

Vitamin D3'ün Monositlerin İmmün Yanıtı Üzerindeki Rolü

The Role of Vitamin D3 on the Immune Responses of Monocytes

Derya BİRİKEN¹(ID), Pelin ARIBAL AYRAL^{2,3}(ID), Nuray YAZIHAN^{2,3}(ID)

¹ Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

¹ Ankara University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

² Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patofizyoloji Bilim Dalı, Ankara.

² Ankara University Faculty of Medicine, Division of Pathophysiology, Ankara, Turkey.

³ Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Disiplinlerarası Gıda, Metabolizma ve Klinik Beslenme Anabilim Dalı, Ankara.

³ Ankara University Institute of Health Sciences, Department of Interdisciplinary Food, Metabolism and Clinical Nutrition, Ankara, Turkey.

*Bu çalışma, 1. Uluslararası Gıda ve Tıp Kongresi (First International Food and Medicine Congress) (24-27 Mayıs 2018, Ankara, Türkiye)'nde sözlü sunum olarak sunulmuştur.

Makale Atfı: Biriken D, Arbal Ayrıl P, Yazihan N. Vitamin D3'ün monositlerin immün yanıtı üzerindeki rolü. Mikrobiyol Bul 2021;55(3):406-414.

ÖZ

D vitaminin (Vit D) aktif formu, 1 α ,25-dihidroksi vitamin D3 (1,25(OH)2D3), kemik metabolizmasındaki görevinin yanında hücre fonksiyonları ve immünitesi için de önem taşımaktadır. Monosit/makrofajlar, doğal immün yanıtı başlatan ve patojenle ilk temasta bulunan hücre olarak kabul edilmektedir ve hem hücreler arası ilişkiler hem de enflamatuvar mediyatörlerin salınımı yoluyla doğal immün ve enflamatuvar yanıtta etkin rol oynamaktadırlar. İnsan THP-1 lösemi hücreleri, monosit/makrofajların in vitro olarak fonksiyonlarını, mekanizmalarını ve sinyal yollarını araştırmak için en yaygın olarak kullanılan hücre dizisidir. Nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) özellikle enflamasyonda hücre ölümü, hücre farklılaşması veya çoğalması gibi pek çok önemli hücrel davranışı düzenleyen karmaşık sinyal yolları ağılarıdır. Midkin (MK), enflamatuvar süreçlerin, immün hücre fonksiyonlarının, proliferasyonun ve otoimmünitenin düzenleyicilerinden biri olan sitokin ve büyüme faktörüdür. Hiperglisemide Vitamin D3 (Vit D3)'ün enflamasyon ve MK sekresyonu üzerindeki etkileri hala bilinmemektedir. Bu çalışmada, normo ve hiperglisemik koşullarda THP-1 monosit hücrelerin lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılmış pro/anti enflamatuvar sitokin, NF- κ B ve MK yanıtlarında Vit D3'ün doza bağımlı etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla normoglisemik (glikoz 100 mg/dl)/hiperglisemik (glikoz 500 mg/dl) koşullar altında LPS (*Escherichia coli*, 0111, 1 μ g/ml) ile uyarılan THP-1 monosit hücreleri 10-50-100 IU/ml Vit D3 varlığında ve yokluğunda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kuyucuklardan inkübasyon süreleri sonunda toplanan süpernatantlarda MK, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), IL-8, IL-10 sitokin seviyeleri ve elde edilen hücre lizatlarında ise NF- κ B düzeyleri "enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)" yöntemi ile ölçülmüştür. LPS uyarımı hiperglisemik şartlarda daha yüksek seviyelerde TNF- α , IL-8 ve MK yanıtını uyarır. Hiperglisemi ile IL-10 sekresyonlarının azal-

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Nuray Yazihan, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patofizyoloji Anabilim Dalı, Morfoloji Binası, Sıhhiye, Ankara, Turkey. Tel (Phone): + 90 (312) 595 80 56, E-posta (E-mail): nurayyazihan@yahoo.com

diği bulunmuştur. Vit D3 hiperglisemik şartlarda TNF- α , IL-10 ve MK sekresyonlarını düzenlemektedir. MK ve TNF- α seviyelerinin NF- κ B ve IL-10 ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada, elde edilen sonuçlar Vit D3'ün NF- κ B ve sitokin/kemokin benzeri molekül MK supresyonu ve proenflamatuvar/antienflamatuvar sitokin dengesini düzenlemesiyle immün modülasyonda rol oynayabileceğini göstermiştir. LPS uyarımı ile monositlerden proenflamatuvar sitokinler salındığı; Vit D3'ün, antienflamatuvar sitokin IL-10 seviyelerini arttırarak ve NF- κ B seviyelerini baskılayarak enflamasyon üstünde baskılayıcı etki yaptığı görölmektedir. Vit D3'ün farklı şartlar altında etki mekanizmasının ayrıntılı olarak incelenmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Vitamin D3; TNF- α ; IL-8; IL-10; NF- κ B; midkin.

ABSTRACT

The active form of vitamin D (Vit D), 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 (1,25(OH)2D3), is important for cell functions and immunity, as well as its role in bone metabolism. Monocytes/macrophages initiate innate immune response, and is considered to be the cell that first comes into contact with the pathogen. They play effective roles in innate immune and inflammatory responses by intercellular relations and inflammatory mediator secretion. Human THP-1 leukemia cells are frequently used for the in vitro determination of the signal pathways, and the functions of monocyte/macrophages. Nuclear factor-kappa B (NF- κ B) are complex networks of signaling pathways that regulate many important cellular behaviors, especially in inflammation, cell death, cell differentiation or proliferation. Midkine (MK) is a cytokine and growth factor that is one of the regulators of inflammatory processes, immune cell functions, proliferation and autoimmunity. The effects of Vit D3 on inflammation and MK secretion in hyperglycemia is still unknown. In this study, it was aimed to determine the dose-dependent effects of Vit D3 on the lipopolysaccharide (LPS) stimulated pro/anti-inflammatory cytokine, NF- κ B and MK responses of THP-1 monocyte cells under normo and hyperglycemic conditions. For this purpose, THP-1 monocyte cells stimulated with LPS (*Escherichia coli*, 0111, 1 μ g/ml) under normoglycemic (glucose 100 mg/dl)/hyperglycemic (glucose 500 mg/dl) conditions, were incubated for 24 hours in the presence and absence of 10-50-100 IU/ml Vit D3. MK, TNF- α , IL-8, IL-10 cytokine levels in the supernatants collected from the wells at the end of the incubation periods, and NF- κ B levels in the obtained cell lysates were detected by ELISA method. LPS stimulation induced higher levels of TNF- α , IL-8 and MK responses in hyperglycemic conditions. IL-10 secretions were found to be decreased under hyperglycemia. Vit D3 modulates TNF- α , IL-10 and MK secretions in hyperglycemic conditions. The MK and TNF- α levels were determined to be correlated with NF- κ B and IL-10. The results obtained in the study showed that Vit D3 can play a role in immune modulation by regulating NF- κ B and cytokine/chemokine-like molecule MK suppression and proinflammatory/anti-inflammatory cytokine balance. The mechanism of the action of Vit D3 under different conditions should be examined in detail.

Keywords: Vitamin D3; TNF- α ; IL-8; IL-10; NF- κ B; midkine.

GİRİŞ

Son yıllarda D vitamini (Vit D) ile immün sistem arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için birçok çalışma yapılmıştır. Vit D'nin, immünmodülasyonu da kapsayan pek çok biyolojik etkisini, biyolojik olarak en aktif formu 1,25(OH)2D3'ün nükleer vitamin D reseptörü (VDR)'ne bağlanması ve ardından aracılık yapan genlerin transkripsiyonlarını düzenlemesi yoluyla sağladđı görölmüştür^{1,2}. Hücre modellerinde 1,25-dihidroksi vitamin D3'ün kullanılmasının enflamatuvar süreçleri azalttığı ve bunu fiziksel savunma, hücrel doğal bağışıklık ve adaptif bağışıklık olmak üzere üç farklı yolla gerçekleştirdiği ortaya konmuştur. Vit D'nin, viral enfeksiyonlara karşı koruyucu olduğu ve aynı zamanda morbiditeyi azalttığı gösterilmiştir³⁻⁵. Makrofajlar, monositler, T hücreleri gibi doğal ve adaptif bağışıklık hücreleri alt grupları, Vit D reseptörlerini eksprese ederler^{6,7}.

Enflamasyon süresince, proenflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL-8 makrofajlar tarafından üretilirler. Aktif makrofajlardan açığa çıkan IL-10 ise enflamatuvar sitokinlerin

ekspresyonunu baskılayarak güçlü antienflamatuvar etki gösterir⁸⁻¹⁰. Enflamatuvar hastalıkların patogeneğinde rol oynayan Midkin (MK) ise immün hücre göçü, kemotaksi ve makrofaj dönüşüm belirteçlerini düzenler. Hücre kültürü ve hayvan modellerinde MK yokluğunda enflamasyonla ilişkili semptomların baskılandığı gösterilmiştir^{11,12}. Nükleer faktör-kappa B (NF-κB)'de özellikle enflamasyonda pek çok önemli hücresele davranışı ve aracı yapımını düzenleme özelliğine sahiptir¹³.

Normo/hiperglisemik şartlarda monositlere farklı dozlardaki Vit D'nin uygulanmasının etkileri henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada, THP-1 monosit hücrelerinde normo ve hiperglisemik şartlarda LPS ile uyarıldıklarında, farklı dozlarda Vitamin D3 (Vit D3)'ün etkisi ile pro/antienflamatuvar sitokin, NF-κB ve MK yanıtlarının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, THP-1 monosit hücreleri (insan lösemi monositik hücresi) (DSMZ; ACC-16, Braunschweig, Almanya) kullanıldı. Hücreler, %10 FCS, 2 mM glutamin, 100 mg/ml streptomisin, ve 100 IU/ml penisilin içeren RPMI 1640 (Sigma, ABD, R7388) içerisinde 1×10^5 hücre/ml olacak şekilde süspanse edilerek, 25 cm² yüzeyli hücre kültürü şişeleri (Nunc, Danimarka, 156367)'nde üretildi. Süspanse olarak üreyen hücreler 24 kuyucuklu plaklarda (Nunc, Danimarka, 174899) mililitresinde 5×10^6 hücre olacak şekilde, içerisinde 10-50-100 IU konsantrasyonlarda Vitamin D3 (Cholecalciferol, Sigma-Aldrich, ABD) bulunan normo (glikoz 100 mg/dl)¹⁴/hiperglisemik (glikoz 500 mg/dl)¹⁵ koşullarda üç saat süreyle %5 CO₂ içeren 37°C'lik etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra hücrelerin üzerine 1µg/ml lipopolisakkarit (LPS, *Escherichia coli* O111, Sigma, ABD) ilave edildi ve takiben 24 saat süre ile inkübasyona bırakıldı^{11,16}. Her grupta deneyler altı kez tekrarlandı. Deney grupları Tablo I'de gösterilmiştir.

İnkübasyondan sonra elde edilen süpernatantlarda MK (Peprotech, İngiltere, 900-K190), TNF-α, IL-8, IL-10 seviyeleri (eBiosciences, ABD, 88-7346-88, 88-8086-88, 88-7106-88), hücre lizatlarında ise phospho NF-κB-p65 (pNF-κB-p65) (Cell Signaling Technology, ABD, 7174S) seviyeleri ELISA kit prosedürlerine uyarak ölçüldü. Monosit nükleer ekstraktının hazırlanması CelLytic™ NuCLEAR™ Extraction Kit (Sigma, ABD, NXTRACT) içinde verilen talimatlara göre gerçekleştirildi. Tüm testler iki kez yapıldı. Absorbans değerleri ELISA okuyucusu (Epoch Microplate Spektrofotometre, Biotek Company, ABD) ile spektrofotometrik olarak 450 nm'de ölçüldü.

Tablo I. Deney Grupları; Vit D3: 10-50-100 IU/ml; LPS: 1µg/ml *Escherichia coli*, 0111

Normoglisemik koşullar Glikoz 100 mg/dl	Hiperglisemik koşullar Glikoz 500 mg/dl
Kontrol: Thp-1 hücre kültürü-LPS	
Vit D 10 IU Kontrol Vit D 10 IU + LPS	Vit D 10 IU Kontrol Vit D 10 IU + LPS
Vit D 50 IU Kontrol Vit D 50 IU + LPS	Vit D 50 IU Kontrol Vit D 50 IU + LPS
Vit D 100 IU Kontrol Vit D 100 IU + LPS	Vit D 100 IU Kontrol Vit D 100 IU + LPS

LPS: Lipopolisakkarit; Vit D: Vitamin D.

İstatistiksel Analiz

Gruplar arasındaki farklılıklar SPSS 20.0. kullanılarak dağılım analizleri yapıldıktan sonra tek yönlü ANOVA ve çoklu karşılaştırma testi (post hoc Türkiye) ile yapıldı. Değişkenler arasındaki ilişki Pearson korelasyon katsayısı ile incelendi. Gruplar Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma kapsamında normal glikoz düzeyinde ve hiperglisemik ortamda LPS uyarımı olmadan ve ortamda LPS bulunduğunda D vitamininin etkisi değerlendirilmiştir. Vit D3 etkisi üç ayrı dozda çalışılmıştır. Bu dozlarda Vit D3'ün THP-1 monosit hücrelerinde TNF- α , IL-8, IL-10, NF- κ B ve MK salınımı üstüne etkileri LPS uyarımı varlığında ve yokluğunda normo/hiperglisemik şartlarda değerlendirilmiştir. Elde edilen süpernatant ve lizatlarda ELISA ile saptanan TNF- α , IL-8, IL-10, NF- κ B ve MK düzeyleri (pg/ml) sırasıyla Şekil 1-3'te gösterilmiştir.

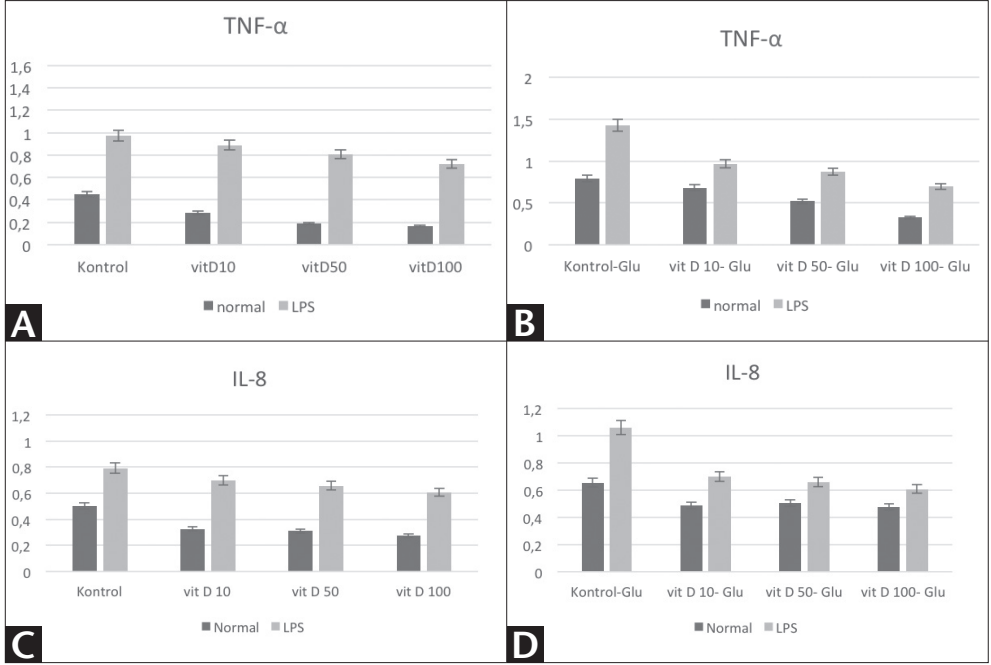
THP-1 hücrelerinin bazal TNF- α salınım düzeyi hiperglisemik ortamda daha yüksektir ($p < 0.001$), ayrıca LPS uyarımına TNF- α cevabı da hiperglisemik ortamda daha fazla bulunmuştur ($p < 0.001$) (Şekil 1. a, b). Vit D3 uygulaması hem kontrol hem de hiperglisemik durumlarda doza bağımlı olarak TNF- α salınımını azaltmıştır. Vit D3 uygulaması hiperglisemik şartlarda ve LPS uyarımındaki TNF- α salınımını doz bağımlı olarak baskılaması özellikle yüksek konsantrasyonda daha belirgin olarak saptanmıştır ($p < 0.01$).

THP-1 hücrelerinin bazal IL-8 salınım düzeyi hiperglisemik ortamda daha yüksek ($p < 0.001$), ayrıca LPS uyarımına IL-8 yanıtı da hiperglisemik ortamda daha fazla bulunmuştur ($p < 0.001$) (Şekil 1. c, d). Vit D3 uygulaması hem normoglisemik hem de hiperglisemik durumlarda doza bağımlı olarak IL-8 salınımını azaltmıştır. Vit D3 uygulaması hiperglisemik şartlarda ve LPS uyarımındaki TNF- α salınımını doz bağımlı olarak baskılaması düşük Vit D3 konsantrasyonda daha belirgin olarak gözlenmiş ($p < 0.01$); bu etki doz bağımlı olarak IL-8 salınımının baskılanması olarak düşünülmüştür.

THP-1 hücrelerinin bazal IL-10 salınım düzeyi hiperglisemik ortamda baskılanmıştır ($p < 0.05$), bununla birlikte THP-1 hücreleri hem normoglisemik hem de hiperglisemik ortamda belirgin IL-10 yanıtı ile sonuçlanmıştır ($p < 0.001$) (Şekil 2. a, b). Vit D3 uygulaması sonrası IL-10 salınımı normoglisemik durumda daha yüksek olarak saptanmış ($p < 0.01$) ve bu etkinin doza bağımlı olarak IL-10 salınım artışına neden olduğu tespit edilmiştir.

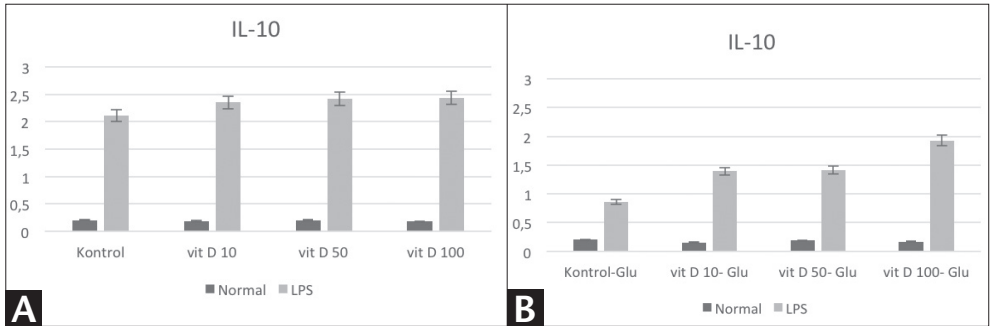
Hiperglisemik koşullarda MK düzeyini ve LPS uygulaması sonrasında THP-1 hücrelerinde belirgin MK salınımını uyarmıştır ($p < 0.001$). LPS uyarımı sonrası MK salınım etkisinin hiperglisemik durumlarda daha belirgin olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.01$). MK salınımı düşük konsantrasyonda Vit D3 uygulamasından (10 IU/ml) başlayarak belirgin azaltmıştır ($p < 0.001$) (Şekil 3. a, b).

LPS'nin NF- κ B-p65 seviyelerini de arttırdığı bulunmuştur ($p < 0.01$) (Şekil 3. c, d). Hiperglisemik koşullarda NF- κ B-p65 düzeyini ve LPS uygulaması sonrasında THP-1 hü-



Şekil 1. LPS stimülasyonu ile normo/hiperglisemik koşullarda farklı dozlarda Vit D3 uygulamalarının TNF-α (a, b) ve IL-8 (c, d) seviyelerine etkileri.

*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

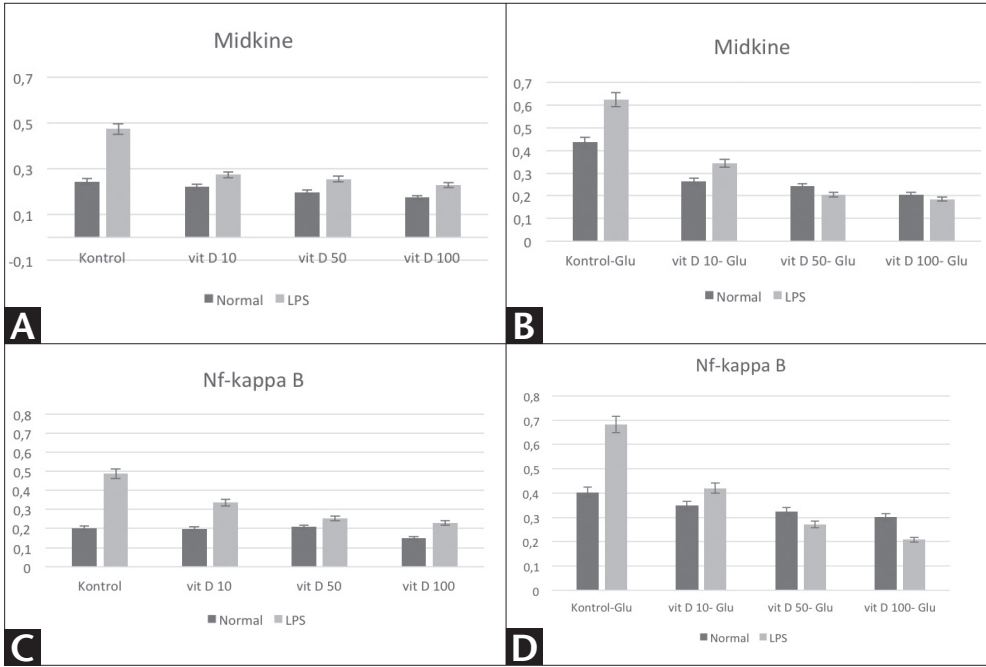


Şekil 2. Lipopolisakkarit (LPS) stimülasyonu ile normo/hiperglisemik koşullarda farklı dozlarda Vitamin D3 uygulamalarının IL-10 (a, b) seviyelerine etkisi.

*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

relerinde belirgin NF-κB-p65 salınımını uyarmıştır ($p < 0.001$). LPS uyarımı sonrası NF-κB-p65 salınım etkinin hiperglisemik durumlarda daha belirgin olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.01$). NF-κB-p65 salınımı düşük konsantrasyonda Vit D3 uygulamasından (10 IU/ml) başlayarak belirgin azaltmıştır ($p < 0.001$) (Şekil 3. c, d).

Vit D3 uygulaması, LPS ve hiperglisemi ile uyarılan enflamatuvar sitokinler, monosit hücrelerinde MK ve NF-κB seviyelerini baskılamaktadır.



Şekil 3. Lipopolisakkarit (LPS) stimülasyonu ile normo/hiperglisemik koşullarda farklı dozlarda Vitamin D3 uygulamalarının Midkin (a, b) ve NF-pB p65 (c, d) seviyeleri.

*Sonnular ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

MK seviyelerinin IL-8 ($r = 0.412$, $p < 0.01$), p NF- κ B-p65 ($r = 0.782$, $p < 0.01$), ve IL-10 ($r = -0.476$, $p < 0.01$) ile korele olduğu bulunmuştur. TNF- α seviyelerinin ise IL-8 ($r = 0.825$, $p < 0.01$), NF- κ B-p65 ($r = 0.479$, $p < 0.01$), ve IL-10 ($r = -0.860$, $p < 0.01$) ile korele olduğu bulunmuştur. LPS uyarımı sonrası TNF- α seviyelerinin IL-8 ($r = 0.881$, $p < 0.01$), p NF- κ B-p65 ($r = 0.892$, $p < 0.01$), ve IL-10 ($r = -0.687$, $p < 0.01$), MK ($r = 0.736$, $p < 0.01$) ile korele olduğu bulunmuştur

TARTIŞMA

Dünya nüfusunun tamamında düşük Vit D seviyeleri sıklıkla görülmektedir. Son yıllarda, Vit D'nin bağışıklık sistemi üstündeki etkileri de dikkat çekmiştir. Vit D'nin birçok iskelet sistemi dışı hastalıklarda özellikle bağışıklık sistemi ve ilişkili hastalıkların kritik bir modölatörü olabileceği çalışmalarla gösterilmiştir^{17,18}.

Bu çalışmada, THP-1 monosit hücrelerinde LPS ve farklı Vit D3 dozları ile uyarıldığında, normoglisemi ve hiperglisemi koşullarda enflamatuvar sitokinler, NF- κ B-p65 ve MK düzeylerindeki değişiklikler araştırılmıştır. Vit D'nin monositlerde MK sekresyonu üzerindeki doğrudan etkisi henüz bilinmemektedir. LPS ile uyarılan monositler kullanılmış ve TNF- α , IL-8, IL-10 ve MK seviyeleri kontrollere karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.01$). LPS uyarımı ile monosit/makrofajlardan proenflamatuvar sitokinler

salınır; Vit D3, antienflamatuvar sitokin IL-10 seviyelerini arttırarak ve NF-κB seviyelerini baskılayarak enflamasyonu baskılayıcı etki yaptığı görülmüştür.

Güncel literatür verilerinde, monositik hücrelerdeki farklılaşma durumuna göre Vit D3 uygulaması ile pozitif, negatif veya değişmemiş TNF-α regülasyonu saptanmıştır^{19,20}. Zhang ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada²⁰ hiperglisemi şartlarında Vit D3 uygulamasının TNF-α sitokin salınımını azalttığı gösterilmiştir. Proenflamatuvar uyarının IL-8 ve TNF-α gibi enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu uyaran p38 MAP kinazın fosforilasyonuna yol açtığı gösterilmiştir^{19,20}.

Çalışmalarda, LPS ile uyarılmış insan monosit hücrelerinde, Vit D3'ün IL-6, TNF-α ve IL-8 gibi proenflamatuvar sitokin seviyeleri üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir. Diğer yandan başka bir çalışmada da Vit D3 reseptörünün, aktif T-hücrelerinin NF-κB'si ile etkileşime girerek inhibisyonu sağladığı gösterilmiştir. Böylece, NF-κB ve MAPK p38'in inhibisyonunun, proenflamatuvar sitokin düzeylerinin baskılanmasından sorumlu olduğu saptanmıştır^{6,7,20,21}. Diğer yandan, başka bir çalışmada Vit D3 tedavisinin IL-8 sitokin seviyesinde herhangi bir değişiklik oluşturmadığı görülmüştür²².

Çalışmamızda ise LPS uyarımının ardından Vit D3'ün IL-8 sekresyonunu baskılama kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Vit D3'ün enflamatuvar şartlarda faydalı olabileceği tespit edilmiştir. Bir antienflamatuvar sitokin olan IL-10'un salınımının da LPS ile uyarılmış monositlerde ciddi artış gösterdiği bulunmuştur. LPS uyarımı ile monositlerden proenflamatuvar sitokinler salındığı; Vit D3'ün, antienflamatuvar sitokin IL-10 seviyelerini arttırarak ve NF-κB seviyelerini baskılayarak enflamasyon üstünde baskılayıcı etki yaptığı görülmektedir. Bazı çalışmalarda ise, Vit D3 uygulaması ile uyarılmış primer insan monositlerinde IL-10 ve IL-12 seviyelerinin azaldığı görülmüştür^{9,23-25}.

Önceki çalışmalarımız LPS ile uyarılan monositik hücrelerin MK sekresyonuna sahip olduğunu ve Phorbol-12-Myristate-13-Acetate (PMA) tarafından makrofajlara farklılaşmasının bu hücrelerden MK sekresyonunu indüklediğini göstermiştir¹¹. Serinkan ve arkadaşları¹², Vit D eksikliği olan hastaların serumlarında MK düzeylerinin kontrollere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda hipergliseminin monositlerde sitokin salınımı düzeyleri üstüne etkisi değerlendirilmiştir. Canlı organizmada yapılan çalışmalarda ise, enflamatuvar süreçlerin ve sepsis gibi stres durumlarının glikoz metabolizmasını önemli ölçüde etkilediği görülmektedir. Hiperglisemi, proenflamatuvar sitokinlerin artması, artan semptomatik aktivite ve artan stres hormonu seviyelerinden kaynaklanabilir²⁶. Hiperglisemiye sebep olan metabolik durum reaktif oksidatif ajanlarda (ROS) artışa, protein kinaz C (PKC) etkinliğinde artışa, protein kinaz, NF-κB ve enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda artışa neden olmaktadır. Bu nedenle hipergliseminin, konak savunmasında enfeksiyon riskini artıran bozulmaya neden olabileceği bildirilmiştir²⁶⁻²⁸. Bu durumda Vit D3'ün enflamatuvar aracılar üzerindeki düzenleyici rolü ile olumlu etki sağlanmasında etkin olabilir.

Çalışmada, bulgularımız sonucunda Vit D3'ün muhtemelen NF- κ B yolağı üstünden ve sitokin/kemokin benzeri molekül MK supresyonu ve proenflamatuvar/antienflamatuvar sitokin dengesini düzenlemesiyle immün modülasyonda etkin bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bu bağlamda, Vit D'nin aktif formunun kullanımı enflamatuvar süreçleri azaltabilir ve/veya modüle edebilir. Ancak enflamasyon sürecinde rol alan tüm pro ve antienflamatuvar araçların düzeylerinin ve etki mekanizmalarının irdelendiği çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Bu süreçlerin ve Vit D'nin etki mekanizmasının ayrıntılı olarak belirlenmesi için yapılacak çalışmalar sürece ışık tutucu olacaktır.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma için etik kurulu onayı gerekmemektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Bhalla AK, Amento EP, Clemens TL, Holick MF, Krane SM. Specific high-affinity receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D3 in human peripheral blood mononuclear cells: presence in monocytes and induction in T lymphocytes following activation. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57(6): 1308-10.
2. Wittke A, Weaver V, Mahon BD, August A, Cantorna MT. Vitamin D receptor-deficient mice fail to develop experimental allergic asthma. *J Immunol* 2004; 173(5): 3432-6.
3. Ilie PC, Stefanescu S, Smith L. The role of vitamin D in the prevention of coronavirus disease 2019 infection and mortality. *Aging Clin Exp Res* 2020; 32(7): 1195-8.
4. Teymoori-Rad M, Shokri F, Salimi V, Marashi SM. The interplay between vitamin D and viral infections. *Rev Med Virol* 2019; 29(6): e2032.
5. Razdan K, Singh K, Singh D. Vitamin D levels and covid-19 susceptibility: Is there any correlation? *Med Drug Discov* 2020; 100051.
6. Ding C, Wilding JPH, Bing C. 1,25-dihydroxyvitamin D3 protects against macrophage-induced activation of NF- κ B and MAPK signalling and chemokine release in human adipocytes. *PLoS One* 2013; 8(4): e611707.
7. Calton EK, Keane KN, Newsholme P, Soares MJ. The impact of vitamin D levels on inflammatory status: a systematic review of immune cell studies. *PLoS One* 2015; 10(11): e0141770.
8. Murray PJ, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat Rev Immunol* 2011; 11(11): 723-37.
9. Wöbke TK, Sorg BL, Steinhilber D. Vitamin D in inflammatory diseases. *Front Physiol* 2014; 5: 244.
10. Rodrigues KF, Pietrani NT, Bosco AA, Campos FMF, Sandrim VC, Games KB. IL-6, TNF- α , and IL-10 levels/polymorphisms and their association with type 2 diabetes mellitus and obesity in Brazilian individuals. *Arch Endocrinol Metab* 2017; 61(5): 438-46.
11. Biriken D, Yazıhan N, Yılmaz Ş. Investigation of cytokine and midkine responses of human THP-1 leukemia cells induced by phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) at different concentrations and times. *Mikrobiyol Bul* 2018; 52(2): 147-55.
12. Serinkan CFB, Cinemre H, Karacaer C, Aydemir B, Nalbant A, Kaya T, et al. Midkine in vitamin D deficiency and its association with anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies. *Inflamm Res* 2016; 65(2): 143-50.
13. Pires BRB, Silva RCMC, Ferreira GM, Abdelhay E. NF-kappaB: two tides of the same coin. *Genes* 2018; 9(1): 24.
14. Jackson DA, Michael T, de Abreu AV, Agrawal R, Bortolato M, Fisher SJ. Prevention of severe hypoglycemia-induced brain damage and cognitive impairment with verapamil. *Diabetes* 2018; 67(10): 2107-12.

15. Nandy D, Janardhanan R, Mukhopadhyay D, Basu A. Effect of hyperglycemia on human monocyte activation. *J Investig Med* 2011; 59(4): 661-7.
16. Sarikaya M, Yazihan N, Daş Evcimen N. Relationship between aldose reductase enzyme and the signaling pathway of protein kinase C in an in vitro diabetic retinopathy model. *Can J Physiol Pharmacol* 2020; 98(4): 243-51.
17. Henry HL. Regulation of vitamin D metabolism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011; 25(4): 531-41.
18. Nagpal S, Na S, Radhkrishnan R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev* 2005; 26(5): 662-87.
19. Ding C, Wilding JPH, Bing C. 1,25-dihydroxyvitamin D3 protects against macrophage-induced activation of NFκB and MAPK signalling and chemokine release in human adipocytes. *PLoS One* 2013; 8(4): e61707.
20. Zhang Y, Leung DYM, Richers BN, Liu Y, Remigio LK, Riches DW, et al. Vitamin D inhibits monocyte/macrophage pro-inflammatory cytokine production by targeting MAPK phosphatase-1. *J Immunol* 2012; 188(5): 2127-35.
21. 2Giulietti A, Van Etten E, Overbergh L, Stoffels K, Bouillon R, Mathieu C. Monocytes from type 2 diabetic patients have a pro-inflammatory profile. 1,25-dihydroxyvitamin D(3) works as anti-inflammatory. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 77(1): 47-57.
22. Kuo YT, Kuo CH, Lam KP, Chu YT, Wang WL, Huang CH, et al. Effects of vitamin D3 on expression of tumor necrosis factor-alpha and chemokines by monocytes. *J Food Sci* 2010; 75(6): 200-4.
23. Lemire JM, Adams JS, Sakai R, Jordan SC. 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 suppresses proliferation and immunoglobulin production by normal human peripheral blood mononuclear cells. *J Clin Invest* 1984; 74(2): 657-61.
24. Lyakh LA, Sanford M, Chekol S, Young HA, Roberts AB. TGF-beta and Vitamin D3 utilize distinct pathways to suppress IL-12 production and modulate rapid differentiation of human monocytes into CD83+ dendritic cells. *J Immunol* 2005; 174(4): 2061-70.
25. Matilainen JM, Husso T, Toropainen S, Seuter S, Turunen MP, Gynther P, et al. Primary effect of 1α,25(OH)2 D3 on IL-10 expression in monocytes is short-term down-regulation. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803(11): 1276-86.
26. Butler SO, Btaiche IF, Alaniz C. Relationship between hyperglycemia and infection in critically ill patients. *Pharmacotherapy* 2005; 25(7): 963-76.
27. Wu HP, Chen CH, Hsieh HC, Liu YC. Effects of insulin and glucose on cytokine production from peripheral blood mononuclear cells. *Chang Gung Med J* 2008; 31(3): 253-9.
28. Gonzalez Y, Herrera MT, Soldevila G, Garcia-Garcia L, Fabian G, Perez-Armendariz EM, et al. High glucose concentrations induce TNF-α production through the down-regulation of CD33 in primary human monocytes. *BMC Immunol* 2012; 13: 19.