

VITAMIN D A IMUNITNÍ SYSTÉM – TEORIE A VLASTNÍ ZKUŠENOSTI

PharmDr. Klára Sochorová, prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.

Ústav imunologie, 2. lékařská fakulta UK a FN Motol, Praha

Vitamin D a jeho biologicky aktivní forma kalcitriol jsou součástí mnoha fyziologických pochodů v lidském těle. Nezastupitelnou roli hraje kalcitriol v regulaci kalcium-fosfátového metabolismu, neméně důležitý je jeho účinek na diferenciaci buněk a také na imunitní systém. Ovlivňuje zejména mechanismy vrozené imunitní reakce, jeho efekt je ale velmi variabilní. V regulaci protiinfekční a protinádorové imunity působí jako imunostimulans, v regulaci autoimunitních pochodů jako imunosupresivum. Díky těmto vlastnostem nachází vitamin D uplatnění v prevenci některých infekčních a autoimunitních onemocnění. Kalcitriol a jeho syntetické analogy s potlačeným hyperkalcemickým efektem představují léčiva, která mohou být přínosem v terapii autoimunit, malignit a v péči o pacienty po orgánové transplantaci. Jejich terapeutický efekt a bezpečnost podání v těchto indikacích je třeba ještě ověřit v kontrolovaných klinických studiích.

Klíčová slova: vitamin D, kalcitriol, imunitní systém.

VITAMIN D AND IMMUNE SYSTEM – THEORY AND OUR EXPERIENCE

Vitamin D and its biologically active form calcitriol participate in a lot of physiological processes in the human body. Calcitriol plays a key role in the regulation of calcium-phosphorus metabolism and its effect on cell differentiation and immune system is also important. It affects especially the mechanisms of innate immunity, but its activity is very variable. In the case of infection and cancer it works as immunostimulant, while rather as an immunosuppressive agent in the case of autoimmunity. Regarding these characteristics, vitamin D can be used to prevent some infectious, malignant and autoimmunity diseases. Calcitriol and its synthetic analogues represent drugs that can bring a benefit into autoimmunity and posttransplantation treatment. Their therapeutical effect as well as their safety administration in these indications are necessary to be verified in clinical studies.

Key words: vitamin D, calcitriol, immunity system.

Interní Med. 2007; 1: 28–30

Úvod

Již v 17. století byly u dětí z průmyslových oblastí popsány deformity kostí, ale teprve v průběhu 19. století byla potvrzena souvislost mezi nedostatečnou expozicí slunečnímu záření a výskytem křivice. Ještě před druhou světovou válkou byla objasněna podstata tohoto jevu. Bylo prokázáno, že účinkem ultrafialového záření vzniká v kůži látka s antirachitickým účinkem, nově pojmenovaná jako vitamin D (6). Následně byla určena chemická struktura tohoto vitaminu a byly popsány jeho prekurzory. Teprve v 70. letech 20. století byly objeveny aktivní metabolity vitaminu D, které jsou zodpovědné za jeho biologické funkce, a jaderný receptor, který zprostředkovává jeho účinek. Poté byla prokázána souvislost vitaminu D s endokrinním systémem a regulací vápníkového metabolismu. Vitamin D vlastně není vitaminem v pravém smyslu slova, zejména v anglické literatuře je dnes řazen mezi hormony, a to jak pro svůj původ, tak pro své účinky (8, 11).

Základní údaje o vitaminu D

Syntéza biologicky aktivního metabolitu probíhá v lidském organismu postupnou reakcí v několika různých orgánech. Nejprve vzniká v kůži ze 7-dehydrocholesterolu previtamin D₃. Pro tento proces je nezbytné UVB záření, jehož účinkem je štěpení rigidního skeletu cholesterolu. Produkce previtaminu D₃ je mimo jiné ovlivňována úhlem dopadu slunečních paprsků na zemský povrch, ranní či podvečerní sluneční záření

nedokáže rozštěpit cholesterolový skelet. Previtamin D₃ se ještě v buňkách epidermis a dermis transformuje na vitamin D₃ (cholecalciferol). Tato forma vitaminu D může být získávána také z potravy – v živočišných produktech se vyskytuje vitamin D₃, v rostlinných vitamin D₂ ergosterol (8, 10). Vitamin D (souhrnné označení vitaminu D₂ a D₃) je transportován do jater, kde je hydroxylován na pozici 25 za vzniku calcidiolu (25-hydroxycholecalciferol). Tento produkt se následně dostává do buněk renálních tubulů, kde je opět hydroxylován, tentokrát na pozici 1, a vzniká tak aktivní forma vitaminu D kalcitriol (1,25-dihydroxycholecalciferol). Syntéza aktivního metabolitu je regulována hladinou parathormonu (PTH), vápníku a fosforu v krvi, přebytečný kalcitriol je případně dále oxidován a vyloučen močí. V 80. letech 20. století bylo prokázáno, že 1-hydroxyláza je exprimována také v keratinocytech a placentě, na konci minulého století bylo potvrzeno, že také monocyty, makrofágy a dendritické buňky exprimují tento enzym, a jsou tudíž schopny syntetizovat kalcitriol. Na rozdíl od syntézy v ledvinách není extrarenální syntéza striktně kontrolována hladinami kalcia, fosforu a PTH v krvi, a proto se zvýšený příjem vitaminu D projevuje přímo zvýšením produkce kalcitriolu (9, 10, 17).

Kalcitriol proniká do buněk, váže se na jaderný VDR receptor, a tím ovlivňuje expresi mnoha genů, jejichž produkty se účastní důležitých procesů v lidském organismu.

Více jak 90 % vitaminu D získává naše tělo díky expozici slunečnímu záření. Pro pokrytí denní potřeby stačí desetiminutové slunění obličeje. Mimoto může lidské tělo získat vitamin D z rybího tuku, v Evropě jsou vitaminem D obohacovány margaríny a některé cereálie, v USA je vitamin D přidáván do mléka, jogurtů i chleba. Doporučená denní dávka vitaminu D je u dětí 200–400 IU (5–10 µg), u dospělých 400 IU (11). Terapeutické dávky v případě křivice a osteomalacie jsou podstatně vyšší, je doporučována aplikace iniciační dávky (200 tis. IU) a následná léčba po dobu 1 roku dávkou 1000–5000 IU denně.

Účinky kalcitriolu

Prvním známým účinkem vitaminu D (jeho aktivní formy) bylo jeho antirachitické působení. Jedná se o souhrn několika účinků, které jsou částečně protichůdné, ale v konečném efektu podporují ukládání vápníku do kostí. Vitamin D zvyšuje v synergii s PTH resorpci vápníku z gastrointestinálního traktu a zvyšuje jeho reabsorpci v ledvinách. V kostech zvyšuje aktivitu osteoklastů a vyplavování vápníku do krve. Ovlivňuje také plazmatickou koncentraci fosforu.

Kromě účinku na kalcium-fosfátový metabolismus stimuluje vitamin D produkci inzulínu a je negativním regulátorem systému renin-angiotenzin-aldosteron. Tyto účinky jsou zprostředkovány endokrinním působením kalcitriolu, který je z ledvin vyplavován do krve a působí systémově.

Kromě toho působí kalcitriol jako imunomodulační hormon, v tomto případě je produkován monocyty, makrofágy a dendritickými buňkami. Jeho působení je parakrinní, resp. autokrinní a pouze lokální (10).

Vliv kalcitriolu na buňky imunitního systému

Lokálně produkován kalcitriol ovlivňuje zejména antigen prezentující buňky – monocyty, makrofágy a dendritické buňky. Přímo vazbou tohoto hormonu na VDR jaderný receptor je potlačena exprese MHC molekul II. třídy, které jsou zodpovědné za prezentaci antigenu T lymfocytům. Rovněž je snížena exprese kostimulačních molekul, které poskytují T lymfocytům 2. signál, nezbytný pro jejich úplnou aktivaci. Ovlivněním cytokinové produkce – snížením IL-12 a zvýšením IL-10 – je potlačen vývoj Th1 lymfocytů a stimulován vývoj Th2 lymfocytů, čímž je celá imunitní reakce směřována do Th2 typu. Th1 odpověď je navíc přímo oslabena, protože vlivem kalcitriolu nejsou lymfocyty schopny produkovat klíčové cytokiny Th1 odpovědi – IL-2 a IFN- γ . Naopak Th2 odpověď je vlivem kalcitriolu podpořena, a to především proto, že lymfocyty v prostředí kalcitriolu zvyšují produkci IL-4, IL-5 a IL-10. Toto zjednodušené schéma vyplývá z řady experimentálních prací in vitro. Ve skutečnosti jsou účinky kalcitriolu v organismu komplexnější a závisí na celé řadě okolností. Účinky kalcitriolu jsou shrnuty v tabulce 1 (2, 5, 16).

Vitamin D a obrana proti nádorovým onemocněním

Protinádorové působení vitaminu D je zprostředkováno několika různými mechanismy. Nádorové buňky se rychle dělí, typický je pro ně nižší stupeň diferenciace a rezistence vůči apoptotickým mechanismům. Kalcitriol brzdí proliferaci buněk, způsobuje jejich terminální diferenciaci a ovlivňuje apoptotické signální cesty tak, že obnovuje citlivost buněk k apoptóze. Na protinádorovém účinku vitaminu D se nepochybně podílí také jeho vliv na efektorové složky imunity, zejména makrofágy. V současné době probíhá mnoho klinických studií, které hodnotí přínos kalcitriolu nebo jeho analogů při léčbě některých malignit. U karcinomu prostaty a nemalobuněčného karcinomu plic byl již potvrzen pozitivní efekt podávání kalcitriolu, jeho širšímu použití však brání jeho výrazný hyperkalcemický efekt. Proto jsou v současné době testovány zejména jeho syntetické deriváty, které mají hyperkalcemický efekt výrazně redukováný (7, 10, 13, 20).

Vitamin D a protiinfekční imunita

Důležitost vitaminu D pro protiinfekční imunitu nejlépe vystihuje přísloví „Kam nechodí slunce, tam chodí lékař“. Tato souvislost se projevuje zejména

u mykobakteriálních infekcí. Mykobakteria jsou v organismu rozpoznávána makrofágy, jejich eliminace z organismu je ale problematická, protože žijí intracelulárně. K jejich účinné eliminaci je zapotřebí souhry dobré funkce makrofágů a Th1 lymfocytů. Ty poskytují produkci interferonu gama stimulus pro indukci intracelulární tvorby NO (oxidu dusnatého), který je pro mykobakteria baktericidním faktorem. I když z experimentů vyplývá, že vitamin D potlačuje funkci Th1 lymfocytů a produkci interferonu gama, v tomto případě zřejmě převládá jeho přímý vliv na produkci NO (18). Další mechanismus eliminace mykobakterií spočívá v následujícím pochodu: pokud makrofág rozpozná ve svém okolí mykobakteria, zahájí imunitní reakci, jejíž součástí je zvýšená exprese 1-hydroxylázy a jaderného VDR receptoru. Tím se zvýší lokální produkce kalcitriolu a citlivost makrofágů na tento působek. Vazba kalcitriolu na VDR receptor indukuje expresi cathelicidinu, který se vyznačuje přímou mikrobicidní aktivitou a je schopen likvidovat i intracelulárně lokalizovaná mykobakteria. Zároveň působí jako chemokin a ovlivňuje migraci lymfocytů do místa infekce. Předpokládá se, že hraje roli v regulaci dalších protizánětlivých pochodů (12).

Taktéž bylo prokázáno, že dialyzovaní pacienti jsou náchylnější k bakteriálním i virovým infekcím. Deficit kalcitriolu se na tomto stavu bezpochyby podílí, neboť zavedení do léčby snížilo frekvenci infekcí a nutnost podávání antibiotik, i když je jisté, že imunodeficit dialyzovaných má komplexní příčinu (4).

Vitamin D a autoimunitní onemocnění

Při ochraně organismu před autoimunitními onemocněními se uplatňuje imunosupresivní účinek kalcitriolu. Bylo prokázáno, že lidé žijící ve vyšších zeměpisných šířkách jsou více ohroženi autoimunitními onemocněními, protože se u nich častěji vyskytuje deficit vitaminu D v souvislosti s nedostatkem slunečního záření.

U obyvatel nižších zeměpisných šířek (0–35°) je riziko rozvoje prototypu orgánově specifické autoimunitní choroby – roztroušené sklerózy poloviční v porovnání se skupinou obyvatel vyšších zeměpisných šířek. Navíc byl popsán sezónní výskyt tohoto onemocnění – v létě je incidence nízká, v zimním období dosahuje maxima. Zvýšený příjem vitaminu D (400 IU/den) snižuje riziko výskytu o více než 40 % (10). Pro léčbu relapsů roztroušené sklerózy se jako vhodný lék jeví biologicky aktivní forma vitaminu D kalcitriol. Problémem při jeho použití je opět výskyt hyperkalcémie, stejně jako u nádorových chorob. V letošním roce byla ukončena 1. fáze klinického zkoušení, která prokázala bezpečnost jeho podávání v případě, že je snížen obsah vápníku v potravě (800 mg/den) (19).

Podobná souvislost jako v případě roztroušené sklerózy byla zjištěna u diabetu 1. typu, další autoimunitní choroby postihující beta buňky pankreatu. Deficit vitaminu D výrazně zvyšuje riziko rozvoje diabetu u dětí, suplementace vitaminem D toto riziko snižuje. Použití kalcitriolu v léčbě insulitidy je opět limitováno jeho hyperkalcemickým efektem, proto se pozornost zaměřuje na analogy kalcitriolu, které mají tento efekt redukováný (10).

Podobný efekt vitaminu D lze očekávat i v prevenci dalších autoimunitních onemocnění, jako jsou např. revmatoidní artritida, Crohnova choroba, ulcerózní kolitida nebo systémový lupus erythematoses. V případě těchto onemocnění však nebyla souvislost mezi deficitem/suplementací vitaminem D a rozvojem onemocnění jednoznačně prokázána, zatím se jedná pouze o údaje zjištěné studiemi zvířecích modelů (14).

Zajímavá je také role vitaminu D v prevenci hypertenze a aterosklerózy. I ateroskleróza je dnes považována za částečně autoimunitní onemocnění. Kalcitriol negativně reguluje produkci reninu, působí na buňky srdečního svalu a zároveň svým imunosupresivním účinkem tlumí zánětlivou reakci probíhající ve stadiu vzniku aterosklerotické léze (10).

Vitamin D a transplantace orgánů

Nezbytnou součástí posttransplantační léčby je podávání léčiv s imunosupresivním účinkem, aby se zabránilo odhojení transplantátu. Pro své imunosupresivní účinky je kalcitriol jedním z potenciálních léčiv, která by mohla být v této indikaci použita. Doposud byla testována jeho účinnost na zvířecích modelech a v in vitro systémech. V těchto podmínkách zabraňoval kalcitriol akutnímu i chronickému odhojení transplantátu. V prevenci akutního odhojení potlačoval aktivitu buněk prezentujících antigen, v prevenci chronické rejekce indukoval vznik tolerogenních dendritických buněk a následně regulačních T lymfocytů. Stejně jako v případě nádorových onemocnění a autoimunit je však limitem jeho použití výrazný hyperkalcemický efekt (1, 3).

Vitamin D – vlastní zkušenosti

Ve studii prováděné na Ústavu imunologie UK 2. LF a FNM jsme se zaměřili na porovnání vlivu kalcitriolu a jeho analogu paricalcitolu na dendritické buňky. Dendritické buňky představují ústřední část imunitního systému, mají schopnost aktivovat mechanismy adaptivní imunity a podpořit rozvoj přirozené imunitní odpovědi.

Z krve zdravých dárců jsme získali monocyty, ze kterých jsme za pět dní získali kultivaci s cytokiny (IL-4 a GM-CSF) dendritické buňky. Buňky jsme následně stimulovali bakteriálními nebo virovými produkty. Sledovali jsme vliv kalcitriolu a paricalcitolu

Tabulka 1. Účinky calcitriolu na buňky imunitního systému (MA – makrofágy, MO – monocyty, DC – dendritické buňky, T lymf – T lymfocyty)

Efekt	Cílové buňky	Důsledek
snížená exprese MHC II. třídy	MA, MO, DC	nedostatečná stimulace T lymf
snížená exprese kostimulačních molekul	MA, MO, DC	nedostatečná stimulace T lymf
snížená produkce IL-12	MA, MO, DC	inhibice Th1 odpovědi
zvýšená produkce IL-10	MA, MO, DC, T lymf	podpora Th2 odpovědi
snížená produkce IL-2	T lymf	snížená účinnost Th1 odpovědi
snížená produkce IFN- γ	Lymf	snížená účinnost Th1 odpovědi
zvýšená produkce IL-4 a 5	T lymf	podpora Th2 odpovědi

na diferenciaci monocytů v dendritické buňky a na následnou aktivaci dendritických buněk.

Naše výsledky potvrdily výsledky předchozích studií, že calcitriol brání diferenciaci monocytů v dendritické buňky a inhibuje jejich následnou aktivaci. Zároveň jsme prokázali, že účinek paricalcitolu na dendritické buňky je téměř totožný jako účinek calcitriolu. Obě léčiva výrazně snižovala schopnost dendritických buněk prezentovat anti-

gen a poskytnout prostřednictvím kostimulačních molekul druhý signál T lymfocytům. Také produkce prozánětlivých cytokinů byla účinkem těchto léčiv snížena (15). Toto je první studie, prokazující analogický vliv calcitriolu i paricalcitolu na imunitní parametry. Vzhledem k omezenému hyperkalcemickému efektu paricalcitolu se jeví tento preparát jako nadějný v imunomodulačních indikacích, o nichž bylo pojednáno výše.

Závěr

Vitamin D, resp. jeho aktivní forma calcitriol jsou nepostradatelnou součástí mnoha fyziologických pochodů v lidském organismu. Kromě dlouho známé role calcitriolu v kalciofosfátovém metabolismu byly koncem minulého století popsány i jeho další účinky, které mohou být využity při terapii závažných chorob. Calcitriol nebo jeho syntetické analogy by mohly být přínosem pro pacienty s autoimunitními nebo nádorovými onemocněními, jejich terapeutický efekt a jejich bezpečnost musí být však ještě zhodnocena v kontrolovaných klinických studiích.

PharmDr. Klára Sochorová

Ústav imunologie, 2. lékařská fakulta UK a FN Motol
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5
e-mail: klara.sochorova@lfmotol.cuni.cz

Literatura

- Adorini, L. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 analogs as potential therapies in transplantation. *Curr Opin Investig Drugs* 3:1458, 2002.
- Adorini, L. Intervention in autoimmunity: the potential of vitamin D receptor agonists. *Cell Immunol* 233:115, 2005.
- Adorini, L., S. Amuchastegui, and K. C. Daniel. Prevention of chronic allograft rejection by Vitamin D receptor agonists. *Immunol Lett* 100:34, 2005.
- Bartunkova, J., S. Sulkova, T. Fucikova, H. Mareckova, and A. Valek. [The effect of 1,25-dihydroxycholecalciferol on immunity and the clinical state and on parameters of phospho-calcium metabolism in dialyzed patients]. *Cas Lek Cesk* 129:1102, 1990.
- Cantorna, M. T., and B. D. Mahon. 2005. D-hormone and the immune system. *J Rheumatol Suppl* 76:11, 2005.
- Carpenter, K. J., and L. Zhao. Forgotten Mysteries in the Early History of Vitamin D. *J. Nutr.* 129:923, 1999.
- Flaig, T. W., A. Barqawi, G. Miller, M. Kane, C. Zeng, E. D. Crawford, and L. M. Glode. A phase II trial of dexamethasone, vitamin D, and carboplatin in patients with hormone-refractory prostate cancer. *Cancer* 107:266, 2006.
- Gromer, S. Verdauung und Ernährung. *Creave commons*, 2006.
- Holick, M. F. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 80:1678S, 2004.
- Holick, M. F. 2005. Vitamin D for Health and in Chronic Kidney Disease. *Seminars In Dialysis* 18:266, 2005.
- Holick, M. F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J. Clin. Invest.* 116:2062, 2006.
- Liu, P. T., S. Stenger, H. Li, L. Wenzel, B. H. Tan, S. R. Krutzik, M. T. Ochoa, J. Schaubert, K. Wu, C. Meinken, D. L. Kamen, M. Wagner, R. Bals, A. Steinmeyer, U. Zugel, R. L. Gallo, D. Eisenberg, M. Hewison, B. W. Hollis, J. S. Adams, B. R. Bloom, and R. L. Modlin. Toll-Like Receptor Triggering of a Vitamin D-Mediated Human Antimicrobial Response. *Science* 311:1770, 2006.
- Lynch, T. J., J. A. Bogart, W. J. Curran, Jr., M. M. DeCamp, D. R. Gandara, G. Goss, C. I. Henschke, J. R. Jett, B. E. Johnson, K. L. Kelly, T. Le Chevalier, J. L. Mulshine, G. V. Scagliotti, J. H. Schiller, A. Shaw, N. Thatcher, E. E. Vokes, D. E. Wood, and C. Hart. Early stage lung cancer--new approaches to evaluation and treatment: conference summary statement. *Clin Cancer Res* 11:4981s, 2005.
- Seibert, E., N. W. Levin, and M. K. Kuhlmann. 2005. Immunomodulating effects of vitamin D analogs in hemodialysis patients. *Hemodial Int* 9 Suppl 1:S25, 2005.
- Sochorova K, B. V., Ságová M, Sulková S, Tobiasova Z, Bartunkova J. Vliv analogu vitamínu D paricalcitolu na morfológické a funkční charakteristiky dendritických buněk. *Alergie Suppl.* 2/2006.
- van Etten, E., and C. Mathieu. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol* 97:93, 2005.
- Veldman, C. M., M. T. Cantorna, and H. F. DeLuca. Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) receptor in the immune system. *Arch Biochem Biophys* 374:334, 2000.
- Waters, W. R., M. V. Palmer, B. J. Nonnecke, D. L. Whipple, and R. L. Horst. Mycobacterium bovis infection of vitamin D-deficient NOS2-/- mice. *Microb Pathog* 36:11, 2004.
- Wingerchuk, D. M., J. Lesaux, G. P. A. Rice, M. Kremenchutzky, and G. C. Ebers. A pilot study of oral calcitriol (1,25-dihydroxyvitamin D3) for relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76:1294, 2005.
- Zhou, W., R. Suk, G. Liu, S. Park, D. S. Neuberg, J. C. Wain, T. J. Lynch, E. Giovannucci, and D. C. Christiani. Vitamin D is associated with improved survival in early-stage non-small cell lung cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14:2303, 2005.