

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Importância Clínica da Vitamina D

Maryna Ihorivna Danylyuk

Monografia orientada pela Professora Doutora Cristina Maria Martins de Almeida, Professora Auxiliar

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2022

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Importância Clínica da Vitamina D

Maryna Ihorivna Danylyuk

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Cristina Maria Martins de
Almeida, Professora Auxiliar

2022

Página deixada intencionalmente em branco.

Resumo

A importância das vitaminas como micronutrientes essenciais para o funcionamento normal do organismo humano emergiu no início do século XIX. Esta descoberta resultou de uma confluência de resultados de diferentes estudos, incluindo o tratamento empírico de certas doenças com alimentos específicos e experimentação animal com dietas muito controladas, com o objetivo de identificar os nutrientes cuja deficiência originava o aparecimento de certas doenças. O estabelecimento de relações causais entre a deficiência num determinado micronutriente e uma manifestação clínica específica revolucionou a saúde pública constituindo um avanço considerável na medicina.

Na presente monografia é abordada a vitamina D, cuja descoberta, tal como nas restantes vitaminas, resultou do estudo da sua deficiência, neste caso específico, o raquitismo. Desde então, esta vitamina tem sido crescentemente implicada em múltiplos processos fisiológicos importantes. Além do mais, a suplementação e fortificação alimentar resultaram na quase total erradicação do raquitismo, e figuram-se como potenciais terapias e/ou adjuvantes num vasto número de outras patologias.

Este trabalho centra-se na relevância clínica da vitamina D, com especial foco no seu impacto e relevância sobre o sistema imunitário, nomeadamente, a dois grupos de doenças a ele associadas: doenças infecciosas do trato respiratório (gripe, tuberculose e COVID-19) e doenças autoimunes (psoríase, diabetes mellitus tipo 1, artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistémico). A análise dos vários estudos permite concluir que a vitamina D parece ter uma ação de imunomodulação flexível e diversificada: por um lado tem uma ação estimulatória sobre a imunidade inata, aumentando a ação antimicrobiana de várias células e tendo propriedades antivirais, o

que explica a sua relevância no tratamento de doenças infecciosas do trato respiratório. Por outro lado, parece ter um potencial de supressão da resposta imunológica adaptativa, facilitando a transição do estado pró-inflamatório a tolerogénico, sublinhando a sua ação e relevância nas doenças autoimunes.

No geral, apesar da crescente evidência acerca da relevância imunológica da vitamina D e do aparente potencial da suplementação como medida de saúde pública, a revisão da literatura tornou evidente que ainda existem lacunas consideráveis neste campo. Como tal, são feitas várias sugestões de possíveis linhas de investigação futuras.

Palavras chave: vitamina D, doenças infecciosas, doenças autoimunes, imunomodulação, suplementação

Abstract

The importance of vitamins as essential micronutrients for normal body functioning, was first appreciated at the start of the 19th century. This finding resulted from the confluence of multiple lines of evidence, including those relating to the empirical treatment of certain diseases with specific foods, and animal studies employing highly controlled diets to identify the elements whose deficiency underlies certain diseases. This establishment of causal relations between deficiency in a given micronutrient, and a distinct clinical syndrome, revolutionized public health, representing a considerable advance in Medicine.

In this monograph the topic of vitamin D is approached. The discovery of this vitamin, as with the remaining ones, resulted from the study of the disease associated to its deficiency – rickets. Since its finding, this vitamin has been increasingly implicated in multiple key physiological processes. Moreover, the discovery of methods to activate or fortify foods, as well as of direct vitamin D supplementation, resulted in the almost complete eradication of rickets, and have emerged as potential therapies and/or adjuvants, in numerous other disorders.

This work focuses on the clinical relevance of vitamin D, with a special focus on its impact and relevance over the immune system, and two groups of diseases closely associated with it: upper respiratory tract infections (flu, tuberculosis, and COVID-19) and autoimmune disorders (psoriasis, type 1 diabetes mellitus, rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus). Indeed, based on the reviewed data, vitamin D appears to have a diverse and flexible immunomodulatory action: for one, it stimulates innate immunity, increasing the antimicrobial actions of several cells, while having antiviral properties, explaining

its relevance in the treatment of upper respiratory tract infections. Conversely, it appears to have a suppressive effect over the adaptive immune response, facilitating the transition from a pro-inflammatory to a tolerogenic state, underlining its action and relevance in autoimmune disorders.

Overall, despite the increasing evidence regarding the immunologic relevance of vitamin D, and the apparent public health potential of supplementation, it became evident during the review of the literature that there are still significant lacunae in this field. Therefore, several possible future lines of research are suggested.

Keywords: vitamin D, infectious diseases, autoimmune diseases, immunomodulation, supplementation

Agradecimentos

Quero agradecer em primeiro lugar à minha orientadora, Professora Doutora Maria Cristina Martins de Almeida, pelo tempo e atenção que me dedicou ao longo deste trabalho. Valorizo a compreensão e paciência que demonstrou em todos os momentos importantes, juntamente com a sua abertura e aceitação perante as mudanças que foram surgindo durante a elaboração desta monografia.

Agradeço também aos meus colegas e amigos, Carolina, Diogo, André e Sofia, pelo apoio, compreensão, e disponibilidade que ofereceram ao longo destes meses, para me ajudar e acalmar.

À Lisa e à Olga, as minhas amigas de longa data, pela sua paciência e capacidade de me distrair nos momentos necessários.

À minha família, pela incansável disponibilidade em facilitar o meu percurso de várias formas, pelo carinho e amor durante os momentos de maior ansiedade e desmotivação, e por serem o meu grande apoio durante este e tantos outros desafios na minha vida.

Finalmente, um especial e destacado obrigada ao meu Miguel. Palavras serão insuficientes para expressar o papel que ele desempenhou ao longo de todo este percurso. Quero agradecer pelo amor e compreensão durante os momentos críticos, pela paciência infinita que teve para me ouvir e aturar, pela excepcional capacidade de me motivar a trabalhar e a fazer o meu melhor, pela disponibilidade e tempo que me ofereceu para ajudar em múltiplos aspetos práticos, e por simplesmente estar sempre ao meu lado. Obrigada por seres um exemplo a seguir em tantos aspetos da minha vida, e por me ensinares a ser um bocadinho melhor todos os dias.

Índice

Resumo	i
Abstract	iii
Agradecimentos	v
Índice.....	vii
Índice de Figuras	viii
Índice de Tabelas	ix
Abreviaturas.....	x
1 Introdução	2
1.1 Nota histórica	2
1.2 Objetivos e organização	5
1.3 Metodologia	5
2 Vitamina D.....	7
2.1 Estrutura, Metabolismo, Regulação e Mecanismo de Ação	7
2.1.1 Estrutura química	7
2.1.2 Metabolismo	8
2.1.3 Regulação.....	11
2.1.4 Mecanismo de ação e relevância fisiológica.....	12
2.2 Fontes alimentares e medicamentosas	15
2.3 Toxicidade.....	19
2.4 Suplementação e Fortificação Alimentar	21
3 Relevância Clínica	25
3.1.1 Sistema Imunitário	25
3.1.1.1 Imunidade Inata	26
3.1.1.2 Imunidade Adaptativa	28
3.1.2 Doenças Infeciosas.....	31
3.1.2.1 Gripe/Influenza	32
3.1.2.2 Tuberculose.....	34
3.1.2.3 COVID-19.....	37
3.1.3 Doenças Autoimunes	41
3.1.3.1 Psoríase	43
3.1.3.2 Diabetes tipo 1	44
3.1.3.3 Artrite Reumatoide.....	47
3.1.3.4 Lupus eritematoso sistêmico.....	49
4 Conclusões e Perspetivas Futuras	51
5 Bibliografia e Referências Bibliográficas.....	54

Índice de Figuras

Figura 1 Estrutura química das vitaminas D2 e D3, e a sua síntese através da irradiação UV	7
Figura 2 Formas de obtenção/síntese da vitamina D no organismo e a sua ativação metabólica	9
Figura 3 Regulação da vitamina D no organismo.....	12
Figura 4 Efeitos da vitamina D no sistema imunitário	31

Índice de Tabelas

Tabela 1.1 Análogos de vitamina D comercializados	18
Tabela 1.2 Valores de referência do nutriente (VRN) ou valores de ingestão diária recomendada em vitamina D	22
Tabela 2 Associação entre os níveis da vitamina D e o risco/severidade da SARS-CoV-2	39

Abreviaturas

AI	<i>Adequate intake</i> , valor de consumo adequado
AR	Artrite reumatóide
CAMP	<i>Cathelicidin antimicrobial peptide</i> , péptido antimicrobiano catelicidina
CCR5	<i>C-C Motif Chemokine Receptor 5</i> , recetor de quimiocina tipo 5
CD	<i>Cluster of differentiation</i> , complexo de diferenciação
Células NK	Células natural killer
CIA	<i>Collagen-induced arthritis</i> , artrite induzida por colagénio
DACH	<i>Deutschland-Austria-Confoederatio Helvetica</i>
DBP	<i>Vitamin D-binding protein</i> , proteína de ligação da vitamina D
DII	Doença inflamatória intestinal
7-DHC	7-dihidrocolesterol
DM1	Diabetes Mellitus tipo 1
DMARD	<i>Disease-modifying antirheumatic drugs</i> , fármacos antireumáticos modificadores da doença
EAE	Encefalite autoimune experimental
EAR	<i>Estimated Average Requirement</i> , necessidade média estimada
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i> , Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos
EUA	Estados Unidos da América
FGF23	<i>Fibroblast growth factor 23</i> , fator de crescimento de fibroblastos
GCL	Gluatamato-cisteína ligase
GR	Glutationa redutase

HbA1c	Hemoglobina glicada
IFN	Interferão
Ig	Imunoglobulina
IIIH	<i>Idiopathic intracranial hypertension</i> , hipertensão intracraniana idiopática
IL	Interleucina
IU	<i>International units</i> , unidades internacionais
LBD	<i>Ligand binding domain</i> , área de ligação do ligante
LES	Lupus eritematoso sistémico
MHCII	<i>Major histocompatibility complex II</i> , complexo maior de histocompatibilidade classe II
MMP	Metalopeptidase de matriz
NAM	<i>National Academy of Medicine</i> , Academia Nacional de Medicina
NF-κB	<i>Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i> , fator nuclear kappa B
NORDEN	<i>Nordic European countries</i> , países europeus nórdicos
PD-L1	<i>Programmed death-ligand 1</i> , ligando de morte celular programada 1
PTH	paratormona
RANKL	<i>Receptor activator of NF-κB ligand</i> , ligando para o recetor ativador do fator nuclear κ B
RDA	<i>Recommended Dietary Allowance</i> , dose diária recomendada
RI	<i>Recommended Intake</i> , dose recomendada
RNI	<i>Reference Nutrient Intake</i> , valor de ingestão diária recomendada
RXR	<i>Retinoid X receptor</i> , recetor retinóide X

SACN	<i>Scientific Advisory Committee on Nutrition</i> , Comité Científico Consultivo em Nutrição
SARS-CoV-2	<i>Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2</i> , Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2
SDRA	Síndrome de dificuldade respiratória aguda
TB	tuberculose
Th	Linfócitos T helper
TLR	<i>Toll like receptor</i> , recetor toll like
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i> , fator de necrose tumoral
UE	União Europeia
UK	United Kingdom
UV	ultravioleta
VDR	<i>Vitamin D receptor</i> , recetor de vitamina D
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i> , fator de crescimento endotelial vascular
VRN	Valor de referência do nutriente

1 Introdução

1.1 Nota histórica

A descoberta de vitaminas, e a compreensão de como as deficiências destes nutrientes estão envolvidas na etiologia e/ou fisiopatologia de múltiplas doenças, representou um avanço considerável no desenvolvimento da medicina e fisiologia (1).

A experimentação animal teve um papel essencial no estudo do papel das vitaminas na saúde, sendo maioritariamente representada pelo uso de dietas específicas, utilizando como nutrientes substâncias padrão em proporções bem definidas, em que o composto em estudo estava representado numa concentração substancialmente superior (2). Na maioria destas experiências os animais não sobreviviam, sugerindo a existência de fatores adicionais de grande importância fisiológica (3). No entanto, apesar destes dados sobre o papel crucial das vitaminas na manutenção da saúde, o desenvolvimento deste campo de investigação foi limitado pelo paradigma que regia a medicina contemporânea. Especificamente, o desenvolvimento da teoria microbiana das doenças, levou a que a ciência médica afirmasse que estas doenças, que hoje se sabem ser provocadas pela deficiência de determinadas vitaminas, tinham – em vez disso – uma origem infecciosa (2).

Em 1911, Casimir Funk, considerado o pai da terapia com vitaminas (4), propôs o termo “vitamina”, substituindo o “fator alimentar acessório” usado até então, que foi aceite pela comunidade científica em 1912. Em 1910, Funk começou a estudar a polineurite, uma patologia que afeta pombos, semelhante à doença humana beribéri. Especificamente, Funk observou que esta doença afeta apenas os animais cuja alimentação era composta por arroz branco ao passo que não se manifestava nos animais que eram alimentados com arroz com casca. Desta observação, Funk derivou a hipótese de que as cascas de arroz continham algum elemento especial, cuja deficiência era a causa da polineurite (4). Procurando identificar este elemento,

Funk começou a fracionar cuidadosamente as cascas de arroz, resultado destes fracionamentos a identificação da tiamina, também conhecida como vitamina B1. Na sequência destas descobertas, Funk propôs a existência de pelo menos quatro vitaminas essenciais, com a capacidade de curar o escorbuto, beribéri, pelagra e raquitismo (4) .

A descoberta da vitamina D resultou dum longo período de dúvidas e limitações. À semelhança de outras vitaminas, a principal “ferramenta” na investigação desta molécula foi a observação da sintomatologia resultante da sua deficiência, o raquitismo (2). Apesar desta doença ser conhecida pela humanidade há vários séculos, e apresentar uma alta incidência em diversas regiões do mundo, a primeira referência ao raquitismo na literatura médica remonta a 1645, por Daniel Whistler (5).

Em 1890, o médico missionário Theobald Palm, sugeriu a possível relevância da luz solar na prevenção do raquitismo, com base nos resultados de um estudo extenso, sobre a distribuição geográfica do raquitismo. Subsequentemente, em 1919, Sir Edward Mellanby chegou à conclusão de que a dieta semissintética de aveia (semelhante à dieta da população da escocesa) era desprovida de algum elemento essencial, e que – por esta razão – induzia raquitismo em cães Beagle. Além disso, Mellanby demonstrou que o raquitismo canino podia ser curado com óleo de bacalhau (1). Em paralelo a Mellanby, o médico vienense Kurt Huldshinsky comprovou a importância da luz solar no tratamento do raquitismo, ao demonstrar que as crianças que sofriam desta doença apresentavam melhorias significativas depois de expostas a luz solar ou luz ultravioleta (UV) artificial (3). Em 1922, McCollum et al., demonstrou que a hipótese de que as propriedades antirraquíticas do óleo de bacalhau se deviam à presença da vitamina A estava errada. Especificamente, ao demonstrarem que óleo de bacalhau previamente aquecido e oxigenado – um processo desenhado para eliminar o conteúdo de vitamina A – mantinha as suas propriedades antirraquíticas (ainda que perdesse a sua eficácia no tratamento da

xeroftalmia), estes investigadores estabeleceram a presença de um segundo micronutriente neste óleo, ao qual chamaram vitamina D (3).

Uma subsequente descoberta importante ocorreu em 1924, quando Steenbock e Black, demonstraram que a irradiação de certos alimentos (especificamente produtos lipídicos como óleos, mas também produtos que continham leveduras) com luz ultravioleta podia aumentar a sua atividade antirraquítica, através da ativação da vitamina D. Esta descoberta, que revolucionou o tratamento do raquitismo e teve um impacto marcado na saúde comunitária, levou à fortificação de alimentos e, por consequência, à erradicação quase completa do raquitismo (1) .

Em 1925, Windaus e Bock identificaram pela primeira vez a vitamina D₃, ao isolarem 7-dihidrocolesterol (7-DHC) da pele, demonstrando que a irradiação deste composto por luz UV resultava na síntese de vitamina D₃. Por este trabalho, bem como pelos seus outros números contributos para o estudo dos esteróis Windaus foi galardoado com o Prémio Nobel da Medicina, tendo sido o primeiro a receber um prémio por trabalho relacionado com vitaminas (6).

O entendimento de mecanismo de ação da vitamina D recebeu um impulso considerável em 1937, com o trabalho de Ragnar Nicolaysen, que demonstrou que a vitamina D estimula a absorção de cálcio. Esta descoberta veio contrapor a hipótese, até então aceite, de que a vitamina D participava diretamente na calcificação dos ossos, curando o raquitismo desta forma (3).

A síntese de vitamina D₃ tritiada nas posições 1 e 2, realizada por Neville e DeLuca em 1966, permitiu criar uma forma de vitamina D extremamente específica, que podia ser estudada em doses fisiológicas. Através deste método, foi possível descobrir que a vitamina D é rapidamente convertida em metabolitos polares, que se tornam mais biologicamente ativos do

que a vitamina D em si. Além disso, os metabolitos desencadeiam uma resposta mais rápida no transporte intestinal de cálcio (7),

1.2 Objetivos e organização

A presente monografia tem por objetivo a revisão da literatura sobre a relevância clínica da vitamina D, com especial foco no seu papel na modulação e regulação do sistema imunitário e o seu envolvimento em múltiplas doenças de foro imunológico, nomeadamente, doenças infecciosas de trato respiratório e doenças autoimunes.

Com este objetivo foi compilada a informação considerada essencial para enquadrar os dados históricos, epidemiológicos e mecanísticos.

O trabalho tem início com uma breve nota histórica sobre a descoberta da vitamina D, seguindo-se uma a descrição da relevância fisiológica deste micronutriente e terminando com a apreciação dos riscos e benefícios de saúde pública, associados à suplementação e/ou fortificação alimentar com vitamina D.

Em último lugar é feita uma breve discussão acerca das principais conclusões derivadas deste trabalho, sendo também apresentadas várias sugestões de possíveis linhas de investigação futuras.

1.3 Metodologia

Para a realização deste trabalho foi efetuada uma análise crítica e integrada da literatura sobre o tema, com o auxílio de diferentes bases de dados tais como Pubmed, Google Scholar, MDPI e Science Direct. Durante a elaboração da parte introdutória deste documento – sobre a história, relevância fisiológica e suplementação com vitamina D – foram utilizadas palavras chave como “vitamin D history”, “vitamin D metabolism”, “vitamin D supplementation”,

“vitamin D mechanism” e “vitamin D toxicity”. De seguida, para a concretização e discussão da segunda parte deste documento, relacionada com a relevância clínica da vitamina D em doenças do foro imunológico, foram utilizadas palavras chave como “vitamin D effects on immune system”, “impact of vitamin D on infectious diseases” e “vitamin D in autoimmune diseases”. A pesquisa bibliográfica foi realizada entre Janeiro e Agosto de 2022, focando-se apenas nos artigos de interesse para a temática abordada, com especial atenção à atualidade das fontes utilizados. Sempre que possível, foi dada preferência a artigos mais recentes e publicados em revistas de maior fator de impacto.

2 Vitamina D

2.1 Estrutura, Metabolismo, Regulação e Mecanismo de Ação

2.1.1 Estrutura química

Apesar de a vitamina D ser um elemento orgânico essencial para o crescimento de um organismo heterotrófico, não é puramente uma vitamina pelo facto de ser sintetizada *in vivo*. A vitamina D é um secosteroide, devido ao anel B quebrado na ligação carbono-carbono, C9-C10. A sua estrutura é bastante semelhante à das hormonas esteroides clássicas, no entanto é exceccionalmente flexível. A flexibilidade conformacional da molécula é assegurada por três regiões chave: o anel B quebrado que tem uma rotação de 360° na ligação de carbono C6-C7, o anel A que sofre interconversão cadeira-cadeira do tipo ciclohexano, e a cadeia lateral com a rotação de 360° à volta de cada uma das 5 ligações simples de carbono (Fig 1). Esta flexibilidade conformacional providencia uma panóplia de potenciais configurações de ligandos, aumentando o espectro de atividade desta vitamina (8).

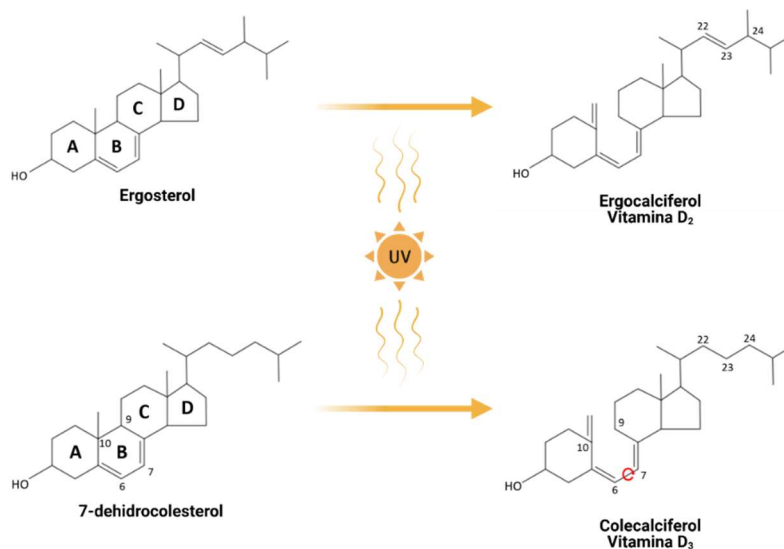


Figura 1 Estrutura química das vitaminas D2 e D3, e a sua síntese através da irradiação UV (adaptado de (9))

2.1.2 Metabolismo

A vitamina D pode ser adquirida tanto por fontes dietéticas, como através da síntese feita no próprio organismo. A vitamina D ingerida é inicialmente absorvida e transportada em quilomicras. Uma vez em circulação, liga-se à Proteína de Ligação da Vitamina D (DBP) até chegar ao fígado, onde é metabolizada por hidroxilação(10).

Existem duas formas biologicamente ativas da vitamina D, a vitamina D₂ e a vitamina D₃, cujo metabolismo difere de forma sutil: A vitamina D₂, também conhecida como ergocalciferol, tem origem vegetal e está integrada principalmente em cogumelos e leveduras. A vitamina D₃, também conhecida como colecalciferol, por sua vez, tem origem animal, e pode ser sintetizada pelo próprio organismo (8). A diferença estrutural entre as duas formas reside na presença de uma dupla ligação entre C22 e C23, e de um grupo metilo em C24 da cadeia lateral da vitamina D₂ (Fig 1). Esta distinção leva a uma diminuição da afinidade da vitamina D₂ para a DBP, da qual resulta um aumento da sua clearance da circulação, e uma limitação da sua ativação posterior por hidroxilases (11). A síntese da vitamina D₃ ocorre na pele, mais especificamente na derme e na epiderme, que contém 7-DHC (7-deidrocolesterol). Inicialmente, o 7-DHC sofre a conversão em pré-vitamina D₃, pela ação da luz UV (280-320 nm), que garante a fotoisomerização (i.e., a quebra do anel B) (Fig 1). Posteriormente ocorre uma isomerização termo-dependente que resulta em vitamina D₃ (11). Dado que a exposição prolongada à luz UV leva à formação de compostos biologicamente inativos como lumisterol e taquisterol, o máximo da síntese de vitamina D₃ é alcançado com 10 - 15% da quantidade original de 7-DHC. A taxa de formação de vitamina D₃ é influenciada por diversos fatores, nomeadamente a intensidade da irradiação UV (realçando a importância da latitude e da estação do ano neste processo), a pigmentação (a melanina impede que os fótons UV atinjam o 7-DHC), a idade, e a percentagem da superfície da pele exposta (10).

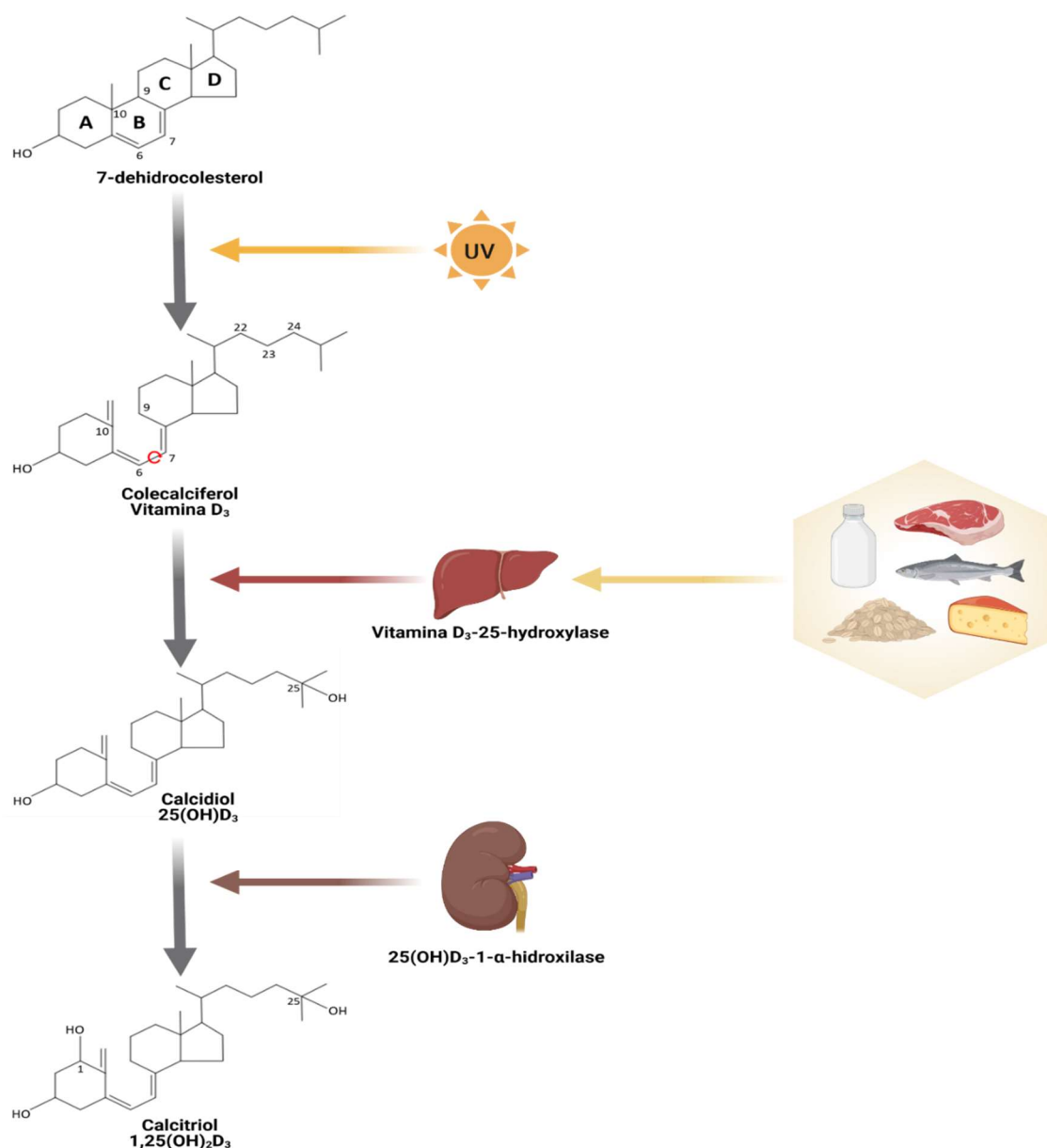


Figura 2 Formas de obtenção/síntese da vitamina D no organismo e a sua ativação metabólica (adaptado de (12))

Existem 4 enzimas hepáticas responsáveis pela hidroxilação da vitamina D na posição 25, todas pertencentes a família do citocromo P-450. Três são microsossomais (CYP2R1, CYP2J2 e CYP3A4) e a quarta é mitocondrial (CYP27A1) (10). A literatura sugere que a principal 25-hidroxilase é a CYP2R1, sendo a mutação homozigótica desta enzima responsável por níveis plasmáticos baixos da 25(OH)D₃ e sintomas clássicos de raquitismo (13). É de notar que o

metabolito resultante desta hidroxilação, $25(\text{OH})\text{D}_3$ (calcidiol), constitui a principal forma de vitamina D em circulação, sendo um biomarcador validado, que é usado na medição dos níveis séricos de vitamina D no organismo (10). Posteriormente, ocorre uma segunda hidroxilação, desta vez no rim, originando um metabolito biologicamente ativo $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (calcitriol) (Fig 2). A enzima responsável por este processo é a 1α -hidroxilase ou CYP27B1 (13). Uma vez em circulação, o calcitriol atua em vários órgãos e células alvo, desencadeando respostas do tipo hormonal, como por exemplo o aumento da absorção de cálcio e fósforo, a indução da maturação dos osteoclastos, a diminuição da produção de renina pelo rim, e a estimulação da produção de insulina nas células β do pâncreas (10). Para além destes órgãos, as duas hidroxilações ocorrem em vários outros tecidos do corpo: a atividade da 25-hidroxilase foi observada no intestino, glândulas adrenais, pulmões, e ossos, ao passo que a 1α -hidroxilase pode estar presente no cólon, seios, próstata, pulmão, macrófagos ativados, e células paratiroideias (8).

Outra parte importante do metabolismo da vitamina D é a sua inativação pela 24-hidroxilase (CYP24) – uma enzima mitocondrial da família dos citocromos P450 – no rim. Tanto o $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ como o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ são substratos desta enzima, sendo o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ o substrato preferível. O resultado desta hidroxilação é a formação de um metabolito mais polar e sujeito a catabolismo – $1,24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ no caso do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – que por fim se transforma em ácido calcitróico. Além disso, a transformação do $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ em $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, permite a regulação negativa da sua concentração em circulação, diminuindo a sua disponibilidade para a 1α -hidroxilação (13).

2.1.3 Regulação

Naturalmente, um elemento que intervém e/ou desencadeia tantas respostas a nível fisiológico precisa de ser devidamente regulado. Este processo envolve uma série de mecanismos de retroação positivo e negativo, especialmente no que toca a expressão de hidroxilases, respondendo às diferentes necessidades do organismo.

A hipocalcemia e a hipofosfatemia são condições que desencadeiam uma sequência de reações ligadas ao mecanismo de ação e metabolismo da vitamina D: inicialmente, ocorre um aumento da secreção da paratormona (PTH) pelas glândulas paratiroideias, em resposta à diminuição da concentração de cálcio. Em resposta a este incremento, sucede um estímulo para a transcrição da 1α -hidroxilase e indução da síntese do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pelo rim. Por outro lado, o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ suprime a produção da PTH e da 1α -hidroxilase, assegurando um mecanismo de feedback negativo (Fig 3). Para além da PTH, a prolactina também estimula a produção de $1,25$ -hidroxilase. Existem propostas de que este tipo de resposta fisiológica tem a função de assegurar a proteção do esqueleto materno durante a lactação (13).

Outro exemplo de regulação por feedback negativo é o do fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF23), que participa no controlo dos níveis de fosfato, cálcio e vitamina D na circulação. A elevação da concentração sérica de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ promove a síntese óssea de FGF23 que, por sua vez, suprime a expressão de 1α -hidroxilase e induz a produção de 24 -hidroxilase (14).

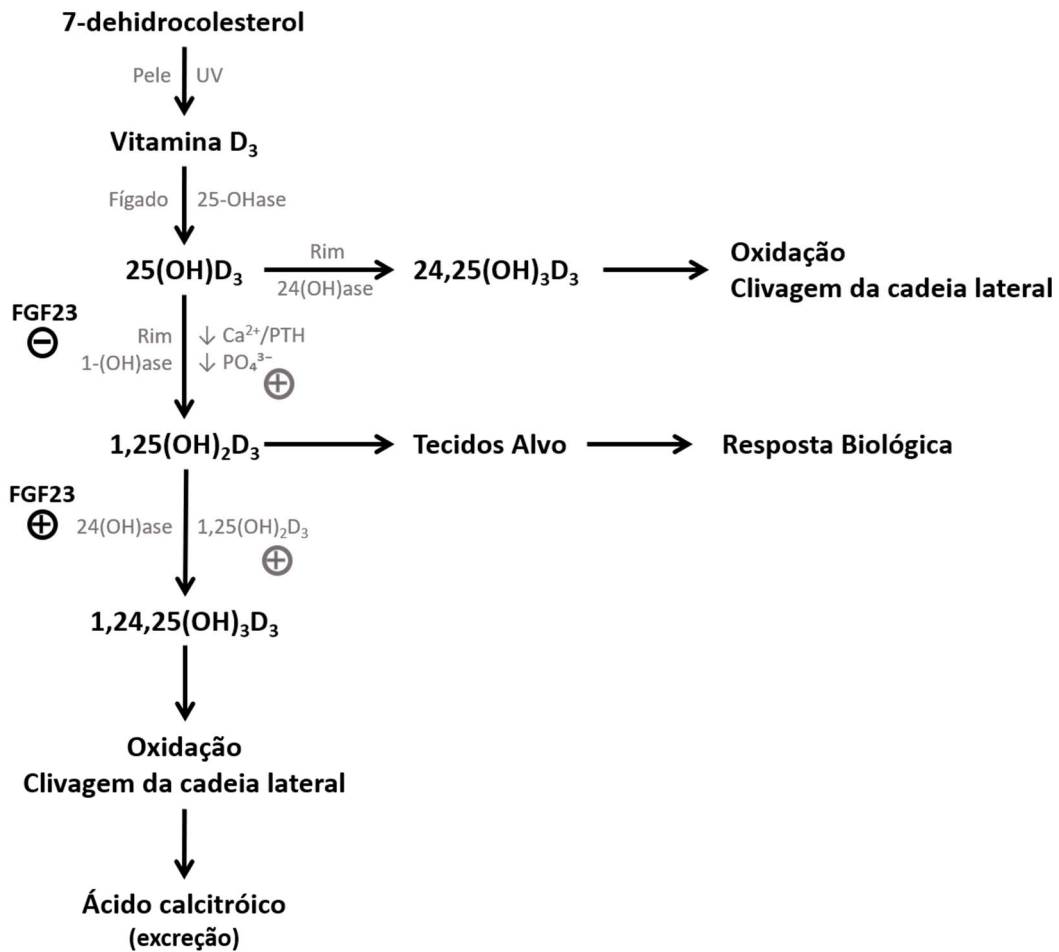


Figura 3 Regulação da vitamina D no organismo (adaptado de (13))

2.1.4 Mecanismo de ação e relevância fisiológica

O metabolito ativo da vitamina D, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$, influencia a expressão de cerca de 229 genes através da sua interação com o recetor da vitamina D (VDR). Este recetor pertence a uma grande família de recetores nucleares, e é expresso em pelo menos 37 tipos de células. A ativação do VDR desencadeia um processo de dimerização com o recetor retinoide X (RXR) originando um complexo VDR-RXR. Posteriormente, este complexo produz efeitos na transcrição de vários genes nas células alvo, ligando-se a elementos responsivos à vitamina (10).

Apesar de o seu principal mecanismo de ação ser do tipo hormonal, a vitamina D também gera respostas rápidas no organismo. Este tipo de efeito ocorre devido à ligação do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aos VDR associados à membrana plasmática das células alvo, produzindo a libertação de segundos mensageiros. Como exemplo destas respostas temos a absorção do cálcio pelo intestino (transcaltaquia), o incremento da secreção de insulina pelas células β pancreáticas, assim como crescimento e diferenciação das células vasculares e queratinócitos (15).

O metabolito ativo da vitamina D promove a maturação de preosteoclastos e osteoclastos multinucleados, estimulando a osteoclastogénese. Através da interação com o VDR nos osteoblastos, o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ desencadeia um aumento na expressão de RANKL (ligando para o recetor ativador do fator nuclear κB ; RANK), participando desta forma na maturação dos preosteoclastos que ocorre pela ligação do RANKL ao RANK (16).

Vários estudos demonstraram o potencial anticancerígeno do $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Este elemento tem demonstrado propriedades anti-proliferativas e estimulantes da diferenciação celular. Além disso, este composto manifestou impacto na regulação dos fatores pró- e anti-apoptóticos. Neste caso, os fatores anti-apoptóticos, como a proteína CL2, foram suprimidos, enquanto a expressão de fatores pró-apoptóticos, como BAX, BAK e BAD, foi aumentada. Adicionalmente, foi observado que o $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ poderia contrariar a metastização, participando em vários mecanismos que impedem este processo. Assim, verificou-se a sua potente ação anti-angiogénica, por limitação da proliferação das células endoteliais induzidas pelo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Por outro lado, a vitamina D participa no aumento da produção de diversas proteínas envolvidas na adesão celular, assegurando assim a integridade celular (10,17,18).

O sistema imunitário também é impactado pela vitamina D, participando, por exemplo, na estimulação da imunidade inata. O leque de efeitos provocados pela $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ inclui o

aumento das propriedades antimicrobianas dos monócitos e macrófagos, assim como o aumento da expressão de proteínas antimicrobianas catelicidina (CAMP) e defensina B2 (9,19). No que respeita à imunidade adaptativa, por outro lado, a vitamina D tem um papel de supressão e/ou regulação. Por influência da vitamina D as células dendríticas ganham propriedades tolerogénicas, diminuindo a diferenciação, proliferação e produção de anticorpos. Este tipo de ações pode ser bastante vantajoso em estudos focados no tratamento das doenças autoimunes (10,20). A ativação do VDR no estroma dos tumores pancreáticos humanos pelo calcipotriol tem sido demonstrado como levando a uma redução marcada nos marcadores inflamatórios e fibroses na pancreatite (21). Desta forma, é possível inferir que a vitamina D produz um efeito mais marcado a nível de células imunitárias do microambiente dos tumores, e não tanto afetando diretamente a proliferação das células cancerígenas. O facto de a maioria dos dados disponíveis acerca da interação dos ligandos com o VDR ser maioritariamente proveniente de células do sistema hematopoiético, acentua a importância da vitamina D para a imunidade inata e adaptativa, realçando a relevância da exploração científica deste campo a nível de aplicações farmacológicas (22).

A deficiência em vitamina D está envolvida em várias patologias de foro muscular, tais como atrofias e disfunções de contratilidade. Como a contração e o relaxamento musculares são uma consequência das trocas de cálcio, a regulação da sua homeostase é essencial para assegurar o bom funcionamento destes mecanismos. Mais ainda, o $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ participa na regulação da diferenciação das células musculares e, indiretamente, no controlo de anomalias funcionais a este nível, ao prevenir o hiperparatiroidismo (23,24).

Para além dos benefícios a nível muscular, a regulação de hiperparatiroidismo assegurado pela vitamina D, bem como o seu impacto no sistema da renina-angiotensina (redução da síntese

de renina pelo rim) contribuem para a prevenção da hipertensão. Deste modo, destaca-se a importância desta vitamina na redução do risco cardiovascular (25,26).

Outra patologia em que existe envolvimento regulatório pela vitamina D é a diabetes mellitus. A $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ aumenta a produção de insulina pelas células β pancreáticas e promove a sensibilização das células alvo periféricas a esta hormona. Uma outra ação importante neste contexto, ainda que de forma mais indireta, é a mitigação da inflamação sistêmica que muitas vezes serve de base para o desenvolvimento desta patologia (26).

2.2 Fontes alimentares e medicamentosas

A vitamina D está presente em relativamente poucas fontes alimentares. Assim, a vitamina D_3 pode ser encontrada principalmente em alimentos de origem animal como peixes gordos, órgãos internos (particularmente fígado) e gemas de ovo. O teor de vitamina D nestes alimentos depende principalmente das rações alimentares dadas aos animais em questão, do conteúdo de gordura na carne, bem como da latitude onde os animais foram criados. No caso do peixe, o teor em vitamina D é presumivelmente resultado da acumulação deste composto nas microalgas consumidas pelo peixe (as microalgas contêm tanto vitamina D_3 , como provitamina D_3)(27).As fontes de vitamina D_2 , por sua vez, incluem alguns cogumelos e leveduras, sendo esta produzida pela exposição a luz UV-B da pré-vitamina D_2 presente nestes produtos. O teor de vitamina D_2 nestes alimentos é dependente da duração e intensidade da exposição à luz UV. Outras fontes de vitamina D, embora não propriamente naturais, são os produtos fortificados e suplementos alimentares. Os alimentos mais frequentemente fortificados são leite, margarina/manteiga, e cereais (28).

Considera-se que o valor mínimo adequado da concentração sérica de $25(\text{OH})\text{D}$ – o biomarcador usado para quantificar o teor de vitamina D no organismo humano – para todos os

grupos populacionais é de 50 nmol/L. No que diz respeito ao valor de consumo adequado (adequate intake; AI), a quantidade diária deste composto que deve ser ingerida para alcançar concentrações séricas perto ou acima do alvo de 50 nmol/L é de 15 µg/dia para adultos e a maior parte das crianças. Para crianças lactentes de 7-11 meses o Painel da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) relativo aos produtos dietéticos, nutrição e alergias definiu um AI de 10 µg/dia (29).

Para além das suas propriedades ao nível da homeostase do cálcio, a vitamina D exerce efeitos de forma menos óbvia numa grande quantidade de células e tecidos. Este conjunto de efeitos inclui propriedades antiproliferativas e imunomoduladoras. Porém, estes efeitos são desencadeados apenas em concentrações séricas suprafisiológicas de 1,25(OH)₂D. Embora as concentrações fisiológicas estejam na ordem dos picomolares, os efeitos não clássicos da vitamina D apenas se observam a concentrações na ordem dos nanomolares de 1,25(OH)₂D. Como resultado, a administração de doses suprafisiológicas de vitamina D leva ao surgimento de hipercalcémia, e aos sintomas relacionadas com ela. De modo a contornar este inconveniente, foram desenvolvidos vários análogos. Estes compostos inovadores preservam a sua atividade específica em certas células sem provocarem efeitos calcémicos, sendo possível administrá-los em doses mais altas (30).

A única proteína capaz de se ligar à 1,25(OH)₂D₃ e aos seus análogos é o VDR, pelo que este desempenha o papel central nas funções fisiológicas desencadeadas. O mecanismo de ação deste recetor endócrino é comparável aos recetores de glucocorticoides e estrogénio. Os ligandos do VDR induzem uma mudança conformacional na área de ligação do ligante (ligand binding domain; LBD), que realiza uma permuta das proteínas co-repressoras pelas co-ativadoras (31).

O desenvolvimento de análogos começou pela criação de derivados diretos da 1,25(OH)₂D₃, e posteriormente evoluiu para a produção de análogos deste composto. Em 2000 foi descoberta a estrutura cristalina do complexo VDR-LBD humano com o 1,25(OH)₂D₃, dando início a um vasto número de cristalizações subsequentes deste complexo com vários análogos sintéticos realizadas em diferentes laboratórios (32). Para originar estes análogos, diversas modificações foram testadas ao longo dos últimos anos. Nomeadamente as modificações na cadeia lateral, no anel A (muitas vezes em conjunto com as modificações na cadeia lateral) e anel C. O objetivo destas modificações é o aumento da atividade de ligação ao VDR, e a modulação da estabilidade da própria molécula (33). A tabela 1.1. apresenta os vários análogos da vitamina D disponíveis no mercado.

Os análogos evoluíram consideravelmente ao longo do tempo. sendo que vários estudos comprovaram a sua marcada atividade *in vitro*, e a ausência de efeitos calcémicos *in vivo*, demonstrando desta forma o potencial considerável de análogos não esteroides e mímicos em termos clínicos (34).

Tabela 1.1 Suplementos e análogos de vitamina D comercializados (34)

Nome do composto	Aplicação	Nome comercial
Calciferol (vitamina D ₃)	Prevenção e tratamento da deficiência de vitamina D	Vigantol (Bayer), Delsterol (DuPont), Duphafrol-D ₃ , Lutavit D ₃ (BASF), VI-D ₃ , Videkhol, Vigosan
Ergocalciferol (vitamina D ₂)	Prevenção e tratamento da deficiência de vitamina D	Drisdol (Sanofi)
Calcidiol [25(OH)D ₃]	Hipocalcemia crônica, osteodistrofia renal e raquitismo	Calderol (Upjohn), Hidroferol (Faes Farma), Dedrogyl (Roussel), Hidroferol (Faes Farma)
Calcitriol [1,25(OH)2D ₃]	Osteoporose, osteodistrofia renal e psoríase	Rocatrol (Roche), Calcijex (Abbott), Silkis (Galderma)
Calcipotriol [22-eno-26,27-dehidro- 1,25(OH)2D ₃]	Psoríase	Davionex (Leo Pharmaceuticals), Dovonex (Warner Chilcott)
Doxercalciferol [1 α (OH)D ₂]	Hiperparatiroidismo secundário	Hectorol (Bone Care International)
Alfacalcidol [1 α (OH)D ₃]	Osteodistrofia renal, hiperparatiroidismo secundário, osteoporose e raquitismo	Alfarol (Chungai Pharmaceutical), One- Alpha (Leo Pharmaceuticals)
Tacalcitol [1 α ,24(OH)2D ₃]	Psoríase	Bonalfa (Teijin), Curatoderm (Merck KGaA)
Paricalcitol [19-nor-1,25(OH)2D ₂]	Hiperparatiroidismo secundário	Zemplar (Abbott Laboratories)
Oxacalcitriol [22-oxa-1,25(OH)2D ₂]	Hiperparatiroidismo secundário e psoríase (Japão)	Oxarol (Chungai Pharmaceutical)
Falecalcitriol [1,25 (OH)2-26,27-F6-D ₃]	Hiperparatiroidismo secundário (Japão)	Hornel (Taisho Pharmaceuticals), Fulstan (Kissei Pharmaceuticals)
Eldecalcitol [2 α -(3-hidroxipropoxi)- 1,25(OH)2D ₃]	Osteoporose (Japão)	Edirol (Chungai Pharmaceutical)

2.3 Toxicidade

Por razões éticas é impossível analisar experimentalmente a toxicidade da vitamina D em humanos, logo o conhecimento existente sobre a toxicologia deste composto baseia-se maioritariamente em casos clínicos esporádicos, intoxicações acidentais, e experiências animais (35).

A toxicidade por vitamina D pode ser de origem endógena ou exógena, dependendo da causa. A toxicidade exógena é geralmente provocada pelo uso descontrolado da vitamina D em doses elevadas, ou pelo consumo dos seus análogos com objetivo de tratar estados patológicos como hipocalcémias, osteomalacia e os últimos estádios da falência renal (36). É improvável a exposição solar prolongada provocar a hipervitaminose D, dada a capacidade do organismo de regular a quantidade da pré-vitamina D (taquisterol e lumisterol) produzida na pele. Intoxicações originadas pela dieta também não são expectáveis, uma vez que a quantidade da vitamina D proveniente da alimentação é bastante reduzida (37). A intoxicação exógena por vitamina D manifesta-se através de concentração elevada de 25(OH)D (>150ng/ml), juntamente com hipercalcémia e hipercalciúria marcadas, e atividade baixa ou quase indetetável da PTH. Tendo em conta o aumento recente da suplementação com a vitamina D, e a incidência da mutação no CYP24A1 (aproximadamente 1 em 33000 nascimentos), é expectável um crescimento na prevalência das hipervitaminoses D (38).

As causas endógenas desta intoxicação compreendem vários mecanismos indiretos provenientes de outras patologias, nomeadamente doenças granulomatosas, linfomas, e hipertensão intracraniana idiopática (IIH). Estas doenças levam à hipersensibilidade à vitamina D, que se pode manifestar até após a exposição descontrolada ao Sol. Nas doenças granulomatosas (sarcoidose, tuberculose, lepra), doenças fúngicas, necrose da gordura infantil subcutânea, polimiosite de células gigantes, e berliose, o mecanismo da intoxicação por

vitamina D tem por base a síntese extrarenal anômala da 1,25(OH)₂D por parte de macrófagos ativados (35). Por outro lado, na IIIH a hipercalcemia severa resulta da disfunção da enzima 24-hidroxilase (CYP24A1), responsável pela inativação da vitamina D (39). É de notar que ao passo que na hipervitaminose endógena a hipercalcemia resulta do aumento da concentração sérica de 1,25(OH)₂D, na intoxicação exógena esta é acompanhada por níveis aumentados de 25(OH)D (35).

A sintomatologia da hipervitaminose D resulta maioritariamente da hipercalcemia provocada nesta condição. Os sintomas mais frequentes incluem cansaço, depressão, anorexia, náuseas, obstipação, complicações renais (*e.g.*, defeitos reversíveis nos túbulos renais), e complicações cardiovasculares (*e.g.*, arritmias). Estas manifestações tendem a surgir quando os níveis plasmáticos de cálcio excedem 2.9-3.2 mmol/L (11,6-12,0 mg/dL) (40).

Existem várias alternativas de tratamento para a intoxicação por vitamina D. Para além da descontinuação da suplementação com a vitamina D, e a redução do consumo de cálcio dietético, o tratamento de primeira linha inclui: i) administração da solução isotónica de cloreto de sódio, com a intenção de corrigir o balanço hídrico e restaurar a função renal; ii) a terapia com glucocorticoides, para diminuir os níveis de cálcio no plasma através da redução da absorção intestinal, bem como através do aumento da excreção urinária do mesmo; e iii) administração de calcitonina e bifosfonatos, tendo esta eficácia quando a hipercalcemia severa é provocada pela reabsorção aumentada do osso pelos osteoclastos, como resultado da ação direta do 1,25(OH)₂D no tecido ósseo.

O tratamento de segunda linha engloba abordagens mais invulgares como o uso de fármacos que, através das suas propriedades a nível metabólico, diminuem a concentração de metabolitos da vitamina D no sangue. Deste modo por vezes podem ser administrados fármacos como fenobarbital, cateconazol e aminoquinolonas (35).

2.4 Suplementação e Fortificação Alimentar

O aporte em vitamina D pode ser avaliado através da concentração sérica de 25(OH)D, assumindo ausência da síntese cutânea. Segundo este pressuposto, a concentração considerada saudável ronda entre 75-250 nmol/L, isto é 30-100 ng/ml. Mais especificamente, níveis plasmáticos de 25(OH)D < 50 nmol/L indicam deficiência de vitamina D, 50-75 nmol/L indicam insuficiência, e 75-250 nmol/L indicam valores normais em vitamina(41). Para evitar a deficiência, a ingestão diária da vitamina D deve variar entre 10 e 20 µg (400-800 UI) (42). No entanto, existe uma disparidade entre as recomendações oficiais e a real ingestão da vitamina D na população. Na Europa, cerca de 40,4% da população apresenta uma concentração de 25(OH)D inferior a 50 nmol/L (20 ng/ml), e 13% apresenta níveis abaixo dos 30nmol/L (12ng/ml). Tendo em conta estes dados, é evidente a necessidade de intervenção das autoridades de saúde para regularizar esta situação (43). Intervenções no estilo de vida como aumento da ingestão natural da vitamina D, promoção da perda de peso (que pode mobilizar a vitamina D e os seus metabolitos do tecido adiposo) e o aumento da exposição solar são importantes, mas provam-se frequentemente insuficientes para alcançar as recomendações estabelecidas. Deste modo a suplementação representa uma estratégia eficiente para a prevenção desta deficiência (44).

O relatório sobre a vitamina D e cálcio feito pela National Academy of Medicine, juntamente com o relatório da EFSA, podem ser considerados as principais linhas guia dietéticas da vitamina D. Na tabela 1.2 estão resumidos os valores de referência do nutriente baseando-se em 5 relatórios das seguintes entidades oficiais: National Academy of Medicine (US e Canada), EFSA (EU), Scientific Advisory Committee on Nutrition (UK), Nutritional

Societies (Alemanha, Áustria e Suíça) e de alguns dos países europeus nórdicos (NORDEN) (29,45).

Tabela 1.2 Valores de referência do nutriente (VRN) ou valores de ingestão diária recomendada em vitamina D (adaptado de (44))

País (Autoridade de Saúde)						
	EUA e Canadá (NAM)		UE (EFSA)	Alemanha, Áustria e Suíça (DACH)	UK (SACN)	Países Nórdicos (NORDEN)
DRV/DRI	EAR	RDA	AI	AI	RNI	RI
VRN (nmol 25(OH)D /L)	40	50	50	50	25	50
Idade	Ingestão de vitamina D em µg por dia (1µg = 40 unidades internacionais)					
0-6 meses	10			10	8,5-10	10
7-12 meses	10		10	10	8,5-10	10
1-69 anos	10	15	15	20	10	10
70-74 anos	10	20	15	20	10	10
>75 anos	10	20	15	20	10	20
Gravidez	10	15	15	20	10	10
Lactação	10	15	15	20	10	10

NAM, National Academy of Medicine; EFSA, European Food Safety Authority; DACH, Germany, Austria and Switzerland; SACN, Scientific Advisory Committee on Nutrition; EAR, Estimated Average Requirement; RDA, Recommended Dietary Allowance; AI, Adequate Intake; RNI, Reference Nutrient Intake; RI, Recommended Intake; 25(OH)D, 25-hydroxivitamina D.

No entanto, a suplementação também apresenta limitações consideráveis: a aderência à suplementação é bastante fraca a nível individual devido às diferenças de estatuto socioeconómico, uma vez que se trata de um tratamento dispendioso e muitas vezes não participado. Além disso, a suplementação aumenta consideravelmente os riscos de overdose que pode resultar numa intoxicação, com efeitos adversos graves para a saúde (46).

Uma abordagem eficiente e segura tem sido a fortificação alimentar que foi introduzida em vários países ao longo do tempo. Existe fortificação alimentar de dois tipos, a fortificação tradicional, e a biofortificação/bioadição. A fortificação tradicional consiste na simples adição da vitamina D aos alimentos comercializados. Por outro lado, a biofortificação/bioadição consiste no enriquecimento dos alimentos de forma indireta, como por exemplo a incorporação de vitamina D na ração de galinhas ou gado para aumentar o teor de vitamina D nos ovos e na carne, respetivamente, ou a exposição UV dos cogumelos ou leveduras (usadas posteriormente na produção do pão)(44).

Em termos de saúde pública, a diversidade das políticas implementadas nos diferentes países é considerável. Existem políticas de fortificação alimentar obrigatórias e voluntárias, sendo por vezes difícil perceber a sua diferença. Na Finlândia, o Ministério de Comércio e Indústria recomenda a fortificação alimentar de leites, bem como de margarina/gorduras para barrar, numa base voluntária, no entanto houve uma grande aderência a esta iniciativa por parte das indústrias que resultou numa fortificação dos alimentos em grande escala. Esta iniciativa demonstrou resultados extremamente benéficos a nível de saúde pública na população finlandesa (47). Apesar de a legislação sobre esta medida estar relativamente harmonizada em toda a União Europeia (UE), vários países continuam a valorizar leis nacionais que restringem a adição de vitaminas e minerais nos alimentos. No entanto, com o exemplo da Finlândia, é

possível inferir que esta iniciativa é uma alternativa eficiente, segura e custo-efetiva que melhora significativamente o status da vitamina D na população geral (47).

3 Relevância Clínica

3.1.1 Sistema Imunitário

O sistema imunitário desempenha um papel fundamental na manutenção da saúde do organismo, ao assegurar a defesa contra as consequências da invasão por microrganismos prejudiciais. Este sistema é concebido como tendo dois papéis distintos e complementares, tais como a imunidade inata e adaptativa, respetivamente.

A imunidade inata compreende um conjunto de respostas primárias à invasão por agentes patogénicos, que são desencadeadas por uma série de componentes, incluído barreiras físicas (*e.g.*, pele, mucosas, células endoteliais), células (*e.g.*, mastócitos, células dendríticas, macrófagos, neutrófilos e células NK), péptidos antimicrobianos (*e.g.*, defensinas, catelicidina), componentes humorais inflamatórios (*e.g.*, sistemas complemento e opsoninas) e outros componentes como os TLRs (toll like receptors) e enzimas expressas pelas células endoteliais e fagocíticas (lisozima) (48).

Por outro lado, a imunidade adaptativa constitui uma defesa mais específica do organismo envolvendo células especializadas e anticorpos que reconhecem e destroem os agentes patogénicos de forma direcionada. Este mecanismo é assegurado por linfócitos do tipo T e B que, para além de identificarem os agentes patogénicos, desenvolvem memória imunológica que consegue proteger o hospedeiro de forma duradoura (49).

Vários micronutrientes participam na regulação destes processos imunitários, incluindo a vitamina D. Algumas das primeiras evidências a favor desta ideia surgiram durante o tratamento de patologias como tuberculose e lepra, provocadas pela invasão por *Mycobacterium tuberculosis* (48). Por outro lado, a importância da vitamina D nos processos imunitários foi esclarecida pela descoberta da presença do VDR em quase todas as células do sistema imunitário, assim como a presença das enzimas metabolizantes produzidas por estas células

(50). Além do mais, a expressão do VDR pelas células imunitárias é controlada de forma diferente dependendo do estado de ativação. Por exemplo, as células T expressam mais VDR depois de serem ativadas, ao passo que os monócitos perdem a expressão do VDR depois da sua diferenciação em macrófagos ou células dendríticas (51,52).

3.1.1.1 Imunidade Inata

A vitamina D desempenha um papel relevante na regulação e controlo dos processos de imunidade inata a vários níveis de ação.

Ao nível das barreiras físicas, como exemplo, a ativação do VDR das células epiteliais do intestino é importante na proteção da integridade da barreira mucosa e na regulação da imunidade inata do intestino (53). A nível celular, a vitamina D estimula os genes das junções gap, junções de oclusão e proteínas da família das caderinas, levando ao fortalecimento da integridade celular e melhoria da comunicação intercelular. Desta forma previne e dificulta a invasão dos microrganismos, incluindo vírus (54). No que respeita à componente peptídica e de proteínas antimicrobianas, a vitamina D tem um papel estimulador, ao aumentar a produção destes agentes pelos macrófagos e monócitos (55). Mais ainda, contribui para o aumento da quimiotaxia, autofagia e fusão fagossomal das células. A exposição dos monócitos a agentes patogénicos aumenta a expressão da CYP27B1 e do VDR por retroação positiva, resultando num aumento da concentração da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ no local da infeção. Além disso este metabolito aumenta a produção de CAMP (péptidos antimicrobiano do tipo catelicidina), não só pelos macrófagos, mas também por queratinócitos, células epiteliais, e trofoblastos da placenta (48).

Para explicar melhor a regulação da imunidade inata pela vitamina D é necessário aprofundar os mecanismos de ação deste micronutriente no ciclo de vida de algumas células que fazem parte deste sistema.

3.1.1.1.1 Células Dendríticas

No que respeita às células apresentadoras de antígeno, a ação da vitamina D caracteriza-se pela modificação do fenótipo celular, tornando-o mais tolerogénico e imaturo: estas células sofrem alterações morfológicas, tornando-se mais aderentes e fusiformes, efeito esse que é acompanhado pela alteração na expressão de marcadores superficiais, bem como na produção de citocinas (56).

Especificamente, no que respeita à expressão de marcadores superficiais, ocorrem diminuições da expressão do MHCII (complexo maior de histocompatibilidade II; envolvido na apresentação de antígenos), CD40, CD80 e CD86 (complexo de diferenciação 40, 80 e 86; moléculas coestimulatórias necessários para a ativação e sobrevivência das células T), e CD54 (molécula de adesão), bem como aumentos de expressão de CCR5 (C-C recetor de quimiocina tipo 5), e F4/80 (glicoproteína expressa em macrófagos utilizada como marcador). No que respeita às citocinas, a expressão das interleucinas (IL) pró-inflamatórias 6 e 12 é diminuída, ao passo que o efeito oposto é observado na expressão de IL-10 (com ação anti-inflamatória que limita a resposta imunitária exacerbada e protege os tecidos) (57).

Para além destas ações, a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aumenta a expressão de PD-L1 (ligando de morte celular programada), contribuindo para a indução dos linfócitos T regulatórios (*Tregs*). Mais ainda, a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induz a autofagia assegurando o processo de reciclagem celular (58), induzindo a transcrição de proteínas Atg-5 e Beclin-1, que promovem a autofagia através da via de indução de catelicidina e dos seus fatores (p38, ERK, e C/EBP β) (59).

3.1.1.1.2 Monócitos/Macrófagos

Tanto monócitos como macrófagos expressam VDR, mas durante a diferenciação dos monócitos em macrófagos existe uma diminuição nos níveis de expressão deste recetor.

Adicionalmente, a expressão de 1 α -hidroxilase nos monócitos e macrófagos é aumentada pelo estímulo imunitário (TLRs ativados, LPS, interferon gamma; IFN- γ)(52).

Em resposta à detecção de infecção os macrófagos ativados e monócitos, induzidos por sinalização dos recetores toll-like e exposição a citocinas inflamatórias (e.g., IFN- γ), ocorre um aumento de expressão de CYP27B1, responsável pela conversão de 25(OH)D em 1,25(OH) $_2$ D $_3$ (60), levando a um aumento da concentração da última(Fig4). Este aumento, conseqüentemente, estimula a produção de catelicidina antimicrobiana LL-37 pelos macrófagos, aumentando assim a sua atividade antimicrobiana. Especificamente, a catelicidina atua contra a invasão de bactérias e fungos por destabilizar as suas membranas (61). Além disso desempenha, também, uma ação antiviral por disrupção dos envelopes e alteração da viabilidade das células alvo hospedeiras (62)- Mais ainda, a catelicidina promove quimiotaxia da imunidade celular para o sítio da infecção (54).

Para além do seu efeito estimulatório na produção de catelicidina LL-37, a produção macrofágica de 1,25(OH) $_2$ D $_3$, promove a saída da vitamina destas células, com o objetivo de influenciar a função dos linfócitos próximos. Este processo, no entanto, acarreta o risco de produção macrofágica excessiva de 1,25(OH) $_2$ D $_3$, que pode causar hipercalcemia e hipercalcúria. É por esta razão que os doentes com doenças granulomatosas, incluindo sarcoidose, desenvolvem hipercalcemia durante o verão (63).

Além disso a vitamina D tem um efeito antioxidante em monócitos ao aumentar a expressão glutatona redutase (GR) e glutamato-cisteína ligase (GCL) (64).

3.1.1.2 Imunidade Adaptativa

Em geral, no contexto da imunidade adaptativa, a vitamina D desempenha um papel predominantemente inibitório (65). Como exemplo, em modelos experimentais, a 1,25(OH) $_2$ D $_3$ suprime as respostas imunitárias mediadas pelas células T helper, diminuindo

consequentemente a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IFN- γ , IL-6, IL-2 e TNF- α (66).

No entanto, apesar de os resultados em estudos *in vitro* e em animais sobre a imunomodulação produzida pela vitamina D serem bastante promissores, este sucesso não se traduziu ainda para os estudos humanos. Uma possível explicação para esta discrepância é a administração de diferentes formas de vitamina D entre estudos pré-clínicos e clínicos: ao passo que nos primeiros é usada 1,25(OH) $_2$ D $_3$, nos segundos é usada vitamina D $_3$. Mais ainda, é plausível que existam diferenças derivadas do uso de diferentes dosagens (48).

3.1.1.2.1 Linfócitos T

Os linfócitos T são ativados pelas células dendríticas para induzir uma resposta imunitária específica e tal como células da imunidade inata expressam VDR e CYP27B1. No entanto, ao contrário dos monócitos, a expressão de VDR nas células T aumenta ao longo da sua ativação (67). Congruentemente, a 1,25(OH) $_2$ D $_3$ produzida localmente pelos monócitos e macrófagos resulta numa alteração dramática do estado imunológico passando de pro-inflamatório a tolerogénico. Esta alteração caracteriza-se por uma supressão da proliferação dos linfócitos T e modulação da produção de citocinas com impacto em diferentes subgrupos dos linfócitos T. Mais concretamente, ocorre uma alteração do perfil imunológico Th1 e Th17 por um perfil Th2, suprimindo as citocinas Th1 (IL-2, IFN- γ , TNF- α) e Th17 (IL-17, IL-21) e induzindo a expressão das citocinas Th2 (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13)(63).

Como a principal função das células dendríticas é iniciar e regular a resposta dos linfócitos T, o efeito da 1,25(OH) $_2$ D $_3$ nas células dendríticas tem inevitavelmente um grande impacto nos linfócitos T. Apesar de a vitamina D conseguir afetar as células T diretamente, a maior parte da sua influência é exercida de forma indireta. Assim, ao diminuir a expressão de MHCII e moléculas costimulatórias, a 1,25(OH) $_2$ D $_3$ modifica a capacidade das células

dendríticas perante as células T: isto é, sem esta capacidade coestimulatória, as células dendríticas tornam-se tolerogénicas dando origem a células T regulatórias (68)

Tal como linfócitos T helper, os linfócitos T citotóxicos também expressam CYP27B1 e VDR, observando-se um aumento da expressão do VDR em resposta a infeção (69). Congruentemente com o ação imunossupressora da vitamina D sobre a resposta imunológica adaptativa, existe evidência de que diminuições na razão CD4/CD8 (um indicador da ativação imunológica aumentada), está associada a níveis baixos de 25(OH)D. Mais ainda, a administração diária de 5000-10000IUs de vitamina D3 durante 12 meses levou a um aumento da razão CD4/CD8 (70). No entanto ainda não existem dados suficientes sobre a ação direta da vitamina D nos linfócitos T citotóxicos, sendo os seus efeitos na diferenciação, proliferação e funções deste tipo de células provavelmente mediados tanto pela ativação autócrina direta do VDR, como por alterações na sinalização das citocinas via linfócitos T helper e células dendríticas (69).

3.1.1.2.2 Linfócitos B

A presença de VDR e 1 α -hidroxilase nos linfócitos B sugere uma forte influência da vitamina D nestas células. De facto, a 1,25(OH)₂D₃ induz a apoptose dos linfócitos B ativados, e impede a geração de plasmócitos e células B de memória (71). Mais concretamente, a ativação e a diferenciação das células B em plasmoblastos secretores de anticorpos tipo IgE é inibida pelo calcitriol *in vitro* e *in vivo*, provavelmente através do comprometimento da ativação do NF-kB p50 (fator de transcrição crucial na regulação de respostas inflamatórias e desenvolvimento de células imunitárias) (72). Em linha com isto, foi demonstrado que a secreção *in vitro* de IgA, IgE, IgG e IgM induzida por vários estímulos foi diminuída pela adição de vitamina D ativada (73).

Para além dos mecanismos acima descritos, a vitamina D também inibe a ativação de células B mediada por citocinas. Atuando nas células T helper $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ promove diretamente a produção de citocinas anti-inflamatórias pelas células B (IL-10, CCR10), e suprime a diferenciação de células B em células de memória (63).

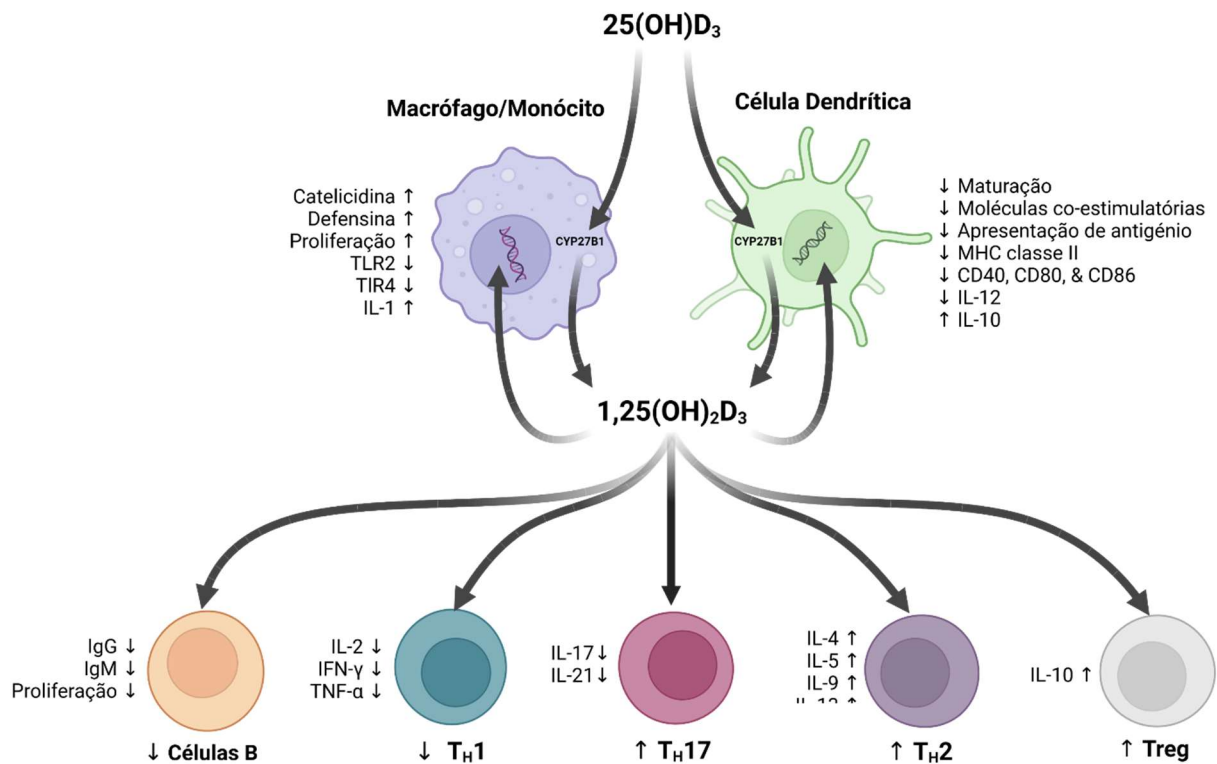


Figura 4 Efeitos da vitamina D no sistema imunitário (adaptado de (63))

3.1.2 Doenças Infecciosas

Dados epidemiológicos têm vindo crescentemente a sugerir que a deficiência em vitamina D é associada com o aumento de morbidade em várias doenças infecciosas, com especial foco nas infeções do trato respiratório superior. No entanto, apesar disto, a utilidade da suplementação com vitamina D no tratamento destas doenças continua a ser controversa dada a existência de discrepâncias marcadas nos resultados de ensaios clínicos (74).

3.1.2.1 Gripe/Influenza

A gripe é uma doença respiratória infecciosa provocada pelo vírus influenza que afeta entre 5-15% da população global anualmente, sendo caracterizada por sintomas como febre, dor de garganta, tosse, corrimento nasal, dor de cabeça e mialgia. Casos mais severos podem levar a condições como bronquite e pneumonia, sendo que a Organização Mundial de Saúde estima que infecções por influenza sejam responsáveis por 250000-500000 mortes anualmente (75).

Pensa-se que os picos sazonais de gripe sejam em parte atribuíveis à menor exposição solar e, conseqüentemente, à menor produção endógena de vitamina D (76). Em linha com esta hipótese, estudos ecológicos sugerem que o aumento da concentração sanguínea de 25(OH)D, através da suplementação, podem reduzir o risco infecção por influenza (77). De facto, e considerando esta possibilidade, foi já sugerido que a fortificação alimentar e a suplementação com vitamina D deveriam ser avaliadas como possíveis componentes de programas de redução das taxas de mortalidade associadas à gripe, especialmente em pessoas idosas (78).

Em termos mecanísticos, existem várias vias pelas quais a vitamina D pode ter uma ação preventiva e/ou curativa da gripe: como previamente mencionado, a vitamina D estimula a produção de defensinas e catelicidina, cuja ação antipatogénica não se encontra limitada a agentes microbianos, tendo também atividade antiviral (79).

Outro possível mecanismo que subjaz a atividade antiviral da vitamina D prende-se com a sua eficácia na modulação da resposta inflamatória, especificamente ao diminuir a produção de citocinas inflamatórias através da modulação dos macrófagos (80). Isto é especialmente importante considerando que a libertação de citocinas pro-inflamatórias está correlacionada com a severidade da doença e que a supressão apropriada da expressão destas citocinas reduz a letalidade causada por esta infecção (79). Neste contexto, os estudos *in vitro* em células epiteliais pulmonares demonstraram que 1,25(OH)₂D administrada quer antes, quer depois da exposição

a H1N1 diminuiu significativamente os níveis de TNF- α e IFN- β , diminuindo também os níveis de IL-8 e IL-6 (81).

Congruentemente, em estudos animais, a administração de 1,25(OH)₂D levou à repressão da transcrição do mRNA das células T, à supressão da produção de IFN- γ , bem como uma redução do crescimento do vírus H5N1 (82).

Relativamente aos estudos em humanos, existe evidência de que a suplementação com a vitamina D tem efeito na prevenção da infecção por vírus influenza A e consegue aliviar os seus sintomas. Num ensaio clínico randomizado japonês a suplementação diária com 1200 IU de vitamina D, em crianças de idade escolar, mostrou um efeito preventivo significativo contra a infecção por influenza A, mas não por influenza B (83). Num estudo chinês semelhante, com uma amostra mais jovem (3-12 meses), a suplementação diária com 1200 IU não só reduziu a incidência da gripe nas crianças, em comparação a suplementação com uma dose menor (400 IU), como aliviou a severidade e a duração dos sintomas (84). Congruentemente, uma meta-análise recente, baseada em 10 estudos randomizados, confirmou que a suplementação com vitamina D tem um efeito preventivo na gripe e sugeriu que a suplementação com esta vitamina no inverno pode ser benéfica na prevenção desta infecção (85).

No que diz respeito a imunização contra influenza, a proteção induzida pela vacina trivalente contra a gripe existente no mercado não é adequada nas crianças mais novas, devido a imaturidade do seu sistema imunitário. Para contornar este problema colocou-se a hipótese de que a utilização da vitamina D como adjuvante neste tipo de vacinação poderia ter efeitos benéficos e aumentar a resposta do organismo. No entanto, o estudo que se focou em verificar esta hipótese não encontrou resultados que a apoiassem, apesar de não excluírem a hipótese de que a suplementação com a vitamina D poderia ser mais benéfica se fosse feita significativamente antes da administração da vacina (86). Mais ainda, num outro estudo, foi testada a possível associação entre a deficiência em vitamina D e a fraca imunização nas pessoas

idosas, no entanto também não foram encontradas diferenças significativas que comprovassem esta teoria (87).

Em suma, e apesar da evidência supracitada, não existe ainda consenso acerca do papel que a vitamina D poderá ter no combate ao vírus influenza. É, no entanto, indubitável que a vitamina D é parte de um complexo de fatores que afetam a resposta imunitária. Logo, avaliar o aporte da vitamina D e manter os seus níveis séricos ótimos devia ser considerado em todos os idosos e crianças (80). Mais ainda, os resultados de alguns estudos não excluem a possibilidade de incluir a vitamina D como adjuvante a vacinação contra influenza (80).

3.1.2.2 Tuberculose

A tuberculose (TB) é a principal causa de morte por doença infecciosa na população adulta mundial, sendo considerada uma emergência de saúde pública nos últimos 25 anos. De facto, apesar de haver sucesso com várias abordagens de saúde pública, um progresso modesto tem sido feito no controlo da tuberculose. A OMS estima que cerca de 10 milhões de pessoas tenham contraído tuberculose em 2017, com 87% destes indivíduos a viverem em 30 países de alta incidência. Mais ainda, é estimado que cerca de 1,3 milhões de pessoas morram devido a tuberculose anualmente (88). Este panorama é agravado pelo facto de as formas resistentes de tuberculose estarem a caminhar para serem os agentes patogénicos mais mortais do mundo. Efetivamente, as fatalidades atribuíveis a tuberculose resistente, representam – por si só – 25% das mortes por infeções resistentes a antibióticos (89).

Uma particularidade da infeção por tuberculose é que apenas uma percentagem reduzida dos indivíduos infetados irão desenvolver infeção ativa (90). Mais ainda, mesmo num determinado individuo, a imunidade à tuberculose parece flutuar ao longo do tempo, sugerindo a existência de fatores determinantes da conversão para infeção ativa (88). Nesta medida, a deficiência em vitamina D pode representar um desses fatores (91). De facto, estudos

populacionais indicam que concentração sérica reduzida de 25(OH)D está associada ao surgimento de várias patologias infecciosas incluindo a tuberculose (92).

Para além disto, a vitamina D tem sido investigada como um potencial tratamento centrado no hospedeiro pela suas propriedades imunomodulatórias incluindo a indução de respostas antimicrobianas e vias anti-inflamatórias que conseguem amenizar a inflamação patológica na TB (91). Este papel putativo para a vitamina D é congruente com o facto de que – previamente à descoberta dos antibióticos com atividade antimicobacteriana – o tratamento da tuberculose se centrava no isolamento em sanatórios, com prescrição de rotinas de repouso na cama, ar puro, boa alimentação e, não menos importantemente, luz solar, para fortalecer a imunidade e alcançar uma melhoria clínica. Apesar de não haver ensaios clínicos randomizados nesta área, vários médicos relatavam uma melhoria nestes doentes (91).

Um facto peculiar em relação à tuberculose é que apresenta uma sazonalidade inversa à observada em outras infeções respiratórias comuns como a gripe ou a COVID-19, com picos de incidência no verão, ao invés de no inverno. Efetivamente, um estudo de 2014 (93) reporta que a redução do tempo de exposição solar durante o inverno estava positivamente correlacionado com um aumento da incidência de tuberculose após seis meses. Os autores notam, no entanto, que a exposição solar é uma medida indireta dos níveis de vitamina D e que existem outros fatores que podem explicar ou contribuir para esta correlação. Ainda assim, um estudo no Peru (94), mostrou que o declínio dos níveis de vitamina D durante o inverno esteve positivamente associado a um aumento posterior da probabilidade de teste da tuberculina positivo, e a uma maior probabilidade de diagnóstico positivo no verão. Estes resultados, embora ainda correlacionais parecem sugerir a deficiência em vitamina D como um fator de risco para a conversão para tuberculose ativa. Curiosamente, um outro estudo revelou que ao contrário do que é observado em indivíduos saudáveis, em indivíduos com tuberculose, não existe uma variação sazonal nos níveis de vitamina D. Mais ainda, estes indivíduos apresentam

uma maior probabilidade de deficiência, mesmo quando controlando para horas de exposição solar, e consumo dietético de vitamina D (95).

Uma meta-análise sobre o tratamento adjuvante com a vitamina D em doentes com tuberculose pulmonar encontrou resultados contraditórios relativamente à rapidez com que os doentes deixam de apresentar culturas positivas para o *Mycobacterium tuberculosis*. Especificamente, usando o exame cultural da expetoração, não foi encontrada evidência de que estes doentes apresentassem exame cultural negativo mais cedo que os que não fizeram terapia adjuvante.. No entanto, na pesquisa de *Mycobacterium spp* no exame direto do esfregaço de expetoração foi encontrado um moderado efeito positivo (exames diretos negativos mais precoces), sugerindo que a suplementação acelerou a recuperação. Curiosamente, esta aceleração foi observada nos doentes com tuberculose multirresistente (resistente à rifampicina e isoniazida), sendo que nos doentes cujo isolado de *Mycobacterium tuberculosis* foi sensível a rifampicina ou isoniazida este efeito não foi observado. Desta forma, tendo em conta que a evidência sobre este subgrupo de doentes não consegue justificar a recomendação do tratamento adjuvante com a vitamina D nestas situações, serão necessários outros estudos para fortalecer essa evidência (96).

Dois estudos clínicos semelhantes foram desenhados para verificar o efeito da suplementação com a vitamina D nos doentes com tuberculose ativa. Os dois demonstraram que, apesar de ser uma intervenção segura, não foram observadas diferenças significativas na diminuição do tempo de negatificação do exame direto (97,98). Outro estudo clínico demonstrou que a suplementação com bolus de 450 000 IU de vitamina D, apesar de não provocar diferenças significativas nos dados laboratoriais, levou a uma aceleração na recuperação dos sintomas nos doentes. Esta discrepância de efeitos com os restantes estudos neste campo pode dever-se à existência de polimorfismos no VDR, variabilidade nas dosagens administradas e diferentes concentrações base da vitamina D antes do tratamento (99).

Em suma, não existe atualmente evidências suficientes que comprovem a utilização da vitamina D como adjuvante na terapia da tuberculose pulmonar. Ainda assim, dadas as propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias da vitamina D em modelos experimentais, a ideia de usar esta vitamina como intervenção pouco dispendiosa e segura continua a ser atraente (100). Além do mais, existe a possibilidade de que a vitamina D tenha um papel mais marcante como terapia adjuvante da tuberculose resistente (91). Assim, é importante que haja uma continuidade e evolução dos estudos clínicos realizados nesta área.

3.1.2.3 COVID-19

A pandemia da doença por coronavírus 2019 (COVID-19), causada pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) continua a ser uma séria ameaça à saúde pública a nível mundial. Apesar de um número considerável de infeções por SARS-CoV-2 se manifestar com sintomas ligeiros das vias respiratórias superiores, um número significativo de pessoas requer hospitalização e tratamento intensivo, especialmente quando a doença evolui para Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda (SDRA) (54). Mundialmente, dos cerca de 600 milhões de casos confirmados pela OMS até julho de 2022, cerca de 6.3 milhões, resultaram em fatalidades (101).

Existe forte evidência do impacte da sazonalidade e distribuição geográfica na incidência de COVID-19. Assim, os picos de incidência de COVID-19 coincidem com alturas do ano onde a exposição UV é reduzida, facto que pode ser explicado não só pela diminuição da sobrevivência do vírus quando a radiação UV é elevada, como pelas prováveis diminuições na produção da vitamina D (102).

Para além disso, no decurso da pandemia COVID 19 e devido aos vários estudos que sugerem que a vitamina D possui propriedades antivirais e que pode desempenhar um papel na gestão da SDRA (103); houve um aumento marcado no interesse sobre a potencial utilidade da suplementação com esta vitamina no tratamento da infeção por COVID-19.

De acordo com a literatura recente (sumarizada na tabela 2) a suplementação com a vitamina D encontra-se associada a uma redução: i) da probabilidade de admissão à unidade de cuidados intensivos; ii) da necessidade da utilização de ventilação artificial e; iii) na mortalidade associada ao COVID-19 (104).

Ao nível imunológico, existe evidência de que níveis baixos de vitamina D são associados a um aumento das citocinas inflamatórias e um aumento significativo no risco de desenvolver pneumonia e infecções respiratórias virais, que contribuem para o desenvolvimento desta síndrome (103). Efetivamente, a vitamina D parece ter um efeito na diminuição das respostas pro-inflamatórias, sendo que a severidade desta resposta imunitária e inflamatória prevê o prognóstico e a severidade da progressão da doença (105). Deste modo, existe uma associação significativa entre a quantidade de indicadores inflamatórios e a severidade da doença, com casos severos de COVID-19 a apresentarem frequentemente evidências do fenómeno apelidado de tempestade de citocinas. Este fenómeno caracteriza-se por níveis elevados de múltiplas proteínas inflamatórias, incluindo a proteína C reativa, D-dímero e citocinas (incluindo IL-6, IL-1 β , TNF- α). Esta exacerbação provoca inflamação sistémica e disfunção endotelial que em última análise causa instabilidade hemodinâmica, lesão tecidual e falência multiorgânica (106). Neste contexto, os níveis de IL-6 demonstraram ser um bom valor preditivo no prognóstico de doentes COVID-19 que sofrem de SDRA, sinalizando um aumento na sua severidade (107).

Assim, a vitamina D parece moderar a sobreativação inflamatória indesejável através de diferentes mecanismos, incluindo a supressão seletiva de citocinas inflamatórias, redução da infiltração leucocitária nos locais de inflamação, interação com células imunitárias como neutrófilos, monócitos/macrófagos e mastócitos (108). Mais concretamente, o calcitriol regula negativamente o fator estimulante de colónias de macrófagos granulócitos, estimulando, no entanto, a produção da prostaglandina imunossupressora E2. Além disso, induz a produção de IFNs do tipo I, que suprimem a replicação viral prevenindo assim a inflamação adicional (54).

Tabela 2 Associação entre os níveis da vitamina D e o risco/severidade da SARS-CoV-2 (104)

Ref	País	N	Tipo de estudo	Avaliação	Conclusões
(109)	EUA	499	Coorte	Infeção por COVID-19	Risco de contrair COVID-19 é maior nos indivíduos deficientes em vitamina D
(110)	Israel	7807	Coorte	Concentração de vitamina D nos casos e nos controlos	Nível de vitamina D é significativamente menor nos doentes com COVID-19. Baixo nível de 25(OH)D aparenta ser um fator de risco independente para infeção e hospitalização por COVID-19
(111)	Inglaterra	449	Coorte	Infeção por COVID-19	Não houve relação entre o nível de vitamina D e o risco de contrair COVID-19
(112)	Suíça	187	Coorte	Concentração de vitamina D nos casos e nos controlos	Níveis de 25(OH)D no sangue significativamente mais baixos nos doentes com COVID-19 comparando com os controlos.
(113)	Irão	402	Caso controlo	Concentração de vitamina D nos dois grupos	O nível de 25(OH)D foi significativamente mais baixo nos doentes positivos e existe uma relação significativa entre os níveis séricos de 25(OH)D e vulnerabilidade ao COVID-19
(114)	China	142	Caso controlo	Concentração de vitamina D e severidade da doença	Taxas de VDD significativamente maiores nos casos positivos de COVID-19 comparando com controlos. VDD foi um fator de risco para COVID-19, especialmente casos severos.
(115)	Espanha	394	Caso controlo	Concentração de vitamina D e infeção por COVID-19	Doentes COVID-19 positivos tiveram níveis de vitamina D mais baixos do que os controlos, especialmente nos hospitalizados.
(116)	EUA	79381	Caso controlo	Concentração de vitamina D e infeção por COVID-19	Foi observada uma relação significativa entre a deficiência em vitamina D e o risco de contrair COVID-19.

Tabela 2 (Continuação)

Ref	País	N	Tipo de estudo	Avaliação	Conclusão
(117)	Turquia	85	Caso controle	Concentração de vitamina D e infecção por COVID-19	Doentes com COVID-19 tiveram níveis de vitamina D significativamente mais baixos do que os controles
(118)	Irão	235	Transversal	Mortalidade e morbidade relacionada com COVID-19	Foi observada uma associação significativa entre a suficiência em vitamina D e a redução da severidade clínica, mortalidade e níveis da proteína C reativa.

Por outro lado, vários estudos apontam que formas severas de COVID-19 estão frequentemente relacionadas com estados de hipercoagulação, que pode agravar a inflamação excessiva e acelerar futuros eventos trombogênicos. A vitamina D promove a expressão dos genes codificantes da antitrombina e trombomodulina, suprimindo assim este estado de hipercoagulação, e providenciando proteção durante o curso da forma grave de COVID-19 (119).

Uma meta-análise de 21 estudos sobre a relação entre a vitamina D e a infecção de COVID-19, demonstrou que indivíduos com baixo nível de vitamina D foram 1,64 vezes mais suscetíveis a contrair COVID-19, ao passo que indivíduos com níveis abaixo dos 50 nmol/L foram 2,42 vezes mais suscetíveis a ter uma progressão para COVID-19 mais severa (120).

Uma revisão sistemática de 23 estudos revelou que, apesar de a suplementação com a vitamina D não reduzir significativamente o risco de contrair COVID-19, encontra-se associada a uma menor taxa de mortalidade e menor risco de admissão à unidade dos cuidados intensivos, nos doentes hospitalizados. Além do mais, foi observado que a suplementação em bolus aparenta produzir um efeito menos marcado na diminuição dos riscos mencionados em comparação com outros regimes de suplementação utilizados (121). Estes dados vão de

encontro ao reportado por outra meta-análise, que concluiu que a suplementação com a vitamina D em bolus pode ser menos efetiva na prevenção de infecções respiratórias agudas. Uma possível explicação para este fenómeno são as flutuações bruscas na concentração sérica de vitamina D provocados por este tipo de regimes que podem desregular a atividade das enzimas envolvidas no seu metabolismo (122).

Em relação ao papel da vitamina D na potenciação da imunização contra o COVID-19, os dados são contraditórios. Piec et al. observaram que os níveis séricos da vitamina D influenciavam significativamente a quantidade de anticorpos produzidos nas pessoas recém-vacinadas, observando-se uma diferença de quase 30% nos valores máximos de anticorpos, em indivíduos com $25\text{ (OH)D} > 50\text{ nmol/L}$. Estes dados sugerem a importância da manutenção e monitorização dos níveis de vitamina D ótimos antes da vacinação, de modo a maximizar a resposta imunitária. Além disso, com base nestes dados é possível inferir que, do ponto de vista de saúde pública, o programa de imunização contra esta infeção devia ser ajustado e planeado nas alturas em que os níveis da vitamina D na população estão mais altos (fim do verão e início do outono), assim como estudar a possível suplementação prévia à vacinação (123). Por outro lado, Chillon et al. não observaram diferenças significativas na associação entre os níveis de vitamina D e a concentração de anticorpos induzida pela vacinação na população em estudo. No entanto, ambos os estudos focaram-se em populações saudáveis sugerindo a necessidade de uma investigação mais profunda ao nível de estudos clínicos que incluam populações de risco como idosos, doentes com comorbilidades ou hospitalizados, que poderiam beneficiar desta provável associação (124).

3.1.3 Doenças Autoimunes

As evidências relativamente aos efeitos imunomoduladores da vitamina D têm estimulado o interesse pelo seu possível papel na etiologia, patofisiologia e/ou terapia das doenças autoimunes. No entanto, e globalmente, ainda não existe um consenso alargado na comunidade

científica, devido a resultados discrepantes entre estudos animais e estudos epidemiológicos. Em animais, a evidência sugere um potencial efeito benéfico da suplementação com vitamina D, com observações de que a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ previne o início e reduz a progressão da doença nos modelos animais de encefalomielite autoimune experimental (EAE) e artrite induzida por colagénio (CIA)(125,126). Similarmente, diferentes modelos de enterocolite em murganho demonstram um fenótipo mais severo quando deficientes em vitamina D e redução da inflamação depois da administração da mesma (127).

No entanto, apesar das evidências sólidas nos resultados dos estudos experimentais com animais, os estudos em humanos são menos convincentes. Alguns dados epidemiológicos relacionam o aumento da latitude – e a conseqüente diminuição da exposição solar – com aumento da prevalência de certas doenças autoimunes, como por exemplo esclerose múltipla, diabetes tipo I e doença inflamatória intestinal (DII). Ainda assim, estas diferenças podem ser explicadas por outras causas, como fatores genéticos e estilo de vida (48). Além do mais, apesar de alguns estudos observarem uma correlação inversa entre a ingestão diária da vitamina D e a prevalência de doenças autoimunes, como a artrite reumatoide e diabetes tipo I, estes dados têm de ser considerados à luz das limitações inerentes a estudos retrospectivos e/ou correlacionais: especificamente, o facto de a correta avaliação da ingestão de vitamina D ser difícil de assegurar, dado ser baseada na memória do doente (128,129), e o facto de que a existência de correlações significativas não implica necessariamente uma relação causal (48). Uma forma de contornar a primeira limitação seria a quantificação dos níveis de $25(\text{OH})\text{D}_3$ no plasma. Neste sentido já existem dados que correlacionam a insuficiência em vitamina D com a maior prevalência de doenças autoimunes, em comparação com os controlos saudáveis (48).

3.1.3.1 Psoríase

Psoríase é uma doença hiperproliferativa não maligna da pele, sendo uma perturbação inflamatória crónica, que afeta 2-3% da população global (130). A hiperproliferação de queratinócitos, subjacente ao surgimento de lesões cutâneas, está associada com a resposta inflamatória dos linfócitos Th1, Th17 e Th22 ao auto-antígeno.

Dado que a epiderme é o principal sítio da produção cutânea de vitamina D₃ (131), e que os queratinócitos expressam VDR, foi congruentemente observado que concentrações fisiológicas de 1,25(OH)₂D foram eficazes, quer na inibição da proliferação das culturas de queratinócitos, quer na indução da sua diferenciação terminal. Também foi observado que a 1,25(OH)₂D₃ exerce efeitos inibitórios contra a atividade inflamatória associada a psoríase não só através da supressão da diferenciação das células dendríticas, quimiotaxia e apresentação de antígenos como também por inibir a produção de inúmeras citocinas pro-inflamatórias como IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α (132).

Estes factos, bem como o facto de que a deficiência em vitamina D é frequentemente identificada como um fator de risco para a psoríase (133), levaram à ideia de que o tratamento ou suplementação com vitamina D ou os seus análogos possa ter potencial na prevenção ou tratamento da doença (63). Nesta abordagem, e apesar das culturas de fibroblastos dérmicos derivados de cerca de 20% dos doentes apresentarem resistência parcial à atividade antiproliferativa da 1,25(OH)₂D (134), e de haver preocupação em relação ao seu potencial hipercalcémico, um ensaio clínico foi realizado com um análogo com menor atividade calcémica, o calcipotriene (500 μ g/g). Neste ensaio, o tratamento tópico com calcipotriene revelou-se consideravelmente eficaz, com hipercalcémia apenas a ser observada em situações em que o tratamento foi aplicado a grandes superfícies corporais. No entanto, dado que um efeito adverso frequentemente observado foi irritação da pele que ocorria essencialmente na cara, o uso deste tratamento na cara e outras áreas sensíveis não foi recomendado (135).

Múltiplos ensaios clínicos tentaram investigar a influência das diferentes formas de suplementação em vitamina D no tratamento da psoríase, produzindo variados resultados. Num estudo de 6 meses, em que doentes com psoríase receberam 60000 IUs de vitamina D uma vez a cada 2 semanas, foi demonstrada uma associação direta entre o aumento dos níveis sanguíneos de 25(OH)D e uma melhoria nos marcadores clínicos de severidade da doença (136). Congruentemente, num outro estudo de 6 meses, em que 35000 IUs de vitamina D3 foram administrados diariamente a doentes com psoríase ou vitiligo com deficiência ou insuficiência comprovadas em vitamina D, foi observada uma melhoria significativa nos marcadores clínicos de severidade em todos os doentes psoriáticos, bem como 25-75% de repigmentação em 14 dos 16 doentes com vitiligo. Mais ainda, estes efeitos terapêuticos foram observados sem que tenham sido registados qualquer tipo de toxicidade por parte da vitamina D como hipercalcémia, cálculos renais, nefrocalcinose e hipercalciúria (137).

No entanto, e em desacordo com os estudos anteriores, um estudo controlado com placebo, com a duração de um ano, em que doentes psoriáticos receberam 100000 IUs de vitamina D3 uma vez por mês, não encontrou efeitos benéficos da suplementação com vitamina D. Apesar disso, há que notar que a gravidade da psoríase foi menor nos doentes em que os níveis sanguíneos de 25(OH)D eram mais altos. Baseando-se nestes estudos podemos concluir que é aconselhável testar e tratar a deficiência em vitamina D nos doentes psoriáticos (138).

3.1.3.2 Diabetes tipo 1

A diabetes mellitus tipo 1 (DM1), também conhecida como diabetes autoimune, é uma doença crónica caracterizada pela deficiência de insulina devido à perda de células β pancreáticas, levando à hiperglicemia. Segundo a Federação Internacional de Diabetes, 8,8% da população adulta mundial tem diabetes e, embora a idade de início sintomático seja geralmente durante a infância ou adolescência, é possível os sintomas surgirem mais tarde

(139). De facto, apesar de a DM1 representar apenas 10-15% dos casos totais de diabetes a nível mundial (os restantes 85-90% a serem representados pela diabetes tipo 2), DM1 é a forma mais comum de diabetes em crianças (<15 anos de idade) e mais de 500.000 crianças vivem atualmente com esta condição em todo o mundo (140).

Apesar de a etiologia do DM1 não ser completamente compreendida, acredita-se que a patogénese da doença envolva a destruição de células β mediada por células T (140). Autoanticorpos direcionados a ilhéus cujo alvo é a insulina, descarboxilase de ácido glutâmico de 65 kDa, proteína 2 associada a insulinoma e transportador de zinco 8 - proteínas associadas a grânulos de secreção em células β - são biomarcadores de autoimunidade associada a DM1, que são encontrados meses a anos antes do início dos sintomas, e podem ser usados para identificar e estudar indivíduos em risco de desenvolver a doença (141).

Na tentativa de entender os possíveis mecanismos associados a estes efeitos, estudos pré-clínicos demonstraram que a administração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aumenta a ação dos Treg e inibe os Th1, levando a uma redução da incidência de DM1 num modelo de rato não obeso (142). Adicionalmente, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ promove a secreção da insulina diretamente pela sua interação com o VDR das células β pancreáticas. Estes mecanismos ajudam a explicar como a vitamina D tem um potencial protetor e um papel terapêutico na redução do risco de desenvolvimento da DM1.

Uma das associações mais sugestivas de um papel da vitamina D na prevenção da DM1 vem do facto de a prevalência desta doença ser consideravelmente mais alta nos países localizados a latitudes altas, em que o período diurno é diminuído (143). De facto, o país com a maior incidência de DM1 é a Finlândia, sendo que este é também um dos países onde a incidência de deficiência de vitamina D é mais alta (144,145). Mais ainda, estudos observacionais encontraram uma associação entre a suplementação com vitamina D e uma diminuição do risco de desenvolvimento da diabetes tipo 1 em crianças (63). Em linha com

estes estudos, o estudo caso-controle do EURODIAB (com 825 doentes DM1 e 2335 controles) revelou que a suplementação com qualquer dose de vitamina D estava associada com um risco reduzido de DM1 (146). Congruentemente, um estudo coorte finlandês de 10366 crianças mostrou que a suplementação diária com 2000 IUs durante o primeiro ano de vida levou a uma redução de 80% no risco de desenvolver diabetes tipo 1 (147).

Um estudo italiano confirmou a hipovitaminose generalizada em crianças com DT1, e reportou que crianças com níveis de 25(OH)D inferiores a 25nmol/L manifestavam sintomas mais graves, como cetoacidose mais severa e maior necessidade insulínica. Além disso, a concentração de 25(OH)D esteve negativamente relacionada com a hemoglobina glicada (HbA1c) e a dose diária de insulina durante um acompanhamento de 6 a 12 meses (148). Em linha com isto, uma revisão de literatura demonstrou que níveis séricos de vitamina D mais baixos são frequentemente encontrados em crianças com DT1, e associam-se significativamente com níveis mais altos da HbA1c e controle metabólico prejudicado. Além disso, foi observado que a suplementação com a vitamina D consegue melhorar o controle da glicémia, sugerindo o seu possível potencial na regulação da sensibilidade à insulina, e homeostasia da glucose (149). No entanto, Perchard et al. não chegaram a mesma conclusão, reportando a ausência de influência da vitamina D na HbA1c (150).

Em suma, o aumento da ingestão precoce da vitamina D na infância para manter níveis ótimos de 25(OH)D sérica parece ser protetor contra o desenvolvimento da diabetes tipo 1. A suplementação com a vitamina D, apesar de não eliminar a doença, permite controlar a atividade da doença. No entanto, não existe evidência dos efeitos a longo prazo da suplementação com esta vitamina em relação a mortalidade e morbidade nos doentes com esta patologia (63). Ensaios clínicos, com períodos de acompanhamento prolongados, são necessários para confirmar estes dados e permitir o estabelecimento da melhor formulação, dosagem, timing e duração da suplementação (149).

3.1.3.3 Artrite Reumatoide

A artrite reumatoide (AR) é uma doença articular inflamatória crónica, com prevalência mundial de cerca de 5 em 1000 adultos, que afeta mulheres com uma frequência 2-3 vezes superior à registada no sexo masculino. Apesar de poder surgir em qualquer idade, o pico de incidência é entre os 60-70 anos (151).

A patogénese da AR consiste na infiltração da membrana sinovial com monócitos, bem como linfócitos T e B. Este processo é precedido pela ativação das células endoteliais; a neovascularização é outra característica da sinovite da AR. A expansão de células sinoviais semelhantes a fibroblastos e macrófagos leva à formação de uma camada de revestimento sinovial hiperplásica. Essa membrana sinovial expandida, muitas vezes denominada “pannus”, invade o osso periarticular na junção cartilagem-osso e leva a erosões ósseas e degradação da cartilagem (152). Moléculas como o ativador do recetor do ligante do fator nuclear κ B (RANKL), prostaglandinas e metaloproteinases de matriz são induzidas por citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α e IL-6, e medeiam os sinais e sintomas da doença, incluindo dor e inchaço, acompanhados pela degradação da cartilagem e do osso. Esses eventos moleculares e celulares resultam na expressão clínica da doença. A progressão do dano articular está intrinsecamente associada ao edema articular (153).

Vários estudos reportaram uma correlação entre os níveis séricos de 25(OH)D e AR: Merlino et al. mostraram, num estudo coorte prospetivo, que mulheres com teores mais elevados de vitamina D apresentavam um risco de desenvolver RA 33% inferior ao das mulheres com valores mais baixos. (154). Por outro lado, Caraba et al. reportaram uma correlação inversa entre os níveis de 25(OH)D e o nível de atividade da doença, de TNF-alfa, e de IL-6, ao passo que uma correlação positiva foi encontrada entre os níveis de 25(OH)D e a função endotelial (155). De facto, num estudo recente de 645 doentes com AR precoce, a

deficiência em vitamina D esteve positivamente correlacionada com a atividade da doença e com a sua severidade, levando a que os autores sugerissem os níveis de 25(OH)D como um biomarcador útil para prever a progressão da doença (156). Nesta linha de pensamento, alguns estudos reportam a existência de uma associação entre níveis séricos de 25(OH)D baixos, e progressão da RA mais rápida nos doentes (157,158). Ainda que seja possível atribuir esta associação ao facto de estes doentes não terem grande exposição solar – devido a dificuldades na prática de atividades físicas ou fora de casa (74) – torna-se menos provável que esta associação seja puramente um artefacto dessa falta de exposição: efetivamente, a vitamina D e os seus metabolitos parecem ter atividade terapêutica contra a AR, provavelmente com base na sua atividade imunológica. Especificamente, a vitamina D suprime as respostas dos Th1 e Th17, e aumenta a atividade dos Tregs. A sobreexpressão dos Th1 e Th17, tal como a disfunção dos Treg desempenham um papel importante, ao desencadarem a inflamação sinovial crónica e poliartrite simétrica observada na AR (159). Gopinath et al. Também demonstraram num ensaio randomizado controlado, que a administração de 500 IUs diários de vitamina D3 concomitantemente com os antirreumáticos (DMARDs) e cálcio aos doentes de AR levou a um alívio significativo na dor, em comparação com o tratamento com DMARDs e cálcio (160).

In vitro, a combinação de corticosteroides e 1,25(OH)₂D₃ numa concentração fisiológica ótima, inibiu aditivamente o TNF-alfa, IL-17, IL-6 e a produção metalopeptidase de matriz (MMP) pelos sinoviócitos co-cultivados com células T (161). Além disso, em ratos knockout VDR, a artrite induzida por TNF-alfa foi mais severa, com maiores números de macrófagos e fibroblastos a serem encontrados nas articulações (162).

Concluindo, há evidência convincente de que o aumento da ingestão de vitamina D, com o objetivo de manter os níveis séricos de 25(OH)D num intervalo ótimo de 40-60ng/ml pode reduzir o risco de desenvolvimento de AR. No entanto, não existe, ainda, evidência suficiente para justificar a suplementação com vitamina D em qualquer forma, no tratamento da AR (63).

3.1.3.4 Lupus eritematoso sistêmico

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune crônica, que pode afetar todos os órgãos e tecidos. A predisposição genética, os fatores ambientais, e o equilíbrio hormonal interagem no desenvolvimento e na atividade da doença. As manifestações clínicas e o padrão de envolvimento de órgãos são altamente heterogêneos, espelhando a complexidade molecular subjacente ao fenótipo clínico do LES (163).

A patogênese do LES envolve múltiplos componentes celulares dos sistemas inato e adaptativo, presença de autoanticorpos e imunocomplexos, envolvimento do sistema complemento, desregulação de várias citocinas, incluindo IFNs do tipo I, e interrupção da depuração de ácidos nucleicos após a morte celular (163).

Os doentes com LES tendem a ter níveis baixos de 25(OH)D, existindo uma relação inversa entre os níveis de 25(OH)D e o índice de severidade da doença (164). Dados de um estudo chinês demonstram uma associação possível entre a insuficiência de vitamina D e a severidade dos surtos (165).

Os efeitos imunorregulatórios da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ têm sido investigados em diferentes modelos experimentais de autoimunidade. Em murganhos MRL-lpr/lpr, um modelo espontâneo de LES, a suplementação com vitamina D aumentou a longevidade, reduziu a proteinúria e a artrite dos joelhos, e preveniu as lesões dermatológicas (166). Nesta abordagem, Lemire et al reportaram que a administração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ao mesmo modelo animal, melhorou as lesões cutâneas, mas não teve efeito nas lesões renais (167). Mais ainda, no mesmo modelo, a deficiência em vitamina D induzida por dieta esteve associada a um comprometimento da função endotelial e à redução da capacidade de angiogênese e reparo endotelial, sugerindo que a administração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ antes das primeiras manifestações da doença pode atrasar ou prevenir o seu desenvolvimento (168). Num estudo paralelo em humanos, em doentes com

lúpus, deficientes em vitamina D, a suplementação como parte dos cuidados de rotina, também originou uma melhoria na função endotelial (169).

Um mecanismo subjacente a função de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ em LES foi definido nos estudos *in vitro*: o tratamento de monócitos de doentes com LES com $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ou o seu análogo, resultou na redução da produção de anticorpos. Estes resultados suportam a sugestão que o tratamento da deficiência em vitamina D deve ser parte integrante do esforço de controlo do LES (170).

Apesar das evidências supracitadas, ainda é difícil estabelecer uma relação forte entre a deficiência em vitamina D e doenças reumáticas autoimunes. Uma das principais causas desta dificuldade, centra-se no facto de as formas de avaliar a deficiência ou insuficiência em vitamina D diferirem bastante entre estudos: alguns baseiam-se na ingestão relatada, em vez de usar os níveis séricos. Além disso, existem outros fatores de confusão que podem enviesar a associação, como por exemplo a ingestão de prednisona ou a fotossensibilidade e a exposição a luz solar diminuída observada nestes doentes (171).

4 Conclusões e Perspetivas Futuras

A vitamina D desempenha um papel de marcado relevo em múltiplos processos fisiológicos, como por exemplo a absorção de cálcio no intestino e estimulação de osteoclastogénese, a regulação do hiperparatiroidismo, imunomodulação, entre outros. Desta forma, não é surpreendente que a deficiência em vitamina D represente um fator de risco, ou mesmo causativo, para várias patologias. De facto, a relevância clínica deste micronutriente num número tão alargado de patologias levou ao desenvolvimento de várias linhas de investigação com o objetivo de averiguar o potencial da suplementação com esta vitamina como uma medida de saúde pública de alto impacto, mas de baixo custo e relativamente baixo risco.

A presente monografia deu especial foco ao papel da vitamina D na regulação e funcionamento adequado do sistema imunitário. Apesar de ser uma área de investigação relativamente recente, existe uma quantidade considerável de literatura científica e estudos clínicos que sublinham a relevância da vitamina D neste sistema. A forma ativa da vitamina (1,25(OH)₂D₃) age como um fator potenciador da resposta imune inata, ao passo que serve para restringir e suprimir a sobreativação da resposta imune adaptativa. Desta forma, sublinha-se a sua importância na fisiopatologia de doenças infecciosas (especialmente as doenças infecciosas do trato respiratório) e autoimunes.

A deficiência em vitamina D pode ser ultrapassada através da suplementação nesta vitamina, a qual tem revelado efeitos preventivos consideráveis. Mesmo em indivíduos já diagnosticados com algumas destas patologias, a correção da deficiência nesta vitamina tem efeitos benéficos, reduzindo a severidade e/ou progressão das mesmas.

Ainda assim, existem limitações significativas na literatura relativamente a eficácia da vitamina D neste tipo de doenças, não sendo possível observar uma grande mudança nas

recomendações internacionais relativamente à inclusão da suplementação com esta vitamina nos diferentes planos de tratamento. Destas, a mais notável, é a falta de translação bem sucedida dos resultados obtidos em estudos pré-clínicos para estudos clínicos. Algumas das razões para esta falta de translação incluem, por exemplo: i) o facto dos estudos pré-clínicos, especialmente estudos *in vitro*, usarem frequentemente doses ou concentrações de vitamina acima do que seria clinicamente viável; ii) a possibilidade de existirem diferenças no metabolismo e/ou sinalização por vitamina D entre roedores e humanos ou; iii) a dificuldade de assegurar a manutenção de níveis adequados de vitamina D nos participantes de ensaios clínicos, não só porque a administração desta depende dos próprios participantes, mas também porque existem outros fatores que podem interferir com os resultados (*e.g.*, estilo de vida, dieta, entre outros).

Assim, seria desejável que estudos clínicos futuros incluíssem amostras mais alargadas e diversas, permitindo a possibilidade de detetar diferenças de menor magnitude e tornar possível a realização de análises de subgrupos.

Por outro lado, dado que a terapia com a vitamina D incorre sempre algum grau de risco, uma outra área de interesse futuro seria o desenvolvimento de novos análogos da vitamina D. Mais ainda, usando as ferramentas de sequenciação genética, poderá ser importante determinar a existência de polimorfismos genéticos no VDR e a sua relação com a incidência, progressão ou severidade de várias doenças, bem como com a eficácia da vitamina D enquanto terapia.

Em conclusão, embora exista cada vez mais evidência sobre o papel crucial da vitamina D na regulação e funcionamento normal do organismo, e em especial no controlo da resposta imunológica, existe ainda muito por determinar. Efetivamente, apesar da suplementação com a vitamina D se figurar como uma medida de saúde pública desejável, a sua aplicabilidade a populações clínicas ainda não é fortemente suportada pela evidência, e – nos casos em que existe evidência e eficácia – aparenta ser no máximo um tratamento adjuvante. Ainda assim,

com base na investigação mecanística e pré-clínica existente, este parece ser um campo que ainda conserva potencial de descobertas com aplicação médica relevante.

5 Bibliografia e Referências Bibliográficas

1. Jones G. The discovery and synthesis of the nutritional factor vitamin D. *Int J Paleopathol.* 2018 Dec;23:96–9.
2. Semba RD. The Discovery of the Vitamins. *Int J Vitam Nutr Res.* 2012;6.
3. DeLuca HF. Vitamin D. In: *Vitamins & Hormones* [Internet]. Elsevier; 2016 [cited 2022 Feb 8]. p. 1–20. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0083672915000655>
4. Piro A, Tagarelli G, Lagonia P, Tagarelli A, Quattrone A. Casimir Funk: His Discovery of the Vitamins and Their Deficiency Disorders. *Ann Nutr Metab.* 2010;57(2):85–8.
5. Bouillon R, Antonio L. Nutritional rickets: Historic overview and plan for worldwide eradication. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2020 Apr;198:105563.
6. Wolf G. The Discovery of Vitamin D: The Contribution of Adolf Windaus. *J Nutr.* 2004 Oct 1;134(6):1299–302.
7. Neville PF, DeLuca HF. The Synthesis of [1,2-³H]Vitamin D, and the Tissue Localization of a 0.25-pg (10 IU) Dose per Rat. :7.
8. Dixon KM, Mason RS. Vitamin D. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009 May;41(5):982–5.
9. Gombart AF. The vitamin D–antimicrobial peptide pathway and its role in protection against infection. *Future Microbiol.* 2009 Nov;4(9):1151–65.
10. Battault S, Whiting SJ, Peltier SL, Sadrin S, Gerber G, Maixent JM. Vitamin D metabolism, functions and needs: from science to health claims. *Eur J Nutr.* 2013 Mar;52(2):429–41.
11. Bikle DD. Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chem Biol.* 2014 Mar;21(3):319–29.
12. Medrano M, Carrillo-Cruz E, Montero I, Perez-Simon J. Vitamin D: Effect on Haematopoiesis and Immune System and Clinical Applications. *Int J Mol Sci.* 2018 Sep 8;19(9):2663.
13. Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ, Mady LJ. Vitamin D: Metabolism. *Rheum Dis Clin N Am.* 2012 Feb;38(1):1–11.
14. Liu S, Tang W, Zhou J, Stubbs JR, Luo Q, Pi M, et al. Fibroblast Growth Factor 23 Is a Counter-Regulatory Phosphaturic Hormone for Vitamin D. *J Am Soc Nephrol.* 2006 May;17(5):1305–15.
15. Huhtakangas JA, Olivera CJ, Bishop JE, Zanello LP, Norman AW. The Vitamin D Receptor Is Present in Caveolae-Enriched Plasma Membranes and Binds 1 α ,25(OH)₂-Vitamin D₃ in Vivo and in Vitro. *Mol Endocrinol.* 2004 Nov 1;18(11):2660–71.

16. Holick MF. Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med.* 2007;16.
17. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer.* 2007 Sep;7(9):684–700.
18. Pálmer HG, González-Sancho JM, Espada J, Berciano MT, Puig I, Baulida J, et al. Vitamin D3 promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of β -catenin signaling. *J Cell Biol.* 2001 Jul 23;154(2):369–88.
19. Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V, Nagai Y, Wang Q, Liao J, et al. Cutting Edge: 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Is a Direct Inducer of Antimicrobial Peptide Gene Expression. *J Immunol.* 2004 Sep 1;173(5):2909–12.
20. Mora JR, Iwata M, von Andrian UH. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol.* 2008 Sep;8(9):685–98.
21. Sherman MH, Yu RT, Engle DD, Ding N, Atkins AR, Tiriach H, et al. Vitamin D Receptor-Mediated Stromal Reprogramming Suppresses Pancreatitis and Enhances Pancreatic Cancer Therapy. *Cell.* 2014 Sep;159(1):80–93.
22. Carlberg C. Genome-wide (over)view on the actions of vitamin D. *Front Physiol* [Internet]. 2014 Apr 29 [cited 2022 Apr 21];5. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2014.00167/abstract>
23. Boland RL. VDR activation of intracellular signaling pathways in skeletal muscle. *Mol Cell Endocrinol.* 2011 Dec;347(1–2):11–6.
24. Ceglia L. Vitamin D and skeletal muscle tissue and function. *Mol Aspects Med.* 2008 Dec;29(6):407–14.
25. Li YC, Qiao G, Uskokovic M, Xiang W, Zheng W, Kong J. Vitamin D: a negative endocrine regulator of the renin–angiotensin system and blood pressure. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004 May;89–90:387–92.
26. Pittas AG, Dawson-Hughes B. The Role of Vitamin D in Type 2 Diabetes and Hypertension. In: *Vitamin D* [Internet]. Elsevier; 2011 [cited 2022 Apr 12]. p. 1907–30. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123819789100988>
27. Liu J, Greenfield H, Strobel N, Fraser DR. The influence of latitude on the concentration of vitamin D3 and 25-hydroxy-vitamin D3 in Australian red meat. *Food Chem.* 2013 Oct;140(3):432–5.
28. Schmid A, Walther B. Natural Vitamin D Content in Animal Products. *Adv Nutr.* 2013 Jul 1;4(4):453–62.
29. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Dietary reference values for vitamin D. *EFSA J* [Internet]. 2016 Oct [cited 2022 Feb 20];14(10). Available from: <https://data.europa.eu/doi/10.2903/j.efsa.2016.4547>

30. Leyssens C, Verlinden L, Verstuyf A. The future of vitamin D analogs. *Front Physiol* [Internet]. 2014 Apr 3 [cited 2022 Apr 15];5. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2014.00122/abstract>
31. Carlberg C. Molecular basis of the selective activity of vitamin D analogues: Selectivity of VDR Ligands. *J Cell Biochem*. 2003 Feb 1;88(2):274–81.
32. Rochel N, Wurtz JM, Mitschler A, Klaholz B, Moras D. The Crystal Structure of the Nuclear Receptor for Vitamin D Bound to Its Natural Ligand. *Mol Cell*. 2000 Jan;5(1):173–9.
33. Carlberg C, Mouriño A. New vitamin D receptor ligands. 2003;12.
34. Maestro MA, Molnár F, Carlberg C. Vitamin D and Its Synthetic Analogs. *J Med Chem*. 2019 Aug 8;62(15):6854–75.
35. Marcinowska-Suchowierska E, Kupisz-Urbańska M, Łukaszkiwicz J, Płudowski P, Jones G. Vitamin D Toxicity—A Clinical Perspective. *Front Endocrinol*. 2018 Sep 20;9:550.
36. Tebben PJ, Singh RJ, Kumar R. Vitamin D-Mediated Hypercalcemia: Mechanisms, Diagnosis, and Treatment. *Endocr Rev*. 2016 Oct 1;37(5):521–47.
37. Holick MF. Vitamin D Is Not as Toxic as Was Once Thought: A Historical and an Up-to-Date Perspective. *Mayo Clin Proc*. 2015 May;90(5):561–4.
38. Pronicka E, Ciara E, Halat P, Janiec A, Wójcik M, Rowińska E, et al. Biallelic mutations in CYP24A1 or SLC34A1 as a cause of infantile idiopathic hypercalcemia (IIH) with vitamin D hypersensitivity: molecular study of 11 historical IIH cases. *J Appl Genet*. 2017 Aug;58(3):349–53.
39. Schlingmann KP, Kaufmann M, Weber S, Irwin A, Goos C, John U, et al. Mutations in CYP24A1 and Idiopathic Infantile Hypercalcemia. *N Engl J Med*. 2011 Aug 4;365(5):410–21.
40. Potts Jr John T, Jüppner HW. Disorders of the Parathyroid Gland and Calcium Homeostasis. In: Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 20e* [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2018 [cited 2022 Apr 12]. Available from: accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1172536427
41. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord*. 2017 Jun;18(2):153–65.
42. Bouillon R. Comparative analysis of nutritional guidelines for vitamin D. *Nat Rev Endocrinol*. 2017 Aug;13(8):466–79.
43. Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z, Gonzalez-Gross M, Valtueña J, De Henauw S, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr*. 2016 Apr 1;103(4):1033–44.

44. Pilz S, März W, Cashman KD, Kiely ME, Whiting SJ, Holick MF, et al. Rationale and Plan for Vitamin D Food Fortification: A Review and Guidance Paper. *Front Endocrinol.* 2018 Jul 17;9:373.
45. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians Need to Know. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Jan;96(1):53–8.
46. Chang SW, Lee HC. Vitamin D and health - The missing vitamin in humans. *Pediatr Neonatol.* 2019 Jun;60(3):237–44.
47. Jääskeläinen T, Itkonen ST, Lundqvist A, Erkkola M, Koskela T, Lakkala K, et al. The positive impact of general vitamin D food fortification policy on vitamin D status in a representative adult Finnish population: evidence from an 11-y follow-up based on standardized 25-hydroxyvitamin D data. *Am J Clin Nutr.* 2017 May 10;ajcn151415.
48. Sassi F, Tamone C, D'Amelio P. Vitamin D: Nutrient, Hormone, and Immunomodulator. *Nutrients.* 2018 Nov 3;10(11):1656.
49. Flajnik MF. A cold-blooded view of adaptive immunity. *Nat Rev Immunol.* 2018 Jul;18(7):438–53.
50. Veldman CM, Cantorna MT, DeLuca HF. Expression of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Receptor in the Immune System. *Arch Biochem Biophys.* 2000 Feb;374(2):334–8.
51. Baeke F, Korf H, Overbergh L, van Etten E, Verstuyf A, Gysemans C, et al. Human T lymphocytes are direct targets of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the immune system. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010 Jul;121(1–2):221–7.
52. Martens PJ, Gysemans C, Verstuyf A, Mathieu C. Vitamin D's Effect on Immune Function. *Nutrients.* 2020 Apr 28;12(5):1248.
53. He L, Liu T, Shi Y, Tian F, Hu H, Deb DK, et al. Gut Epithelial Vitamin D Receptor Regulates Microbiota-Dependent Mucosal Inflammation by Suppressing Intestinal Epithelial Cell Apoptosis. *Endocrinology.* 2018 Feb 1;159(2):967–79.
54. Hariyanto TI, Intan D, Hananto JE, Harapan H, Kurniawan A. Vitamin D supplementation and Covid-19 outcomes: A systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Rev Med Virol [Internet].* 2021 Jun 27 [cited 2022 Jan 30]; Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/rmv.2269>
55. White JH. Vitamin D as an inducer of cathelicidin antimicrobial peptide expression: Past, present and future. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010 Jul;121(1–2):234–8.
56. Ferreira GB, van Etten E, Verstuyf A, Waer M, Overbergh L, Gysemans C, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ alters murine dendritic cell behaviour in vitro and in vivo. *Diabetes Metab Res Rev.* 2011 Nov;27(8):933–41.
57. Vanherwegen AS, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D endocrinology on the cross-road between immunity and metabolism. *Mol Cell Endocrinol.* 2017 Sep;453:52–67.

58. Unger WWJ, Laban S, Kleijwegt FS, van der Slik AR, Roep BO. Induction of Treg by monocyte-derived DC modulated by vitamin D₃ or dexamethasone: Differential role for PD-L1. *Eur J Immunol*. 2009 Nov;39(11):3147–59.
59. Yuk JM, Shin DM, Lee HM, Yang CS, Jin HS, Kim KK, et al. Vitamin D₃ Induces Autophagy in Human Monocytes/Macrophages via Cathelicidin. *Cell Host Microbe*. 2009 Sep;6(3):231–43.
60. Adams JS, Ren S, Liu PT, Chun RF, Lagishetty V, Gombart AF, et al. Vitamin D-Directed Rheostatic Regulation of Monocyte Antibacterial Responses. *J Immunol*. 2009 Apr 1;182(7):4289–95.
61. Sancho-Vaello E, Gil-Carton D, François P, Bonetti EJ, Kreir M, Pothula KR, et al. The structure of the antimicrobial human cathelicidin LL-37 shows oligomerization and channel formation in the presence of membrane mimics. *Sci Rep*. 2020 Dec;10(1):17356.
62. Crane-Godreau MA, Clem KJ, Payne P, Fiering S. Vitamin D Deficiency and Air Pollution Exacerbate COVID-19 Through Suppression of Antiviral Peptide LL37. *Front Public Health*. 2020 May 28;8:232.
63. Charoenngam N, Holick MF. Immunologic Effects of Vitamin D on Human Health and Disease. *Nutrients*. 2020 Jul 15;12(7):2097.
64. Kanikarla-Marie P, Jain SK. 1,25(OH)₂D₃ inhibits oxidative stress and monocyte adhesion by mediating the upregulation of GCLC and GSH in endothelial cells treated with acetoacetate (ketosis). *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016 May;159:94–101.
65. Wei R, Christakos S. Mechanisms Underlying the Regulation of Innate and Adaptive Immunity by Vitamin D. *Nutrients*. 2015 Sep 24;7(10):8251–60.
66. Carvalho JTG, Schneider M, Cuppari L, Grabulosa CC, T. Aoike D, Q. Redublo BM, et al. Cholecalciferol decreases inflammation and improves vitamin D regulatory enzymes in lymphocytes in the uremic environment: A randomized controlled pilot trial. Eller K, editor. *PLOS ONE*. 2017 Jun 30;12(6):e0179540.
67. Skrobot A, Demkow U, Wachowska M. Immunomodulatory Role of Vitamin D: A Review. In: Pokorski M, editor. *Current Trends in Immunity and Respiratory Infections* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2018 [cited 2022 Jul 16]. p. 13–23. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 1108). Available from: http://link.springer.com/10.1007/5584_2018_246
68. Baeke F, Etten EV, Overbergh L, Mathieu C. Vitamin D₃ and the immune system: maintaining the balance in health and disease. *Nutr Res Rev*. 2007 Jun;20(1):106–18.
69. Sarkar S, Hewison M, Studzinski GP, Li YC, Kalia V. Role of vitamin D in cytotoxic T lymphocyte immunity to pathogens and cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2016 Mar 3;53(2):132–45.

70. Eckard AR, O’Riordan MA, Rosebush JC, Lee ST, Habib JG, Ruff JH, et al. Vitamin D Supplementation Decreases Immune Activation and Exhaustion in HIV-1-Infected Youth. *Antivir Ther.* 2018 May;23(4):315–24.
71. Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory Effects of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ on Human B Cell Differentiation. *J Immunol.* 2007 Aug 1;179(3):1634–47.
72. Geldmeyer-Hilt K, Heine G, Hartmann B, Baumgrass R, Radbruch A, Worm M. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ impairs NF-κB activation in human naïve B cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011 Apr;407(4):699–702.
73. Rolf L, Muris AH, Hupperts R, Damoiseaux J. Vitamin D effects on B cell function in autoimmunity: Vitamin D effects on B cells. *Ann N Y Acad Sci.* 2014 May;1317(1):84–91.
74. Ao T, Kikuta J, Ishii M. The Effects of Vitamin D on Immune System and Inflammatory Diseases. *Biomolecules.* 2021 Nov 3;11(11):1624.
75. Allen JD, Ross TM. H3N2 influenza viruses in humans: Viral mechanisms, evolution, and evaluation. *Hum Vaccines Immunother.* 2018 Aug 3;14(8):1840–7.
76. Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, Holick MF, Grant WB, Madronich S, et al. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect.* 2006 Dec;134(6):1129–40.
77. Grant W, Lahore H, McDonnell S, Baggerly C, French C, Aliano J, et al. Evidence that Vitamin D Supplementation Could Reduce Risk of Influenza and COVID-19 Infections and Deaths. *Nutrients.* 2020 Apr 2;12(4):988.
78. Grant WB, Giovannucci E. The possible roles of solar ultraviolet-B radiation and vitamin D in reducing case-fatality rates from the 1918–1919 influenza pandemic in the United States. *Dermatoendocrinol.* 2009 Jul;1(4):215–9.
79. Gui B, Chen Q, Hu C, Zhu C, He G. Effects of calcitriol (1, 25-dihydroxy-vitamin D₃) on the inflammatory response induced by H9N2 influenza virus infection in human lung A549 epithelial cells and in mice. *Virology.* 2017 Dec;14(1):10.
80. Gruber–Bzura BM. Vitamin D and Influenza—Prevention or Therapy? *Int J Mol Sci.* 2018 Aug 16;19(8):2419.
81. Khare D, Godbole NM, Pawar SD, Mohan V, Pandey G, Gupta S, et al. Calcitriol [1, 25(OH)₂D₃] pre- and post-treatment suppresses inflammatory response to influenza A (H1N1) infection in human lung A549 epithelial cells. *Eur J Nutr.* 2013 Jun;52(4):1405–15.
82. Hayashi H, Okamatsu M, Ogasawara H, Tsugawa N, Isoda N, Matsuno K, et al. Oral Supplementation of the Vitamin D Metabolite 25(OH)D₃ Against Influenza Virus Infection in Mice. *Nutrients.* 2020 Jul 5;12(7):2000.

83. Urashima M, Segawa T, Okazaki M, Kurihara M, Wada Y, Ida H. Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren. *Am J Clin Nutr.* 2010 May 1;91(5):1255–60.
84. Zhou J, Du J, Huang L, Wang Y, Shi Y, Lin H. Preventive Effects of Vitamin D on Seasonal Influenza A in Infants: A Multicenter, Randomized, Open, Controlled Clinical Trial. *Pediatr Infect Dis J.* 2018 Aug;37(8):749–54.
85. Zhu Z, Zhu X, Gu L, Zhan Y, Chen L, Li X. Association Between Vitamin D and Influenza: Meta-Analysis and Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Front Nutr.* 2022 Jan 7;8:799709.
86. Principi N, Marchisio P, Terranova L, Zampiero A, Baggi E, Daleno C, et al. Impact of vitamin D administration on immunogenicity of trivalent inactivated influenza vaccine in previously unvaccinated children. *Hum Vaccines Immunother.* 2013 May 14;9(5):969–74.
87. Sławin A, Brydak LB, Doniec Z, Bujnowska-Fedak M, Mastalerz-Migas A. Serum Vitamin D and Immunogenicity of Influenza Vaccination in the Elderly. In: Pokorski M, editor. *Medical Research and Innovation [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2022 Aug 14]. p. 21–8. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 1324). Available from: http://link.springer.com/10.1007/5584_2020_580*
88. Furin J, Cox H, Pai M. Tuberculosis. *The Lancet.* 2019 Apr;393(10181):1642–56.
89. Peloquin CA, Davies GR. The Treatment of Tuberculosis. *Clin Pharmacol Ther.* 2021 Dec;110(6):1455–66.
90. Houben RMGJ, Dodd PJ. The Global Burden of Latent Tuberculosis Infection: A Re-estimation Using Mathematical Modelling. Metcalfe JZ, editor. *PLOS Med.* 2016 Oct 25;13(10):e1002152.
91. Brighenti S, Bergman P, Martineau AR. Vitamin D and tuberculosis: where next? *J Intern Med.* 2018 Aug;284(2):145–62.
92. Martineau AR, Jolliffe DA, Hooper RL, Greenberg L, Aloia JF, Bergman P, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data. *BMJ.* 2017 Feb 15;i6583.
93. Koh GCKW, Hawthorne G, Turner AM, Kunst H, Dedicoat M. Tuberculosis Incidence Correlates with Sunshine: An Ecological 28-Year Time Series Study. Pai M, editor. *PLoS ONE.* 2013 Mar 6;8(3):e57752.
94. Wingfield T, Schumacher SG, Sandhu G, Tovar MA, Zevallos K, Baldwin MR, et al. The Seasonality of Tuberculosis, Sunlight, Vitamin D, and Household Crowding. *J Infect Dis.* 2014 Sep 1;210(5):774–83.
95. Sita-Lumsden A, Laphorn G, Swaminathan R, Milburn HJ. Reactivation of tuberculosis and vitamin D deficiency: the contribution of diet and exposure to sunlight. *Thorax.* 2007 May 25;62(11):1003–7.

96. Jolliffe DA, Ganmaa D, Wejse C, Raqib R, Haq MA, Salahuddin N, et al. Adjunctive vitamin D in tuberculosis treatment: meta-analysis of individual participant data. *Eur Respir J*. 2019 Mar;53(3):1802003.
97. Daley P, Jagannathan V, John KR, Sarojini J, Latha A, Vieth R, et al. Adjunctive vitamin D for treatment of active tuberculosis in India: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Infect Dis*. 2015 May;15(5):528–34.
98. Martineau AR, Timms PM, Bothamley GH, Hanifa Y, Islam K, Claxton AP, et al. High-dose vitamin D3 during intensive-phase antimicrobial treatment of pulmonary tuberculosis: a double-blind randomised controlled trial. *The Lancet*. 2011 Jan;377(9761):242–50.
99. Farazi A, Didgar F, Sarafraz A. The effect of vitamin D on clinical outcomes in tuberculosis. *Egypt J Chest Dis Tuberc*. 2017 Jul;66(3):419–23.
100. Reeme AE, Robinson RT. Dietary Vitamin D₃ Suppresses Pulmonary Immunopathology Associated with Late-Stage Tuberculosis in C3HeB/FeJ Mice. *J Immunol*. 2016 Feb 1;196(3):1293–304.
101. World Health Organization. COVID-19 Weekly Epidemiological Update [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2022 Jul. Report No.: 102. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---27-july-2022>
102. Choi Y, Tuel A, Eltahir EAB. On the Environmental Determinants of COVID-19 Seasonality. *GeoHealth* [Internet]. 2021 Jun [cited 2022 Aug 13];5(6). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1029/2021GH000413>
103. Murdaca G, Pioggia G, Negrini S. Vitamin D and Covid-19: an update on evidence and potential therapeutic implications. *Clin Mol Allergy*. 2020 Dec;18(1):23.
104. Teshome A, Adane A, Girma B, Mekonnen ZA. The Impact of Vitamin D Level on COVID-19 Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Public Health*. 2021 Mar 5;9:624559.
105. Gong J, Dong H, Xia QS, Huang Z yi, Wang D kun, Zhao Y, et al. Correlation analysis between disease severity and inflammation-related parameters in patients with COVID-19: a retrospective study. *BMC Infect Dis*. 2020 Dec;20(1):963.
106. Mokhtari T, Hassani F, Ghaffari N, Ebrahimi B, Yarahmadi A, Hassanzadeh G. COVID-19 and multiorgan failure: A narrative review on potential mechanisms. *J Mol Histol*. 2020 Dec;51(6):613–28.
107. Hariyanto TI, Japar KV, Kwenandar F, Damay V, Siregar JI, Lugito NPH, et al. Inflammatory and hematologic markers as predictors of severe outcomes in COVID-19 infection: A systematic review and meta-analysis. *Am J Emerg Med*. 2021 Mar;41:110–9.

108. Tabatabaeizadeh S, Avan A, Bahrami A, Khodashenas E, Esmaeili H, Ferns GA, et al. High Dose Supplementation of Vitamin D Affects Measures of Systemic Inflammation: Reductions in High Sensitivity C-Reactive Protein Level and Neutrophil to Lymphocyte Ratio (NLR) Distribution. *J Cell Biochem.* 2017 Dec;118(12):4317–22.
109. Meltzer DO, Best TJ, Zhang H, Vokes T, Arora V, Solway J. Association of Vitamin D Deficiency and Treatment with COVID-19 Incidence [Internet]. *Infectious Diseases (except HIV/AIDS)*; 2020 May [cited 2022 Jul 31]. Available from: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.05.08.20095893>
110. Merzon E, Tworowski D, Gorohovski A, Vinker S, Golan Cohen A, Green I, et al. Low plasma 25(OH) vitamin D level is associated with increased risk of COVID-19 infection: an Israeli population-based study. *FEBS J.* 2020 Sep;287(17):3693–702.
111. Hastie CE, Mackay DF, Ho F, Celis-Morales CA, Katikireddi SV, Niedzwiedz CL, et al. Vitamin D concentrations and COVID-19 infection in UK Biobank. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev.* 2020 Jul;14(4):561–5.
112. D'Avolio A, Avataneo V, Manca A, Cusato J, De Nicolò A, Lucchini R, et al. 25-Hydroxyvitamin D Concentrations Are Lower in Patients with Positive PCR for SARS-CoV-2. *Nutrients.* 2020 May 9;12(5):1359.
113. Abdollahi A, Kamali Sarvestani H, Rafat Z, Ghaderkhani S, Mahmoudi-Aliabadi M, Jafarzadeh B, et al. The association between the level of serum 25(OH) vitamin D, obesity, and underlying diseases with the risk of developing COVID-19 infection: A case-control study of hospitalized patients in Tehran, Iran. *J Med Virol.* 2021 Apr;93(4):2359–64.
114. Ye K, Tang F, Liao X, Shaw BA, Deng M, Huang G, et al. Does Serum Vitamin D Level Affect COVID-19 Infection and Its Severity?-A Case-Control Study. *J Am Coll Nutr.* 2021 Nov 17;40(8):724–31.
115. Hernández JL, Nan D, Fernandez-Ayala M, García-Unzueta M, Hernández-Hernández MA, López-Hoyos M, et al. Vitamin D Status in Hospitalized Patients with SARS-CoV-2 Infection. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021 Mar 8;106(3):e1343–53.
116. Kaufman HW, Niles JK, Kroll MH, Bi C, Holick MF. SARS-CoV-2 positivity rates associated with circulating 25-hydroxyvitamin D levels. Reddy SV, editor. *PLOS ONE.* 2020 Sep 17;15(9):e0239252.
117. Yılmaz K, Şen V. Is vitamin D deficiency a risk factor for COVID-19 in children? *Pediatr Pulmonol.* 2020 Dec;55(12):3595–601.
118. Maghbooli Z, Sahraian MA, Ebrahimi M, Pazoki M, Kafan S, Tabriz HM, et al. Vitamin D sufficiency, a serum 25-hydroxyvitamin D at least 30 ng/mL reduced risk for adverse clinical outcomes in patients with COVID-19 infection. Adrish M, editor. *PLOS ONE.* 2020 Sep 25;15(9):e0239799.
119. Kralj M, Jakovac H. Vitamin D and COVID-19 in an immunocompromised patient with multiple comorbidities—A Case Report. *Clin Case Rep.* 2021 Apr;9(4):2269–75.

120. Kaya MO, Pamukçu E, Yakar B. The role of vitamin D deficiency on the Covid-19: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Epidemiol Health*. 2021 Sep 23;e2021074.
121. Hosseini B, El Abd A, Ducharme FM. Effects of Vitamin D Supplementation on COVID-19 Related Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2022 May 20;14(10):2134.
122. Martineau AR, Jolliffe DA, Greenberg L, Aloia JF, Bergman P, Dubnov-Raz G, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory infections: individual participant data meta-analysis. *Health Technol Assess*. 2019 Jan;23(2):1–44.
123. Piec I, Cook L, Dervisevic S, Fraser WD, Ruetten S, Berman M, et al. Age and vitamin D affect the magnitude of the antibody response to the first dose of the SARS-CoV-2 BNT162b2 vaccine. *Curr Res Transl Med*. 2022 Jul;70(3):103344.
124. Chillon TS, Demircan K, Heller RA, Hirschbil-Bremer IM, Diegmann J, Bachmann M, et al. Relationship between Vitamin D Status and Antibody Response to COVID-19 mRNA Vaccination in Healthy Adults. *Biomedicines*. 2021 Nov 18;9(11):1714.
125. Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxycholecalciferol Inhibits the Progression of Arthritis in Murine Models of Human Arthritis. *J Nutr*. 1998 Jan 1;128(1):68–72.
126. Lemire JM, Archer DC. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ prevents the in vivo induction of murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest*. 1991 Mar 1;87(3):1103–7.
127. Alhassan Mohammed H, Mirshafiey A, Vahedi H, Hemmasi G, Moussavi Nasl Khameneh A, Parastouei K, et al. Immunoregulation of Inflammatory and Inhibitory Cytokines by Vitamin D₃ in Patients with Inflammatory Bowel Diseases. *Scand J Immunol*. 2017 Jun;85(6):386–94.
128. Feng R, Li Y, Li G, Li Z, Zhang Y, Li Q, et al. Lower serum 25 (OH) D concentrations in type 1 diabetes: A meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract*. 2015 Jun;108(3):e71–5.
129. Lin J, Liu J, Davies ML, Chen W. Serum Vitamin D Level and Rheumatoid Arthritis Disease Activity: Review and Meta-Analysis. Jiang Y, editor. *PLOS ONE*. 2016 Jan 11;11(1):e0146351.
130. Parisi R, Symmons DPM, Griffiths CEM, Ashcroft DM. Global Epidemiology of Psoriasis: A Systematic Review of Incidence and Prevalence. *J Invest Dermatol*. 2013 Feb;133(2):377–85.
131. Bikle DD. Vitamin D: Newer Concepts of Its Metabolism and Function at the Basic and Clinical Level. *J Endocr Soc*. 2020 Feb 1;4(2):bvz038.
132. Barrea L, Savanelli MC, Di Somma C, Napolitano M, Megna M, Colao A, et al. Vitamin D and its role in psoriasis: An overview of the dermatologist and nutritionist. *Rev Endocr Metab Disord*. 2017 Jun;18(2):195–205.

133. Ricceri F, Pescitelli L, Tripo L, Prignano F. Deficiency of serum concentration of 25-hydroxyvitamin D correlates with severity of disease in chronic plaque psoriasis. *J Am Acad Dermatol*. 2013 Mar;68(3):511–2.
134. MacLaughlin JA, Gange W, Taylor D, Smith E, Holick MF. Cultured psoriatic fibroblasts from involved and uninvolved sites have a partial but not absolute resistance to the proliferation-inhibition activity of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Proc Natl Acad Sci*. 1985 Aug;82(16):5409–12.
135. Dubertret L, Wallach D, Souteyrand P, Perussel M, Kalis B, Meynadier J, et al. Efficacy and safety of calcipotriol (MC 903) ointment in psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol*. 1992 Dec;27(6):983–8.
136. Disphanurat W, Viarasilpa W, Chakkavittumrong P, Pongcharoen P. The Clinical Effect of Oral Vitamin D₂ Supplementation on Psoriasis: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study. *Dermatol Res Pract*. 2019 Apr 18;2019:1–9.
137. Finamor DC, Sinigaglia-Coimbra R, Neves LCM, Gutierrez M, Silva JJ, Torres LD, et al. A pilot study assessing the effect of prolonged administration of high daily doses of vitamin D on the clinical course of vitiligo and psoriasis. *Dermatoendocrinol*. 2013 Jan;5(1):222–34.
138. Ingram MA, Jones MB, Stonehouse W, Jarrett P, Scragg R, Mugridge O, et al. Oral vitamin D₃ supplementation for chronic plaque psoriasis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Dermatol Treat*. 2018 Oct 3;29(7):648–57.
139. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*. 2015 Jan 1;38(Supplement_1):S8–16.
140. Katsarou A, Gudbjörnsdóttir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, et al. Type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primer*. 2017 Dec 21;3(1):17016.
141. Ilonen J, Hammass A, Laine AP, Lempainen J, Vaarala O, Veijola R, et al. Patterns of b-Cell Autoantibody Appearance and Genetic Associations During the First Years of Life. :5.
142. Gregori S, Giarratana N, Smiroldo S, Uskokovic M, Adorini L. A 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ Analog Enhances Regulatory T-Cells and Arrests Autoimmune Diabetes in NOD Mice. 2002;51:8.
143. Chen Y ling, Huang Y cheng, Qiao Y chao, Ling W, Pan Y hong, Geng L jun, et al. Climates on incidence of childhood type 1 diabetes mellitus in 72 countries. *Sci Rep*. 2017 Dec;7(1):12810.
144. Hyöty H, Leon F, Knip M. Developing a vaccine for type 1 diabetes by targeting coxsackievirus B. *Expert Rev Vaccines*. 2018 Dec 2;17(12):1071–83.
145. Junnila SK. Type 1 diabetes epidemic in Finland is triggered by zinc-containing amorphous silica nanoparticles. *Med Hypotheses*. 2015 Apr;84(4):336–40.

146. Not Available NA. Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1999 Jan 11;42(1):51–4.
147. Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, Järvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *The Lancet*. 2001 Nov;358(9292):1500–3.
148. Savastio S, Cadario F, Genoni G, Bellomo G, Bagnati M, Secco G, et al. Vitamin D Deficiency and Glycemic Status in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus. *Burne THJ*, editor. *PLOS ONE*. 2016 Sep 8;11(9):e0162554.
149. Savastio S, Cadario F, Beux S, Giorgis A, Genoni G, Bagnati M, et al. Vitamin D and Type I Diabetes. *Open Rheumatol J*. 2018 Dec 27;12(1):289–99.
150. Perchard R, Magee L, Whatmore A, Ivison F, Murray P, Stevens A, et al. A pilot interventional study to evaluate the impact of cholecalciferol treatment on HbA1c in type 1 diabetes (T1D). *Endocr Connect*. 2017 May;6(4):225–31.
151. Myasoedova E, Crowson CS, Kremers HM, Therneau TM, Gabriel SE. Is the incidence of rheumatoid arthritis rising?: Results from Olmsted County, Minnesota, 1955-2007. *Arthritis Rheum*. 2010 Feb 26;62(6):1576–82.
152. Aletaha D, Smolen JS. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis: A Review. *JAMA*. 2018 Oct 2;320(13):1360.
153. Weyand CM, Goronzy JJ. The immunology of rheumatoid arthritis. *Nat Immunol*. 2021 Jan;22(1):10–8.
154. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: Results from the Iowa Women’s Health Study. *Arthritis Rheum*. 2004 Jan;50(1):72–7.
155. Caraba A, Crişan V, Romoşan I, Mozoş I, Murariu M. Vitamin D Status, Disease Activity, and Endothelial Dysfunction in Early Rheumatoid Arthritis Patients. *Dis Markers*. 2017;2017:1–7.
156. Mouterde G, Gamon E, Rincheval N, Lukas C, Seror R, Berenbaum F, et al. Association Between Vitamin D Deficiency and Disease Activity, Disability, and Radiographic Progression in Early Rheumatoid Arthritis: The ESPOIR Cohort. *J Rheumatol*. 2020 Nov 1;47(11):1624–8.
157. Lee YH. Vitamin D level in rheumatoid arthritis and its correlation with the disease activity: a meta-analysis. :7.
158. Meena N, Singh Chawla S, Garg R, Batta A, Kaur S. Assessment of Vitamin D in rheumatoid arthritis and its correlation with disease activity. *J Nat Sci Biol Med*. 2018;9(1):54.
159. Aslam MM, John P, Bhatti A, Jahangir S, Kamboh MI. Vitamin D as a Principal Factor in Mediating Rheumatoid Arthritis-Derived Immune Response. *BioMed Res Int*. 2019 May 7;2019:1–12.

160. Gopinath K, Danda D. Supplementation of 1,25 dihydroxy vitamin D3 in patients with treatment naive early rheumatoid arthritis: a randomised controlled trial: Vitamin D in RA. *Int J Rheum Dis*. 2011 Oct;14(4):332–9.
161. Dankers W, González-Leal C, Davelaar N, Asmawidjaja PS, Mus AMC, Hazes JMW, et al. 1,25(OH)2D3 and dexamethasone additively suppress synovial fibroblast activation by CCR6+ T helper memory cells and enhance the effect of tumor necrosis factor alpha blockade. *Arthritis Res Ther*. 2018 Dec;20(1):212.
162. Zwerina K, Baum W, Axmann R, Heiland GR, Distler JH, Smolen J, et al. Vitamin D receptor regulates TNF-mediated arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011 Jun;70(6):1122–9.
163. Fava A, Petri M. Systemic lupus erythematosus: Diagnosis and clinical management. *J Autoimmun*. 2019 Jan;96:1–13.
164. Sun J, Liu C, Zhang S, Yi B, Gui M, Zhang W, et al. Vitamin D receptor expression in peripheral blood mononuclear cells is inversely associated with disease activity and inflammation in lupus patients. *Clin Rheumatol*. 2019 Sep;38(9):2509–18.
165. Mok CC, Bro ET, Ho LY, Singh RJ, Jannetto PJ. Serum 25-hydroxyvitamin D3 levels and flares of systemic lupus erythematosus: a longitudinal cohort analysis. *Clin Rheumatol*. 2018 Oct;37(10):2685–92.
166. Shoenfeld N, Amital H, Shoenfeld Y. The effect of melanism and vitamin D synthesis on the incidence of autoimmune disease. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2009 Feb;5(2):99–105.
167. Lemire JM, Ince A, Takashima M. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Attenuates of Expression of Experimental Murine Lupus of MRL/1 Mice. *Autoimmunity*. 1992 Jan;12(2):143–8.
168. Reynolds JA, Rosenberg AZ, Smith CK, Sergeant JC, Rice GI, Briggs TA, et al. Brief Report: Vitamin D Deficiency Is Associated With Endothelial Dysfunction and Increases Type I Interferon Gene Expression in a Murine Model of Systemic Lupus Erythematosus: VITAMIN D DEFICIENCY CAUSES ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN SLE. *Arthritis Rheumatol*. 2016 Dec;68(12):2929–35.
169. Reynolds JA, Haque S, Williamson K, Ray DW, Alexander MY, Bruce IN. Vitamin D improves endothelial dysfunction and restores myeloid angiogenic cell function via reduced CXCL-10 expression in systemic lupus erythematosus. *Sci Rep*. 2016 Apr 20;6(1):22341.
170. Linker-Israeli M, Elstner E, Klinenberg JR, Wallace DJ, Koeffler HP. Vitamin D3 and Its Synthetic Analogs Inhibit the Spontaneous in Vitro Immunoglobulin Production by SLE-Derived PBMC. *Clin Immunol*. 2001 Apr;99(1):82–93.
171. Shoenfeld Y, Giacomelli R, Azrielant S, Berardicurti O, Reynolds JA, Bruce IN. Vitamin D and systemic lupus erythematosus - The hype and the hope. *Autoimmun Rev*. 2018 Jan;17(1):19–23.

