

Човешки имунитет и витамин D

Д-р Енчо Енчев

Клиника по ендокринология, Медицински университет, Пловдив

Резюме

В последните 5 години е налице забележителна промяна в нашите разбирания за здравните ползи на витамин D (вит. D). Класическите въздействия на вит. D, като определящи за минералната обмяна и развитие на рахит (при деца) и остеомаляция (при възрастни), се разшириха с причисляване към по-общата му роля в скелетната обмяна и предимно при костни разстройства, като остеопороза.

Обаче нескелетната функция на вит. D е тази, която привлича най-голямо внимание. Макар че многообразните отговори на вит. D са известни от много години, нашите нови перспективи за неклассическите функции на вит. D се дължат на две съвременни понятия. Първото е, че нарушеният статус на вит. D е общ за много народи по света. Това стана повод за проучвания, изучаващи здравното влияние на поднормените серумни нива на вит. D, заедно със студии, свързващи „недостига“ на вит. D с някои хронични здравни проблеми, включително аутоимунно, сърдечно-съдово и раково заболяване, хипертония и др. В подкрепа на недвусмислената роля на витамин D за човешкото здраве са проучвания *in vitro* и при животински модели, имащи най-съществен дял за имуномодулиращите и антитуморните въздействия на витамин D, които изглеждат зависят от локалното активиране на вит. D. Заключение от тези съобщения е, че повечето от неклассическите въздействия на витамин D са независими от общоприетата ендокринология на вит. D и по тази причина са по-чувствителни на отклоненията в статуса на вит. D. Този преглед обобщава тези разработки със специфичен книгопис от наскоро установени въздействия на вит. D върху човешкия организъм, но също така и призив за транслиране на тези наблюдения в клиничната практика.

Ключови гуми: витамин D, човешки имунитет.

Human immunity and vitamin D

Dr. Encho Enchev

Department of Endocrinology, Medical University of Plovdiv

Abstract

In the last 5 years, there has been a remarkable change in our understanding of the health benefits of vitamin D. The classical actions of vitamin D as a determinant of mineral metabolism and rachitic bone disease have been expanded to include a broader role in skeletal homeostasis and prevalent bone disorders such as osteoporosis. However, it is the nonskeletal function of vitamin D that has attracted most attention. Although pluripotent responses to vitamin D have been recognized for many years, our new perspective on nonclassical vitamin D function stems from two more recent concepts. The first is that impaired, vitamin D status is common to many populations across the globe. This has prompted studies to explore the health impact of suboptimal circulating levels of vitamin D, with association studies linking vitamin D „insufficiency“ to several chronic health problems including autoimmune and cardiovascular

disease, hypertension and common cancers. In support of a broader role for vitamin D in human health, studies *in vitro* and using animal models have highlighted immunomodulatory and anticancer effects of vitamin D that appear to depend on localized activation of vitamin D. The conclusion from these reports is that many nonclassical actions of vitamin D are independent of conventional vitamin D endocrinology and are therefore more sensitive to variations in vitamin D status. The current review summarizes these developments, with specific reference to the newly identified effects of vitamin D on the immune system, but also highlights the challenges in translating these observations to clinical practice.

Key word: vitamin D, human immunity.

Въведение

В края на 2010 г. Институтът по медицина (ИОМ) – независима, непрофилирана, неправителствена организация, базирана в САЩ, публикува данни от продължително проучване за определяне на референтните стойности, които най-добре отразяват нивата на вит. D и калций и са оптимални за човешкото здраве.⁴² Подбраният панел от учени и клиницисти, които формират комитета ИОМ, бе изпратен пред различни предизвикателства, най-малкото от които е, че от много години се преплитат физиологията и суплементацията с вит. D и калций. Допълнително предизвикателство за някои оценки на суплементацията с вит. D е терминологията, която определя различните метаболити, способстващи за физиологията на вит. D. Терминът „витамин D“ специфично се отнася за естествения вит. D, ендогенно образуван при въздействие на слънчевата светлина върху 7-дехидрохолестерола в кожата (също известен като вит. D₃ или холекалциферол) или получаван чрез хранителните продукти, като вит. D₃ или растителен вит. D₂ (също известен като ергокалциферол). Вит. D, получен от слънчевата светлина или диетата, претърпява метаболитизъм, първо от 25ОН-витамин D (25ОНD), който е главната циркулираща форма на вит. D, използвана за определяне на статуса на вит. D. При физиологични концентрации 25ОНD ще бъде сигнално неактивна молекула. Следователно, прицелната клетъчна функция на вит. D се определя от конверсията на 25ОНD към активен 1.25(ОН)₂ D, която се катализира от 25ОН вит. D-1α-ОН-лазата (CYP27B1). Следователно 1.25(ОН)₂ D, произведен по този начин, ще функционира като стероиден хормон чрез свързване с ядрения

вит. D-рецептор (VDR) временно, като регулатор на генната транскрипция.²¹ Раздел от доклада на ИОМ специално се фокусира върху вит. D, комитетът посочва четири принципни резултата:

- здравните последици, които са свързани с вит. D и неговите главни метаболити – про-хормона 25ОНD и активния 1.25ОНD;
- циркулиращото ниво на вит. D (точно серумната концентрация на 25ОНD), което е оптимално за тези здравни резултати;
- необходимият дневен прием на вит. D за достигане и поддържане на оптималния статус на вит. D;
- вероятността от неблагоприятни странични ефекти при суплементацията с вит. D.

Докладът заключава, че класическите ефекти на вит. D върху скелетната хомеостаза остават най-ясния клиничен резултат, свързан с вит. D.⁴² На основата на това, ИОМ предполага, че серумно ниво от 50 пмол/L (20 пг/ml) 25ОНD е достатъчно за подобряване на костната минерална плътност (BMD) като маркер за скелетно здраве за повечето хора в САЩ и Канада. Обаче ИОМ потвърждава, че хора с по-тъмна пигментация на кожата (за които UV светлината предизвиква по-слаба подкожна продукция на вит. D) и тези, живеещи на по-голяма северна ширина, може би ще бъде трудно да достигнат това прицелно ниво. Това е може би особено актуално за северна Европа, където някои страни са по-отдалечени на север, отколкото повечето градове в Канада. За достигане на 50 пмол/L прицелно ниво на циркулиращия вит. D, ИОМ препоръчва скромно повишаване на препоръчително позволената дневна доза на суплементиране с вит. D до 600 IU/дневно. Те също съобщават, че не са установени от-

рицателни странични ефекти при суплементиращи дози вит. D до 10 000 IU дневно, предпочитаната безопасна граница е 4 000 IU дневно. ИОМ също изтъква, че данните от клиничните изпитания не подкрепят понастоящем толкова силно здравните резултати за несkeletalните въздействия на вит. D, но въпреки това са налице достатъчно данни за насърчаване в бъдеще на позитивни проучвания. Докладът беше одобрен от многобройни организации, като American Society for Bone and Mineral Research, и препоръките на ИОМ бяха подкрепени и в други доклади.^{44, 40} Обаче предложените препоръки на ИОМ не бяха универсални и докладът се прие враждебно от много изследователи в областта на вит. D.^{24, 16, 17, 27}

Основната причина беше дихотомията в избора на извънредно увеличаващите се данни, изтъкващи с неklasическите въздействия на 25OHD и 1.25OHD₂ и здравните последици, които могат да имат хората с нарушен статус на вит. D. В останалата част на това изложение ще се разгледат някои от тези съобщения, които допринасят за новите перспективи на вит. D и физиологията, как това се свързва с доклада на ИОМ и бъдещите предизвикателства ще бъдат насочени за по-добра оценка на ролята на вит. D при човешкото здраве. Сега това включва и ролята на вит. D в превенцията и лечението на обичайните ракови заболявания,^{9, 30} хипертонията,^{35, 14} мозъчните заболявания.¹⁹ Например функцията на вит. D във всяка от тези области на човешкото здраве е предмет на собствено право и настоящото изложение ще се съсредоточи специално върху други известни неklasически въздействия на вит. D – именно неговата роля като имуномодулятор.

Витамин D и човешкия имунитет: достатъчен, недостатъчен и дефицит на витамин D

От много години статусът на вит. D при хора се формулираше само по наличие или липса на рахитно костно заболяване (остеомалация при възрастни), относително рядък проблем в 21 век. Съгласно тези параме-

три, серумните нива на 25OHD <20 pmol/L (<8 ng/ml) бяха разглеждани като приблизително точен маркер за дефицит на вит. D. Обаче различни проучвания през последните 10 години показват, че може да има поднормен статус на вит. D и при липса на рахит (остеомалация). Тази нова перспектива за статуса на вит. D възниква от съобщения, показващи, че серумните нива на 25OHD започват да корелират отрицателно със серумните концентрации на паратхормона (iPTH) от концентрации на вит. D от около 75 pmol/L (30 ng/ml). Подобни опити също бяха направени относно чревната калциева абсорбция²³ и доведоха до заключението, че оптимален статус на вит. D се намира при серумни концентрации ≥ 75 pmol/L.²⁶ Тези данни също потвърждават по-широкото използване на термина „недостиг на вит. D“, който бе въведен през 1985 г. за определяне на лицата със поднормен статус на вит. D (<75 pmol/L серумен 25OHD), които нямат рахитична (остеомалация) костна болест (<20 pmol/L). Докато се оценяваха тези нови перспективи на вит. D, ИОМ събщи групи значими публикации, които опровергават групата изследвания, определящи 75 pmol/L на 25OHD като оптимално за неговото калциотропно въздействие. При някои проучвания се определя по-ниска оптимална серумна концентрация на 25OHD и в някои случаи не е било възможно да се определи оптималното върхово плато. Действително, някои проучвания описват U-образни връзки с по-високите серумни нива на серумния 25OHD, които изглежда са свързани с по-лоши резултати, като например рак на панкреаса.⁴⁵ Така че за специфичните биологични и клинични резултати оптималното ниво на статуса на вит. D може значително да варира. Циркуращите нива на 25OHD са пълно отражение на статуса на вит. D, който за всяко лице зависи от достъпността на вит. D при излагането на UV лъчи и подкожната синтеза на вит. D или в резултат на хранителния прием. Следователно, статусът на вит. D може да варира значително при населението в зависимост от географски, социални и икономически фактори. Заключениеята за новите параметри на статуса на вит. D, който преди се считаше, че е в нормални



граница за значителна част от населението по света, бяха, че сега те са в категорията на недостига на вит. D.²⁵ Това отново повдига въпроса дали недостигът на вит. D е свързан със здравни проблеми, които са само в областта на рахитичната костна болест и остеомалацията. Отговорите на тези въпроси започват с появата на два свършено различни източника: първо, от *in vitro* анализи за имуномодулаторните въздействия на вит. D, и второ, от епидемиологичните проучвания. Те се изброяват в следващите раздели.

Витамин D и естествен имунитет: нова парадигма за интракринното активиране на вит. D

Исторически връзката между вит. D и ролята на естествения имунитет се основава първоначално на използването на рибеното масло за лечение на туберкулозата. По-ново проучване се съсредоточава върху клетъчните и молекулярните механизми, които усилват въздействията на вит. D върху патогените, причиняващи туберкулозата (ТВ) – *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). При първото от тези проучвания, проведено преди 25 години, активният 1.25(OH)₂D е демонстрирал намаляване на пролиферацията на макрофагите от Mtb, като този ефект се усилва от интерферон γ (IFNγ), известен стимулатор на CYP27B1. Обаче главен напредък в нашето разбиране за директните антибактериални отговори на вит. D при ТВ се появи от много нови проучвания, целящи да определят пътя, по който моноцити и макрофаги, ключови клетки при директното унищожаване на бактериите, отговарят при среща с Mtb. Моноцитите и макрофагите са способни да фагоцитират патогени, като Mtb, но те също могат да открият патогенно свързани молекулни структури (PAMPs) чрез използването на структурно-разпознаващите (PRR), като „камбаноподобни“ (toll-like) рецептори (TLRs). През 2006 г. проучвания за откриване на регулиращите моноцитите гени при отговор на Mtb откриват, че индукцията на CYP27B1 и VDR настъпва след очувствяването на PAMPs

от TLR 2/1. Тези данни показват, че моноцитите предизвикват локално активиране на вит. D в отговор на Mtb с последващо свързване на 1.25(OH)₂D с ендогенния VDR. По този начин вит. D може да предизвика модулирана генна експресия в отговор на Mtb имунна мобилизация – класически интракринен механизъм. Възможните цели на този интракринен отговор включват антибиотичния свързващ белтък **кателицидин**, който е директна транскрипционна цел на комплекса 1.25(OH)₂D–VDR. Функционални анализи показват, че 25OHD медира индукцията на кателицидин, съвпадаща с повишеното унищожаване на Mtb в моноцитите. Така, въпреки че TLR 2/1 отговорите към Mtb първоначално въвличат активирането на моноцитния CYP27B1 и VDR, ефикасността на последващата антибактериална активност в основата си зависи от концентрацията на наличния 25OHD за подпомагане на интракринната конверсия в 1.25(OH)₂D. Разбира се, ставащите промени в серумния 25OHD се намират в съотношение с индукцията на моноцитната кателицидинова експресия. Заключениета от тези проучвания бяха, че лицата с нисък серумен 25OHD ще са с по-малка възможност за поддържане на моноцитната индукция за антибактериалната активност и по тази причина ще са с по-голям риск от инфекция. Обратно, суплементацията с вит. D на лицата с недостатъчност на вит. D *in vivo* показва подобрене на TLR-медираната индукция на моноцитния кателицидин и по този начин се подпомага защитата срещу инфекции. Способността на организма за борба с инфекцията при патогени като Mtb не зависи единствено от естествените антибактериални механизми. Проучванията показват, че Т-клетъчните цитокини играят централна роля при увеличаване или намаляване на вит. D-медираната продукция на кателицин.¹⁰ Действително самата цитокинова продукция от моноцитите може би е най-важната за интракринния метаболизъм на вит. D за този вид клетки.³¹ Изглежда, че способността за увеличаване на подходящия отговор на инфекция ще бъде много силно зависима от наличността на вит. D с допълнително регулиране на този отговор от другите компоненти на нормалния човешки

имунен отговор. Също така вит. D може да повлияе естествените имунни отговори на патогените посредством въздействия върху наличния антиген чрез макрофагите или дендритните клетки (DCs). Тези клетки (DCs) се знае, че експресират VDR и лечението с $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ спира узряването на дендритната клетка, потиска наличния антиген и повишава толерантността на Т-клетъчния отговор. Подобно на моноцитите, DCs също експресират CYP27B1, така че $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ и 25OHD са способни да модулират наличния антиген чрез DCs. Тези данни се подкрепят от проучвания на VDR и CYP27B1 при увредени мишки, които се представят с лимфни аномалии, придружени с повишен брой на узрели DCs¹⁸ и тяхното ненормално придвижване.¹¹

Витамин D и придобит имунитет

Предишни проучвания на вит. D и имунната система показват експресия на VDR в Т- и В-клетките. Изключителното е, че експресията на VDR при тези клетки е била само при имунологично активни пролиферирани клетки, показващо антипролиферативната роля на $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ върху тези клетки – хелперните клетки (Th) се явяват главната цел на $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, който може да потисне Th-клетъчната пролиферация, както и медурираната цитокининова продукция на тези клетки. Активирането на обикновените Th-клетки от антиген при поредна промяна води до образуване на субгрупи от Th в посока: Th1 (IL-2, IFN γ , TNF α) и Th2 (IL-3; IL-4; IL-5; IL-10), което подпомага непрекия клетъчен хуморален имунитет. *In vitro* $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ потиска Th1 цитокините и повишава Th2 цитокините. Третата група Th клетки, която се знае, че се влияе от вит. D, са интерлевкин-17 (IL-17) секретирани Th-клетки (Th17-клетки). Чувствителни на аутоимунно заболяване незатлъстели мишки със захарен диабет, третирани с $1.25(\text{OH})_2\text{D}$, показват по-ниски нива на IL-17³⁷ и $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ -медирано потискане на мишия ретинален аутоимунитет, явяващ се от предизвиканото потискане на Th17. Други нови проучвания показват, че $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ потиска продукцията на IL-17 посредством

директно транскрипционно потискане на IL-17 генната експресия.²⁸ Знае се, че група група Т-клетки силно се повлиява от $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ и това са регулаторните Т-клетки (Treg). При част от фамилията на Th-клетките Treg водят до потискане на имунните отговори при други Т-клетки, като част от механизма за предотвратяване на крайно-бурни или аутоимунни отговори.⁴³ Нови проучвания подчертават важността на Treg в медурирането на имунорегулаторните въздействия на вит. D. Системата на $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ на пациенти с бъбречно заболяване се представя с увеличаване на популацията от Treg. Досегашните проучвания на вит. D и Т-клетъчната функция са предимно върху отговора на тези клетки на активния $1.25(\text{OH})_2\text{D}$. По-малко изяснен е механизмът, по който промените в статуса на вит. D могат да повлияят Т-клетките, въпреки съобщения, свързващи серумните нива на 25OHD със специфични Т-клетъчни популации. Например циркулиращите нива на 25OHD показват съотношение с активността на Treg при пациенти с мултипла склероза.

Налице са 4 възможни механизма, при които серумният 25OHD може да повлияе Т-клетъчната функция:

- директни въздействия върху медурираните Т-клетки чрез системния $1.25(\text{OH})_2\text{D}$;
- индиректни въздействия върху наличния антиген на медурираните клетки чрез локалната DCs експресия на CYP27B1 и интракритната синтеза на $1.25(\text{OH})_2\text{D}$;
- директни въздействия на $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ върху Т-клетките след синтезата на активната форма на вит. D от CYP27B1 – експресирани моноцити или DCs – паракринен механизъм;
- интракритна конверсия на 25OHD към $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ върху Т-клетките.

Все още е неизяснено доколко един или повече от тези механизми са намесени в регулацията на специфичните видове Т-клетки. За пример, въздействията на $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ върху Treg могат да настъпят индиректно чрез въздействия върху DCs, но също могат да предизвикат директни въздействия върху Т-клетките. Обаче, както изложихме по-горе, DCs също експресират CYP27B1 и това може да действа като път за въздействията на



25OHD върху **Treg**. Съобщения също описват експресия на CYP27B1 върху Т-клетките и показват, че 25OHD също може да повлияе функцията на тези клетки чрез интракринни механизми, макар че точната намеса в тези специфични видове клетки остава неизяснена. Въпреки факта, че експресията на VDR върху В-клетките е известна от много години, способността на 1.25(OH)₂D да супресира В-клетъчната пролиферация и имуноглобулиновата (Ig) продукция е била първоначално разглеждана като индиректно медирана чрез Th-клетки. Обаче много скорошни проучвания подкрепят директните въздействия на 1.25(OH)₂D върху В-клетъчната хомеостаза⁶ с особени въздействия, включително потискане на плазмените клетки и диференциацията към вида паметови (memory) клетки. Тези въздействия освен това дават подкрепа за предполагаемата роля на вит. D върху В-клетъчно свързаните аутоимунни разстройства, като системен лупус еритематозес (SLE). Други известни В-клетъчни цели се модулират в полза на 1.25(OH)₂D, включващо IL-10 и CCR 10, показващо, че репертоарът на В-клетъчните отговори на вит. D се простира отвъд въздействията му върху В-клетъчната пролиферация и имуноглобулиновата синтеза.

Статус на вит. D, имуномодуляция и човешки заболявания

Първоначалните *in vitro* проучвания описват ролята на вит. D при унищожаването на Mtb и не е изненада, че екстраполацията е фокусирана върху ефектите на вит. D върху TB-инфекцията.⁷ Епидемиологията показва, че серумни нива на 25OH D <75 pmol/L са свързани с повече случаи на TB и проучвания потвърждават протективните въздействия на вит. D срещу TB, а предишни прегледи потвърждават защитната роля на вит. D срещу TB.³⁶ Въпреки че тези проучвания не могат да покажат истинската причина, те подпомагат по-нататъшните проучвания за оценка на клиничните отговори на суплементацията с вит. D. В едно такова съобщение преди пробата единични перорални дози от 100 000 IU (2.5 mg) вит. D₂ по-

тиска растежа на Mtb при проби от цялостна кръв *in vitro*. В друго проучване пациенти с TB получават допълнително вит. D, 10 000 IU (0–25mg) вит. D₃ дневно, към традиционната анти-TB терапия. В този случай вит. D намалява времето за промяна на зацапването на храчката от бързо-киселата бактерия (AFB)-положителен към AFB-отрицателен статус. Две двойно-слепи, рандомизирани, контролирани проучвания оценяват приема на вит. D и TB. При едното проучване в TB-клиника в Гвинея-Бисау даването на 3 пъти по 100 000 IU (3x2.5 mg) вит. D₃ не подобрява клиничните резултати, макар че е трудно да се обясни това различие, т.е. защо суплементираната група не показва повишение в серумните нива на 25OHD в сравнение с контролната група. Подобно проучване във Великобритания с употребата на 4x100 000 IU (4x2.5 mg) вит. D₃ е била по-успешна при качване на серумния 25OHD при пациентите с TB, но не показва общо различие във времето на промяна на храчката между лекуваната и контролната група.³⁴ В този случай авторите провеждат допълнителни анализи при пациентите с TB. Определено, значителното подобрене в промяната на храчката е било наблюдавано при пациентите с TB с **Taq 1 tt** – единичен ядрен полиморфизъм (SNP) в гена на VDR.³⁴ Така наследствени фактори могат да повлияят отговорите към суплементацията с вит. D и тази страна от физиологията на вит. D се дискутира в повече детайли в по-нататъшните участъци от прегледа. Важно за оценката е, че всички проучвания, публикувани досега, обхващат много специфични крайни точки, като време на провеждане на антибактериалната терапия до промяна в зацапването на храчката, това непременно не определя въздействието на суплементацията с вит. D върху лечението или клиничните резултати при пациентите с TB. И още, че към по-нататъшната сложност се добавя и фактът, че в повечето от тези проучвания суплементацията с вит. D става на фона на конвенционалната антибиотична терапия на TB. Необходимо е бъдещите проучвания да бъдат насочени в тези насоки и е възможно по-ефективното използване на суплементацията с вит. D по-скоро да бъде за пре-

венция, отколкото за лечение на ТВ. Малко е вероятно да се пренебрегне връзката между вит. D и инфекцията при ТВ. Диференцираната индукция на CYP27B1 и VDR е описана при *лепра*, друго микобактериално заболяване. Специфични лезии с по-малко агресивна туберкулоидна форма на лепрата (T-лер) се представят със значително по-високи нива на CYP27B1 и VDR, отколкото при лезиите на лептоматозната форма (L-лер) при лепрата. Факт е, че T-лер е свързана с по-ниски нива на микобактериалната инфекция, отколкото е L-лер. Това е възможно, защото $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ играе роля в тази особеност на заболяването чрез подпомагане на антибактериалната активност при T-лер пациенти и относително за техните L-лер дубликати. Интересно е да се отбележат предишни съобщения, описващи ползите от светлинното облъчване, като стратегия при лечението на лепрата, подобно на тези първо описани облъчвания за формите на ТВ. При друго инфекциозно заболяване, като *сепсис*, серумните нива на вит. D 25OHD са корелирали с циркулиращите нива на кателицидин и това по-нататък е било свързано с повишен риск от критично боледуване. Не са изяснени определени видове клетки, които са ключово звено между серумния вит. D и кателицидин при пациентите със сепсис. Предишни съобщения предполагат, че неутрофилите са основен източник на циркулиращ кателицидин. Обаче, макар че тези клетки експресират VDR, те не показват значителна CYP27B1 активност, което показва, че вероятно те са повече отговорни за $1.25(\text{OH})_2\text{D}$, отколкото за 25OHD. Това различие в произведението от моноцитите кателицидин и по-доброто съотношение с 25OHD е съвместимо с интракритичен отговор. Лошият статус на вит. D може да доведе до инфекция или смъртност при пациенти на хемодиализа и при инфекции на горните дихателни пътища. Във връзка с последното е интересно да се отбележи, че кателицидин може да покаже както антивирусни, така и антибактериални свойства, така това въздействие на вит. D може да подобри защитата срещу заболяване, като инфлуенца. В тази насока е важно да се знае, че индукцията на кателицидин от 25OHD и $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ се описва

при различни видове човешки клетки извън класическата имунна система, включително кератоцитите, бронхиалните епителни клетки, миелоидните клетъчни линии, герицидуалните¹² и трофобластните клетки на плацентата. Така че естествените антибактериални въздействия на вит. D може би са общи за повечето човешки тъкани и са способни да повлияят при различни заболявания. Различните въздействия на вит. D върху наличния антиген и лимфоцитната функция показват, че действията на вит. D не са ограничени за естествените, антимикробни отговори. Отделно вит. D се представя като предполагаем естествен участник в аутоимунитета, прибавен към основните генетични компоненти на тези заболявания. По-ниско серумно ниво на вит. D се описва при пациенти със захарен диабет тип 1 (ЗД) от момента на неговото диагностициране и суплементацията с вит. D предпазва срещу появата на ЗД тип 1.²⁰ Подобни данни се съобщават и за мултиплената склероза (MS) и това се подкрепя при животински модели с MS.³ По интересен начин по-късно се съобщава, че вит. D е бил по-ефективен в предпазването срещу експериментална MS при женски мишки, като причина за този ефект е естрогенното модулиране на VDR и CYP27B1. Други заболявания, които се свързват с нисък статус на вит. D, включват заболяването на Крон,³ системен лупус еритематозес (SLE),²⁹ ревматоиден артрит и Базедова болест.

Статус на витамин D и човешки заболявания: извън серумните нива на 25OHD

Ключовото значение на подновения интерес към вит. D и човешкото здраве повиши нуждите от методологично определяне на статуса на вит. D. По-евтините и много широко използвани анализи ELISA и RIA за серумния 25OHD сега са заместени от течната количествена спектрометрия (LC-MS), която е полезна за намаляване на грешките при анализите.⁴⁸ Обаче тази стратегия не е извън нейните методологични проблеми, изключително точно и количествено определяне на серумния 25OHD₂ и 25OHD₃, и наличието на сравнително високи стойности на LC-



MS в сравнение с конвенционалните анализи RIA/ELISA.⁴ По-нататъшното усъвършенстване и стандартизация на рутинния анализ на вит. D чрез организации, като Vitamin D External Quality Assessment Scheme (DEQAS),⁵ са важни за бъдещите проучвания. Обаче какъвто и метод да се използва за определяне на статуса на вит. D на едно лице, то е ясно от няколко клинични проучвания, че други фактори, особено генетични вариации, значително ще повлияят физиологичната и клиничната сила на всяко дадено ниво на вит. D. Голям брой от SNPs са открити за VDR гена, това е сигнификантната сила на активността на вит. D. VDR-генотип е бил внимателно изследван във връзка с костната болест, което се свързва и с други страни от човешкото здраве, включително имунната функция. Например проучвания на различни популации показват, че „ff”-генотипът е много често наблюдаван при пациенти с ТВ,¹³ макар че други проучвания не можаха да отговорят на горното наблюдение.³³ По подобен начин, скорошно двойно-сляпо, рандомизирано, контролирано проследяване с висока доза вит. D показва липса на ефект върху времето на промяна на хракката, когато се анализира във връзка с *Fok I*-генотипа, въпреки факта, че други VDR SNPs се явяват във влиянието на отговора на суплементацията с вит. D.³⁴ *Fok I* полиморфизмът „F” (VDR-продукт) има три аминокиселини по-малко от „f” формата, но въпреки това не е по-малко активен. Други общи VDR SNPs се откриват на 3’ неизвестна област на VDR-гена и тяхните въздействия върху VDR експресия и функция ще бъдат категорично определени. Това включва *Apa-I*, *Bsm I* и *Taq I*-полиморфизми, които се обвиняват в повлияване на активността на VDR чрез въздействия на стабилността на mRNA. Скорошни проучвания съобщават, че „B” *Bsm I*-алелът е много чест при пациенти с ТВ в сравнение със здрави контроли,² докато други съобщения описват преобладаването на „BB”-генотип при ТВ.¹³ Както бе посочено по-горе, досега само едно проучване анализира въздействията върху VDR-генотип, ефектите на суплементацията с вит. D при ТВ. В този случай подобрената скорост на промяната на хракката е била наблюдавана при пациенти с ТВ с „tt” *Taq I*

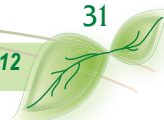
VDR-генотип след суплементация с вит. D.³⁴ Тези въздействия на VDR генния полиморфизъм не се ограничават само с инфекциозните заболявания, VDR SNPs също се свързват с аутоимунни заболявания, като ЗД тип 1,³⁹ MS, Базедова болест, ревматоиден артрит³² и LED.³² Обаче ще трябва да се признае, че не всички проучвания на VDR-генотип показват връзка с аутоимунно заболяване.¹ Също така генетичните отклонения в системата на вит. D не се ограничават във VDR гена и SNPs и CYP27B1 гена, но те показват действителната податливост на организма за аутоимунно заболяване.⁴⁶ Обаче може би повечето от описаните унаследени вариации в системата на вит. D се осигуряват от гена на вит. D-свързващия протеин (DBP). Например вариациите в кодиращия регион на DBP-гена произвеждат протеин, чиято серумна концентрация и афинитет за метаболитите на вит. D значително варира. Проучвания показват, че различията в серумната концентрация и генотипа на DBP изграят главна роля в модулирането на бионаличността на 25OHD в таргентните клетки, като моноцитите.⁸ Специфично, антибактериалните отговори на вит. D ще бъдат по-изразени при слабо чувствителните форми на кодиран-DBP-при генния полиморфизъм. Това се обяснява с групово-специфичния (*Gc1S* и *Gc2*, когато се сравнява със силно чувствителните форми DBP, като *Gc1F*). Предположенията са, че моноцитите отговарят на „free” по-точно, отколкото на свързания с DBP вит. D(25OHD). Ролята на DBP като решаващ за биологичния вит. D е подчертана при скорошно проучване, показващо, че при здрави възрастни „free” по-добре корелира от общия 25OHD с BMD (костна минерална плътност).³⁸ Ще бъде интересно да се види при бъдещите проучвания дали неklasическите отговори на вит. D са свързани с концентрацията и генотипа на DBP. Досега връзката между DBP генотипа и човешката имунна функция са били анализирани само в едно съобщение, което описва асоциацията между *Gc2*-алели и активната ТВ. Обаче това е наблюдавано само при група от пациенти с нисък статус на вит. D и при тези условия е трудно да се интерпретира участието на DBP-генотипа в активността на заболяването.

Това е важно за признанието, че проучвания свързват унаследени вариации на VDR CYP27B1 и DBP-гените и имуномодулаторните въздействия на вит. D и имат различна обвързаност с големината на изследваното население, което води до трудност при правенето на солидни заключения за относителните влияния на тези вариации в сравнение със самостоятелните въздействия на статуса на вит. D. Например погодбреният отговор при пациенти с ТВ след лечение с вит. D обхваща само 12 пациенти с VDR „tt”-генотип от общо 126.³⁴ Обаче груги проучвания обхващат много по-голям брой изследвани лица. Изключително съвременно проучване (Genome-Wide Association Study) при почти 34 000 лица показва, че генните варианти на DBP действат като наследствено определящи за серумния статус на вит. D с повлияване на серумните концентрации на DBP, които е известно, че са свързани със серумните 25OHD и 1.25(OH)₂D.⁴⁹ Така циркулиращите нива на DBP и свързващият афинитет на метаболитите на вит. D, така решаващи за **DBP/Gc**-генотипа, може би не само определят бионаличността на 25OHD в таргентните клетки, но също могат да повлияят общото ниво на вит. D в циркулацията. Прибавено към друго ниво от сложността на този аспект от физиологията на вит. D, е важно да приемем, че DBP може да функционира както макрофаг-активиращ фактор (MAF), когато е гликиран. Скорошни проучвания показаха, че активността на MAF към DBP може би е ползотворна в предпазването срещу белодробни заболявания, като хронична обструктивна белодробна болест.⁵⁰

Заключения и бъдещи перспективи

Некласическите извънскелетни въздействия на вит. D са известни повече от 25 години. В началото тези наблюдения бяха съсредоточени върху свръхпродукцията на 1.25(OH)₂D при болестни състояния, като например саркоидоза, или бяха схващани като вторична активация на вит. D-рецептора, който може да осигури подходящи цели за предписване на терапия с

1.25(OH)₂D. По-късно бяха проведени многобройни проучвания на синтетичните 1.25(OH)₂D аналози за лечение на ракови и аутоимунни заболявания. Те бяха насочени към намаляване на известните хиперкалциемични странични ефекти на 1.25(OH)₂D, но проучванията бяха като цяло неуспешни, поне на ниво *in vivo*. Новата ера на вит. D през последните години придоби нови големи измерения и напълно различна посока, основаваща се на две ключови концепции. Първата произлиза от повишената очевидност на широкото тъканно разпределение на вит. D-активиращия ензим CYP27B1, следователно осъществяващ предимно локалната, интракрина или паракрина функция на вит. D извън скелета. За разлика от бъбречната CYP27B1, която поддържа циркулиращите нива на 1.25(OH)₂D, продукцията на активна форма на вит. D на небъбречни места е по-малко вероятно да зависи от хормонални регулатори, като паратиреоидния хормон, и поради това ще зависи предимно от наличния вит. D. Серумните нива на 25OHD – с груги гуги, статусът на вит. D на всяко дадено лице, осигурява втората и най-спорна нова концепция за нашата променена представа за вит. D. Група проучвания изтъкват възможните връзки между статуса на вит. D и обичайните човешки заболявания, но все още не ясно доколко това е причинено или следствие на нарушено извънбъбречно активиране и функциониране на вит. D. Също така е неясно дали наскоро препоръчаното от IOM за достатъчно ниво на вит. D (от 50 pmol/L, 20 ng/ml серумен вит. D) е валидно за скелетните и нескелетните въздействия на вит. D. IOM подчертава нуждата от повече рандомизирани контролирани проследявания за оценка на въздействието на повишения серумен 25OHD на извънскелетното здраве. Много от тези проучвания са сега в развитие и включват няколко изключителни проследявания с цел насочено анализиране на имуномодулаторните въздействия на суплементацията с вит. D, въпреки че са известни и антиракови въздействия. IOM изказва категорична подкрепа за връзката между адекватния статус на вит. D и костното здраве, но авторите потвърждават



изобилието от данни, свързващи вит. D с други аспекти на човешкото здраве, и ИОМ подчертава нуждата от повече изследвания за по-доброто формулиране на тези връзки. Много от проучванията посочват настоящия подход и включват *in vitro*, животински модели и клинични изпитания. Обаче като най-съществено в този преглед е изискването, че ще е необходимо повечето от съществените резултати да бъдат насочени към параметрите, подчинени на статуса на вит. D. Възможно е наследствени фактори да изграят ключова роля в определяне на активността на вит. D за всяка дадена серумна концентрация на 25ОНD. Това се доказва за вит. D-рецепторния генотип при пациенти с ТВ, суплементирани с вит. D,³⁴ макар че основната причина за това остава неизвестна. Възможно е да се предполага правдоподобния механизъм, при който генетичните варианти на DBP-гена са способни да въздействат върху ендокринните и интракринните функции на вит. D. Това потвърждава „хипотезата за свободния хормон“ със слаб афинитет или малка концентрация на DBP да благоприятства подобрението на наличността на 25ОНD към прицелните клетки, като моноцитите. Такъв модел показва, че не е достатъчно „дълго“ съобщението за общите серумни нива на метаболитите на вит. D, но нивата на „свободните“ метаболити на вит. D ще бъдат също съобщени. Тази стратегия е била успешно използвана в подобни проучвания за скелетната функция, която се основава на оценката на свободния 25ОНD на базата на доказаните константни афинитети и серумните нива на DBP протеина.³⁸ Извънскелетните въздействия на вит. D ще трябва да бъдат проучени, но е възможно такъв подход да бъде главен за бъдещите клинични проследявания и те могат да помогнат за изясняване, защо едни пациенти показват по-добри отговори при суплементация с вит. D, отколкото други. Това е отделен въпрос, когато сравняваме отговора на вит. D при различните расови, етнически групи, където DBP-алелите показват много ясни примери на разпределение съобразно расата. Бъдещите проучвания за оценка на изразените ползи от подобряния статус

на вит. D ще имат нужда от проучване на оптималната доза на суплементация с вит. D, необходима за ефикасното достигане на това ниво. Независимо от дневната доза на суплементация, все още е неясно дали различните форми на вит. D, вит. D₂ и вит. D₃ имат потенциални предимства за специфичните отговори на вит. D. Няколко проучвания, макар не всички,²⁶ съобщават за по-голяма ефикасност при суплементацията с вит. D₃.^{24, 41} Обаче те са базирани на обикновен критерий, на възможността за покачване на серумното ниво на 25ОНD и е възможно 25ОНD₂ и 25ОНD₃ да имат същите действия от гледна точка на тяхното превръщане в техните 1.25-дихидроксилирани копия, чиито въздействия се медиуират чрез VDR. Понастоящем малко се знае за възможните имуномодулаторни отговори на вит. D₂ и вит. D₃. Синтетичният аналог на 1.25(OH)₂D, 19-не 1.25 дихидрокси вит. D (също известен като paracalcitol) проявява сходни имуномодулаторни ефекти на 1.25(OH)₂D₃, но подобни действия на 1.25(OH)₂D₂ досега не са проучвани. Особено интересно ще бъде изследване на разграничителната възможност на свързване на 25ОНD₂ и 25ОНD₃ към DBP и как това се обяснява с тяхната бъбречна ендокринология и бионаличност в прицелните клетки. Общо тези наблюдения показват, че въпреки значителния изследователски напредък в последните 5 години, нашите разбирания за неklasическите въздействия на вит. D са почти завършени. Може би следващите 5 години ще бъдат още по-динамични.

Книгопис

1. Abbasi, M., et al. Lack of association of vitamin D receptor gene Bsm1 polymorphisms in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology International*, 2010, 30, 1537–1539.
2. Ates, O., et al. The association between Bsm1 variant of vitamin D receptor gene and susceptibility to tuberculosis. *Molecular Biology Reports*, 2011, 38, 2633–2636.
3. Cantorna, M.T., C.E.Hayes & H.F.DeLuca .1,25-Dihydroxyvitamin D3 reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93, 7861–7864.
4. Carter, G.D. & J.C.Jones. Use of a common standard improves the performance of liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods for serum 25-hydroxyvitamin-D. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2009, 46, 79–81.
5. Carter, G.D., et al. Proficiency testing of 25-hydroxyvitamin D (25-OHD) assays. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, 121, 176–179.
6. Chen, S., et al. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *Journal of Immunology*, 2007, 179, 1634–1647.
7. Chocano-Bedoya, P. & A.G.Ronnenberg. Vitamin D and tuberculosis. *Nutrition Reviews*, 2009, 67, 289–293.
8. Chun, R.F., et al. Vitamin D binding protein directs monocyte responses to 25-hydroxy- and 1,25-dihydroxyvitamin D. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2010, 95, 3368–3376.

9. Deeb, K.K., D.L.Trump & C.S.Johnson. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nature Reviews Cancer*, 2007, 7, 684–700.
10. Edfeldt, K., et al. T-cell cytokines differentially control human monocyte antimicrobial responses by regulating vitamin D metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107, 22593–22598.
11. Enioutina, E.Y., D.Bareyan & R.A.Daynes. TLR-induced local metabolism of vitamin D3 plays an important role in the diversification of adaptive immune responses. *Journal of Immunology*, 2009, 182, 4296–4305.
12. Evans, K.N., et al. Effects of 25-hydroxyvitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on cytokine production by human decidual cells. *Biology of Reproduction*, 2006, 75, 816–822.
13. Gao, L., et al. Vitamin D receptor genetic polymorphisms and tuberculosis: updated systematic review and meta-analysis. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 2010, 14, 15–23.
14. Geleijnse, J.M. Vitamin D and the prevention of hypertension and cardiovascular diseases: a review of the current evidence. *American Journal of Hypertension*, 2011, 24, 253–262.
15. Gombart, A.F., N. Borregaard & H.P.Koeffler. 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 Journal*, 2005, 19, 1067–1077.
16. Grant, W.B. Is the Institute of Medicine report on calcium and vitamin D good science? *Biological Research for Nursing*, 2011, 13, 117–119.
17. Grant, W.B. The Institute of Medicine did not find the vitamin D-cancer link because it ignored UV-B dose studies. *Public Health Nutrition*, 2011, 14, 745–746.
18. Griffin, M.D., et al. Dendritic cell modulation by 1 α ,25 dihydroxyvitamin D3 and its analogs: a vitamin D receptor-dependent pathway that promotes a persistent state of immaturity *in vitro* and *in vivo*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98, 6800–6805.
19. Harms, L.R., et al. Vitamin D and the brain. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology Metabolism*, 2011, 25, 657–669.
20. Harris, S.S. Vitamin D in type 1 diabetes prevention. *Journal of Nutrition*, 2005, 135, 323–325.
21. Haussler, M.R., et al. Vitamin D receptor: molecular signaling and actions of nutritional ligands in disease prevention. *Nutrition Reviews*, 2008, 66, S98–S112.
22. Heaney, R.P. & Holick, M.F. Why the IOM recommendations for vitamin D are deficient. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2011, 26, 455–457.
23. Heaney, R.P. 25-Hydroxyvitamin D and calcium absorption. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2011, 93, 220–221; author reply 221.
24. Heaney, R.P., et al. Vitamin D(3) is more potent than vitamin D(2) in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2011, 96, E447–E452.
25. Holick, M.F. Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*, 2007, 357, 266–281.
26. Holick, M.F. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Annals of Epidemiology*, 2008, 19, 73–78.
27. Hollis, B.W. & C.L. Wagner. The vitamin D requirement during human lactation: the facts and IOM's 'utter' failure. *Public Health Nutrition*, 2011, 14, 748–749.
28. Joshi, S., et al. 1,25-dihydroxyvitamin D(3) ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin-17A. *Molecular and Cellular Biology*, 2011, 31, 3653–3669.
29. Kamen, D. & C. Aranow. Vitamin D in systemic lupus erythematosus. *Current Opinion in Rheumatology*, 2008, 20, 532–537.
30. Krishnan, A.V. & D. Feldman. Mechanisms of the anticancer and anti-inflammatory actions of vitamin D. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2011, 51, 311–336.
31. Krutzik, S.R., et al. IL-15 links TLR2/1-induced macrophage differentiation to the vitamin D dependent antimicrobial pathway. *Journal of Immunology*, 2008, 181, 7115–7120.
32. Lee, Y.H., et al. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Molecular Biology Reports*, 2011, 38, 3643–3651.
33. Lewis, S.J., I. Baker & G. Davey Smith. Meta-analysis of vitamin D receptor polymorphisms and pulmonary tuberculosis risk. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 2005, 9, 1174–1177.
34. Martineau, A.R., et al. High-dose vitamin D(3) during intensive-phase antimicrobial treatment of pulmonary tuberculosis: a double-blind randomized controlled trial. *Lancet*, 2011, 377, 242–250.
35. Motiwala, S.R. & T.J. Wang. Vitamin D and cardiovascular disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 2011, 20, 345–353.
36. Nnoaham, K.E. & A. Clarke. Low serum vitamin D levels and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Epidemiology*, 2008, 37, 113–119.
37. Penna, G., et al. Treatment of experimental autoimmune prostatitis in nonobese diabetic mice by the vitamin D receptor agonist eocalcitol. *Journal of Immunology*, 2006, 177, 8504–8511.
38. Powe, C.E. et al. Vitamin D binding protein modifies the vitamin D-bone mineral density relationship. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2011, 26, 1609–1616.
39. Ramos-Lopez, E. et al. Protection from type 1 diabetes by vitamin D receptor haplotypes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2006, 1079, 327–334.
40. Reid, I.R. & A. Avenell. Evidence-based policy on dietary calcium and vitamin D. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2011, 26, 452–454.
41. Romagnoli, E. et al. Short and long-term variations in serum calcitropic hormones after a single very large dose of ergocalciferol (vitamin D2) or cholecalciferol (vitamin D3) in the elderly. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2008, 93, 3015–3020.
42. Ross, A.C. et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2011, 96, 53–58.
43. Rudensky, A.Y. (2011) Regulatory T cells and Foxp3. *Immunological Reviews*, 241, 260–268.
44. Slomski, A. IOM endorses vitamin D, calcium only for bone health, dispels deficiency claims. *JAMA*, 2011, 305, 453–454.
45. Stolzenberg-Solomon, R.Z., et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D and risk of pancreatic cancer: Cohort Consortium Vitamin D Pooling Project of Rarer Cancers. *American Journal of Epidemiology*, 2010, 172, 81–93.
46. Sundqvist, E. et al. Confirmation of association between multiple sclerosis and CYP27B1. *European Journal of Human Genetics*, 2010, 18, 1349–1352.
47. Takeda, K., S. Akira. Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology*, 2005, 17, 1–14.
48. Vogeser, M. Quantification of circulating 25-hydroxyvitamin D by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2011, 121, 565–573.
49. Wang, T.J., et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet*, 2010, 376, 180–188.
50. Wood, A.M., et al. Vitamin D binding protein contributes to COPD by activation of alveolar macrophages. *Thorax*, 2011, 66, 205–210.

