



Nieznane oblicze witaminy D3 – modulacja odpowiedzi immunologicznej w wybranych chorobach płuc ze szczególnym uwzględnieniem włóknienia płuc

Unknown face of vitamin D3 – modulation of immune response in selected pulmonary diseases with special emphasis on pulmonary fibrosis

Alicja Wilczyńska^{1,B-D,F}, Marta Kinga Lemieszek^{1,A,C,E-F}✉

¹ Zakład Biologii Medycznej, Instytut Medycyny Wsi im. W. Chodźki, Lublin, Polska

A – Koncepcja i projekt badania, B – Gromadzenie i/lub zestawianie danych, C – Analiza i interpretacja danych, D – Napisanie artykułu, E – Krytyczne zrecenzowanie artykułu, F – Zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Wilczyńska A, Lemieszek MK. Nieznane oblicze witaminy D3 – modulacja odpowiedzi immunologicznej w wybranych chorobach płuc ze szczególnym uwzględnieniem włóknienia płuc. Med Og Nauk Zdr. 2024; 30(4): 259–270. doi: 10.26444/monz/199266

■ Streszczenie

Wprowadzenie i cel pracy. Globalny niedobór witaminy D3 ujawnił kluczową rolę tej substancji w patogenezie wielu chorób, w tym chorób płuc, w przebiegu których dochodzi do włóknienia. Jednocześnie pojawiły się doniesienia, że dzięki zdolności do modulacji odpowiedzi immunologicznej witamina D3 może stanowić remedium na wspomniane schorzenia. Celem publikacji był przegląd wyników przeprowadzonych w tym zakresie badań.

Metody przeglądu. W artykule przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat wpływu witaminy D3 na odpowiedź immunologiczną w wybranych chorobach płuc, tj. POChP, IPF, AZPP i astmie alergicznej. Przegląd obejmuje prace oryginalne, dostępne w bazach PubMed i Google Scholar.

Skrócony opis stanu wiedzy. Analiza danych z wykorzystaniem modeli POChP potwierdziła, że niedobór witaminy D3 nasila objawy choroby, natomiast suplementacja jej metabolitami ma korzystny wpływ na jej przebieg, zwłaszcza na proces włóknienia, dzięki wyciszeniu nadmiernej odpowiedzi zapalnej. Witamina D3 zmniejszała również stan zapalny i związany z nim proces włóknienia płuc w przebiegu IPF poprzez obniżenie poziomu cytokin prozapalnych oraz hamowanie przekazywania sygnałów w szlakach zależnych od TGF- β . Korzystny wpływ kalcytriolu (bioaktywna forma witaminy D3) na rozwój astmy alergicznej wynikał z ograniczenia napływu eozynofili oraz redukcji poziomu cytokin prozapalnych przy jednoczesnym zwiększeniu poziomu cytokin przeciwzapalnych. Unikatowe wyniki oceny wpływu witaminy D3 na przebieg AZPP wykazały, że metabolity witaminy D3 hamują rozwój włóknienia płuc poprzez przywracanie równowagi immunologicznej oraz zmniejszenie produkcji czynników prozapalnych i prozłóknieniowych.

Podsumowanie. Przedstawiony przegląd badań wskazuje na immunomodulacyjną rolę witaminy D3 w patogenezie POChP, IPF, astmy alergicznej i AZPP oraz na możliwości jej zastosowania w prewencji włóknienia płuc.

■ Słowa kluczowe

kalcydiol, kalcytriol, cholekalcyferol, POChP, IPF, AZPP

■ Abstract

Introduction and Objective. The global pandemic of vitamin D3 deficiency has revealed the key role of this substance in the pathogenesis of many conditions, including fibrotic lung diseases. At the same time, emerging reports suggest that vitamin D3, through its ability to modulate the immune response, may offer a remedy for such conditions. The aim of this article is to review the results of the above-mentioned studies.

Review methods. This article presents the current state of knowledge on the effect of vitamin D3 on immune response in selected lung diseases, i.e. COPD, IPF, HP, and allergic asthma. The review includes original articles available in PubMed and Google Scholar databases.

Brief description of the state of knowledge. Data analysis from COPD models confirmed that vitamin D3 deficiency exacerbates disease symptoms, while supplementation with its metabolites has a beneficial effect on disease progression, particularly on fibrosis, by mitigating the excessive inflammatory responses. Vitamin D3 also reduces inflammation and the associated lung fibrosis in IPF by lowering levels of pro-inflammatory cytokines and inhibiting TGF- β -dependent signaling pathways. The beneficial effect of calcitriol (bioactive form of vitamin D3) on the development of allergic asthma was due to reduced eosinophil infiltration, reduced pro-inflammatory cytokine levels, and increased anti-inflammatory cytokine levels. The unique findings on the effect of vitamin D3 on the course of HP showed that vitamin D3 metabolites inhibit the development of pulmonary fibrosis by restoring immune balance and reducing the production of pro-inflammatory and pro-fibrotic factors.

Summary. The presented reviewed of research demonstrates the immunomodulatory role of vitamin D3 in the pathogenesis of COPD, IPF, HP, and allergic asthma, highlighting its potential in the prevention of pulmonary fibrosis.

✉ Adres do korespondencji: Marta Kinga Lemieszek, Zakład Biologii Medycznej, Instytut Medycyny Wsi im. W. Chodźki, ul. Jaczewskiego 2, 20-090, Lublin, Polska
E-mail: martalemieszek@gmail.com

Nadesłano: 15.11.2024; zaakceptowano do publikacji: 18.12.2024; publikacja online: 27.12.2024

Key words

calcidiol, calcitriol, cholecalciferol, COPD, IPF, hypersensitivity pneumonitis

Wykaz skrótów

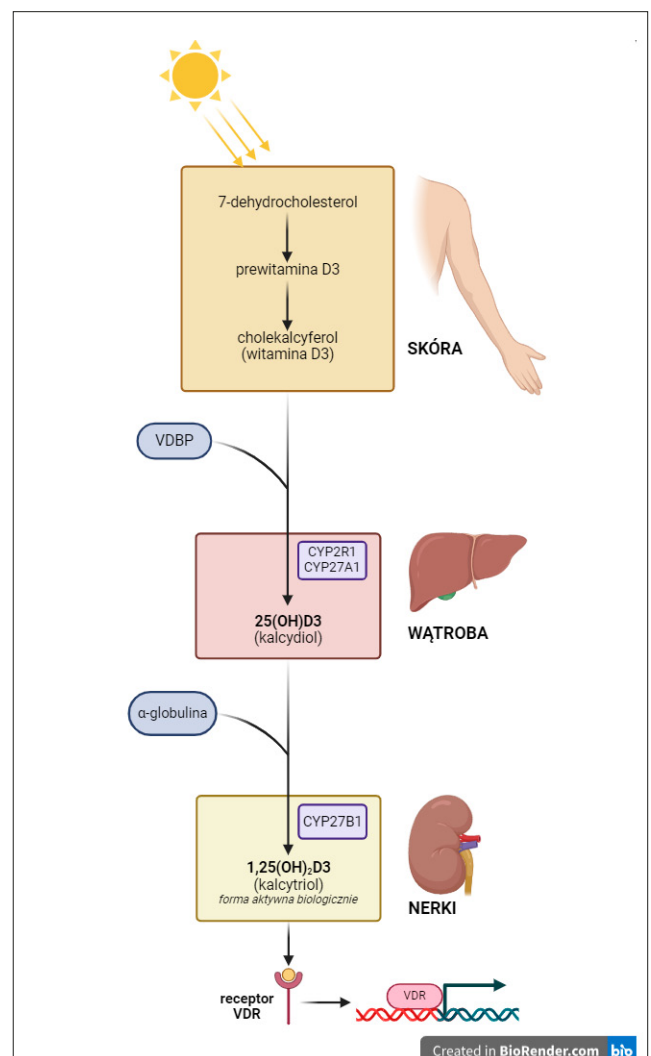
AZPP – alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych; **BALF** – płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (ang. *bronchoalveolar lavage fluid*); **CYP2R1** – cytochrom P450 2R1; **CYP27A1** – cytochrom P450 27A1 (7-hydroksylaza sterolowa); **CYP27B1** – cytochrom P450 27B1 (1- α -hydroksylaza); **c-Fos** – kinaza białkowa zaliczana do protoonkogenów; **c-Jun** – kinaza białkowa zaliczana do protoonkogenów; **CCL** – ang. *C-C motif chemokine ligand*; **CRP** – białko C-reaktywne (ang. *C-reactive protein*); **CXCL** – ang. *C-X-C motif chemokine ligand*; **EMT** – przejście epitelialno-mezenchymalne (ang. *epithelial-mesenchymal transition*); **ERK** – ang. *extracellular signal-regulated kinases*; **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (ang. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*); **IFN- γ** – interferon γ ; **IL** – interleukina; **IP** – ang. *interferon gamma-induced protein*; **IPF** – idiopatyczne

włóknienie płuc (ang. *idiopathic pulmonary fibrosis*); **LPS** – lipopolisacharyd; **MAPK** – kinazy aktywowane mitogenami (ang. *mitogen-activated protein kinases*); **MCP** – białko chemotaktyczne monocytów (ang. *monocyte chemoattractant protein*); **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (ang. *major histocompatibility complex*); **MIP** – białko zapalne makrofagów (ang. *macrophage inflammatory protein*); **MMP** – metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *matrix metalloproteinase*); **NF- κ B** – jądrowy czynnik transkrypcyjny κ B (ang. *nuclear factor kappa B*); **P38** – kinaza białkowa aktywowana mitogenem; **POChP** – przewlekła obturacyjna choroba płuc; **RANKL** – ligand aktywatora receptora jądrowego czynnika κ B (ang. *receptor activator for nuclear factor κ B ligand*); **TGF- β** – transformujący czynnik wzrostu β (ang. *transforming growth factor β*); **TIMP** – tkankowy inhibitor metaloproteinazy (ang. *tissue inhibitor of metalloproteinase*); **TNF- α** – czynnik martwicy nowotworów α (ang. *tumor necrosis factor α*); **VDBP** – białko wiążące witaminę D (ang. *vitamin D binding protein*); **VDR** – receptor dla witaminy D (ang. *vitamin D receptor*)

WPROWADZENIE

Witamina D występuje w przyrodzie w dwóch formach: witaminy D2, obecnej głównie w grzybach i roślinach, oraz witaminy D3, która jest typowa dla zwierząt. Synteza witaminy D3 rozpoczyna się w skórze, gdzie pod wpływem promieniowania UVB o długości fali 280–320 nm, 7-dehydrocholesterol przekształca się w prewitaminę D3. W temp. 37°C prewitamina D3 ulega izomeryzacji do cholekalcyferolu [1]. Cholekalcyferol łączy się z białkiem wiążącym witaminę D (ang. *vitamin D binding protein*, VDBP) i transportowany jest do wątroby, gdzie ulega pierwszemu etapowi hydroksylacji, katalizowanemu przez enzymy o aktywności 25-hydroksylazy, głównie CYP2R1 i CYP27A1. Powstały w ten sposób kalcydiol (25(OH)D3) uwalniany jest do osocza, gdzie wiąże się z α -globuliną i transportowany jest do nerek. W nerkach pod wpływem 1- α -hydroksylazy (CYP27B1) kalcydiol ulega przekształceniu w biologicznie aktywną formę witaminy D3 – kalcytriol (1,25(OH)₂D3) i stąd transportowany jest do innych narządów i tkanek [2]. Uproszczony schemat syntezy kalcytriolu przedstawiono na ryc. 1.

Należy podkreślić, że transformacja kalcydiolu w kalcytriol zachodzi również poza nerkami, m.in. w układzie odpornościowym czy płucach [4]. Niemniej jednak pozanerkowa aktywność CYP27B1 jest silnie zależna od substratu i w konsekwencji w przypadku niedoboru 25(OH)D3 produkcja kalcytriolu jest znacznie ograniczona [5]. Warto również wspomnieć, że cholekalcyferol pochodzący z pożywienia ulega tym samym transformacjom, co witamina D3 syntetyzowana w skórze, ostatecznie tworząc kalcytriol [6]. Niezależnie od szlaku metabolicznego bioaktywna postać witaminy D3, by móc pełnić swoją rolę, musi związać się ze swoim receptorem VDR (ang. *vitamin D receptor*), który jest aktywowany przez ligand czynnikiem transkrypcyjnym [7]. Udowodniono, że VDR obecny jest w niemal każdej komórce, co wyjaśnia plejotropowe działanie kalcytriolu. Według najnowszych badań kalcytriol może kontrolować ponad 200 różnych genów, w tym odpowiedzialnych za wzrost, proliferację i różnicowanie komórek; metabolizm i przebudowę kości; metabolizm energetyczny; a także odpowiedź immunologiczną [8, 9].



Rycina 1. Główny szlak syntezy bioaktywnej formy witaminy D3 (kalcytriolu) w organizmie człowieka. Źródło: przygotowano na podstawie informacji zawartych w: Bikle, 2014 oraz Saponaro, 2020 [1, 3]

Zwiększoną ekspresję VDR odnotowano na limfocytach T i B, monocytach, a także komórkach prezentujących antygen, takich jak makrofagi i komórki dendrytyczne. Ponadto wiele z tych komórek produkuje enzymy przekształcające kalcydiol w $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, umożliwiając jej lokalną aktywację [10]. Kalcytriol stymuluje różnicowanie monocytów w makrofagi. Niedobór witaminy D3 zaburza dojrzewanie monocytów poprzez zmniejszoną aktywność fosfatazy kwasnej (enzymu lizosomalnego) i uwalnianie H_2O_2 , czynników kluczowych dla ich przeciwdrobnoustrojowego działania. Tak więc $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zwiększa potencjał chemotaktyczny i fagocytarny makrofagów [11]. Ponadto kalcytriol znacząco obniża ekspresję i zmniejsza wydzielanie metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej MMP-7 i MMP-9, a także zwiększa poziom inhibitora tkankowej metaloproteinazy (ang. *tissue inhibitor of metalloproteinases*, TIMP) przez monocyty w odpowiedzi na infekcję. W konsekwencji w warunkach przewlekłego stanu zapalnego $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ chroni tkankę przed uszkodzeniem [12]. Kalcytriol hamuje różnicowanie, dojrzewanie i funkcję komórek dendrytycznych [11]. Moduluje również produkcję cytokin lub chemokin przez komórki dendrytyczne, głównie hamuje wydzielanie IL-12 i IL-23 (stymulując różnicowanie Th1 i Th17), a także zwiększa uwalnianie przeciwwzpalnej IL-10 (hamując odpowiedź immunologiczną Th1 i Th2). Hamowanie produkcji IL-12 przez dojrzałe komórki dendrytyczne jest wynikiem supresji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, co przyczynia się do rozwoju komórek o fenotypie supresyjnym. Jednocześnie kalcytriol zwiększa produkcję chemokiny CCL22, która jest zdolna do rekrutacji Treg [10]. Ponadto kalcytriol, wyciszając ekspresję cząsteczek MHC klasy II i kostymulantów, zmniejsza zdolność makrofagów i komórek dendrytycznych do prezentowania antygenów i stymulacji limfocytów T, co prowadzi do zahamowania aktywacji patogennych komórek efektorowych T i zwiększenia liczby komórek o właściwościach supresorowych. Witamina D3 nie tylko wpływa na limfocyty pośrednio poprzez swoje działanie na komórki dendrytyczne, jak opisano powyżej, ale ma również bezpośredni wpływ na komórki T i komórki B. Kalcytriol bezpośrednio wpływa na odpowiedź limfocytów T, zmniejszając wydzielanie cytokin przez Th1 (IL-2, IFN- γ , TNF- α) i Th17 (IL-17), a także zwiększając wydzielanie cytokin wytwarzanych przez Th2 (IL-3, IL-4, IL-5 i IL-10). Jednocześnie promuje rozwój komórek T regulatorowych [13]. Ponadto kalcytriol hamuje produkcję IgG i IgM przez komórki plazmatyczne, a także zmniejsza proliferację i różnicowanie komórek B [11]. Kalcytriol nadzoruje również syntezę peptydów odpornościowych – katelicydyny oraz defensyn – stanowiących pierwszą linię obrony organizmu przed infekcjami, zarówno wirusowymi, jak i bakteryjnymi oraz grzybiczymi [14].

Pomimo dwóch niezależnych sposobów pozyskiwania witaminy D3 przez organizm człowieka (synteza endogenna stanowi 80% zasobów, podczas gdy 20% witaminy D3 pochodzi z diety), jej niedobór jest globalnym problemem zdrowotnym, dotykającym ponad miliard dzieci i dorosłych na całym świecie [15]. Główne przyczyny niedoboru witaminy D3, definiowanego jako spadek stężenia $25(\text{OH})\text{D}$ w surowicy dorosłych poniżej 20 ng/ml, to niewystarczająca ekspozycja na światło słoneczne oraz niewielka ilość witaminy D w diecie [16]. Na poziom witaminy D3 w organizmie wpływają również płeć, wiek oraz zaburzenia jej syntezy i wchłaniania skorelowane lub będące następstwem różnych chorób, w tym chorób płuc [17]. Choroby płuc uważane są za problem

cywilizacyjny i stanowią jedną z najczęstszych przyczyn zgonu na świecie. Wśród nich największe wyzwanie stanowią choroby, w których dochodzi do włóknienia płuc, ponieważ ze względu na brak skutecznej terapii cechują się one wysoką śmiertelnością. Przewlekły stan zapalny, odpowiedzialny za przebudowę i włóknienie tkanek, leży u podstaw patogeny wielu chorób płuc, takich jak przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP), idiopatyczne zwłóknienie płuc (ang. *idiopathic pulmonary fibrosis*, IPF), astma oraz alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (AZPP). Przeciwwzpalne działanie witaminy D3 oraz jej rola w hamowaniu włóknienia płuc skłoniły liczne grupy naukowców do badania jej potencjału terapeutycznego w leczeniu wspomnianych jednostek chorobowych.

Celem pracy był przegląd wyników badań *in vivo* oraz badań z udziałem pacjentów nad wpływem witaminy D3 na modulację odpowiedzi immunologicznej w włóknieniu płuc oraz jej potencjalnego zastosowania w prewencji i leczeniu POChP, IPF, astmy oraz AZPP.

METODY PRZEGLĄDU

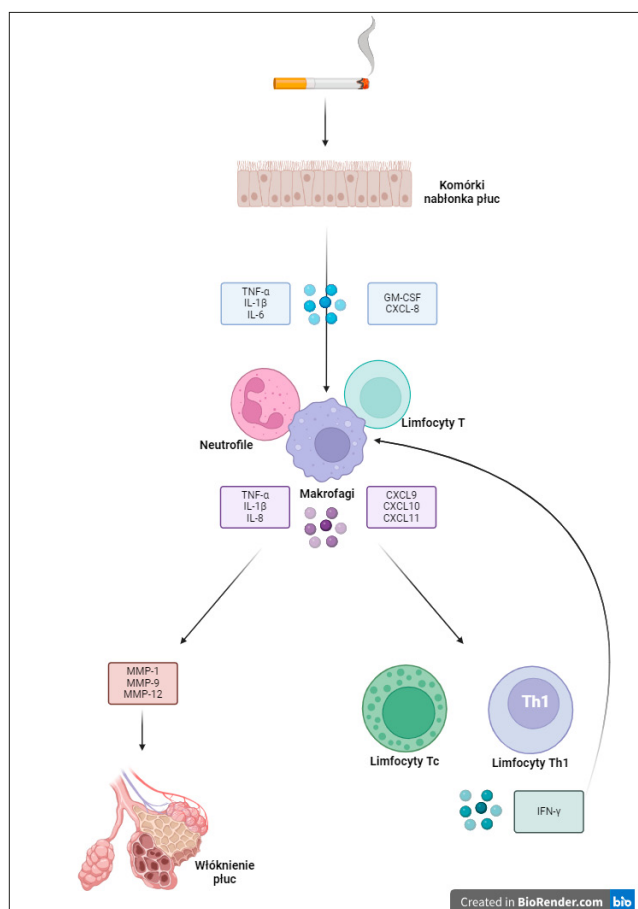
Przeładowanie literatury dokonano przy użyciu baz danych PubMed i Google Scholar. W wyszukiwaniu użyto terminów: „lung fibrosis”, „COPD”, „IPF”, „asthma”, „allergic diseases”, „hypersensitivity pneumonitis”, „immune”, „inflammation”, „inflammatory” w różnych konfiguracjach. Wybrano prace oryginalne badające immunomodulacyjną rolę witaminy D3 i jej metabolitów na modelach zwierzęcych, a także w badaniach klinicznych. W szczególności skupiono się na pracach oceniających wpływ witaminy D3 na liczebność poszczególnych populacji komórek odpornościowych, poziom cytokin i chemokin oraz aktywność szlaków związanych ze stanem zapalnym i włóknieniem płuc.

OPIS STANU WIEDZY

Przewlekła obturacyjna choroba płuc

Przewlekła obturacyjna choroba płuc (ang. COPD, *chronic obstructive pulmonary disease*) to zespół chorobowy charakteryzujący się postępującym i nieodwracalnym ograniczeniem przepływu powietrza w drogach oddechowych. Upośledzenie wymiany gazowej związane jest z zaburzeniami w strukturze małych dróg oddechowych oraz z uszkodzeniem (rozedmą) miąższu płucnego. Objawy POChP są niespecyficzne, dominują duszności i kaszel z odkształceniem płwociny, które nasilają się wraz z postępem choroby [18]. W zaawansowanym stadium choroby obserwuje się włóknienie płuc, które prowadzi do śmierci pacjentów na skutek uduszenia. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) w 2019 roku POChP stanowiła trzecią pod względem częstości przyczynę zgonów na świecie [19], niestety statystyki z ostatnich lat nie uległy poprawie. POChP jest chorobą nieuleczalną, a wszelkie działania lekarskie mają na celu spowolnienie rozwoju choroby oraz złagodzenie jej objawów.

W etiopatogenezie POChP istotną rolę odgrywa przewlekły stan zapalny, który indukuje włóknienie płuc (ryc. 2) [20]. Inicjacja stanu zapalnego następuje w wyniku narażenia na substancje drażniące obecne w powietrzu, a w tym dym tytoniowy, który uznawany jest za główną przyczynę POChP.



Rycina 2. Rola odpowiedzi immunologicznej w patogenezie POChP. Źródło: przygotowano na podstawie informacji zawartych w Barnes, 2016 [22]

Wskutek działania dymu papierosowego dochodzi do aktywacji komórek nabłonka płuc, które wydzielają duże ilości TNF- α , IL-1 β i IL-6 – prozapalnych cytokin regulujących szlak NF- κ B, odgrywający istotną rolę w podtrzymaniu stanu zapalnego [21]. Aktywowane komórki nabłonka płuc produkują także chemokiny, GM-CSF i IL-8, które oddziałują na neutrofile, makrofagi oraz limfocyty T. Spośród wymienionych komórek kluczową rolę w regulacji stanu zapalnego w przebiegu POChP odgrywają makrofagi, które w odpowiedzi na dym papierosowy i czynniki chemotaktyczne produkują m.in. TNF- α , IL-1 β , IL-8, CXCL1 i CCL2. Ponadto komórki nabłonkowe i makrofagi wydzielają CXCL9, CXCL10 i CXCL11, działające chemotaktycznie na limfocyty cytotoksyczne Tc oraz pomocnicze Th1. Obserwowana u pacjentów z POChP zwiększona liczba limfocytów Th1 i Tc produkujących IFN- γ zwrótnie oddziałuje na komórki nabłonkowe i makrofagi, potęgując stan zapalny [22].

Wydzielanie cytokin, takich jak TGF- β , TNF- α czy IL-1 β , przez komórki układu odpornościowego prowadzi do zwiększonej produkcji metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (ang. *matrix metalloproteinases*, MMPs), z których najważniejsze to MMP-1, MMP-9 i MMP-12 [23]. Biorą one udział w aktywacji m.in. szlaków TGF- β /Smad, Wnt, ERK/Akt czy Notch, promujących przebudowę dróg oddechowych i włóknienie w procesie przejścia epithelialno-mezenchymalnego (ang. *epithelial-mesenchymal transition*, EMT) [24].

Z uwagi na udokumentowane właściwości biologiczne, w tym wyciszanie reakcji zapalnej oraz hamowanie samego procesu EMT, postuluje się wykorzystanie witaminy D3

w prewencji POChP, łagodzeniu objawów choroby oraz obniżeniu częstości występowania jej zaostrzeń. W tab. 1 przedstawiono syntetyczne podsumowanie najważniejszych wyników badań nad rolą witaminy D3 w modulacji odpowiedzi immunologicznej w POChP.

Ishii et al. w badaniach wykorzystali model myszy transgenicznym z nadekspresją receptora witaminy D (VDR) [25]. Wyniki RT-PCR wykazały obniżoną ekspresję cytokin prozapalnych związanych z limfocytami Th1 (MIP-1 α , MCP-1, IP-10, MIP-2), MMP-1, MMP-12 i TIMP-1 u myszy z nadekspresją VDR w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie zaobserwowano jednak znaczących różnic w poziomie ekspresji cytokin limfocytów Th2 (IL-4, IL-10, IL-13). Wyniki te zostały potwierdzone barwieniem immunohistochemicznym. Ishii et al. sugerują, że zwiększona ekspresja VDR przyczynia się do zachwiania równowagi w produkcji cytokin Th1 i Th2, a w szczególności w hamowaniu prozapalnej odpowiedzi Th1, co może przeciwdziałać uszkodzeniom pęcherzyków płucnych indukowanym dymem papierosowym.

Kolejne badanie wykorzystujące zwierzęcy model POChP dotyczyło wpływu niedoboru witaminy D3 na cechy kliniczne choroby indukowanej dymem tytoniowym u myszy szczepu C57BL/6J [26]. Grupa kontrolna otrzymywała standardową paszę, natomiast grupa badana karmiona była paszą z obniżoną zawartością witaminy D3. Badano krótkotrwałe (6 tygodni) oraz długotrwałe (12 tygodni) efekty narażenia na dym papierosowy, wykorzystany do indukcji POChP. W badaniu histopatologicznym stwierdzono cechy łagodnej rozedmy oraz zwiększoną liczbę komórek zapalnych u myszy z niedoborem witaminy D3, nawet po krótkotrwałej ekspozycji na dym papierosowy. Ponadto obserwowano podwyższoną ekspresję MMP-12, IL-12, MCP-1 i IP-10 (CXCL-10), które są czynnikami odpowiedzialnymi za przebudowę tkanki płuc oraz rozwój stanu zapalnego. Badanie BALF wykazało zwiększony odsetek neutrofilów u myszy z indukowanym POChP i niedoborem witaminy D3, a także zwiększony poziom IL-8 i TNF- α . Wyniki te pozwoliły badaczom stwierdzić, że niedobór witaminy D3 u myszy z POChP prowadzi do nasilenia objawów choroby, takich jak pogorszenie parametrów oddechowych, rozedma czy przewlekły stan zapalny płuc, co sugeruje jej kluczową rolę w patogenezie choroby.

W badaniu kliniczno-kontrolnym przeprowadzonym przez Fu et al., obejmującym grupę 101 chińskich pacjentów z POChP, oceniano związek między poziomem 25(OH)D3 w surowicy a ciężkością POChP oraz poziomem markerów zapalnych [27]. W tym celu od wszystkich uczestników pobrano surowicę i oznaczono poziom 25(OH)D3. Stwierdzono obniżone stężenie 25(OH)D3 w surowicy pacjentów z POChP w porównaniu do grupy kontrolnej. Ponadto niższy poziom 25(OH)D3 korelował z wyższym stężeniem markerów prozapalnych (CRP, TNF- α , IL-1 β , IL-6, MCP-1), które wiązały się z nasileniem objawów choroby. Zaobserwowano także zwiększony poziom ekspresji podjednostek p65 i p50 czynnika transkrypcyjnego NF- κ B oraz fosforylacji czynników transkrypcyjnych c-Fos i c-Jun w tkance płuc pacjentów z POChP. Badanie to wskazuje na kluczową rolę stanu zapalnego w patogenezie POChP, za sprawą aktywacji szlaków NF- κ B i AP-1 odpowiedzialnych za regulację ekspresji cytokin prozapalnych. Ponadto wykryta ujemna korelacja między poziomem 25(OH)D3 a poziomem cytokin prozapalnych u pacjentów z POChP zdaniem badaczy sugeruje istotną rolę kalcydiolu w regulacji odpowiedzi immunologicznej w omawianej jednostce chorobowej.

Tabela 1. Rola witaminy D3 w odpowiedzi immunologicznej w POChP – przegląd literatury

Model użyty w badaniu	Użyty metabolit witaminy D3	Badane parametry	Wpływ witaminy D3 na badane parametry	Źródło
Myszy transgeniczne z nadekspresją VDR	—	Cytokiny Th1 (MIP-1α, MCP-1, IP-10, MIP-2) Cytokiny Th2 (IL-4, IL-10, IL-13) MMP-1, MMP-12	U myszy z nadekspresją VDR: ↓ cytokiny Th1 cytokiny Th2 – brak różnic ↓ MMP-1, MMP-12	Ishii et al. [25]
Myszy z niedoborem witaminy D3 i POChP indukowanym dymem papierosowym	—	IL-12, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α Ekspresja mRNA IL-12, MCP-1, IP-10, MMP-8, MMP-9, MMP-12 Ocena histopatologiczna	U myszy z niedoborem witaminy D3: ↑ IL-8, TNF-α ↑ ekspresja MMP-12, IL-12, MCP-1 i IP-10 ↑ naciek komórek zapalnych	Heulens et al. [26]
Szczury z POChP i paradontozą	25(OH)D3 (5 µg/kg dootrzewnowo)	RANKL, TNF-α, IL-1, IL-10 Ocena histopatologiczna	↓ RANKL, TNF-α, IL-1 ↑ IL-10 ↓ naciek komórek zapalnych	Han et al. [31]
Pacjenci z POChP i niedoborem witaminy D3	—	CRP, TNF-α, IL-1β, IL-6, MCP-1 Szlaki NF-κB, AP-1	U pacjentów z niedoborem witaminy D3: ↓ CRP, TNF-α, MCP-1 ↑ aktywność NF-κB, AP-1	Fu et al. [27]
Pacjenci z POChP i niedoborem witaminy D3	—	CRP, TNF-α, IL-6	U pacjentów z niedoborem witaminy D3: ↓ CRP, IL-6	Jorde et al. [28]
Pacjenci z POChP i niedoborem witaminy D	25(OH)D3 (jednorazowa dawka 300 000 j.m.)	IL-6, IL-8, hs-CRP	↓ IL-6 IL-8, hs-CRP – brak różnic	Dastan et al. [29]
Pacjenci z POChP i niedoborem witaminy D	25(OH)D3 (5600 j.m. tygodniowo przez 1 rok)	CRP, IL-6, LL-37	CRP, IL-6, LL-37 – brak różnic	Rafiq et al. [30]

Źródło: [25–31].

Hipotezę tę starały się potwierdzić również inne grupy badawcze. Jorde et al. przeprowadzili przekrojowe badanie obserwacyjne z udziałem 94 pacjentów z POChP zrekrutowanych w szpitalach w Niemczech [28]. Uczestników podzielono na dwie grupy: z częstymi zaostrzeniami (co najmniej 2 w roku) i rzadkimi zaostrzeniami (1 lub brak zaostrzeń w ciągu roku). Zaobserwowano wzrost poziomu CRP, TNF-α i IL-6 w surowicy u pacjentów z częstymi zaostrzeniami POChP oraz ujemną korelację między poziomem 25(OH)D3 a poziomem CRP i IL-6. Nie zaobserwowano natomiast różnic w poziomie 25(OH)D3 w zależności od częstości zaostrzeń. Wyniki te zdają się potwierdzać zdolność witaminy D3 do łagodzenia reakcji zapalnych u pacjentów z POChP.

Do podobnych wniosków doszli Dastan et al., którzy przeprowadzili badanie kliniczne z udziałem 70 irańskich pacjentów z zaostrzeniami POChP i niedoborem witaminy D3 [29]. Pacjenci podzieleni zostali na dwie grupy po 35 osób. Grupa badana otrzymała 25(OH)D3 w jednorazowej dawce 300 000 j.m. domięśniowo, natomiast grupie kontrolnej podano placebo. Wszyscy pacjenci przyjmowali standardowe leki stosowane w przypadku zaostrzeń POChP. Grupa leczona kalcydiolem wykazała znacznie niższy poziom IL-6 w porównaniu z grupą kontrolną. Nie zaobserwowano różnic w poziomie IL-8 i hs-CRP pomiędzy grupami. Ujemną korelację między poziomem 25(OH)D3 a poziomem markerów stanu zapalnego u pacjentów z POChP otrzymujących kalcydiol wiązano z jej działaniem immunomodulacyjnym.

Korzystnego wpływu suplementacji witaminy D3 na odpowiedź immunologiczną u pacjentów z POChP i niedoborem witaminy D3 nie potwierdziły natomiast obserwacje Rafiq et al. [30]. Wieloośrodkowe badanie kliniczne z udziałem 155 pacjentów z POChP i niedoborem witaminy D3 przeprowadzono w 13 szpitalach na terenie Holandii. Uczestnicy z grupy badanej otrzymywali 3 tabletki witaminy D3 po 5600 j.m. tygodniowo przez 1 rok, a pozostałym podawano placebo. Wyniki wykazały wyższy poziom 25(OH)D3 u osób suplementujących witaminę D3 w porównaniu do grupy kontrolnej, jednak nie stwierdzono różnicy w poziomie CRP,

IL-6 i LL-37 pomiędzy badanymi grupami ani wpływu witaminy D3 na zmniejszenie częstości występowania zaostrzeń u pacjentów z POChP. Autorzy sugerują, że fakt, iż otrzymane wyniki nie były istotne statystycznie, może wynikać z niewystarczającej liczebności grup badanych.

Interesujących informacji dostarczyły wyniki badań Han et al. przeprowadzone na szczurach z paradontozą i POChP indukowanym dymem papierosowym [31]. Zwierzęta podzielono na 5 grup: 1) grupa kontrolna (N); 2) grupa z paradontozą (P); 3) grupa z paradontozą i POChP (CP); 4) grupa z paradontozą leczona witaminą D3 (PV); 5) grupa z paradontozą i POChP leczona witaminą D3 (CPV). Szczury z grup PV i CPV otrzymywały 25(OH)D3 w dawce 5 µg/kg dootrzewnowo co 2 dni przez 8 tygodni. W płucach myszy z grupy CP zaobserwowano zwężenia oskrzeli, pogrubienie nabłonka dróg oddechowych oraz nacieki komórek zapalnych, który zmniejszył się wskutek działania 25(OH)D3 w grupie CPV. Ponadto poziom cytokin zapalnych RANKL, TNF-α i IL-1 był znacząco podwyższony w grupie CP w porównaniu do grupy kontrolnej, a suplementacja kalcydiolem znacznie obniżyła ich poziom w grupach PV i CPV. Stężenie IL-10 było najniższe w grupach P i CP, a kalcydiol w znaczący sposób je podwyższył. Ograniczeniem tego badania był brak grupy zwierząt z samym POChP, bez współistniejącej paradontozy. Niemniej jednak autorzy badania wskazują, że uzyskane wyniki świadczą o korzystnym wpływie 25(OH)D3 na redukcję reakcji zapalnej zarówno w POChP, jak i paradontozie.

Idiopatyczne włóknienie płuc (IPF)

Idiopatyczne włóknienie płuc (ang. *idiopathic pulmonary fibrosis*, IPF) jest chorobą płuc o nieznanej etiologii, charakteryzującą się przewlekłym i postępującym śródmiąższowym zapaleniem płuc oraz niekorzystnym rokowaniem. Mechanizmy patogenezы IPF nie są dokładnie poznane, jednak zakłada się, że uszkodzenie nabłonka płuc pod wpływem czynników zewnętrznych, takich jak dym papierosowy czy pył, prowadzi do przewlekłego stanu zapalnego. Przedłużające

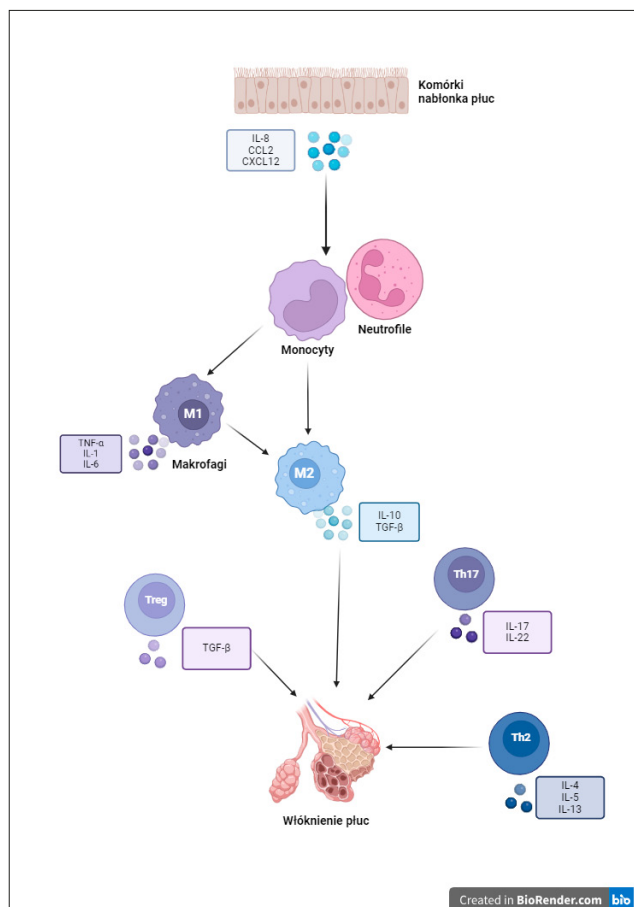
się zapalenie sprzyja różnicowaniu się fibroblastów w miofibroblasty, co skutkuje zmianami strukturalnymi płuc i rozwojem włóknienia [32]. IPF najczęściej dotyka osoby starsze i objawia się trudnościami w oddychaniu, dusznościami, kaszlem, osłabieniem, czemu towarzyszy utrata masy ciała. Mimo dostępnych form leczenia możliwe jest jedynie spowolnienie rozwoju choroby i łagodzenie jej objawów. Ze względu na brak skutecznej terapii IPF cechuje się wysoką śmiertelnością.

W patogenezie IPF, podobnie jak w przypadku POChP, uczestniczą zarówno komórki odpowiedzi swoistej, jak i nieswoistej (ryc. 3) [33]. Uszkodzone komórki nabłonka wydzielają chemokiny IL-8, CCL2 i CXCL12, które powodują napływ neutrofilów i monocytów. Te ostatnie dojrzeją w makrofagi, które mogą różnicować się w jeden z dwóch podtypów: M1 (klasyczne) lub M2 (alternatywne). Aktywowane przez LPS i IFN- γ makrofagi typu M1 produkują TNF- α , IL-1 i IL-6, a w warunkach przewlekłego stanu zapalnego ulegają konwersji do makrofagów typu M2 wydzielających IL-10 i TGF- β , które pełnią funkcje profibrotyczne [34]. Ponadto liczne badania wskazują na istotne znaczenie limfocytów T, a szczególnie równowagi pomiędzy limfocytami Th1, produkującymi przeciwłóknieniowe IFN- γ i IL-12, a limfocytami Th2, wydzielającymi IL-4, IL-5 i IL-13, które indukują włóknienie. Nie do końca poznana jest natomiast rola limfocytów Th17 i związanej z nimi IL-17 w patogenezie IPF, ale pojawiają się doniesienia, że ich obecność w początkowej fazie choroby jest konieczna do utrzymania stanu zapalnego i indukcji włóknienia [35]. Z drugiej jednak strony, równowaga między limfocytami Th17 a limfocytami Treg wydaje się kluczowa dla rozwoju IPF. Pomimo że limfocyty Treg wyciszają odpowiedź zapalną, to poprzez wydzielanie TGF- β promują włóknienie. Badania wykazały zwiększony poziom Treg u pacjentów z zaawansowanym IPF [36], co może sugerować ich ochronną funkcję w późniejszej fazie choroby, jednak we wczesnej fazie rozwoju IPF obecność Treg może promować włóknienie [37].

Centralnym mediatorem włóknienia płuc w IPF jest wcześniej wspomniany TGF- β wydzielany m.in. przez limfocyty Treg i makrofagi M2. TGF- β odpowiada za obserwowaną w IPF patologiczną przebudowę tkanek, u podłoża której leży aktywacja szlaków związanych z EMT (Wnt, TGF, Notch) oraz za zwiększone wydzielanie MMP-2 i MMP-9 odpowiedzialnych za przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej.

Dzięki zdolności witaminy D3 do modulacji odpowiedzi immunologicznej, a przede wszystkim wyciszenia przewlekłego stanu zapalnego obserwowanego w przebiegu IPF, istnieje możliwość wykorzystania jej metabolitów w prewencji tej choroby. Poniżej oraz w tab. 2 zaprezentowano podsumowanie najważniejszych wyników badań z tego obszaru.

W badaniu Zhang et al. myszy szczepu C57BL/6 podzielono na 4 grupy: grupę kontrolną, grupę z bleomycyną, grupę z bleomycyną otrzymującą 1,25(OH) $_2$ D3 oraz grupę otrzymującą 1,25(OH) $_2$ D3 [38]. Kalcytrol podawano w dawce 0,5 μ g/kg codziennie przez cały czas trwania eksperymentu. U myszy z IPF indukowanym bleomycyną stwierdzono pogrubienie przegród pęcherzykowych, zwiększone odkładanie kolagenu oraz nagromadzenie komórek zapalnych. Łączne podanie bleomycyny i kalcytrolu wyraźnie osłabiło powyższe zmiany pro-włóknieniowe. Ponadto analiza BALF wykazała znaczny spadek ogólnej liczby komórek zapalnych, w tym makrofagów pęcherzykowych, limfocytów i eozynofili, w grupie leczonej kalcytrolem w stosunku do grupy



Rycina 3. Rola odpowiedzi immunologicznej w patogenezie IPF.

Źródło: przygotowane na podstawie informacji zawartych w: Heukels, 2019 oraz Kolahian, 2016 [33, 34]

z bleomycyną. Dodatkowo terapia kalcytrolem obniżała poziom TGF- β , patologicznie podwyższony przez podanie bleomycyny. W omawianym badaniu oceniano również stężenie cytokin (IFN- γ , IL-4, IL-12, IL-13) i metaloproteinaz (MMP-2, MMP-9), jednak zarejestrowane zmiany nie były istotne statystycznie. Zdaniem autorów kalcytrol może znaleźć zastosowanie w leczeniu IPF ze względu na przeciwdziałanie wzmożonemu napływowi komórek zapalnych do mięszu płuc oraz hamowanie procesu ich włóknienia.

Ponadto dwa inne zespoły badawcze analizowały wpływ metabolitów witaminy D3 na przekazywanie sygnałów w szlakach NF- κ B, MAPK i Akt, do czego wykorzystano mysie modele IPF [39, 40].

Tan et al. w swoich badaniach skupili się na kalcytrolem, który był podawany dootrzewnowo myszom C57BL/6J przed dotchawczym podaniem bleomycyny [39]. Efekty 1,25(OH) $_2$ D3 obserwowano po 1, 7 oraz 14 dniach od indukcji włóknienia. Stwierdzono niewielki naciek komórek odpornościowych w grupie z bleomycyną, który to efekt uległ osłabieniu w odpowiedzi na kalcytrol, a pozytywny wpływ zaproponowanej terapii był skorelowany ze stężeniem witaminy D3. Określono także ekspresję mRNA cytokin, takich jak TNF- α , IL-1 β , IL-6, oraz chemokin MCP-1, MIP-1 α i MIP-2. Zaobserwowano, że u myszy leczonych kalcytrolem poziom badanych markerów zapalnych był znacząco niższy niż w grupie z bleomycyną, a korzystne działanie witaminy D3 było zależne od jej dawki. Analiza metodą Western blot wykazała redukcję ekspresji czynnika transkrypcyjnego

Tabela 2. Wpływ metabolitów witaminy D3 na modulację odpowiedzi immunologicznej w IPF – przegląd literatury

Model użyty w badaniu	Użyty metabolit witaminy D3	Badane parametry	Wpływ witaminy D3 na badane parametry	Źródło
Myszy C57BL/6, model włóknienia indukowany bleomycyną (podanie dotchawicze)	1,25(OH) ₂ D ₃ (0,5 µg/kg – podanie przez zgłębnik)	TGF-β IFN-γ, IL-4, IL-12, IL-13 MMP-2, MMP-9 Ocena histopatologiczna	↓ TGF-β IFN-γ, IL-4, IL-12, IL-13 – brak różnic MMP-2, MMP-9 – brak różnic ↓ przegrody pęcherzykowe ↓ odkładanie kolagenu ↓ naciek zapalny	Zhang et al. [38]
Myszy C57BL/6J, model włóknienia indukowany bleomycyną (podanie dotchawicze)	1,25(OH) ₂ D ₃ (0,2, 1 i 5 µg/kg – podanie dootrzewnowe)	Cytokiny (TNF-α, IL-1β, IL-6) Chemokiny (MCP-1, MIP-1α, MIP-2) Białka szlaków NF-κB, p38 MAPK i PI3K/Akt Ocena histopatologiczna	↓ cytokiny, chemokiny ↓ aktywność NF-κB, p38 MAPK i PI3K/Akt ↓ naciek zapalny	Tan et al. [39]
Myszy C57BL/6N, model włóknienia indukowany bleomycyną (podanie dotchawicze)	Cholekalcyferol (1 i 2 µg/kg – podanie dootrzewnowe)	IL-4, TGF-β Białka szlaku MAPK Ocena histopatologiczna	↓ IL-4, TGF-β ↓ aktywność szlaku MAPK ↓ naciek zapalny	Zhu et al. [40]
Myszy C57BL/6, model włóknienia indukowany parakwatem (podanie dootrzewnowe)	1,25(OH) ₂ D ₃ (5 µg/kg – podanie dootrzewnowe)	Analiza BALF (leukocyty) IL-6, TNF-α, IL-17, IL-10 MMP-9 TGF-β	↓ komórki zapalne w BALF ↓ IL-6, IL-17, IL-10 TNF-α – brak różnic ↓ MMP-9, TGF-β	Schapochnik et al. [41]
Pacjenci z IPF	Witamina D (50 000 j.m. tygodniowo)	TGF-β, hs-CRP	↓ TGF-β, hs-CRP	Yavari et al. [42]

Źródło: [38–42]

NF-κB p65 oraz fosforylacji białek Akt i p38 po podaniu kalcytriolu myszom z IPF. Otrzymane wyniki pozwoliły badaczom stwierdzić, że witamina D3 hamuje aktywację szlaków NF-κB i MAPK, regulujących ekspresję cytokin i chemokin biorących udział w odpowiedzi immunologicznej, będącej podstawą rozwoju włóknienia płuc.

Zhu et al. indukowali włóknienie płuc u myszy C57BL/6N poprzez jednorazowe dotchawicze podanie bleomycyny [40]. Następnie po 14 dniach jednej grupie zwierząt podawano dootrzewnowo cholekalcyferol (1 i 2 µg/kg) codziennie przez 14 dni, a grupie kontrolnej – taką samą ilość soli fizjologicznej. Analiza poziomu IL-4 i TGF-β metodą ELISA wykazała zwiększony poziom tych cytokin u myszy z indukowanym włóknieniem, który wyraźnie spadał po podaniu cholekalcyferolu. Także w badaniu histopatologicznym u myszy z IPF leczonych cholekalcyferolem naciek zapalny oraz zmiany strukturalne były widocznie mniejsze niż w grupie nieleczonej. Metoda immunohistochemiczna pozwoliła stwierdzić, że witamina D3 zmniejszyła fosforylację białek p38 i ERK1/2 w tkance płuc, podwyższoną w wyniku włóknienia. Z uwagi na zidentyfikowany korzystny wpływ terapii cholekalcyferolem na przekazywanie sygnałów w szlakach MAPK, które inicjują patologiczną przebudowę tkanek, badania kontynuowano *in silico*. Analiza sieci interakcji białko-białko z uwzględnieniem czynników związanych z IPF oraz będących celami dla witaminy D3, wskazała na szlak MAPK jako mający największy związek z korzystnym działaniem witaminy D3 w IPF. Dalsze analizy sugerują, że witamina D3 może hamować przekazywanie sygnałów w szlakach MAPK poprzez zmniejszanie ekspresji białka PSAT1. Badanie to potwierdziło terapeutyczny wpływ witaminy D3 zarówno na regulację odpowiedzi immunologicznej, jak i hamowanie kluczowych szlaków prowadzących do rozwoju włóknienia.

Obok badań z wykorzystaniem bleomycyny, do ciekawych wniosków doprowadziło również badanie Schapochnik et al., prowadzone na mysim modelu IPF, indukowanym parakwatem [41]. Zwierzętom podawano dootrzewnowo 5 µg/kg 1,25(OH)₂D₃ codziennie przez 7 dni. Wykazano, że ogólna liczba komórek odpornościowych w BALF była niższa w grupie leczonej kalcytriolem w porównaniu do grupy,

która otrzymywała parakwat. Kalcytriol zwiększył także nieznacznie poziom makrofagów, obniżony w wyniku podania parakwatu. Oceniono także poziom cytokin IL-6, TNF-α, IL-17 i IL-10 w tkance płuc myszy. Zwierzęta z indukowanym włóknieniem miały wyższy poziom cytokin prozapalnych, a podanie kalcytriolu zredukowało ilość IL-6, IL-17 i IL-10 w płucach. Ponadto efekt zwłóknieniowy parakwatu korelował ze zwiększonym poziomem MMP-9 i TGF-β w tkance płuc. Podanie kalcytriolu spowodowało spadek stężenia tych czynników. Schapochnik et al. wskazują na potencjalną rolę kalcytriolu w leczeniu IPF poprzez hamowanie odpowiedzi immunologicznej, w tym zmniejszenie napływu komórek zapalnych i obniżenie stężenia cytokin prozapalnych (IL-6 i IL-17), a w konsekwencji obniżenie poziomu TGF-β, głównego mediatora włóknienia płuc. Eksperyment nie wykazał jednak wpływu kalcytriolu na wydzielanie TNF-α, zwrócono zatem uwagę na konieczność prowadzenia dalszych badań w tym kierunku.

Niestety brakuje badań klinicznych skoncentrowanych na wpływie witaminy D3 na markery stanu zapalnego u pacjentów z IPF. Tematem tym zainteresowała się grupa badaczy z Iranu pod kierunkiem M. Yavari [42]. Przeprowadzili oni badanie, którym objęto 36 pacjentów z IPF. Uczestnicy badania otrzymywali suplementy trzech witamin: witamin E (200 j.m./dzień), witaminy C (250 mg co drugi dzień) oraz witaminy D (50 000 j.m./tydzień). Zaobserwowano obniżony poziom hs-CRP i TGF-β oraz markerów stresu oksydacyjnego po zastosowaniu suplementów witaminowych. Ograniczeniem badania była jednoczesna suplementacja trzema różnymi witaminami, co utrudnia określenie indywidualnego wpływu każdej z nich na proces włóknienia płuc. Autorzy na podstawie wyników wcześniejszych badań przypisali redukcję markerów stanu zapalnego i włóknienia efektem działania witaminy D3. Konieczne są jednak dalsze badania w celu potwierdzenia tych wniosków.

Astma alergiczna

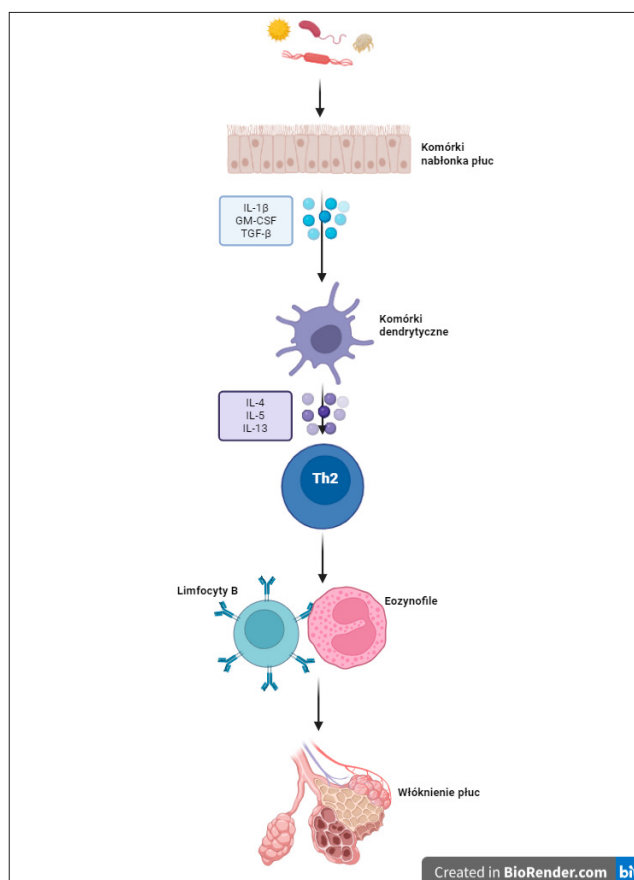
Astma stanowi heterogenną grupę chorób, charakteryzujących się zwężeniem oskrzeli i ich niekontrolowanymi skurczami, spowodowanymi przewlekłym stanem zapalnym.

Z uwagi na etiologię w tej grupie chorób wyróżnia się astmę alergiczną (zewnętrzno pochodną), związaną z działaniem specyficznych przeciwciał IgE skierowanych przeciwko konkretnemu alergenowi, oraz astmę niealergiczną (wewnętrzno pochodną), która rozwija się głównie u osób dorosłych bez udziału alergenów i specyficznych przeciwciał. Do rozwoju astmy alergiczej dochodzi głównie w odpowiedzi na alergeny zawarte w pyłkach traw i drzew, roztoczach kurzu domowego czy w sierści zwierząt, które wywołują reakcje nadwrażliwości typu I. Nieprawidłowa odpowiedź immunologiczna na powszechnie występujące alergeny indukuje stan zapalny, czemu towarzyszy pogrubienie błony śluzowej oskrzeli oraz nadmierne wytwarzanie śluzu. Przedłużający się stan zapalny może doprowadzić do trwałej przebudowy dróg oddechowych i utrwalenia ich zwężenia, tzw. obturacji oskrzeli. Do głównych objawów astmy oskrzelowej zalicza się duszności, kaszel, świszczący oddech i ucisk w klatce piersiowej.

W przebiegu astmy alergiczej antygeny podrażniają komórki nabłonka płuc, które wydzielają m.in. IL-1 β , GM-CSF i TGF- β [43]. Czynniki te oddziałują na komórki dendrytyczne, które z kolei pobudzają limfocyty Th2 do produkcji cytokin takich jak IL-4, IL-5 i IL-13 [44]. Prowadzi to do nagromadzenia się eozynofili oraz stymulacji dojrzewania limfocytów B produkujących specyficzne przeciwciała IgE. Obecność przeciwciał i eozynofilia nasila stan zapalny oraz promuje wcześniej wspomnianą przebudowę dróg oddechowych (ryc. 4).

Możliwość wykorzystania witaminy D3 do modulacji nieprawidłowej odpowiedzi na alergeny i w konsekwencji prewencji astmy alergiczej była przedmiotem kilku badań (tab. 3). Większość z nich przeprowadzono na myszach, u których patologiczną przebudowę dróg oddechowych indukowano owoalbuminą (główny składnik białka jaja kurzego).

Z wykorzystaniem wspomnianego modelu badania prowadzili Matheu et al. [45]. Wszyscy szczepu B10.RIII karmiono paszą ze standardową zawartością witaminy D, a podczas eksperymentu podawano im podskórnie 100 ng kalcytriolu. Zwierzęta podzielono na 4 grupy: w pierwszej myszy



Rycina 4. Rola odpowiedzi immunologicznej w patogenezie astmy alergiczej. Źródło: przygotowano na podstawie informacji zawartych w: Hammad, 2021 oraz Oppenheimer, 2022 [43, 44]

otrzymywały kalcytriol co dwa dni, począwszy od dnia przed podaniem owoalbuminy; w drugiej kalcytriol został podany w 5., 7. i 9. dniu po immunizacji; w trzeciej kalcytriol był podawany przez cały czas trwania eksperymentu (co dwa dni, od 3. dnia przed immunizacją do 9. dnia); czwarta

Tabela 3. Wpływ metabolitów witaminy D3 na odpowiedź immunologiczną w astmie alergiczej – przegląd literatury

Model użyty w badaniu	Użyty metabolit witaminy D3	Badane parametry	Wpływ witaminy D3 na badane parametry	Źródło
Myszy B10.RIII, model astmy indukowany owoalbuminą (podanie dootrzewnowe)	1,25(OH) $_2$ D (100 ng – podanie podskórne)	IL-4, IL-5, IL-13, IFN- γ Przeciwciała IgE Ocena histopatologiczna (eozynofile)	\uparrow IL-4, IL-13 \downarrow IL-5, IFN- γ \uparrow IgE \downarrow eozynofile	Matheu et al. [45]
Myszy BALB/c, model astmy indukowany owoalbuminą (podanie podskórne)	1,25(OH) $_2$ D3 (100 ng – podanie podskórne)	IL-4, IL-5, IL-10, IFN- γ , TGF- β Przeciwciała IgE Ocena populacji leukocytów	\downarrow IL-4, IL-5 \uparrow IL-10, TGF- β , IFN- γ \downarrow komórki zapalne przeciwciała IgE – brak różnic	Cho et al. [46]
Myszy BALB/c, model astmy indukowany owoalbuminą (podanie dootrzewnowe)	Witamina D3 (2000 j.m./kg lub 10 000 j.m./kg – podanie doustne)	Ocena populacji leukocytów IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-17, TNF- α Białka szlaku NF- κ B	\uparrow Treg \uparrow IL-10 \downarrow TNF- α , IL-6, IL-17 \downarrow aktywność szlaku NF- κ B	Agrawal et al. [47]
Myszy BALB/c, model astmy indukowany owoalbuminą (podanie dootrzewnowe)	1,25(OH) $_2$ D3 (10 ng – podanie podskórne)	IL-5, IL-10, IL-13, TGF- β Przeciwciała IgE	\downarrow IL-5 \uparrow IL-10, TGF- β \downarrow IgE	Taher et al. [48]
Pacjenci z astmą i historią zakażeń górnych dróg oddechowych	1,25(OH) $_2$ D3 (0,25 μ g dziennie)	IL-5, IL-9, IL-10, IL-13, IFN- γ Katelicydyna Przeciwciała IgE Ocena populacji leukocytów	\downarrow IL-5, IL-9, IL-13 \uparrow IL-10, IFN- γ \uparrow katelicydyna \downarrow IgE, eozynofile	Ramos-Martinez et al. [49]
Pacjenci z astmą i niskim poziomem witaminy D	witamina D (14 000 j.m. tygodniowo)	Przeciwciała IgE, hs-CRP IL-5, IL-10, IL-17, IFN- γ	IgE, hs-CRP – brak różnic IL-5, IL-10, IL-17, IFN- γ – brak różnic	Bar Yoseph et al. [50]

Źródło: [45–50]

grupa otrzymywała placebo. Dodatkowo między 7. a 10. dniem eksperymentu, przez cztery kolejne dni, zwierzętom podawano dodatkowe porcje owoalbuminy. Stwierdzono istotnie wyższy poziom IL-4 i IL-13 oraz obniżony poziom IL-5 i IFN- γ we krwi u myszy przyjmujących kalcytriol. W BALF zaobserwowano podobne zmiany, z wyjątkiem IL-4, której poziom nie uległ istotnym zmianom. Obniżenie stężenia IL-5, w odpowiedzi na kalcytriol, korelowało ze zmniejszeniem liczby eozynofiliów w tkance płuc, co potwierdzono w badaniu histopatologicznym. Co ciekawe, myszy otrzymujące kalcytriol miały wyższy poziom przeciwciał IgE niż myszy z grupy kontrolnej, co różni się od większości doniesień wskazujących na obniżenie poziomu IgE pod wpływem witaminy D3. Autorzy sugerują, że efekt ten może być związany z czasem podania kalcytriolu – suplementacja we wczesnej fazie immunizacji może promować reakcję alergiczną i wzrost poziomu IgE, natomiast przeprowadzona na etapie późniejszym może mieć działanie przeciwzapalne poprzez redukcję stężenia IL-5 i liczby eozynofiliów.

Cho et al. również prowadzili badania z wykorzystaniem mysiego modelu astmy alergicznej indukowanej owoalbuminą, ale z wykorzystaniem szczepu BALB/c [46]. Jedna grupa myszy otrzymywała 100 ng 1,25(OH)₂D₃ podskórnie przed podaniem owoalbuminy (grupa prewencyjna), druga otrzymywała taką samą dawkę 1,25(OH)₂D₃ po każdym podaniu owoalbuminy (grupa leczona), a trzecia zarówno przed i po indukcji astmy (grupa podwójna). Oddzielną grupę stanowiły myszy z astmą. Liczba komórek zapalnych (eozynofiliów, neutrofilów, limfocytów, makrofagów) była niższa w grupach otrzymujących witaminę D w porównaniu z grupą otrzymującą samą owoalbuminę, jednakże nie zaobserwowano różnic w hamowaniu reakcji zapalnej w zależności od czasu podania kalcytriolu. Odnotowano natomiast, że myszy leczone kalcytriolem miały niższy poziom IL-4 i IL-5 niż myszy z astmą, co wskazuje na przeciwzapalne działanie witaminy D3. Poziom IL-10 był wyższy w grupach prewencyjnej i leczonej, co sugeruje wzrost immunosupresji, natomiast poziom TGF- β w tkance płuc był wyższy we wszystkich grupach otrzymujących kalcytriol. Może to wskazywać na jego rolę w modulacji odpowiedzi immunologicznej, poprzez stymulację limfocytów Treg hamujących rozwój stanu zapalnego. Poziom IFN- γ w BALF był wyższy w grupie podwójnej w porównaniu z grupą kontrolną. Nie zaobserwowano istotnych różnic w poziomie przeciwciał IgE pomiędzy badanymi grupami. Autorzy podkreślają, że prewencyjne podanie kalcytriolu jest korzystniejsze dla regulacji odpowiedzi immunologicznej niż stosowanie go jako środka terapeutycznego, a podwójne podanie tej substancji (przed i po indukcji astmy) istotnie potęguje działanie immunomodulacyjne.

Do ciekawych wniosków doprowadziły wyniki badań Agrawal et al. [47]. Myszy szczepu BALB/c podzielono na 3 następujące grupy: 1) grupa z niedoborem witaminy D3; 2) grupa z wystarczającym poziomem witaminy D3 (2000 j.m./kg); 3) grupa otrzymująca zwiększoną dawkę witaminy D3 (10 000 j.m./kg). Następnie myszy otrzymały owoalbuminę w celu wywołania objawów astmy, natomiast zwierzęta z grupy kontrolnej podano placebo. W grupie z niedoborem i wystarczającym poziomem witaminy D3 odnotowano zmniejszony odsetek limfocytów Treg we krwi, podczas gdy zwiększona suplementacja witaminy D3 znacząco podniosła ich odsetek. U myszy z niedoborem witaminy D3 poddanych badaniu BALF zaobserwowano szczególnie wysoki poziom

cytokin Th2 (IL-4, IL-5 i IL-13), natomiast dodatkowa suplementacja witaminy D3 zwiększyła poziom IL-10 oraz zmniejszyła TNF- α , IL-6 i IL-17, co zdaje się potwierdzać jej działanie przeciwzapalne. Ponadto poziomy ekspresji białek szlaku NF- κ B (importyny- α 3 i RelA) były niższe u zwierząt otrzymujących dodatkową porcję witaminy D3, co potwierdza jej rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej. Autorzy badania na podstawie otrzymanych wyników sugerują, że witamina D3 hamuje rozwój astmy poprzez zwiększenie odsetka limfocytów Treg, które stymulują produkcję przeciwzapalnej IL-10, tłumiącej reakcję nadwrażliwości typu I.

Omawiając wyniki badań *in vivo*, warto również wspomnieć o eksperymencie przeprowadzonym przez Taher et al. [48]. Celem badania była ocena wpływu witaminy D na skuteczność immunoterapii alergenowej u myszy z astmą indukowaną owoalbuminą, którym jednocześnie podawano podskórnie kalcytriol w dawce 10 ng. Przeprowadzone badania wykazały, że w porównaniu do grupy kontrolnej, jednoczesne podanie kalcytriolu i immunoterapii, obniżyło liczbę eozynofiliów oraz stężenie IL-5 w BALF i tkance płuc. Obniżało również stężenie przeciwciał IgE w surowicy, jednocześnie zaobserwowano wzrost poziomu IL-10 w płucach i TGF- β w surowicy. Warto zauważyć, że zastosowanie przeciwciał przeciwko IL-10 i TGF- β prowadziło do wzrostu liczby eozynofiliów w BALF oraz podwyższenia poziomu IL-5 i IL-13, co wskazuje na ich istotną rolę w modulacji odpowiedzi immunologicznej w astmie. Ponadto PS-1145, inhibitor szlaku NF- κ B, podany jednocześnie z immunoterapią zmniejszył liczbę eozynofiliów i zwiększył poziom IL-10 w sposób porównywalny do kalcytriolu. Zdaniem autorów uzyskane wyniki dowodzą, że kalcytriol, podobnie jak PS-1145, działa jako inhibitor szlaku NF- κ B, wzmacniając działanie immunoterapii alergenowej.

Korzystny wpływ witaminy D3 na odpowiedź immunologiczną w przebiegu astmy wykazano również w badaniach klinicznych [49, 50].

W przeprowadzonym w Meksyku badaniu z udziałem 86 dorosłych pacjentów z rozpoznaniem astmy oraz historią bakteryjnych zakażeń górnych dróg oddechowych jednej grupie pacjentów podawano doustnie 1,25(OH)₂D₃ w dawce 0,25 μ g dziennie przez 6 miesięcy, natomiast grupa kontrolna otrzymywała placebo [49]. Wszyscy uczestnicy badania przyjmowali leki kortykosteroidowe. Suplementacja kalcytriolem obniżyła odsetek eozynofiliów, poziom IgE oraz cytokin prozapalnych (IL-5, IL-9, IL-13), jednocześnie zwiększając stężenie przeciwzapalnych IL-10 i IFN- γ u pacjentów z astmą. Dodatkowo u 90% pacjentów leczonych kalcytriolem wykryto obecność katelicydyny (peptydu odpornościowego o aktywności przeciwbakteryjnej), której ekspresję nadzoruje witamina D3. W opinii badaczy uzyskane wyniki wskazują na terapeutyczny potencjał witaminy D3, która może wspomagać leczenie kortykosteroidami.

Badanie przeprowadzone przez Bar Yosepha et al. obejmowało 39 dzieci w wieku 6–18 lat z astmą oraz niskim poziomem witaminy D (< 30 ng/ml). Grupa badana otrzymywała przez 6 tygodni 14 000 j.m. witaminy D tygodniowo, a grupa kontrolna – placebo [50]. Nie zaobserwowano różnic w poziomie IgE i hs-CRP we krwi dzieci z grupy badanej i kontrolnej. Ponadto w obu grupach zanotowano zmiany w poziomach cytokin IL-5, IL-10, IL-17 i IFN- γ w kondensacie powietrza wydychanego, co sugeruje brak związku między tymi zmianami a poziomem witaminy D. Autorzy przyznają, że jednym z ograniczeń badania była mała grupa pacjentów,

a także lekki stopień zaawansowania choroby, czego efektem było to, iż zaburzenia odpowiedzi immunologicznej, będące celem dla potencjalnej terapii witaminą D3, były niewielkie.

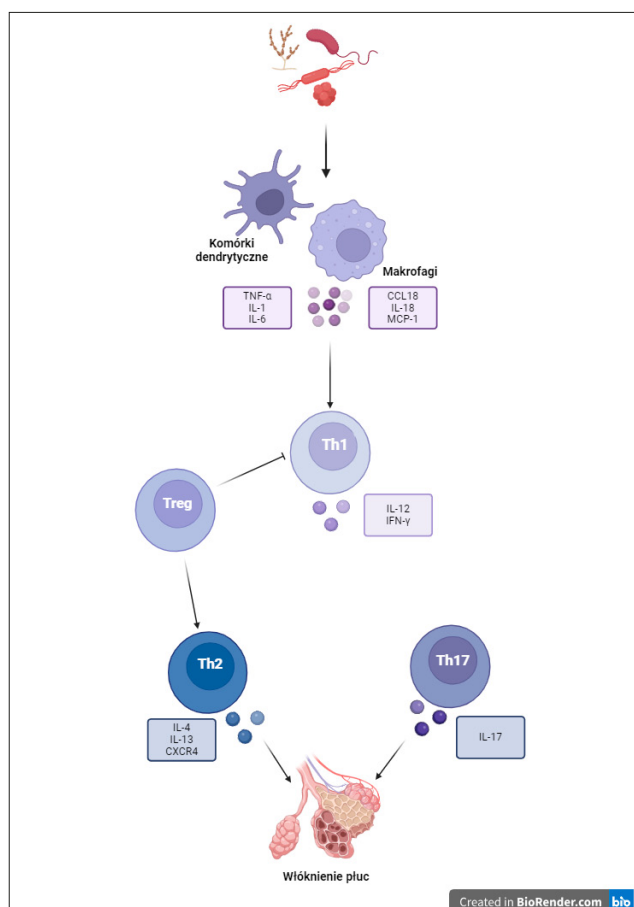
Alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych

Alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (AZPP) jest chorobą zapalną miąższu płuc i oskrzelików, wywołaną powtarzaną ekspozycją organizmu na wziewne antygeny środowiskowe pochodzenia organicznego lub nieorganicznego, na które pacjent jest uczulony. Zapalenie to ma charakter reakcji nadwrażliwości typu III (kompleksy immunologiczne) i typu IV (reakcja komórkowa typu późnego). Zapalenie ma charakter głównie limfocytarny i ziarniniakowy. W skrajnych przypadkach utrzymujący się przewlekłe stan zapalny prowadzi do włóknienia płuc [51]. Obecnie znanych jest blisko 300 antygenów (w tym bakterie, grzyby, białka roślinne i zwierzęce, substancje chemiczne i metale), które u podatnych osób mogą doprowadzić do rozwoju AZPP [52]. W zależności od źródła i rodzaju antygenów wyróżniono kilka odmian AZPP, jednak wszystkie wykazują podobny przebieg kliniczny. Jedną z najczęstszych jest „płuco rolnika”, wywołane wdychaniem pyłu organicznego uwalnianego z produktów rolnych, takich jak siano, słoma, zboże, spleśniałe rośliny, będących źródłem antygenów takich jak *Pantoea agglomerans*, *Saccharopolyspora rectivirgula*, *Thermoactinomyces vulgaris*, *Aspergillus fumigatus*. Innymi popularnymi odmianami AZPP jest „płuco hodowcy ptaków” (antygeny: pióra, odchody i surowica ptaków); „płuco hodowców grzybów” (antygeny: *Thermoactinomyces vulgaris*, *Micropolyspora faeni*); „gorączka zbożowa” (antygeny: *Pantoea agglomerans*, *Sitophilus granaries*); „choroba serowarów” (antygeny: *Penicillium casei*, *Acarus siro*) [53].

Pod względem klinicznym AZPP dzieli się na trzy postaci: 1) ostrą, wynikającą z krótkotrwałej, ale intensywnej ekspozycji na alergen, w której dominują objawy pseudogrypowe, tj. duszności, suchy kaszel, gorączka z dreszczami i bólami kostno-mięśniowymi; 2) podostrą, która wykazuje podobieństwa do postaci ostrej, lecz z łagodniejszym nasileniem objawów; 3) przewlekłą, występującą po długotrwałej ekspozycji na niewielkie ilości alergenu, charakteryzującą się postępującą dusznością oraz pogorszeniem tolerancji wysiłkowej. W ostatnich latach wprowadza się także rozróżnienie na formę „zwłóknieniową” i „niezwłóknieniową”, co podkreśla różnice w patogenezie i przebiegu tej choroby oraz ułatwia kliniczną ocenę rokowania [54].

Niezależnie od postaci, patogeneza AZPP jest ściśle związana z odpowiedzią immunologiczną na antygen (ryc. 5) [55]. Ekspozycja na alergen prowadzi do aktywacji makrofagów i komórek dendrytycznych, które prezentują antygeny limfocytom T. Makrofagi wytwarzają cytokiny prozapalne i chemokiny, takie jak CCL18, IL-18, MCP-1, TNF- α , IL-1 oraz IL-6, które indukują napływ limfocytów, zwłaszcza limfocytów Th1, wydzielających IL-12 i IFN- γ . Przejście AZPP do fazy przewlekłej wiąże się ze wzmożoną aktywnością limfocytów Th2, stymulowaną przez limfocyty Treg. Dodatkowo zależne od IL-4 dojrzewanie limfocytów B i Tc promuje odpowiedź typu Th2. Limfocyty Th2, wydzielając IL-4, IL-13 oraz CXCR4, a także limfocyty Th17, produkujące IL-17, zwiększają proliferację fibroblastów i ich różnicowanie do miofibroblastów, tym samym inicjując proces włóknienia.

Dotychczas jedynym badaniem nad wpływem witaminy D3 na włóknienie płuc w AZPP i jednocześnie możliwością wykorzystania jej metabolitów w prewencji tej choroby jest



Rycina 5. Rola odpowiedzi immunologicznej w patogenezie AZPP.

Źródło: przygotowano na podstawie informacji zawartych w: Vasakova, 2019 oraz Barnes, 2022 [52, 55]

publikacja naszego zespołu [56]. Badanie przeprowadzono na mysim modelu AZPP, w którym włóknienie płuc indukowane jest przewlekłą ekspozycją myszy szczepu C57BL/6J na ekstrakt z Gram-ujemnej bakterii *Pantoea agglomerans*, będącej znanym czynnikiem etiologicznym AZPP. Zwierzęta podzielono na dwie grupy: jedna otrzymywała pokarm o standardowej zawartości cholekalcyferolu i stanowiła grupę kontrolną, natomiast druga otrzymywała pokarm o obniżonej zawartości cholekalcyferolu i posłużyła jako model niedoboru witaminy D3. Następnie myszom z niedoborem witaminy D3 podawano drogą inhalacyjną 25(OH) $_2$ D3 lub 1,25(OH) $_2$ D3 w dawkach pozwalających na przywrócenie fizjologicznego stężenia kalcytriolu w płucach nebulizowanych zwierząt. Oceniano stężenie 1,25(OH) $_2$ D3, liczebność populacji poszczególnych komórek odpornościowych, poziom cytokin oraz zmiany w morfologii płuc. Niedobór witaminy D3 w diecie zwierząt nie tylko istotnie zmniejszył stężenia kalcytriolu w surowicy oraz w płucach badanych zwierząt, ale również zaburzył równowagę immunologiczną, obniżając odsetek makrofagów, neutrofilów, komórek dendrytycznych i limfocytów Th w płucach myszy, oraz zdestabilizował poziom cytokin promujących i hamujących stan zapalny. Będąca efektem niedoboru witaminy D3 deregulacja odpowiedzi immunologicznej promowała rozwój AZPP w odpowiedzi na antygen *P. agglomerans*, czemu towarzyszył stan zapalny (naciek granulocytów, głównie neutrofilów), zniekształcenie pęcherzyków płucnych i pogrubienie ich ścian aż do całkowitego zamknięcia ich światła w 28. dniu

inhalacji. Patologiczne zmiany wywołane zarówno niedoborem witaminy D3 w diecie, jak i ekspozycją na antygen *P. agglomerans* skutecznie niwelowały inhalacje kalcydiolem i kalcytriolem, a obserwowany korzystny wpływ metabolitów witaminy D3 wynikał z ich zdolności do przywracania fizjologicznego stężenia $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w płucach badanych zwierząt. Podniesiony przez niedobór witaminy D3 oraz 14-dniową ekspozycję na antygen *P. agglomerans* odsetek neutrofilii, komórek dendrytycznych i limfocytów B istotnie zmniejszał się w odpowiedzi na metabolity witaminy D3. Podobnie poziom IL-10, IL-13, IFN- γ obniżony u zwierząt na AZPP i niedoborem witaminy D3 wzrastał w odpowiedzi na 14-dniową inhalację kalcydiolem i kalcytriolem. W 28. dniu eksperymentu korzystny wpływ inhalacji kalcydiolem i kalcytriolem na rozwój włóknienia płuc u myszy z niedoborem witaminy D3 związany był przede wszystkim z hamowaniem napływu makrofagów, neutrofilii, limfocytów Th i Tc (oba metabolity) oraz dodatkowo komórek dendrytycznych i limfocytów B (kalcytriol). Warto również wspomnieć, że inhalacje kalcydiolem oraz kalcytriolem skutecznie obniżały poziom głównego induktora włóknienia, tj. TGF- β , którego nadprodukcję obserwowano w odpowiedzi na niedobór witaminy D3 w diecie oraz inhalacje antygenem *P. agglomerans*. Przeprowadzone badania jednoznacznie wykazały, że metabolity witaminy D3 podane w dawkach przywracających fizjologiczne stężenie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w płucach myszy z AZPP i indukowanym dietą niedoborem witaminy D3 hamują rozwój włóknienia płuc poprzez przywracanie równowagi immunologicznej, a przede wszystkim przez ograniczenie nadmiernego napływu komórek odpornościowych do miąższu płuc oraz zmniejszenie nadprodukcji czynników promujących stan zapalny i patologiczną przebudowę tkanek.

PODSUMOWANIE

Zaprezentowany przegląd wyników badań *in vivo* oraz z udziałem pacjentów jednoznacznie wskazuje na immunomodulacyjną rolę witaminy D3, a w szczególności jej aktywnej biologicznie formy – kalcytriolu, w patogenezie POChP, IPF oraz astmy alergicznej. Jednocześnie zaprezentowane wyniki wskazują na możliwość wykorzystania metabolitów witaminy D3 w prewencji włóknienia płuc oraz przebudowie tkanek we wskazanych powyżej jednostkach chorobowych. Pomimo iż brakuje danych na temat wykorzystania witaminy D3 w kontekście AZPP, obiecujące wyniki badań naszego zespołu stanowią zachętę do dalszych analiz, w tym z udziałem pacjentów. Warto jednocześnie podkreślić, że o ile terapeutyczny efekt metabolitów witaminy D3 obserwowany w POChP, IPF oraz astmie wiązał się z hamowaniem reakcji zapalnej, o tyle w przypadku badań na mysim modelu AZPP kluczowe było przywracanie zaburzonej równowagi immunologicznej, co jednak mogło być podyktowane specyfiką prowadzonych badań. Żadne badanie – poza mysim modelem AZPP – nie opierało swojej strategii terapeutycznej na przywracaniu fizjologicznego stężenia kalcytriolu w płucach chorych.

PODZIĘKOWANIA

Badania finansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w Krakowie przyznanych na realizację grantu pt.:

„Ocena możliwości wykorzystania witaminy D3 w prewencji i leczeniu włóknienia płuc w przebiegu alergicznego zapalenia pęcherzyków płuc – badania *in vivo*”, UMO-2020/38/E/NZ7/00366.

PIŚMIENNICTWO

- Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol.* 2014;21(3):319–329. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2013.12.016>
- Bikle DD. Vitamin D: Production, Metabolism and Mechanisms of Action. 2000. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11991957>
- Saponaro F, Saba A, Zucchi R. An Update on Vitamin D Metabolism. *Int J Mol Sci.* 2020;21(18):6573. Published 2020 Sep 8. <https://doi.org/10.3390/ijms21186573>
- Sassi F, Tamone C, D'Amelio P. Vitamin D: Nutrient, Hormone, and Immunomodulator. *Nutrients.* 2018;10(11):1656. <https://doi.org/10.3390/nu10111656>
- Adams JS, Hewison M. Extrarenal expression of the 25-hydroxyvitamin D-1-hydroxylase. *Arch Biochem Biophys.* 2012;523(1):95–102. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.02.016>
- Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, et al. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev.* 2016;96(1):365–408. <https://doi.org/10.1152/physrev.00014.2015>
- Sutton AL, MacDonald PN. Vitamin D: more than a “bone-a-fide” hormone. *Mol Endocrinol.* 2003;17(5):777–791. <https://doi.org/10.1210/me.2002-0363>
- Pike JW, Meyer MB, Lee SM, et al. The vitamin D receptor: contemporary genomic approaches reveal new basic and translational insights. *J Clin Invest.* 2017;127(4):1146–1154. <https://doi.org/10.1172/JCI88887>
- Zmijewski MA, Carlberg C. Vitamin D receptor(s): In the nucleus but also at membranes?. *Exp Dermatol.* 2020;29(9):876–884. <https://doi.org/10.1111/exd.14147>
- Chun RF, Liu PT, Modlin RL, et al. Impact of vitamin D on immune function: lessons learned from genome-wide analysis. *Front Physiol.* 2014;5:151. Published 2014 Apr 21. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00151>
- Charoenngam N, Holick MF. Immunologic Effects of Vitamin D on Human Health and Disease. *Nutrients.* 2020;12(7). <https://doi.org/10.3390/nu12072097>
- Anand SP, Selvaraj P. Effect of 1, 25 dihydroxyvitamin D(3) on matrix metalloproteinases MMP-7, MMP-9 and the inhibitor TIMP-1 in pulmonary tuberculosis. *Clin Immunol.* 2009;133(1):126–131. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2009.06.009>
- L Bishop E, Ismailova A, Dimeloe S, Vitamin D and Immune Regulation: Antibacterial, Antiviral, Anti-Inflammatory. *JBM Plus.* 2020;5(1):e10405. Published 2020 Sep 15. <https://doi.org/10.1002/jbm4.10405>
- White JH. Emerging Roles of Vitamin D-Induced Antimicrobial Peptides in Antiviral Innate Immunity. *Nutrients.* 2022;14(2):284. Published 2022 Jan 11. <https://doi.org/10.3390/nu14020284>
- Borel P, Caillaud D, Cano NJ. Vitamin D bioavailability: state of the art. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2015;55(9):1193–1205. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.688897>
- Pfotenhauer KM, Shubrook JH. Vitamin D Deficiency, Its Role in Health and Disease, and Current Supplementation Recommendations. *J Am Osteopath Assoc.* 2017;117(5):301–305. <https://doi.org/10.7556/jaoa.2017.055>
- Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord.* 2017;18(2):153–165. <https://doi.org/10.1007/s11154-017-9424-1>
- Pierzchała W, Niżankowska-Mogilnicka E, Mejza F. Przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP). In: Szczeklik A, Gajewski P, editors. *Internia Szczeklika 2022.* Medycyna Praktyczna; 2022.
- Chronic obstructive pulmonary disorder (COPD). [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd)) (access: 2024.10.08)
- Guo P, Li R, Piao TH, et al. Pathological Mechanism and Targeted Drugs of COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2022;17:1565–1575. <https://doi.org/10.2147/COPD.S366126>
- Liu T, Zhang L, Joo D, et al. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther.* 2017;2:17023. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>

22. Barnes PJ. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(1):16–27. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.05.011>
23. Wang Y, Xu J, Meng Y, et al. Role of inflammatory cells in airway remodeling in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2018;13:3341–3348. <https://doi.org/10.2147/COPD.S176122>
24. Agraval H, Kandhari K, Yadav UCS. MMPs as potential molecular targets in epithelial-to-mesenchymal transition driven COPD progression. *Life Sci.* 2024;352:122874. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2024.122874>
25. Ishii M, Yamaguchi Y, Isumi K, et al. Transgenic Mice Overexpressing Vitamin D Receptor (VDR) Show Anti-Inflammatory Effects in Lung Tissues. *Inflammation.* 2017;40(6):2012–2019. <https://doi.org/10.1007/s10753-017-0641-2>
26. Heulens N, Korf H, Cielen N, et al. Vitamin D deficiency exacerbates COPD-like characteristics in the lungs of cigarette smoke-exposed mice. *Respir Res.* 2015;16(1):110. <https://doi.org/10.1186/s12931-015-0271-x>
27. Fu L, Fei J, Tan Z-X, et al. Low Vitamin D Status Is Associated with Inflammation in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *J Immunol.* 2021;206(3):515–523. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2000964>
28. Jorde I, Stegemann-Koniszewski S, Papra K, et al. Association of serum vitamin D levels with disease severity, systemic inflammation, prior lung function loss and exacerbations in a cohort of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *J Thorac Dis.* 2021;13(6):3597–3609. <https://doi.org/10.21037/jtd-20-3221>
29. Dastan F, Salamzadeh J, Pourrashid MH, et al. Effects of High-Dose Vitamin D Replacement on the Serum Levels of Systemic Inflammatory Biomarkers in Patients with Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *COPD.* 2019;16(3–4):278–283. <https://doi.org/10.1080/15412555.2019.1666812>
30. Rafiq R, Aleva FE, Schrumpp JA, et al. Vitamin D supplementation in chronic obstructive pulmonary disease patients with low serum vitamin D: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2022;116(2):491–499. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqac083>
31. Han J, Cheng C, Zhu Z, et al. Vitamin D reduces the serum levels of inflammatory cytokines in rat models of periodontitis and chronic obstructive pulmonary disease. *J Oral Sci.* 2019;61(1):53–60. <https://doi.org/10.2334/josnusd.17-0357>
32. Mei Q, Liu Z, Zuo H, et al. Idiopathic Pulmonary Fibrosis: An Update on Pathogenesis. *Front Pharmacol.* 2021;12:797292. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.797292>
33. Heukels P, Moor CC, von der Thüsen JH, et al. Inflammation and immunity in IPF pathogenesis and treatment. *Respir Med.* 2019;147:79–91. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2018.12.015>
34. Kolahian S, Fernandez IE, Eickelberg O, et al. Immune Mechanisms in Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2016;55(3):309–322. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2016-0121TR>
35. Lo Re S, Dumoutier L, Couillin I, et al. IL-17A-producing gammadelta T and Th17 lymphocytes mediate lung inflammation but not fibrosis in experimental silicosis. *J Immunol.* 2010;184(11):6367–6377. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900459>
36. Hou Z, Ye Q, Qiu M, et al. Increased activated regulatory T cells proportion correlate with the severity of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res.* 2017; 18(1): 170. <https://doi.org/10.1186/s12931-017-0653-3>
37. Boveda-Ruiz D, D'Alessandro-Gabazza CN, Toda M, et al. Differential role of regulatory T cells in early and late stages of pulmonary fibrosis. *Immunobiology.* 2013;218(2):245–254. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2012.05.020>
38. Zhang Z, Yu X, Fang X, et al. Preventive effects of vitamin D treatment on bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Sci Rep.* 2015;5:17638. <https://doi.org/10.1038/srep17638>
39. Tan Z-X, Chen Y-H, Xu S, et al. Calcitriol inhibits bleomycin-induced early pulmonary inflammatory response and epithelial-mesenchymal transition in mice. *Toxicol Lett.* 2016;240(1):161–171. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.10.022>
40. Zhu W, Ding Q, Wang L, et al. Vitamin D3 alleviates pulmonary fibrosis by regulating the MAPK pathway via targeting PSAT1 expression in vivo and in vitro. *Int Immunopharmacol.* 2021;101(Pt B):108212. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108212>
41. Schapochnik A, da Silva MR, Leal MP, et al. Vitamin D treatment abrogates the inflammatory response in paraquat-induced lung fibrosis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2018;355:60–67. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.06.020>
42. Yavari M, Mousavi SAJ, Janani L, et al. Effects of supplementation of vitamins D, C and E on Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF): A clinical trial. *Clin Nutr ESPEN.* 2022;49:295–300. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2022.03.035>
43. Hamad H, Lambrecht BN. The basic immunology of asthma. *Cell.* 2021;184(6):1469–1485. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.02.016>
44. Oppenheimer J, Hoyte FCL, Phipatanakul W, et al. Allergic and eosinophilic asthma in the era of biomarkers and biologics: similarities, differences and misconceptions. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2022; 129(2): 169–180. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2022.02.021>
45. Matheu V, Bäck O, Mondoc E, et al. Dual effects of vitamin D-induced alteration of TH1/TH2 cytokine expression: enhancing IgE production and decreasing airway eosinophilia in murine allergic airway disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112(3):585–592. [https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(03\)01855-4](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(03)01855-4)
46. Cho SW, Kim JH, Choi JH, et al. Preventive and therapeutic effects of vitamin D in a mouse model of allergic asthma. *Asian Pacific J allergy Immunol.* 2019;37(3):130–137. <https://doi.org/10.12932/AP-010218-0248>
47. Agrawal T, Gupta GK, Agrawal DK. Vitamin D supplementation reduces airway hyperresponsiveness and allergic airway inflammation in a murine model. *Clin Exp Allergy.* 2013;43(6):672–683. <https://doi.org/10.1111/cea.12102>
48. Taher YA, van Esch BCAM, Hofman GA, et al. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 potentiates the beneficial effects of allergen immunotherapy in a mouse model of allergic asthma: role for IL-10 and TGF-beta. *J Immunol.* 2008;180(8):5211–5221. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.8.5211>
49. Ramos-Martínez E, López-Vancell MR, Fernández de Córdova-Aguirre JC, et al. Reduction of respiratory infections in asthma patients supplemented with vitamin D is related to increased serum IL-10 and IFNγ levels and cathelicidin expression. *Cytokine.* 2018;108:239–246. <https://doi.org/10.1016/j.cyt.2018.01.001>
50. Bar Yoseph R, Livnat G, Schnapp Z, et al. The effect of vitamin D on airway reactivity and inflammation in asthmatic children: A double-blind placebo-controlled trial. *Pediatr Pulmonol.* 2015;50(8):747–753. <https://doi.org/10.1002/ppul.23076>
51. Spagnolo P, Rossi G, Cavazza A, et al. Hypersensitivity Pneumonitis: A Comprehensive Review. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2015;25(4):237–250.
52. Vasakova M, Selman M, Morell F, et al. Hypersensitivity Pneumonitis: Current Concepts of Pathogenesis and Potential Targets for Treatment. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019;200(3):301–308. <https://doi.org/10.1164/rccm.201903-0541PP>
53. Nogueira R, Melo N, Novais E Bastos H, et al. Hypersensitivity pneumonitis: Antigen diversity and disease implications. *Pulmonology.* 2019;25(2):97–108. <https://doi.org/10.1016/j.pulmoe.2018.07.003>
54. Churg A. Hypersensitivity pneumonitis: new concepts and classifications. *Mod Pathol.* 2022;35(Suppl 1):15–27. <https://doi.org/10.1038/s41379-021-00866-y>
55. Barnes H, Troy L, Lee CT, et al. Hypersensitivity pneumonitis: Current concepts in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Allergy.* 2022;77(2):442–453. <https://doi.org/10.1111/all.15017>
56. Lemieszek MK, Chojnacki M, Paśnik I, et al. Beneficial Impact of Inhaled 25(OH)-Vitamin D3 and 1,25(OH)2-Vitamin D3 on Pulmonary Response in the Murine Model of Hypersensitivity Pneumonitis. *Int J Mol Sci.* 2024;25(19):10289. <https://doi.org/10.3390/ijms251910289>