy D obserwowano zahamowanie różnicowania zarówno jednej, jak i drugiej populacji limfocytów. Okazuje się, że to czynnik regulatory interferonu 8 (IRF-8) odgrywa główną rolę w procesie hamowania różnicowania się komórek Th17 z naiwnych komórek CD4⁺. Witamina D₃ hamuje ekspresję molekuł efektorowych Th17, tj. RORC, IL-17, IL-23R oraz CCR6. Wykazano, że pod wpływem witaminy D₃ w proces hamowania odpowiedzi ze strony Th1 oraz Th17 były pośrednio zaangażowane również komórki dendrytyczne [94].

Jednak witamina D stymuluje wydzielanie immunosupresyjnych cytokin, tj. TGF-β i IL-10, ułatwiając różnicowanie populacji komórek T regulatorowych [94]. Problem zostanie szerzej opisany w następnym rozdziale.

Aktywny metabolit witaminy D może również wpływać na inne funkcje limfocytów T. W początkowych badaniach naukowcy sugerowali, iż 1,25(OH)₂D₃ może hamować również migrację naiwnych komórek do peryferyjnych narządów limfatycznych i w ten sposób kontrolować polaryzację w kierunku jednej z subpopulacji Th [95]. Sigmundsdottir i wsp. potwierdzili istotne znaczenie 1,25(OH)₂D₃ w kierowaniu komórek T do narządów docelowych. Po aktywacji naiwnych limfocytów T w obecności 1,25(OH)₂D₃ obserwowano indukcję transkrypcji oraz powierzchniową ekspresję receptorów chemokin CCR10 związanych ze skórnymi limfocytami T, które umożliwiają im migrowanie w kierunku chemokiny CCL27, wydzielanej przez naskórkowe keratynocyty [87]. W odróżnieniu od skóry w układzie pokarmowym 1,25(OH)₂D₃ hamuje ekspresję receptorów zasiedlania przez limfocyty T a4b7 oraz CCR9 [87].

WPLYW WITAMINY D NA LIMFOCYTY T REGULATOROWE

Ostatnią grupą limfocytów, na którą oddziałuje 1,25(OH)₂D₃ są limfocyty T regulatorowe (Treg). Komórki te są odpowiedzialne za kontrolowanie i hamowanie nadmiernej reakcji przeciwzapalnej, reakcji nadwrażliwości i nadmiernej reaktywności, zwłaszcza w stosunku do własnych antygenów.

Po zewnętrznej aplikacji syntetycznej 1,25(OH)₂D₃, a następnie immunizacji owoalbuminą (OVA) obserwowano zwiększoną ekspansję *in vivo* populacji Treg (CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺) swoistej antygenowo o działaniu supresorowym, zabezpieczającej przed rozrostem populacji CD8⁺ o charakterze cytotoksycznym oraz wytwarzaniem IFN-γ. Dodatkowo u myszy, z wyciszonym genem VDR, po naświetlaniu światłem UV-B nie obserwowano zwiększania się populacji Treg w odplywie limfy w węzłach chłonnych, pośrednio sugerując, że tolerancja immunologiczna indukowana światłem jest wywoływana przez mechanizm zależny od VDR [43]. Urry i wsp. wykazali, że 1,25(OH)₂D₃ zwiększa populację FOXP3⁺ Treg w hodowli ludzkich komórek monojądrzastych krwi obwodowej, indukując jednocześnie ekspresję receptorów CTLA-4 oraz PD-1 przez te komórki, ekspozując ich potencjał hamujący [99].

Udowodniono również, że 1,25(OH)₂D₃ promuje różnicowanie się populacji komórek CD4⁺ wydzielających IL-10 (IL-10 Treg), zarówno w hodowli komórkowej z dodatkiem glukokortykosteroidów, tj. deksametazonu lub bez [100]. Leczenie kalcytriolem pacjentów z ciężką astmą oporną na leczenie glukokortykosteroidami zwiększa ponadto ekspresję IL-10 oraz TLR9 w wyizolowanych komórkach o fenotypie CD3⁺CD4⁺. Wśród pacjentów leczonych jedynie steroidami, u których *in vitro* zaobserwowano wyciszenie wydzielania IL-10, leczenie uzupełniające 1,25(OH)₂D₃ prowadzi do odtworzenia odpowiedzi immunologicznej [100]. Oprócz mechanizmu hamującego, będącego wynikiem stymulowania wydzielania IL-10, autorzy obserwują podtrzymywanie ekspresji Foxp3 podczas hodowli komórkowej pod wpływem 1,25(OH)₂D₃ [99].

Hamujące działanie 1,25(OH)₂D₃ jest szczególnie zaznaczone w limfocytach T efektorowych/pamięci, które ekspresjonują na swojej powierzchni VDR lub pośrednio przez działanie DC. Komórki dendrytyczne hodowane w obecności witaminy D₃ indukują limfocyty Treg poprzez receptor ILT 3 (immunoglobulinopodobny transkrypt 3) o właściwościach supresorowych. Sugeruje się, że podawanie witaminy D₃ na powierzchnię skóry może zmieniać funkcję DC, a tym samym wpływać na różnicowanie oraz działanie komórek Treg [76].

Na mysim modelu doświadczalnym z wyindukowanym autoimmunologicznym zapaleniem mózgu i rdzenia kręgowego, przebiegającym z naciekiem zapalnym, podawanie doustne 1,25(OH)₂D₃ znacząco redukowało liczbę krążących limfocytów [27]. Aktywna postać witaminy D₃ hamuje *in vitro* różnicowanie się limfocytów Th17 poprzez sygnał generowany przez VDR, niezależnie od działania IL-2, IL-10, STAT1 [27,90]. Dodatkowo negatywnie reguluje CCR6 na komórkach Th17, prawdopodobnie również w sposób zależny od VDR [27]. CCR6 po połączeniu ze swoim ligandem CCL-20 odgrywa ważną rolę w kontrolowaniu napływu Th17 do OUN, w ten sposób wpływając na rozwój EAE (experimental autoimmune encephalomyelitis). Aktywacja VDR moduluje ekspresję CCR6 i prowadzi do hiporeaktywności CCL20 [83]. Wobec tych wszystkich dowodów Chang i wsp. sugerują możliwość wykorzystania witaminy D₃ w leczeniu chorób autoimmunologicznych związanych z obecnością limfocytów Th17 [27]. Smad3, uczestniczący w transdukcji sygnału wysyłanego przez TGF-β, pośredniczy w drodze sygnałowej między TGF-β a witaminą D₃ [48]. Współdziałanie kompleksu Smad3-VDR może być synergistyczne lub antagonistyczne w zależności od warunków [110]. Inne badania wskazują, że również kwas retinowy wzmacnia drogę sygnałową TGF-β-Smad3, zwiększając ekspansję limfocytów T ekspresjonujących Foxp3 oraz hamując rozwój linii komórek Th17. Autorzy sugerują, że Smad3 może pośredniczyć w hamowaniu populacji limfocytów Th17 przez witaminę D₃ [107].

W przeciwieństwie do powyższych wyników Chang i wsp. obserwowali zahamowanie różnicowania się populacji komórek zarówno Treg, jak i Th17. Pod wpływem 1,25(OH)₂D₃ wykazano zmniejszone wydzielanie IL-2 przez aktywowane limfocyty CD4⁺. Sugeruje się, że IL-2 może być głównym

elementem w procesie hamowania limfocytów Treg przez $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Samodzielnie IL-2 blokuje hamujące działanie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w stosunku do Treg. Razem $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ oraz IL-2 ograniczają wytwarzanie IL-17 przez komórki CD4^+ , co może świadczyć o różnym mechanizmie działania aktywnego metabolitu na subpopulację Treg oraz Th17 [27].

Wydaje się, że hamujące działanie witaminy D może być podobne do mechanizmu IL-27, która hamuje powstawanie linii limfocytów Th17 i indukuje wytwarzanie IL-10, zwrótnie hamując rozwój EAE [16,27,90]. Zdolność IL-27 do hamowania subpopulacji limfocytów Th17 zależy od czynnika transkrypcyjnego STAT1 [90], natomiast witamina D hamuje rozwój limfocytów Th1 oraz Th17 poprzez pobudzenie ekspansji komórek Foxp3^+ Treg [55].

TERAPEUTYCZNE ZASTOSOWANIE WITAMINY D

Niedobór witaminy D jest problemem dotyczącym wielu ludzi na całym świecie. W 2007 r. potwierdzono w metaanalizie randomizowanych badań klinicznych, że podawanie witaminy D związane jest ze zmniejszeniem śmiertelności ogólnej [11].

Opierając się na licznych doniesieniach pochodzących głównie z badań eksperymentalnych suplementacja witaminy D znajduje zastosowanie w leczeniu chorób zapalnych, nowotworowych, sercowo-naczyniowych oraz autoimmunologicznych, w tym toczenia układowego, RZS, cukrzycy oraz stwardnienia rozsianego.

Podawanie witaminy D poprawia stan pacjentów zakażonych prątkiem gruźlicy. Niedawno opublikowano wyniki z randomizowanych badań klinicznych kontrolowanych placebo, badających wpływ wysokich dawek (1200000 IU w ciągu 2 miesięcy) cholekalcyferolu domięśniowo na stan pacjentów z gruźlicą [86]. Po zastosowaniu witaminy D wykazano przyspieszoną poprawę pod względem klinicznym oraz radiologicznym u wszystkich pacjentów z gruźlicą, ponadto wśród grupy chorych z bardzo niskim wyjściowym stężeniem $25(\text{OH})\text{D}_3$ ($< 20 \text{ ng/mL}$) we krwi obserwowano zwiększoną indukcję odpowiedzi immunologicznej na prątki gruźlicy [86]. Chociaż we wcześniejszych badaniach Martineau i wsp. oraz Wejse i wsp. nie wykazali różnic w obrazie klinicznym ani w śmiertelności po zastosowaniu witaminy D (odpowiednio 400 000 IU 25 hydroksywitaminy D_3 oraz 300 000 IU cholekalcyferolu) u chorych z gruźlicą płuc [66,105]. Może to być wynikiem zbyt małych dawek witaminy D, różnic w wariantach polimorfizmów genu VDR lub różnych wyjściowych stężeń $25(\text{OH})\text{D}_3$ we krwi.

Zastosowanie witaminy D może znaleźć zastosowanie również w leczeniu wirusowych oraz bakteryjnych infekcji górnych dróg oddechowych, w tym grypy. Aloia i Li-Ng wykazali, że peptydy antybakteryjne (AMP), występujące w neutrofilach, monocytach, komórkach NK oraz w komórkach nabłonkowych wyścielających układ oddechowy ulegają zwiększonej ekspresji pod wpływem witaminy D [9]. Zakażenia pneumokokami, meningokokami oraz streptokokami grupy A występują najczęściej w okresie zimy,

kiedy u ludzi obserwuje się najniższe stężenie witaminy D [38,54,102]. Bakterie te są wrażliwe na AMP, sugerując, że farmakologiczne dawki witaminy D mogą się okazać skutecznym lekiem [60]. Wydaje się, że zwiększone wytwarzanie peptydów antybakteryjnych przez witaminę D i szeroki zakres działania AMP czyni zasadną hipotezę, że farmakologiczne dawki witaminy D są skutecznym środkiem pomocniczym w leczeniu infekcji.

Zastosowanie analogów witaminy D wśród pacjentów z chorobą Crohna powoduje aktywację VDR w PBMC, wpływając na proliferację tych komórek oraz hamując wytwarzanie $\text{TNF-}\alpha$. Dochodzi do blokowania aktywacji czynnika transkrypcyjnego $\text{NF-}\kappa\text{B}$, uczestniczącego w patogenezie tej autoimmunologicznej choroby [88]. We wstępnych badaniach pacjentów z łagodnym i umiarkowanym stopniem zaawansowania choroby Crohna szacowano dawkę witaminy D potrzebną do zwiększenia stężenia $25(\text{OH})\text{D}_3$ we krwi powyżej 40 ng/mL . Po 24 tygodniach doustnego podawania witaminy D_3 (5,000 IU/d) obserwuje się znaczny wzrost stężenia witaminy D powyżej oczekiwanych poziomów i spadek indeksu aktywności klinicznej choroby Crohna (CDAI) [111]. Wyniki sugerują efektywność zastosowania witaminy D_3 w leczeniu choroby, choć wymagają potwierdzenia na większej liczbie chorych, porównując z grupą osób przyjmujących placebo i przez dłuższy czas. Sukcesem zakończyły się również badania chorych na toczeń układowy, u których zastosowanie szczepionki błonniczo-tężcowej jednocześnie z witaminą D wzmacnia odpowiedź immunologiczną, zwiększając znacząco stężenie specyficznych przeciwciał (TT-IgG) w porównaniu do grupy kontrolnej bez suplementacji witaminą [47].

Obiecująco przedstawiają się również wyniki badań nad nieswoistą immunomodulacją za pomocą $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ oraz tiazolidinedionów u pacjentów z wolno postępującą cukrzycą insulinozależną (słowo progressive insulin-dependent diabetes mellitus) oraz z późno ujawniającą się cukrzycą o podłożu autoimmunologicznym u osób dorosłych (latent autoimmune diabetes) [79].

W niedawno opublikowanej pracy badano hipotezę o przywróceniu zaburzonej ekspresji genów kodujących izoenzymy kinazy białkowej C (PKC) oraz wytwarzaniu IL-2 w wyizolowanych komórkach od chorych z toczeniem układowym (SLE) po zastosowaniu witaminy D_3 w hodowli limfocytów. Pomimo zastosowania zarówno małych (1 nM), jak i wysokich dawek (100 nM) $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nie udało się odtworzyć ekspresji PKC. Natomiast po zastosowaniu wysokich dawek witaminy D_3 Czifra i wsp. obserwowali obniżone stężenie IL-2, IL-6, $\text{IFN-}\gamma$, $\text{TNF-}\alpha$, a zwiększone stężenie IL-10 w supernatancie z hodowli komórkowych. Autorzy podkreślają, że niewielkie wytwarzanie IL-2 jest czynnikiem patogenetycznym w SLE, sugerując więc unikanie leczenia chorych z toczeniem układowym i niedoborem witaminy D wysokimi dawkami witaminy D_3 [35].

Obiecujące wydaje się również wytworzenie DC pochodzenia monocytarnego modyfikowanego $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ oraz deksametazonem o potencjale tolerogennym, ale

o różnych mechanizmach działania. Obie populacje DC mogą służyć wyciszaniu nadreaktywnej odpowiedzi immunologicznej, indukując mechanizmy protolerogene, zwłaszcza u osób po przeszczepie lub z chorobami autoimmunologicznymi [98]. Potwierdzeniem powyższych badań są liczne doniesienia na modelach mysich [36,74,101].

Prowadzone są badania nad grupą chorych z przewlekłą niewydolnością nerek (PNN) oraz po przeszczepie nerki, u których niedobór witaminy D dotyka 75% pacjentów i jest związany ze zwiększoną zachorowalnością oraz śmiertelnością z powodu chorób sercowo-naczyniowych [57]. Niedobór może być skorygowany podawaniem witaminy D i jest stosowany dość powszechnie wśród chorych na PNN w leczeniu wtórnej nadczynności przytarczyc. Dodatkowo Teng i wsp. wykazali, iż leczenie witaminą D przedłuża przeżycie pacjentów poddawanych dializoterapii [92,93]. Okazuje się, że zastosowanie terapii opartej na witaminie D we wczesnych etapach przewlekłego uszkodzenia nerek może się przyczynić do wzmocnienia statusu immunologicznego pacjentów potrzebujących w przyszłości terapii nerkozastępczej [67]. U chorych po transplantacji nerki zastosowanie niskich dawek metylprednizolonu oraz leków immunosupresyjnych razem z 1,25(OH)₂D₃ oraz preparatami wapnia przez 1 rok zmniejsza ryzyko wystąpienia złamania szyjki kości udowej i innych niekręgosłupowych złamań kości, a także normuje stężenie parathormonu (PTH) we krwi [67].

Stosowanie witaminy D niesie za sobą obawę przed przedawkowaniem, która mimo że występuje dość rzadko może prowadzić do hiperkalcemii, hiperkalcurii oraz hiperfosfatemii, a nielezione powoduje powstawanie kamicy nerkowej, wapnienie naczyń krwionośnych, a następnie narządów miękkich [51]. Dodatkowo ze względu na pozakostną aktywność witaminy D, VDR obecny w komórkach, tj. keratynocytach, chondrocytach, synowocytach, czy komórkach dendrytycznych moduluje odpowiedź immunologiczną komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych [112]. Przyszłością są pochodne witaminy D [np. parikalcitol (PCT)], które po zastosowaniu wykazują mniejszą czę-

stość występowania hiperkalcemii oraz mniejszą zdolność do występowania zwapnień niż kalcytriol [25,64].

Terapeutyczne dawki witaminy D są dostępne w postaci naturalnie występujących: ergokalcyferolu, cholekalcyferolu, 25(OH)D oraz kalcytriolu. Dostępne są również syntetyczne analogi witaminy D₂, tj.: parikalcitol, doksekalcyferol oraz analogi witaminy D₃, tj.: alfakalcidol, falekalcitriol oraz maxakalcitol. Każda z postaci ma różną aktywność i w innym stopniu wywołuje hiperkalcemię [57].

Biologicznie aktywny metabolit witaminy D₃, 1,25(OH)₂D₃, ma potencjalną zdolność modulacji układu immunologicznego. Dawki o potencjale terapeutycznym są stosunkowo wysokie, dlatego należy pamiętać o możliwości przedawkowania [116]. Ciągłe trwają badania nad analogami witaminy D, o zmniejszonym wpływie na stężenie wapnia i dawkach odpowiednich do immunomodulacji.

PODSUMOWANIE

Liczne wyniki prac na modelach zwierzęcych, ludzkich danych genetycznych, jak również epidemiologicznych świadczą o tym, że witamina D jest jednym z najważniejszych czynników w utrzymaniu immunologicznej homeostazy. Obecnie wiadomo, że kalcytriol należy bardziej do grupy hormonów niż witamin. W postaci nieaktywnej pochodzi z pożywienia, ale również powstaje w czasie syntezy słonecznej. W postaci 1,25(OH)₂D, poza nerką, jest wytwarzany również przez wiele innych tkanek, działając poprzez sygnał generowany przez VDR. Komórki układu immunologicznego są nie tylko celem działania 1,25(OH)₂D, ale również mogą same aktywować witaminę D, działając miejscowo auto- i parakrynnie. Dowiedziono, że witamina D wzmacnia układ odpornościowy, zatem zasadnym pytaniem wydaje się określenie dawki witaminy D potrzebnej do zoptymalizowania działania układu odpornościowego i zmniejszenia ryzyka rozwoju infekcji oraz chorób na tle autoimmunologicznym. Umożliwi to nie tylko głębsze zrozumienie mechanizmów działania immunomodulacyjnego, ale również następstw stosowania agonistów VDR, a zwłaszcza hipokalcemicznych analogów 1,25(OH)₂D₃.

PIŚMIENICTWO

[1] Abe E., Miyaura C., Tanaka H., Shiina Y., Kuribayashi T., Suda S., Nishii Y., DeLuca H.F., Suda T.: 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ promotes fusion of mouse alveolar macrophages both by a direct mechanism and by a spleen cell-mediated indirect mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1983; 80: 5583-5587

[2] Abu-Amer Y., Bar-Shavit Z.: Impaired bone marrow-derived macrophage differentiation in vitamin D deficiency. *Cell. Immunol.*, 1993; 151: 356-368

[3] Adams J.S.: Hypercalcemia due to granuloma-forming disorders. W: *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. red.: Favus M.J. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 1999, 212-214

[4] Adams J.S., Gacad M.A.: Characterization of 1 α -hydroxylation of vitamin D₃ sterols by cultured alveolar macrophages from patients with sarcoidosis. *J. Exp. Med.*, 1985; 161: 755-765

[5] Adorini L., Penna G., Giarratana N., Roncari A., Amuchastegui S., Daniel K.C., Uskokovic M.: Dendritic cells as key targets for immunomodulation by Vitamin D receptor ligands. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2004; 89-90: 437-441

[6] Agliardi C., Guerini F.R., Saresella M., Caputo D., Leone M.A., Zanzottera M., Bolognesi E., Marventano I., Barizzone N., Fasano M.E., Al-Daghri N., Clerici M.: Vitamin D receptor (VDR) gene SNPs influence VDR expression and modulate protection from multiple sclerosis in HLA-DRB1*15-positive individuals. *Brain Behav. Immun.*, 2011; 25: 1460-1467

[7] Ahn J., Peters U., Albanes D., Purdue M.P., Abnet C.C., Chatterjee N., Horst R.L., Hollis B.W., Huang W.Y., Shikany J.M., Hayes R.B.: Serum vitamin D concentration and prostate cancer risk: a nested case-control study. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2008; 100: 796-804

[8] Almerighi C., Sinistro A., Cavazza A., Ciaprini C., Rocchi G., Bergamini A.: 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits CD40L-induced pro-in-

flammatory and immunomodulatory activity in human monocytes. *Cytokine*, 2009; 45: 190-197

- [9] Aloia J.F., Li-Ng M.: Re: epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol. Infect.*, 2007; 135: 1095-1096
- [10] Arai H., Miyamoto K.I., Yoshida M., Yamamoto H., Taketani Y., Morita K., Kubota M., Yoshida S., Ikeda M., Watabe F., Kanemasa Y., Takeda E.: The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. *J. Bone Miner. Res.*, 2001; 16: 1256-1264
- [11] Autier P., Gandini S.: Vitamin D supplementation and total mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch. Intern. Med.*, 2007; 167: 1730-1737
- [12] Baeke F., Korf H., Overbergh L., van Etten E., Verstuyf A., Gysemans C., Mathieu C.: Human T lymphocytes are direct targets of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the immune system. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2010; 121: 221-227
- [13] Banchereau J., Briere F., Caux C., Davoust J., Lebecque S., Liu Y.J., Pulendran B., Palucka K.: Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2000; 18: 767-811
- [14] Barsony J., Pike J.W., DeLuca H.F., Marx S.J.: Immunocytology with microwave-fixed fibroblasts shows 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃-dependent rapid and estrogen-dependent slow reorganization of vitamin D receptors. *J. Cell Biol.*, 1990; 111: 2385-2395
- [15] Battaglia S., Maguire O., Campbell M.J.: Transcription factor co-repressors in cancer biology: roles and targeting. *Int. J. Cancer*, 2010; 126: 2511-2519
- [16] Batten M., Li J., Yi S., Kljavin N.M., Danilenko D.M., Lucas S., Lee J., de Sauvage F.J., Ghilardi N.: Interleukin 27 limits autoimmune encephalomyelitis by suppressing the development of interleukin 17-producing T cells. *Nat. Immunol.*, 2006; 7: 929-936
- [17] Belandia B., Orford R.L., Hurst H.C., Parker M.G.: Targeting of SWI/SNF chromatin remodelling complexes to estrogen-responsive genes. *EMBO J.*, 2002; 21: 4094-4103
- [18] Bikle D.: Nonclassic actions of vitamin D. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2009; 94: 26-34
- [19] Boonstra A., Barrat F.J., Crain C., Heath V.L., Savelkoul H.F., O'Garra A.: 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ has a direct effect on naive CD4⁺ T cells to enhance the development of Th2 cells. *J. Immunol.*, 2001; 167: 4974-4980
- [20] Bouillon R.: Vitamin D: from photosynthesis, metabolism, and action to clinical applications. *Endocrinology*, 2005; 2: 1435-1463
- [21] Bouillon R., Carmeliet G., Verlinden L., van Etten E., Verstuyf A., Luderer H.F., Lieben L., Mathieu C., Demay M.: Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr. Rev.*, 2008; 29: 726-776
- [22] Brumbaugh P.F., Haussler M.R.: 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol receptors in intestine. I. Association of 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol with intestinal mucosa chromatin. *J. Biol. Chem.*, 1974; 249: 1251-1257
- [23] Canning M.O., Grotenhuis K., de Wit H., Ruwhof C., Drexhage H.A.: 1- α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃) hampers the maturation of fully active immature dendritic cells from monocytes. *Eur. J. Endocrinol.*, 2001; 145: 351-357
- [24] Cantin G.T., Stevens J.L., Berk A.J.: Activation domain-mediator interactions promote transcription preinitiation complex assembly on promoter DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 12003-12008
- [25] Cardús A., Panizo S., Parisi E., Fernandez E., Valdivielso J.M.: Differential effects of vitamin D analogs on vascular calcification. *J. Bone Miner. Res.*, 2007; 22: 860-866
- [26] Carling T., Kindmark A., Hellman P., Lundgren E., Ljunghall S., Rastad J., Akerström G., Melhus H.: Vitamin D receptor genotypes in primary hyperparathyroidism. *Nat. Med.*, 1995; 1: 1309-1311
- [27] Chang J.H., Cha H.R., Lee D.S., Seo K.Y., Kweon M.N.: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits the differentiation and migration of T_H17 cells to protect against experimental autoimmune encephalomyelitis. *PLoS One*, 2010; 5: e12925
- [28] Chen H., Lin R.J., Xie W., Wilpitz D., Evans R.M.: Regulation of hormone-induced histone hyperacetylation and gene activation via acetylation of an acetylase. *Cell*, 1999; 98: 675-686
- [29] Chen S., Sims G.P., Chen X.X., Gu Y.Y., Chen S., Lipsky P.E.: Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on human B cell differentiation. *J. Immunol.*, 2007; 179: 1634-1647
- [30] Chong P.J., Matzner W.L., Wallace D.J., Klinenberg J.R., Toyoda M., Jordan S.C.: 1,25 dihydroxyvitamin-D₃ regulation of immunoglobulin production in peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Autoimmun.*, 1989; 2: 861-867
- [31] Cohen M.L., Douvdevani A., Chaimovitz C., Shany S.: Regulation of TNF- α by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ in human macrophages from CAPD patients. *Kidney Int.*, 2001; 59: 69-75
- [32] Colin E.M., Weel A.E., Uitterlinden A.G., Buurman C.J., Birkenhäger J.C., Pols H.A., van Leeuwen J.P.: Consequences of vitamin D receptor gene polymorphisms for growth inhibition of cultured human peripheral blood mononuclear cells by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Clin. Endocrinol.*, 2000; 52: 211-216
- [33] Coussens A., Timms P.M., Boucher B.J., Venton T.R., Ashcroft A.T., Skolimowska K.H., Newton S.M., Wilkinson K.A., Davidson R.N., Griffiths C.J., Wilkinson R.J., Martineau A.R.: 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits matrix metalloproteinases induced by *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Immunology*, 2009; 127: 539-548
- [34] Cox M.B., Ban M., Bowden N.A., Baker A., Scott R.J., Lechner-Scott J.: Potential association of vitamin D receptor polymorphism Taq1 with multiple sclerosis. *Mult. Scler.*, 2012; 18: 16-22
- [35] Czifra G., Tóth B., Kovács I., Biró T., Griger Z., Baráth S., Tarr T., Zehner M., Sipka S.: The *in vitro* treatment with vitamin D₃ is ineffective on the expression of PKC isoenzymes, but decreases further the impaired production of IL-2 in the T lymphocytes of SLE patients. *Rheumatol. Int.*, 2014; 34: 717-720
- [36] Daniel C., Sartory N.A., Zahn N., Radeke H.H., Stein J.M.: Immune modulatory treatment of trinitrobenzene sulfonic acid colitis with calcitriol is associated with a change of a T helper (Th) 1/Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2008; 324: 23-33
- [37] Di Rosa M., Malaguarnera M., Nicoletti F., Malaguarnera L.: Vitamin D₃: a helpful immuno-modulator. *Immunology*, 2011; 134: 123-139
- [38] Dowell S.F., Whitney C.G., Wright C., Rose C.E.Jr., Schuchat A.: Seasonal patterns of invasive pneumococcal disease. *Emerg. Infect. Dis.*, 2003; 9: 573-579
- [39] Eisman J.A.: Genetics of osteoporosis. *Endocr. Rev.*, 1999; 20: 788-804
- [40] Fang Y., van Meurs J.B., Bergink A.P., Hofman A., van Duijn C.M., van Leeuwen J.P., Pols H.A., Uitterlinden A.G.: 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.*, 2003; 18: 1632-1641
- [41] Garcia-Martin E., Agúndez J.A., Martinez C., Benito-León J., Millán-Pascual J., Calleja P., Diaz-Sánchez M., Pisa D., Turpin-Fenoll L., Alonso-Navarro H., Ayuso-Peralta L., Torrecillas D., Plaza-Nieto J.F., Jiménez-Jiménez F.J.: Vitamin D₃ receptor (VDR) gene rs2228570 (FokI) and rs731236 (TaqI) variants are not associated with the risk for multiple sclerosis: results of a new study and a meta-analysis. *PLoS One*, 2013; 8: e65487
- [42] Gardiner E.M., Esteban L.M., Fong C., Allison S.J., Flanagan J.L., Kouzmenko A.P., Eisman J.A.: Vitamin D receptor B1 and exon 1d: functional and evolutionary analysis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2004; 89-90: 233-238

- [43] Ghoreishi M., Bach P., Obst J., Komba M., Fleet J.C., Dutz J.P.: Expansion of antigen-specific regulatory T cells with the topical vitamin D analog calcipotriol. *J. Immunol.*, 2009; 182: 6071-6078
- [44] Giulietti A., van Etten E., Overbergh L., Stoffels K., Bouillon R., Mathieu C.: Monocytes from type 2 diabetic patients have a pro-inflammatory profile. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ works as anti-inflammatory. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2007; 77: 47-57
- [45] Haussler M.R., Haussler C.A., Jurutka P.W., Thompson P.D., Hsieh J.C., Remus L.S., Selznick S.H., Whitfield G.K.: The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *J. Endocrinol.*, 1997; 154: S57-S73
- [46] Heine G., Anton K., Henz B.M., Worm M.: 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits anti-CD40 plus IL-4-mediated IgE production *in vitro*. *Eur. J. Immunol.*, 2002; 32: 3395-3404
- [47] Heine G., Drozdenko G., Lahl A., Unterwalder N., Mei H., Volk H.D., Dörner T., Radbruch A., Worm M.: Efficient tetanus toxoid immunization on vitamin D supplementation. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2011; 65: 329-334
- [48] Heldin C.H., Miyazono K., ten Dijke P.: TGF- β signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature*, 1997; 390: 465-471
- [49] Hewison M.: Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 2010; 39: 365-379
- [50] Hewison M., Freeman L., Hughes S.V., Evans K.N., Bland R., Eliopoulos A.G., Kilby M.D., Moss P.A., Chakraverty R.: Differential regulation of vitamin D receptor and its ligand in human monocyte-derived dendritic cells. *J. Immunol.*, 2003; 170: 5382-5390
- [51] Holick M.F.: Vitamin D deficiency. *N. Engl. J. Med.*, 2007; 357: 266-281
- [52] Hollis B.W., Wagner C.L., Drezner M.K., Binkley N.C.: Circulating vitamin D₃ and 25-hydroxyvitamin D in humans: an important tool to define adequate nutritional vitamin D status. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2007; 103: 631-634
- [53] Jeffery L.E., Burke F., Mura M., Zheng Y., Qureshi O.S., Hewison M., Walker L.S., Lammas D.A., Raza K., Sansom D.M.: 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *J. Immunol.*, 2009; 183: 5458-5467
- [54] Jensen E.S., Lundbye-Christensen S., Pedersen L., Sorensen H.T., Schonheyder H.C.: Seasonal variation in meningococcal disease in Denmark: relation to age and meningococcal phenotype. *Scand. J. Infect. Dis.*, 2003; 35: 226-229
- [55] Kang S.W., Kim S.H., Lee N., Lee W.W., Hwang K.A., Shin M.S., Lee S.H., Kim W.U., Kang I.: 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ promotes *FOXP3* expression via binding to vitamin D response elements in its conserved noncoding sequence region. *J. Immunol.*, 2012; 188: 5276-5282
- [56] Kanis J.A., Russell R.G., Naik R.B., Earnshaw M., Smith R., Heynen G., Woods C.G.: Factors influencing the response to 1 α -hydroxyvitamin D₃ in patients with renal bone disease. *Clin. Endocrinol.*, 1977; 7 (Suppl. 1s): 51s-57s
- [57] KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int. Suppl.*, 2009; 76 (Suppl. 113): S1-S130
- [58] Kondo T., Kitazawa R., Maeda S., Kitazawa S.: 1 α ,25 dihydroxyvitamin D₃ rapidly regulates the mouse osteoprotegerin gene through dual pathways. *J. Bone Miner. Res.*, 2004; 19: 1411-1419
- [59] Koshiyama H., Sone T., Nakao K.: Vitamin-D-receptor-gene polymorphism and bone loss. *Lancet*, 1995; 345: 990-991
- [60] Lee H.Y., Andalibi A., Webster P., Moon S.K., Teufert K., Kang S.H., Li J.D., Nagura M., Ganz T., Lim D.J.: Antimicrobial activity of innate immune molecules against *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* and nontypeable *Haemophilus influenzae*. *BMC Infect. Dis.*, 2004; 4: 12
- [61] Li L., Wu B., Liu J.Y., Yang L.B.: Vitamin D receptor gene polymorphisms and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Arch. Med. Res.*, 2013; 44: 235-241
- [62] Liu P.T., Stenger S., Li H., Wenzel L., Tan B.H., Krutzik S.R., Ochoa M.T., Schaubert J., Wu K., Meinken C., Kamen D.L., Wagner M., Bals R., Steinmeyer A., Zigel U. i wsp.: Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, 2006; 311: 1770-1773
- [63] Liu P.T., Stenger S., Tang D.H., Modlin R.L.: Cutting edge: vitamin D-mediated human antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* is dependent on the induction of cathelicidin. *J. Immunol.*, 2007; 179: 2060-2063
- [64] Lopez I., Mendoza F.J., Aguilera-Tejero E., Perez J., Guerrero F., Martin D., Rodriguez M.: The effect of calcitriol, paricalcitol, and a calcimimetic on extraosseous calcifications in uremic rats. *Kidney Int.*, 2008; 73: 300-307
- [65] Mahon B.D., Wittke A., Weaver V., Cantorna M.T.: The targets of vitamin D depend on the differentiation and activation status of CD4 positive T cells. *J. Cell. Biochem.*, 2003; 89: 922-932
- [66] Martineau A.R., Timms P.M., Bothamley G.H., Hanifa Y., Islam K., Claxton A.P., Packer G.E., Moore-Gillon J.C., Darmalingam M., Davidson R.N., Milburn H.J., Baker L.V., Barker R.D., Woodward N.J., Venton T.R. i wsp.: High-dose vitamin D₃ during intensive-phase antimicrobial treatment of pulmonary tuberculosis: a double-blind randomised controlled trial. *Lancet*, 2011; 377: 242-250
- [67] Mathieu C., Jafari M.: Immunomodulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃: therapeutic implications in hemodialysis and renal transplantation. *Clin. Nephrol.*, 2006; 66: 275-283
- [68] Matsunawa M., Amano Y., Endo K., Uno S., Sakaki T., Yamada S., Makishima M.: The aryl hydrocarbon receptor activator benzo[a]pyrene enhances vitamin D₃ catabolism in macrophages. *Toxicol. Sci.*, 2009; 109: 50-58
- [69] Mattner F., Smiroldo S., Galbiati F., Muller M., Di Lucia P., Poliani P.L., Martino G., Panina-Bordignon P., Adorini L.: Inhibition of Th1 development and treatment of chronic-relapsing experimental allergic encephalomyelitis by a non-hypercalcemic analogue of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Eur. J. Immunol.*, 2000; 30: 498-508
- [70] McDonnell D.P., Mangelsdorf D.J., Pike J.W., Haussler M.R., O'Malley B.W.: Molecular cloning of complementary DNA encoding the avian receptor for vitamin D. *Science*, 1987; 235: 1214-1217
- [71] Norman A.W.: From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2008; 88: 491S-499S
- [72] Overbergh L., Stoffels K., Waer M., Verstuyf A., Bouillon R., Mathieu C.: Immune regulation of 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase in human monocytic THP1 cells: mechanisms of interferon- γ -mediated induction. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2006; 91: 3566-3574
- [73] Partridge J.M., Weatherby S.J., Woolmore J.A., Highland D.J., Fryer A.A., Mann C.L., Boggild M.D., Ollier W.E., Strange R.C., Hawkins C.P.: Susceptibility and outcome in MS: associations with polymorphisms in pigmentation-related genes. *Neurology*, 2004; 62: 2323-2325
- [74] Pedersen A.E., Schmidt E.G., Gad M., Poulsen S.S., Claesson M.H.: Dexamethasone/1 α -25-dihydroxyvitamin D₃-treated dendritic cells suppress colitis in the SCID T-cell transfer model. *Immunology*, 2009; 127: 354-364
- [75] Penna G., Amuchastegui S., Giarratana N., Daniel K.C., Vulcano M., Sozzani S., Adorini L.: 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ selectively modulates tolerogenic properties in myeloid but not plasmacytoid dendritic cells. *J. Immunol.*, 2007; 178: 145-153

- [76] Penna G., Roncari A., Amuchastegui S., Daniel K.C., Berti E., Colonna M., Adorini L.: Expression of the inhibitory receptor ILT3 on dendritic cells is dispensable for induction of CD4⁺Foxp3⁺ regulatory T cells by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Blood*, 2005; 106: 3490-3497
- [77] Pike J.W., Meyer M.B., Martowicz M.L., Bishop K.A., Lee S.M., Nerenz R.D., Goetsch P.D.: Emerging regulatory paradigms for control of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2010; 121: 130-135
- [78] Ponsonby A.L., McMichael A., van der Mei I.: Ultraviolet radiation and autoimmune disease: insights from epidemiological research. *Toxicology*, 2002; 181-182: 71-78
- [79] Pozzilli P., Guglielmi C.: Immunomodulation for the prevention of SPIDDM and LADA. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2006; 1079: 90-98
- [80] Provvedini D.M., Tsoukas C.D., Deftos L.J., Manolagas S.C.: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors in human leukocytes. *Science*, 1983; 221: 1181-1183
- [81] Prüfer K., Barsony J.: Retinoid X receptor dominates the nuclear import and export of the unliganded vitamin D receptor. *Mol. Endocrinol.*, 2002; 16: 1738-1751
- [82] Prüfer K., Racz A., Lin G.C., Barsony J.: Dimerization with retinoid X receptors promotes nuclear localization and subnuclear targeting of vitamin D receptors. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 41114-41123
- [83] Reboldi A., Coisne C., Baumjohann D., Benvenuto F., Bottinelli D., Lira S., Uccelli A., Lanzavecchia A., Engelhardt B., Sallusto F.: C-C chemokine receptor 6-regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE. *Nat. Immunol.*, 2009; 10: 514-523
- [84] Rigby W.F., Stacy T., Fanger M.W.: Inhibition of T lymphocyte mitogenesis by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (calcitriol). *J. Clin. Invest.*, 1984; 74: 1451-1455
- [85] Sadeghi K., Wessner B., Lagner U., Ploder M., Tamandl D., Friedl J., Zügel U., Steinmeyer A., Pollak A., Roth E., Boltz-Nitulescu G., Spittler A.: Vitamin D₃ down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns. *Eur. J. Immunol.*, 2006; 36: 361-370
- [86] Salahuddin N., Ali F., Hasan Z., Rao N., Aqeel M., Mahmood F.: Vitamin D accelerates clinical recovery from tuberculosis: results of the SUCCINCT Study [Supplementary Cholecalciferol in recovery from tuberculosis]. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of vitamin D supplementation in patients with pulmonary tuberculosis. *BMC Infect. Dis.*, 2013; 13: 22
- [87] Sigmundsdottir H., Pan J., Debes G.F., Alt C., Habtezion A., Soller D., Butcher E.C.: DCs metabolize sunlight-induced vitamin D₃ to 'program' T cell attraction to the epidermal chemokine CCL27. *Nat. Immunol.*, 2007; 8: 285-293
- [88] Stio M., Martinesi M., Bruni S., Treves C., Mathieu C., Verstuyf A., d'Albasio G., Bagnoli S., Bonanomi A.G.: The Vitamin D analogue TX 527 blocks NF- κ B activation in peripheral blood mononuclear cells of patients with Crohn's disease. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2007; 103: 51-60
- [89] Stoffels K., Overbergh L., Giuliatti A., Verlinden L., Bouillon R., Mathieu C.: Immune regulation of 25-hydroxyvitamin-D₃-1 α -hydroxylase in human monocytes. *J. Bone Miner. Res.*, 2006; 21: 37-47
- [90] Stumhofer J.S., Laurence A., Wilson E.H., Huang E., Tato C.M., Johnson L.M., Villarino A.V., Huang Q., Yoshimura A., Sehly D., Saris C.J., O'Shea J.J., Hennighausen L., Ernst M., Hunter C.A.: Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system. *Nat. Immunol.*, 2006; 7: 937-945
- [91] Széles L., Keresztes G., Töröcsik D., Balajthy Z., Krenács L., Póliska S., Steinmeyer A., Zuegel U., Pruenster M., Rot A., Nagy L.: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ is an autonomous regulator of the transcriptional changes leading to a tolerogenic dendritic cell phenotype. *J. Immunol.*, 2009; 182: 2074-2083
- [92] Teng M., Wolf M., Lowrie E., Ofsthun N., Lazarus J.M., Thadhani R.: Survival of patients undergoing hemodialysis with paricalcitol or calcitriol therapy. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 349: 446-456
- [93] Teng M., Wolf M., Ofsthun M.N., Lazarus J.M., Hernan M.A., Carmargo C.A.Jr., Thadhani R.: Activated injectable vitamin D and hemodialysis survival: a historical cohort study. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2005; 16: 1115-1125
- [94] Tian Y., Wang C., Ye Z., Xiao X., Kijlstra A., Yang P.: Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on Th17 and Th1 response in patients with Behcet's disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2012; 53: 6434-6441
- [95] Topilski I., Flaishon L., Naveh Y., Harmelin A., Levo Y., Shachar I.: The anti-inflammatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on Th2 cells *in vivo* are due in part to the control of integrin-mediated T lymphocyte homing. *Eur. J. Immunol.*, 2004; 34: 1068-1076
- [96] Uitterlinden A.G., Fang Y., Van Meurs J.B., Pols H.A., Van Leeuwen J.P.: Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*, 2004; 338: 143-156
- [97] Uitterlinden A.G., Fang Y., van Meurs J.B., van Leeuwen H., Pols H.A.: Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to vitamin D related disease states. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2004; 89-90: 187-193
- [98] Unger W.W., Laban S., Kleijwegt F.S., van der Slik A.R., Roep B.O.: Induction of Treg by monocyte-derived DC modulated by vitamin D₃ or dexamethasone: differential role for PD-L1. *Eur. J. Immunol.*, 2009; 39: 3147-3159
- [99] Urry Z., Chambers E.S., Xystrakis E., Dimeloe S., Richards D.F., Gabrysova L., Christensen J., Gupta A., Saglani S., Bush A., O'Garra A., Brown Z., Hawrylowicz C.M.: The role of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and cytokines in the promotion of distinct Foxp3⁺ and IL-10⁺ CD4⁺ T cells. *Eur. J. Immunol.*, 2012; 42: 2697-2708
- [100] Urry Z., Xystrakis E., Richards D.F., McDonald J., Sattar Z., Co-usins D.J., Corrigan C.J., Hickman E., Brown Z., Hawrylowicz C.M.: Ligation of TLR9 induced on human IL-10-secreting Tregs by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ abrogates regulatory function. *J. Clin. Invest.*, 2009; 119: 387-398
- [101] Van Overtvelt L., Lombardi V., Razafindratsita A., Saint-Lu N., Horiot S., Moussu H., Mascarell L., Moingeon P.: IL-10-inducing adjuvants enhance sublingual immunotherapy efficacy in a murine asthma model. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2008; 145: 152-162
- [102] Vlamincx B.J., van Pelt W., Schouls L.M., van Silfhout A., Mascini E.M., Elzenaar C.P., Fernandes T., Bosman A., Schellekens J.F.: Long-term surveillance of invasive group A streptococcal disease in The Netherlands, 1994-2003. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2005; 11: 226-231
- [103] von Essen M.R., Kongsbak M., Schjerling P., Olgaard K., Odum N., Geisler C.: Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nat. Immunol.*, 2010; 11: 344-349
- [104] Wang T.T., Dabbas B., Laperriere D., Bitton A.J., Soualhine H., Tavera-Mendoza L.E., Dionne S., Servant M.J., Bitton A., Seidman E.G., Mader S., Behr M.A., White J.H.: Direct and indirect induction by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ of the NOD2/CARD15-defensin β 2 innate immune pathway defective in Crohn disease. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 2227-2231
- [105] Wejse C., Gomes V.F., Rabna P., Gustafson P., Aaby P., Lisse I.M., Andersen P.L., Glerup H., Sodemann M.: Vitamin D as supplementary treatment for tuberculosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2009; 179: 843-850
- [106] Whitfield G.K., Remus L.S., Jurutka P.W., Zitzer H., Oza A.K., Dang H.T., Haussler C.A., Galligan M.A., Thatcher M.L., Encinas Dominguez C., Haussler M.R.: Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2001; 177: 145-159

- [107] Xiao S., Jin H., Korn T., Liu S.M., Oukka M., Lim B., Kuchroo V.K.: Retinoic acid increases Foxp3⁺ regulatory T cells and inhibits development of Th17 cells by enhancing TGF- β -driven Smad3 signaling and inhibiting IL-6 and IL-23 receptor expression. *J. Immunol.*, 2008; 181: 2277-2284
- [108] Xiong L., Cheng J., Gao J., Wang J., Liu X., Wang L.: Vitamin D receptor genetic variants are associated with chemotherapy response and prognosis in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Clin. Lung Cancer*, 2013; 14: 433-439
- [109] Yamamoto H., Miyamoto K., Li B., Taketani Y., Kitano M., Inoue Y., Morita K., Pike J.W., Takeda E.: The caudal-related homeodomain protein Cdx-2 regulates vitamin D receptor gene expression in the small intestine. *J. Bone Miner. Res.*, 1999; 14: 240-247
- [110] Yanagisawa J., Yanagi Y., Masuhiro Y., Suzawa M., Watanabe M., Kashiwagi K., Toriyabe T., Kawabata M., Miyazono K., Kato S.: Convergence of transforming growth factor- β and vitamin D signaling pathways on SMAD transcriptional coactivators. *Science*, 1999; 283: 1317-1321
- [111] Yang L., Weaver V., Smith J.P., Bingaman S., Hartman T.J., Cantorna M.T.: Therapeutic effect of vitamin D supplementation in a pilot study of Crohn's patients. *Clin. Transl. Gastroenterol.*, 2013; 4: e33
- [112] Yee Y.K., Chintalacheruvu S.R., Lu J., Nagpal S.: Vitamin D receptor modulators for inflammation and cancer. *Mini Rev. Med. Chem.*, 2005; 5: 761-778
- [113] Yuk J.M., Shin D.M., Lee H.M., Yang C.S., Jin H.S., Kim K.K., Lee Z.W., Lee S.H., Kim J.M., Jo E.K.: Vitamin D₃ induces autophagy in human monocytes/macrophages via cathelicidin. *Cell Host Microbe*, 2009; 6: 231-243
- [114] Zhang J., Li W., Liu J., Wu W., Ouyang H., Zhang Q., Wang Y., Liu L., Yang R., Liu X., Meng Q., Lu J.: Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and type 1 diabetes mellitus risk: an update by meta-analysis. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2012; 355: 135-142
- [115] Zierold C., Darwish H.M., DeLuca H.F.: Two vitamin D response elements function in the rat 1,25-dihydroxyvitamin D 24-hydroxylase promoter. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 1675-1678
- [116] Zügel U., Steinmeyer A., May E., Lehmann M., Asadullah K.: Immunomodulation by a novel, dissociated Vitamin D₃ analogue. *Exp. Dermatol.*, 2009; 18: 619-627

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.