

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Vitamina D no combate às infeções

Ângela Rodrigues Cardoso

Monografia orientada pela Professora Doutora Elsa Anes, Professora Associada
com Agregação em Microbiologia e Imunologia

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2021

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Vitamina D no combate às infeções

Ângela Rodrigues Cardoso

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

Monografia orientada pela Professora Doutora Elsa Anes, Professora Associada
com Agregação em Microbiologia e Imunologia

2021

Resumo

Na última década, tem-se vindo a dar especial destaque às propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias da vitamina D e ao seu envolvimento no controlo de infeções. Na resposta inata, a vitamina D promove a libertação de péptidos antimicrobianos, sobretudo em monócitos e macrófagos, e regula a produção de citocinas pró-inflamatórias. Na imunidade adaptativa, induz a inibição da diferenciação de células Th0 em Th1 e Th17 e a proliferação de células Th2 e T reguladoras, levando a uma diminuição das respostas pró-inflamatórias e a um aumento da reparação de tecidos e resposta anti-inflamatória.

A deficiência de vitamina D está associada a um risco acrescido de infeção. Infeções causadas por vírus, como o vírus da hepatite B (HBV), o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2), ou bactérias como o bacilo da tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) são exemplos onde os efeitos da vitamina D se mostraram relevantes no controlo quer dos patógenos quer da resposta inflamatória. Da mesma forma, polimorfismos nos genes que codificam o recetor da vitamina D (VDR) e o recetor da proteína ligante da vitamina D (DBP) podem contribuir para um aumento da suscetibilidade a infeções. Apesar de ainda não existir um consenso acerca dos níveis ótimos de vitamina D que garantam um correto funcionamento do sistema imunitário, a suplementação de vitamina D pode desempenhar um papel importante na redução da incidência de algumas infeções.

A vitamina D também parece beneficiar a resposta à vacinação, nomeadamente através dos seus efeitos na imunidade inata, mais particularmente nas células dendríticas. Para além deste efeito, a sua adição como adjuvante a uma variedade de vacinas mostrou melhorar a resposta imune contra alguns vírus.

No presente trabalho, fez-se uma revisão de conjunto sobre o estado da arte do envolvimento da vitamina D nas várias vertentes da resposta inata e adaptativa e do seu potencial uso na profilaxia e controlo de infeções.

Palavras-chave: Imunidade; Infeção; Polimorfismos; Suplementação de vitamina D; Vitamina D

Abstract

Over the past decade, special attention has been given to the immunomodulatory and anti-inflammatory properties of vitamin D and its involvement in infection control. In innate response, vitamin D promotes the release of antimicrobial peptides, especially in monocytes and macrophages, and regulates the production of pro-inflammatory cytokines. In adaptive immunity, it induces the inhibition of Th0 cell differentiation into Th1 and Th17 and the proliferation of Th2 and regulatory T cells, leading to a decrease in pro-inflammatory responses and an increase in tissue repair and anti-inflammatory response.

Vitamin D deficiency is associated with an increased risk of infection. Infections caused by viruses, like the hepatitis B virus (HBV), the human immunodeficiency virus (HIV) and the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and bacteria like the tuberculosis bacillus (*Mycobacterium tuberculosis*) are examples where the effects of vitamin D have been shown to be relevant in the control of both pathogens and the inflammatory response. Likewise, vitamin D receptor (VDR) and vitamin D binding protein (DBP) genetic polymorphisms may contribute to increased susceptibility to infections. Although there is still no consensus about the optimal levels of vitamin D that guarantee a correct functioning of the immune system, vitamin D supplementation can play an important role in reducing the incidence of some infections.

Vitamin D also appears to benefit the response to vaccination, notably through its effects on innate immunity, more particularly in dendritic cells. In addition to this effect, its addition as an adjuvant to a variety of vaccines has been shown to improve immune response against some viruses.

In the present work, an overview of the state of the art of the involvement of vitamin D in the various aspects of the innate and adaptive response and its potential use in the prophylaxis and control of infections was carried out.

Keywords: Immunity; Infection; Polymorphisms; Vitamin D supplementation; Vitamin D

“Anything’s possible if you got enough nerve.”

J. K. Rowling

Agradecimentos

Desejo exprimir os meus agradecimentos a todas as pessoas abaixo mencionadas, que, de alguma forma, estiveram ao meu lado durante este meu percurso repleto de trabalho árduo e emoções.

À Professora Doutora Elsa Anes, o meu agradecimento especial por todo o conhecimento transmitido e pela sua enorme disponibilidade e ajuda para que a realização desta monografia fosse possível.

Aos meus pais, por todo o apoio e por sempre acreditarem em mim. À minha irmã, por ser a minha confidente.

Às minhas companheiras de curso e amigas para a vida, Inês, Diana e Sara, por estarem sempre presentes em todos os momentos e por tornarem tudo mais fácil. Foram muitos risos e momentos stressantes, mas no final tudo valeu a pena. Levo e levar-vos-ei para sempre no meu coração.

Às minhas madrinhas de curso, Margarida e Nídia, por me apoiarem e ajudarem desde o primeiro dia. Sem vocês não teria sido a mesma coisa. Às minhas afilhadas de curso, Matilde e Ana, pelos pequenos, mas bons momentos vividos.

A toda a equipa da Farmácia Portela, por toda a ajuda e ensinamentos e por me terem acolhido tão bem. Um agradecimento especial à minha orientadora de estágio, Dra. Marta Rocha, que me tornou numa melhor profissional a cada dia que passou. Sei que não poderia ter escolhido melhor local de estágio.

Abreviaturas

1 α ,25(OH) $_2$ D – *1 α ,25-dihydroxycholecalciferol; calcitriol*

25(OH)D – *25-hydroxycholecalciferol; calcidiol*

ACE2 – *Angiotensin-converting enzyme 2*

ADAM17 – *A disintegrin and metalloprotease 17*

AIDS – *Acquired immunodeficiency syndrome*

BECN1 – *Beclin 1*

C/EBP β – *CCAAT-enhancer-binding protein beta*

CAMP – *Cathelicidin antimicrobial peptide*

cART – *Combined antiretroviral therapy*

CCR10 – *C-C chemokine receptor type 10*

CCR6 – *C-C chemokine receptor type 6*

CTLA-4 – *Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*

CXCL10 – *C-X-C motif chemokine ligand 10*

DBP – *Vitamin D binding protein*

DEFB4 – *Defensin beta 4 gene*

DHCR7 – *7-dehydrocholesterol reductase*

DL – *Desequilíbrio de ligação*

FOXP3 – *Forkhead box P-3*

GALT – *Gut-associated lymphoid tissue*

HBD – *Human beta-defensin*

HBV – *Hepatitis B virus*

hCAP18 – *Human cationic antimicrobial protein*

HCV – *Hepatitis C virus*

HIV – *Human immunodeficiency virus*

IFN- α/β – *Interferon-alfa/beta*

IFN- γ – *Interferon-gamma*

IL – *Interleukin*

iNOS – *Inducible nitric oxide synthase*

iTreg – *Induced regulatory T cell*

LPS – *Lipopolysaccharide*

MDP – *Muramyl dipeptide*

MHC – *Major histocompatibility complex*

MKP-1 – *Mitogen-activated protein kinase phosphatase-1*

NADPH oxidase – *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate oxidase*

NFAT – *Nuclear factor of activated T-cells*

NF- κ B – *Nuclear factor- κ B*

NO oxidase – *Nitric oxide oxidase*

NOD2 – *Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2*

OMS – *Organização Mundial de Saúde*

PAMPS – *Pathogen-associated molecular patterns*

PI3 – *Phosphoinositide 3-kinase*

PLC- γ 1 – *Phospholipase C-gamma 1*

PPAR γ – *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma*

PTH – *Parathyroid hormone*

RAA – *Renin–angiotensin–aldosterone*

RFLP – *Restriction fragment length polymorphism*

ROR γ t – *Retinoic acid-related orphan receptor gamma t*

RXR – *Retinoid X receptor*

SARS – *Severe acute respiratory syndrome*

SNP – *Single-nucleotide polymorphism*

STAT6 – *Signal transducer and activator of transcription 6*

TB – *Tuberculose*

TGF- β – *Transforming growth factor-beta*

Th – *T Helper cell*

TLR – *Toll-Like Receptor*

TMPRSS2 – *Transmembrane protease, serine 2*

TNF- α – *Tumor necrosis factor-alfa*

Treg – *Regulatory T cell*

UV – *Ultraviolet*

VDR – *Vitamin D receptor*

VDREs – *Vitamin D response elements*

VEGF – *Vascular endothelial growth factor*

Índice

1. Vitamina D e infecções – introdução histórica	13
2. Vitamina D e sistema imunitário	15
2.1. Fisiologia da vitamina D	15
2.2. Efeitos da vitamina D na imunidade inata	16
2.3. Efeitos da vitamina D na imunidade adaptativa	19
3. Níveis séricos de vitamina D e grau de suscetibilidade a infecções	23
4. Vitamina D e doenças infecciosas	26
4.1. Vírus da hepatite B (HBV)	26
4.2. Vírus da imunodeficiência humana (HIV)	27
4.3. Tuberculose	28
4.4. Infecções do trato respiratório e COVID-19	30
5. Suplementação de vitamina D na profilaxia e tratamento de doenças infecciosas	33
6. Vitamina D e resposta às vacinas	37
7. Resposta individual à vitamina D	39
7.1. Polimorfismos no gene que codifica o recetor da vitamina D (VDR)	39
7.2. Polimorfismos no gene que codifica a proteína ligante da vitamina D (DBP)	42
8. Conclusões	44
9. Referências Bibliográficas	47

Índice de Figuras

Figura I: Número de publicações científicas sobre “vitamina D” e “infecção” por ano (até 2014)	14
Figura II: Influência da vitamina D na resposta imunitária inata e adaptativa.....	18
Figura III: Efeitos imunomoduladores do $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ nas células T CD4^+	21
Figura IV: Relação entre o estado de vitamina D e o risco de infecção	24
Figura V: Mecanismos para a indução de respostas antibacterianas mediadas pela vitamina D nos monócitos.....	29
Figura VI: Efeitos da suplementação da vitamina D em aspetos clínicos e imunológicos associados à infecção pelo HIV	34
Figura VII: Principais polimorfismos associados ao metabolismo da vitamina D.....	40

1. Vitamina D e infeções – introdução histórica

Há mais de um século que se tem associado a vitamina D com o controlo das doenças infecciosas (1). Contudo, a primeira evidência direta da relação entre a vitamina D e a tuberculose surgiu em 1951, quando foi pela primeira vez demonstrado que a vitamina D inibia o crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* diretamente através da estimulação da NO oxidase e da NADPH oxidase, ativando os macrófagos alveolares e da inibição do PPAR γ (2).

Em 1859, foi inaugurado na Alemanha o primeiro sanatório destinado a doentes com tuberculose, privilegiando a exposição ao ar livre, o descanso e o consumo de dietas ricas em nutrientes essenciais ao bom funcionamento do organismo (3,4). Mais tarde, em 1877, Downes e Blunt começaram a investigar a influência da luz na multiplicação de bactérias, tendo concluído que a exposição à luz solar inibia o seu crescimento, o que levou à introdução da fototerapia, a qual pode ser definida como o uso de dispositivos médicos que emitem luz para tratar doenças. Por outro lado, a helioterapia é definida como a terapia médica que envolve a exposição à luz solar (5). De facto, durante a era pré-antibiótica, o óleo de fígado de bacalhau e a helioterapia eram usados como tratamento anti tuberculose (2). Em 1902, um médico suíço, Dr. Oskar Bernard, usou a helioterapia como forma de tratamento de cavidades tuberculosas, através da aplicação local de luz solar na área afetada. No entanto, foi outro médico suíço, Dr. Auguste Rollier, que evidenciou o papel da helioterapia como tratamento de todas as formas da tuberculose, defendendo o banho de sol em detrimento da aplicação local de luz solar (5). A purificação da vitamina D₃ a partir do óleo de fígado de bacalhau, usado no tratamento da tuberculose na década de 1930, levou ao seu uso generalizado no tratamento e prevenção da tuberculose até à introdução de terapia anti-infecciosa na década de 1950 (6). Em 1903, o Prémio Nobel da Medicina foi atribuído a Niels Ryberg Finsen, que demonstrou que a luz UV era benéfica no tratamento do *lupus vulgaris*, uma doença cutânea associada ao *M. tuberculosis* (7).

Porém, apenas muitas décadas depois é que o papel da vitamina D na resistência do hospedeiro à infeção foi confirmado, com a descoberta sucessiva de que: (i) as células do sistema imunitário eram capazes de produzir CYP27B1 e converter o 25(OH)D em 1 α ,25(OH)₂D; (ii) a maioria das células do sistema imunitário expressavam o recetor da vitamina D (VDR); (iii) a produção de 1 α ,25(OH)₂D no sistema imunitário induzia produtos antibacterianos (ex.: catelicidina, β -defensina); e (iv) o comprometimento do estado

vitamínico contribuía para o aumento de doenças infecciosas a nível mundial (7). A investigação nesta área é relativamente recente, tendo resultado num aumento exponencial de publicações sobre o seu efeito no sistema imunitário e nas doenças infecciosas entre 2005 e 2010 (Figura I) (8).

Finalmente, as respostas à pergunta sobre se a vitamina D poderia regular a imunidade e se a sua deficiência estaria associada à ocorrência de doenças infecciosas começaram a surgir a partir de duas fontes totalmente diferentes: análise *in vitro* das ações imunomoduladoras de 25(OH)D e 1 α ,25(OH)₂D e observação epidemiológica da associação entre a deficiência de vitamina D e a suscetibilidade a doenças infecciosas (1).

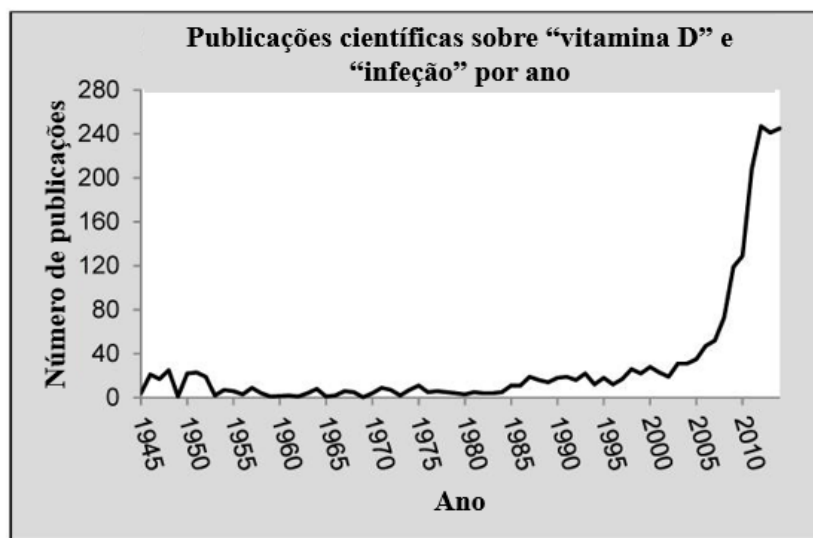


Figura I: Número de publicações científicas sobre "vitamina D" e "infecção" por ano (até 2014). Adaptado de (8).

2. Vitamina D e sistema imunitário

2.1. Fisiologia da vitamina D

Os humanos obtêm vitamina D a partir da luz solar, dieta e suplementos (9), sendo que a fonte principal de vitamina D vem da produção endógena cutânea após exposição à luz UVB (10), logo, a sua síntese é influenciada pela latitude, estação, protetor solar e pigmentação da pele (11). A dieta é uma fonte alternativa, mas menos efetiva, responsável por apenas 20% das necessidades do organismo, porém assume um papel preponderante nos idosos, doentes hospitalizados e em locais com climas temperados (10).

Existem duas formas principais de vitamina D: vitamina D₂ e vitamina D₃. A vitamina D₂ é sintetizada a partir do ergosterol e encontrada em leveduras, cogumelos secos ao sol e irradiados por UV e plantas. A vitamina D₃ é sintetizada endogenamente a partir do 7-dihidrocolesterol na pele e encontrada naturalmente no óleo de fígado de bacalhau e no peixe gordo (9).

No sangue, a vitamina D está ligada, principalmente, à proteína ligante da vitamina D (DBP), embora uma pequena fração esteja ligada à albumina (10). A vitamina D é metabolizada pela 25-hidroxilase (CYP2R1) no fígado em 25(OH)D (9), a forma circulante mais abundante, biologicamente inativa. A hidroxilação hepática é fracamente regulada e, por isso, os níveis sanguíneos de 25(OH)D refletem a quantidade de vitamina D que entra em circulação, que é proporcional à quantidade de vitamina D ingerida e produzida na pele. O último passo da sua produção corresponde à hidroxilação adicional que ocorre nas células do túbulo proximal dos rins (10), pela enzima 1 α -hidroxilase (CYP27B1) (9), que origina 1 α ,25(OH)₂D, a forma biologicamente ativa (10), que exerce as suas funções fisiológicas no tecido alvo por ligação ao VDR (9). Após a translocação da vitamina D para o núcleo, este complexo forma um heterodímero com o recetor X retinoide (RXR), o que leva à regulação de múltiplos genes através da sua ligação a sequências de DNA específicas denominadas elementos de resposta da vitamina D (VDREs) (12).

As ações clássicas da vitamina D são o controlo da remodelação e homeostase ósseas. No entanto, o gene que codifica o VDR é expresso em aproximadamente 400 tecidos e tipos de células (7), incluindo o epitélio do intestino delgado e dos túbulos renais, células hematopoiéticas, epidérmicas e pancreáticas, miócitos, neurónios e células do sistema imunitário, como monócitos, macrófagos, células dendríticas, células NK e linfócitos T e B

(10), sugerindo que a vitamina D tem uma função fisiológica muito mais ampla para além do controlo exclusivo do metabolismo do cálcio (Figura II) (7).

De realçar que a vitamina D não é apenas convertida no rim, mas também é ativada localmente pelo CYP27B1 em muitos outros tecidos, incluindo o cérebro, o músculo liso, a mama e a próstata, bem como as células do sistema imunitário. Deste modo, a vitamina D pode atuar não apenas de uma forma endócrina, mas também de uma forma parácrina, intrácrina ou autócrina (8). Quase todas as células envolvidas na respostas imunes inata e adaptativa possuem o CYP27B1 e o VDR e, por isso, são capazes de converter o 25(OH)D em $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ e induzir vias de sinalização (7) intrácrinas (ex.: a vitamina D atua dentro da célula) e parácrinas (ex.: comunicação célula-célula na qual uma célula produz um sinal de forma a induzir mudanças nas células vizinhas, modulando o comportamento ou diferenciação dessas células) (Figura II) (13). As formas ativas da vitamina D exercem efeitos multidirecionais dentro do sistema imunitário: estimulação da função de macrófagos, células T e células B ativadas; maturação das células dendríticas; modulação da expressão do TNF- α ; produção de proteínas e de péptidos antibacterianos neutralizantes (ex.: catelicidina, β -defensina) e expressão de iNOS e de espécies reativas de oxigénio (7).

A regulação da síntese de CYP27B1 nas células do sistema imunitário é diferente da regulação da produção renal de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$. Sinais inflamatórios, como o LPS e citocinas, induzem a produção de CYP27B1 pelos monócitos e macrófagos (14). Os factos de (i) as funções das células do sistema imunitário serem reguladas pelo $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$; e (ii) as células do sistema imunitário participarem metabolicamente na síntese de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ a partir do 25(OH)D sérico justificam claramente a importância da vitamina D na modulação de respostas imunes (8).

2.2. Efeitos da vitamina D na imunidade inata

O sistema imunitário compreende dois tipos de imunidade distintos, mas inter-relacionados: inato e adaptativo/adquirido. No contexto das doenças infecciosas, o objetivo do sistema imunitário é o reconhecimento e a eliminação de patógenos, bem como a prevenção da sua transmissão. Este sistema depende de biliões de células e de uma rede complexa de mediadores solúveis. A imunidade inata constitui a primeira linha de defesa do nosso corpo, que responde a antigénios estranhos de maneira rápida e inespecífica (7). Como membros do sistema imunitário inato, os monócitos, os macrófagos e as células dendríticas fornecem uma linha de defesa crucial contra agentes infecciosos (8). A descoberta mais crítica que fornece evidências de que a sinalização pelo $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ contribui para a imunidade inata surgiu de

um estudo, no qual a ativação dos TLR2/1 de macrófagos humanos aumentou a expressão dos genes que codificam o VDR e a vitamina D 24-hidroxilase (CYP24), o que levou à indução de catelicidina e consequente morte do *M. tuberculosis* (15,16).

Os monócitos, os macrófagos e as células dendríticas utilizam diretamente o $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ circulante para atividade intrácrina (Figura II) (13), promovendo respostas antibacterianas contra agentes patogênicos. Para além da fagocitose de patógenos, estas células expressam TLRs (1), uma família de recetores transmembranares, sensores imunes que reconhecem padrões moleculares associados a agentes patogênicos – PAMPS (17). O $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ promove a diferenciação dos monócitos em macrófagos, através da indução da proteína p21 e da atividade do fator de transcrição C/EBP β , o que aumenta a atividade dos macrófagos e a sua citotoxicidade, contribuindo para as atividades antimicrobianas e antitumorais dos macrófagos (18).

Na infeção, os macrófagos e monócitos ativados, induzidos pela sinalização do TLR e pela exposição a citocinas inflamatórias, como o IFN- γ , expressam CYP27B1, que converte o 25(OH)D em $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$. Este último aumenta as atividades antimicrobianas dos macrófagos e monócitos de forma autócrina via sinalização do complexo VDR-RXR, o qual, por sua vez, estimula a produção de catelicidina LL-37 antimicrobiana endógena. A catelicidina atua contra microrganismos, como bactérias e fungos, por destabilização das barreiras de superfície. Também exibe atividades antivirais diretas contra muitos vírus pela formação de poros nos envelopes virais e pela alteração da viabilidade das células hospedeiras. Este processo é especialmente robusto na inflamação granulomatosa, tal como na tuberculose, em infeções fúngicas, na sarcoidose e em alguns linfomas (9,19). Para além da atividade antimicrobiana da catelicidina, o seu péptido hCAP18, também induz a autofagia através do aumento da expressão das proteínas autofágicas BECN1 e ATG5 (20). Um estudo piloto demonstrou pela primeira vez que níveis ótimos de vitamina D após suplementação melhoravam a expressão de TLR2 e consequentemente a capacidade de resposta às infeções (21). O $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ também inibe a expressão de TLRs, induzindo uma menor resposta às cascatas moleculares induzidas pelos patógenos. Isto funciona como um mecanismo de *feedback* negativo, prevenindo, assim, a ativação excessiva de TLRs e a inflamação num estágio avançado de infeções. Outras células, como os neutrófilos, não parecem exprimir CYP27B1 e, portanto, são provavelmente regulados pelos níveis circulantes de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$, produzido pelos rins (efeito endócrino) (1). No entanto, expressam VDR e durante a

hipovitaminose D, apresentam uma baixa capacidade de migração, o que explica o facto de o $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ melhorar a atividade antimicrobiana dos neutrófilos (22).

Para além da produção de catelicidina e β -defensinas, a vitamina D também regula outro péptido antimicrobiano, a hepcidina, proteína que controla a absorção de ferro proveniente da dieta e a sua distribuição para os tecidos. A ligação do $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ ao VDR inibe a produção de hepcidina, o que conduz ao aumento de exportação de ferro para o meio extracelular, com conseqüente redução das concentrações deste mineral no compartimento intracelular, tornando o mesmo incompatível com a sobrevivência e proliferação de certos patógenos. A produção de hepcidina é um mecanismo de defesa contra patógenos intracelulares como *M. tuberculosis*, *Salmonella typhimurium*, *Leishmania donovani*, *Chlamydia psittaci*, *C. trachomatis* e *Legionella pneumophila* (23–25).

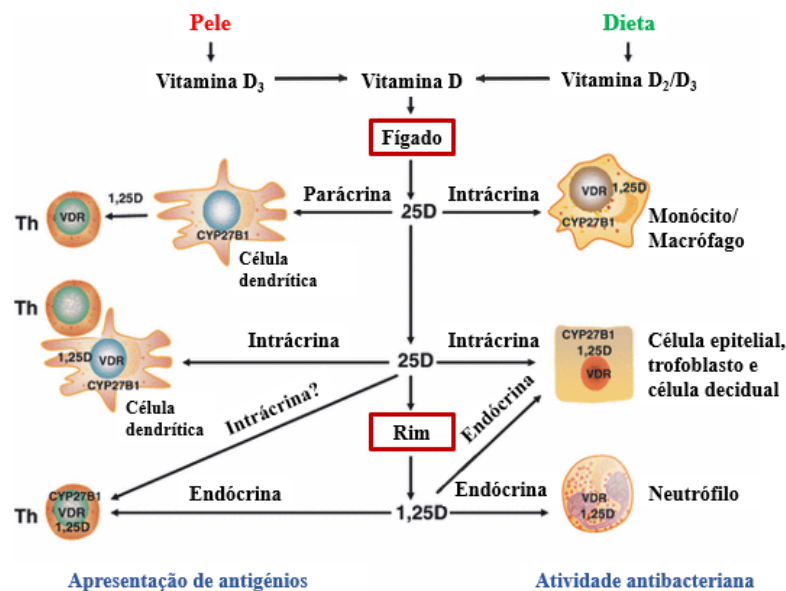


Figura II: Influência da vitamina D na resposta imunitária inata e adaptativa. A vitamina D obtida a partir da ação da luz solar na epiderme (vitamina D₃) ou da dieta (vitamina D₃ ou D₂) é metabolizada primeiramente no fígado para formar 25(OH)D, a forma circulante predominante. Células alvo como os monócitos, os macrófagos e as células dendríticas que expressem CYP27B1 e VDR podem utilizar o 25(OH)D para respostas intracrinias. Nos monócitos/macrófagos, a síntese intracrina de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ induz a resposta antibacteriana à infecção. Nas células dendríticas, a síntese intracrina de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ inibe a sua maturação, modulando as funções das células Th. As respostas das células Th ao 25(OH)D podem ser mediadas de forma parácrina – o $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ formado nas células dendríticas atua nas células Th que expressam VDR. Os efeitos intracrinios do 25(OH)D também ocorrem nas células epiteliais que expressam CYP27B1 e VDR. No entanto, outras células como os neutrófilos não parecem expressar CYP27B1, sendo provavelmente afetados pelos níveis de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ sintetizado pelos rins. As células Th que expressam VDR são também alvos do $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$. Da mesma maneira, as células epiteliais, trofoblastos e células decíduais são capazes de responder ao 25(OH)D de uma forma intracrina, mas também ao $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ para induzir respostas antibacterianas. Adaptado de (26).

Foi demonstrado que, em macrófagos de murinos estimulados com LPS, a vitamina D regula a proteína MKP-1, inibindo a produção de IL-6 e de TNF- α , de forma dose-dependente, controlando, assim, a resposta inflamatória. Além disso, o VDR interage diretamente com a proteína IKK β , levando ao bloqueio das vias de sinalização do NF-kB e consequente redução da produção de citocinas inflamatórias (23,27). Nas células NK, a vitamina D diminui a produção de IFN- γ , logo, diminui a resposta celular adaptativa à infecção, e aumenta a expressão de recetores de toxicidade NKp30 e NKp44, levando à morte de células infetadas (7).

O $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ modula a diferenciação e as funções das células apresentadoras de antígenos ao fazer com que se tornem mais tolerogénicas, caracterizadas por uma diminuição na expressão do MHC classe II e de moléculas co-estimuladoras na superfície celular (em particular, CD40, CD80 e CD86). Além disso, apresentam geralmente uma produção reduzida de IL-12 e aumentada de IL-10 (9).

A nível das células epiteliais, o $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ aumenta a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas na adesão entre células, como as junções apertadas, incluindo claudinas não formadoras de canal, de forma a fortalecer a função barreira (7).

Embora seja principalmente um ativador do sistema imunitário inato para aumentar a resposta imediata à infecção, a vitamina D atua para regular a atividade do sistema imunitário adaptativo (15).

2.3. Efeitos da vitamina D na imunidade adaptativa

A imunidade adaptativa ou adquirida constitui a segunda defesa contra infeções (14) e é caracterizada pela sua especificidade a antígenos estranhos e pela sua capacidade de criar memória imunológica de longa duração (7), sendo que os primeiros estudos da vitamina D e do sistema imunitário demonstraram a expressão do VDR em células T e B (28). A ativação das células B e das células T resulta em respostas humorais com secreção de anticorpos e de imunidade mediada por células, respetivamente. Embora a imunidade mediada por anticorpos esteja dedicada à proteção contra infeções extracelulares e toxinas, a imunidade mediada por células contribui para o controlo de patógenos intracelulares. A ativação do sistema imunitário adaptativo começa geralmente com a apresentação de antígenos pelas células do sistema imunitário inato aos linfócitos T-helper CD4⁺, o que leva à ativação das células B naïve e à consequente diferenciação em células B secretoras de anticorpos e de memória (ex.:

plasmócitos). A memória imunológica de longa duração é mediada pelas células B e T de memória, bem como pelos órgãos linfoides primários e secundários (7).

No geral, o efeito da vitamina D na diferenciação das células Th pode ser mediada pelo seu efeito nas células dendríticas. Estas células são células apresentadoras de antígenos, responsáveis pela diferenciação de células T com propriedades pró- ou anti-inflamatórias. (14). Uma vez ativadas, as células dendríticas induzem a ativação intracelular do $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$, o qual, por atividade intrínscina, inibe a maturação dessas células (13).

As células Th parecem ser o principal alvo do $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$, o qual pode suprimir a proliferação das células Th, bem como modular a produção de citocinas por estas células. A ativação das células Th *naïve* pelos antígenos conduz à diferenciação de subconjuntos de células Th, que apresentam perfis de citocinas distintos: as Th1 secretam IL-2, IFN- γ , TNF- α e as Th2 secretam IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, auxiliando a imunidade mediada por células e humoral, respetivamente (29). O $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ inibe diretamente a expressão do IFN- γ nas células Th1. A IL-12, uma importante citocina para a diferenciação de células Th1 e expressão de IFN- γ , também é inibida pelo $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ (Figura III) (15,30). Este também diminui a produção de IL-2, um potente mitógeno e fator de crescimento (31), através da inibição do fator de transcrição NFAT, o que leva a uma redução significativa na proliferação de células T CD4⁺ (32). As células Th2 são únicas por serem induzidas e produtoras de uma mesma citocina, a IL-4. Esta é capaz de induzir o STAT-6, o qual induz o GATA-3 e a produção de IL-4 (15). Estudos demonstraram que as citocinas de células T desempenham um papel fundamental tanto na amplificação (IFN- γ) como na atenuação (IL-4) da produção de catelicidina mediada pela vitamina D (26,33).

Um terceiro grupo de células Th conhecido por ser influenciado pela vitamina D corresponde às células Th17, que produzem citocinas pró-inflamatórias IL-17 e IL-22 e expressam o fator de transcrição ROR γ t. A vitamina D atua nas células Th17 para suprimir a expressão de IL-17, IL-22, TNF- α , IFN- γ e o recetor da quimiocina CCR6, prevenindo, assim, a migração de células Th17 para tecidos inflamados (15). As células Th17 desempenham um papel fundamental no combate contra certos agentes patogénicos (ex.: *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Staphylococcus*), mas também têm vindo a ser associadas a danos nos tecidos e inflamação (1).

Outro grupo de células T conhecido por ser potencialmente induzido pelo $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ corresponde às células T reguladoras, que suprimem as respostas imunes de outras células T

de forma a prevenir respostas demasiado exuberantes (29). A administração sistémica de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ a doentes com doença renal demonstrou expandir as populações circulantes de células Treg (34). A vitamina D bloqueia a diferenciação das células Th17, enquanto favorece a indução de células T reguladoras. Ambas as ações resultam numa diminuição na produção de citocinas pró-inflamatórias (35). Vários estudos que analisaram o efeito do $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ nas células Th17 descreveram um aumento dos marcadores das células Treg (CTLA-4, CD25 e FoxP3) e da produção de citocinas das células Treg (IL-10) (36,37). O FoxP3 é capaz de reduzir o ROR γ t nas células T CD4⁺, ou seja, o $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ é capaz de suprimir a diferenciação das células Th17. Adicionalmente, a inibição da via do NFAT pelo $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ bloqueia a produção de IL-17 e o aumento do PLC γ -1 pelo $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ induz a produção de TGF- β , promovendo ainda mais a diferenciação das células Tregs e a desativação de macrófagos inflamatórios (15,38–42).

Foi também demonstrado que a vitamina D afeta o equilíbrio Th1/Th2 na medida em que inibe as células Th1 e aumenta o desenvolvimento de células Th2 (43). Da mesma forma, o equilíbrio Th17/iTreg favorece as células Treg. Além disso, as células Th17, suprimidas pelo aumento do FoxP3, podem converter-se ao fenótipo Treg. O $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ aumenta a IL-10, TGF- β e marcadores inibitórios, como o CTLA-4 e CD25, de forma a promover um fenótipo anti-inflamatório (Figura III) (15).

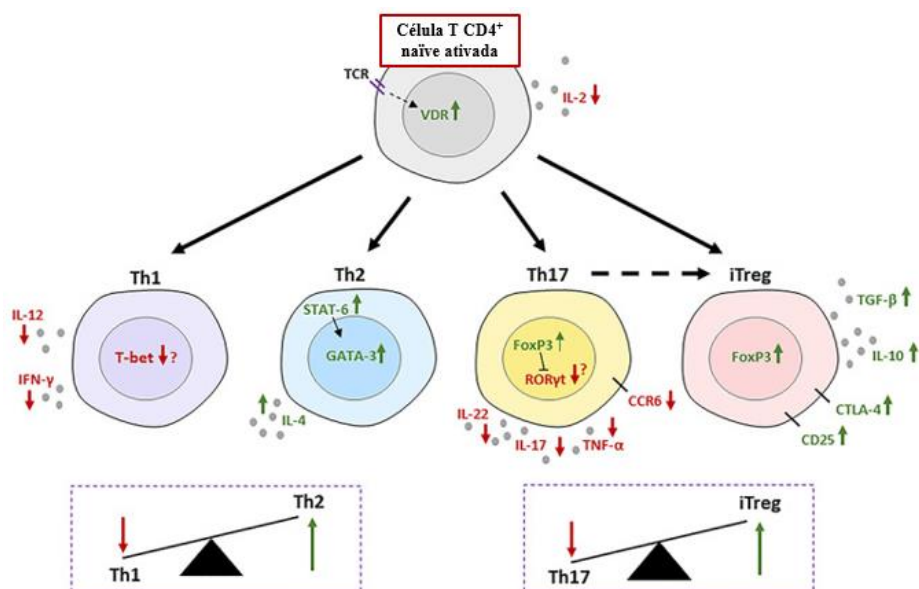


Figura III: Efeitos imunomoduladores do $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ nas células T CD4⁺. O recetor de células T (TCR) induz a expressão do VDR. A produção de IL-2 é inibida pelo $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$, após ativação da célula T. A diferenciação em células Th1 e Th17 é inibida pela vitamina D juntamente com a produção de citocinas inflamatórias. O CCR6 nas células Th17 é também inibido, prevenindo a migração destas células para os tecidos

inflamados. A inibição dos fatores de transcrição T-bet e ROR γ t é relatada de forma menos consistente. O $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ induz a diferenciação em células Th2 e, conseqüentemente, um aumento dos níveis de IL-4 e STAT-6, o qual aumenta os níveis de GATA-3. No geral, o equilíbrio Th1/Th2 está a favor das células Th2. Da mesma forma, o equilíbrio Th17/iTreg favorece as células Treg, sendo que as células Th17, suprimidas pelo FoxP3, podem converter-se no fenótipo Treg. O $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ aumenta os níveis de IL-10, TGF- β , CTLA-4 e CD25 para promover um fenótipo anti-inflamatório. Adaptado de (15).

Relativamente às células B, estas, no geral, têm todo o potencial para responder à vitamina D. A ativação das células B naïve leva ao aumento da expressão do VDR e CYP27B1, resultando num aumento dos níveis locais de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$. Isto pode levar ao aumento acentuado do ciclo de *feedback* negativo pela expressão de CYP24A1 (44). O $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ inibe a formação de plasmócitos e induz a apoptose de células B ativadas e de plasmócitos. Também inibe a ativação de células B mediada por citocinas, promove diretamente a produção de citocinas anti-inflamatórias de células B (IL-10 e CCR10) e suprime a diferenciação de células B maduras em plasmócitos e células B de memória. Foi também afirmado que o mRNA do VDR é expresso em células B primárias humanas em níveis baixos e aumenta após estimulação na presença de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ (45,46).

3. Níveis séricos de vitamina D e grau de suscetibilidade a infecções

Embora o $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ seja a forma ativa da vitamina D, não deve ser usado para avaliar os níveis séricos, já que tem uma semivida de apenas 4 horas e a sua concentração é 1000 vezes inferior à do $25(\text{OH})\text{D}$. Além disso, a deficiência de vitamina D está associada a um aumento compensatório da secreção de PTH, o qual estimula a produção renal de mais $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$. Deste modo, quando ocorre uma redução acentuada dos níveis de $25(\text{OH})\text{D}$, as concentrações de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ permanecem dentro de limites normais e, em alguns casos, podem estar mesmo elevados (10).

Para determinar se estão presentes níveis adequados de vitamina D, devem ser medidas as concentrações de $25(\text{OH})\text{D}$, a forma circulante predominante. É capaz de permanecer estável durante 2 semanas, para além de ser indicadora da possível toxicidade de vitamina D (47). No entanto, não existe um consenso acerca do nível sérico ideal de vitamina D. A maioria dos especialistas concorda que os seus níveis devam permanecer dentro de um intervalo de concentração que não induza um aumento dos níveis de PTH. Os níveis normais nos vários ensaios variam de 25-37.5 nmol/L (10-15 ng/mL) a 137.5-162.5 nmol/L (55-65 ng/mL). Alguns analistas sugerem que a concentração ideal seja de 50 a 80 nmol/L, enquanto outros recomendam níveis entre 75 e 125 nmol/L. Considerando o aumento dos níveis de PTH como um biomarcador que reflete níveis baixos de vitamina D, a sua deficiência deve ser definida como uma concentração sérica abaixo de 80 nmol/L (32 ng/mL). O nível ideal de vitamina D necessário para garantir que o sistema imunitário trabalhe corretamente não foi ainda definido. É mais provável que este nível seja diferente do que o necessário para prevenir a deficiência de vitamina D ou para manter a homeostase do cálcio (10).

Vários estudos têm demonstrado que a deficiência de vitamina D pode aumentar a suscetibilidade a diversos agentes patogénicos. A incidência de infecções virais verificou-se ser maior durante os meses de inverno quando a síntese epidérmica de vitamina D era reduzida e os níveis séricos de $25(\text{OH})\text{D}$ atingiam o valor mais baixo (7,48). A deficiência de vitamina D também parece desempenhar um papel fundamental na suscetibilidade a infecções em doentes com cirrose hepática associada ao vírus da hepatite C (HCV) (49), hepatite B (50), tuberculose (51), infecções agudas do trato respiratório (52), malária (53) e HIV (54).

A associação entre a hipovitaminose D e a suscetibilidade a infecções é ainda insuficiente para determinar exatamente o nível ótimo de concentração de 25(OH)D. No entanto, há estudos que sugerem que a concentração ótima de 25(OH)D circulante seja ≥ 75 nmol/L (30 ng/mL) para prevenir infecções do trato respiratório superior e melhorar a imunidade inata e da mucosa e causar ações anti-inflamatórias, possivelmente pela indução de células Tregs e pela inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias (7,55–57). No entanto, níveis > 100 nmol/L (40 ng/mL) não parecem fornecer benefícios adicionais, enquanto valores séricos ≤ 40 nmol/L (16 ng/mL) parecem estar associados a um risco aumentado de sepsis (7,58). O gráfico abaixo propõem uma relação entre o estado de vitamina D e o risco de infecção (7).

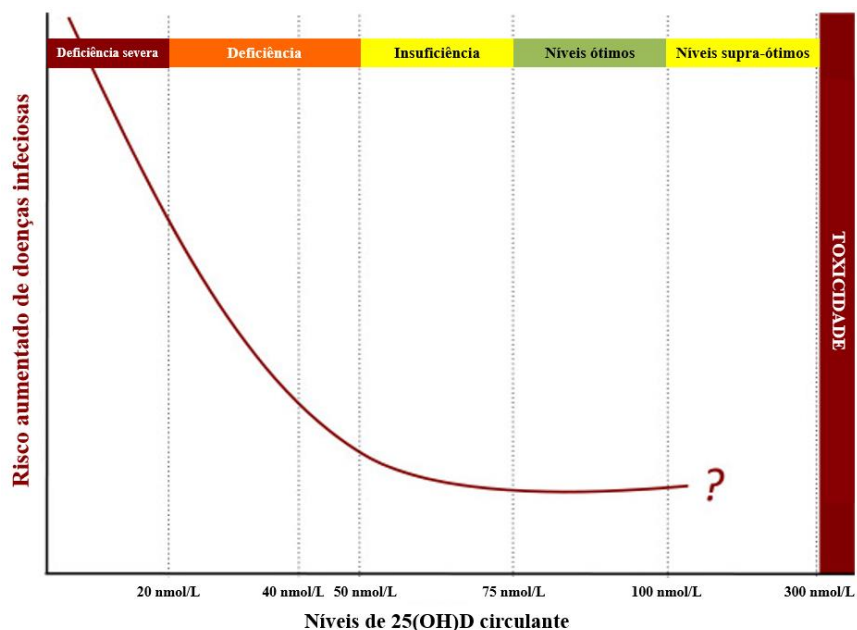


Figura IV: Relação entre o estado de vitamina D e o risco de infecção. Foi proposta uma relação contínua (linha vermelha a negrito) entre os valores séricos de vitamina D e o risco de infecção. As linhas a tracejado representam a heterogeneidade entre os indivíduos segundo a sua resposta imunitária ao 25(OH)D circulante, mas também alguma variabilidade nas interações entre o patógeno e o hospedeiro. A toxicidade (também designada hipervitaminose D) normalmente resulta no consumo excessivo de suplementos de vitamina D. Adaptado de (7). Figura usada com permissão – 5073561314217.

De acordo com a *Endocrine Society*, para as crianças e adolescentes manterem os níveis séricos de 25(OH)D persistentemente acima de 30 ng/mL (75 nmol/L), pode ser necessária uma quantidade mínima de 1.000 IU/dia de vitamina D. Já em adultos, idosos e mulheres grávidas e a amamentar podem ser necessários suplementos de vitamina D até 1.500-2.000 IU/dia. Crianças e adultos obesos e aqueles sob medicação anticonvulsivante, glucocorticoides, antifúngicos e antirretrovirais devem receber, no mínimo, 2 a 3 vezes mais vitamina D que o seu grupo etário (59).

Os níveis de 25(OH)D devem ser monitorizados a cada 3 meses a fim de avaliar as diferenças individuais no metabolismo da vitamina D e permitir o ajuste individual da dose de acordo com a necessidade dos doentes (60).

4. Vitamina D e doenças infecciosas

4.1. Vírus da hepatite B (HBV)

A infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) constitui um problema de saúde pública. Aproximadamente 1/3 da população mundial já foi infetada e mais de 350 milhões de doentes são portadores crónicos do vírus. As manifestações clínicas da infecção crónica por HBV incluem: estado de portador inativo, hepatite crónica, cirrose e carcinoma hepatocelular (61–63). Como a síntese da DBP e o primeiro passo da ativação da vitamina D ocorrem no fígado, os doentes com doença hepática pertencem ao grupo de risco da deficiência de vitamina D (61,64). Doentes com hepatite B crónica apresentam níveis de atividade física mais baixos que a restante população, o que pode levar a uma exposição solar limitada e, conseqüentemente, a níveis baixos de vitamina D (65). Além disso, um estudo demonstrou que a atividade do CYP24A1, uma enzima responsável pela degradação do 25(OH)D e do $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$, estava aumentada em doentes com hepatite B crónica comparativamente a pessoas saudáveis (66). Assim, o desequilíbrio entre a produção e a degradação da vitamina D pode resultar na deficiência de vitamina D em doentes com hepatite B crónica (61).

As células hepáticas infetadas por este vírus secretam IFN- α/β e TNF- α , os quais inibem a replicação do HBV e podem ativar as células NK, NKT, T e linfócitos B a produzir IFN- γ . Estudos demonstraram que a proporção de células T CD4⁺ / T CD8⁺ no sangue de doentes com hepatite B crónica irá diminuir. Além disso, demonstrou-se que o HBV também afeta a imunidade do hospedeiro no número de células T CD45RO⁺ (células T de memória). Estas, quando ativadas, libertam muitas linfocinas de forma a desencadear ou manter uma resposta imune (67–69).

A associação entre os níveis séricos reduzidos de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ e o aumento da replicação do HBV em doentes com infecção crónica é um tema controverso. Existem autores que defendem que níveis baixos de 25(OH)D estão associados ao aumento da replicação do HBV em doentes com hepatite B crónica (50). No entanto, outros autores demonstraram que os níveis reduzidos de vitamina D não estavam associados ao aumento da carga viral, mas eram fatores de risco para o carcinoma hepatocelular, complicações da cirrose ou morte em doentes com hepatite B (70), o que sugere que a vitamina D é um importante fator de prognóstico para estes doentes (71). Por outro lado, alguns estudos demonstraram que o HBV reduz a expressão dos recetores de vitamina D nas células infetadas pelo vírus, impede a ação da vitamina D no sistema imunitário e reduz o efeito da inibição da replicação viral (67,72,73).

Assim, tendo em conta os efeitos imunomoduladores exercidos pela vitamina D, é expectável que a sua deficiência possa agravar a doença. Por outro lado, a gravidade da doença hepática pode interferir na biodisponibilidade do metabolito intermédio 25(OH)D, contribuindo para a ocorrência de hipovitaminose D (64).

4.2. Vírus da imunodeficiência humana (HIV)

Ao infetar aproximadamente 38 milhões de pessoas e causar mais de 32 milhões de mortes até 2019, a infeção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um dos mais importantes problemas de saúde pública a nível mundial. Os linfócitos T CD4⁺ são as principais células alvo do HIV, seguidas das células dendríticas, monócitos e macrófagos (74). As células dendríticas podem ser infetadas ou capturar o vírus, transportando partículas virais para as células T CD4⁺, localizadas nos nódulos linfáticos, o que favorece o estabelecimento de infeção sistémica (75). A infeção aguda é caracterizada pela destruição do tecido linfoide associado ao intestino (GALT), que alberga um grande número de células de memória CD4⁺ efectoras, o que leva a alterações na barreira da mucosa intestinal, facilitando a passagem de microrganismos comensais para o sistema circulatório, o que, por sua vez, promove a ativação contínua do sistema imunitário e, conseqüentemente, a sua exaustão. A incapacidade em responder à infeção conduz à destruição do sistema imunitário e à replicação viral descontrolada, traduzindo-se em elevadas taxas de tumores e infeções oportunistas características da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (74). Existem dois tipos de HIV – HIV-1 e HIV-2 – sendo que o primeiro é o mais comum e patogénico (76).

Níveis elevados de vitamina D e do seu recetor parecem estar associados a uma resistência natural à infeção pelo HIV-1. Isto pode resultar do aumento da produção da citocina anti-inflamatória IL-10 e da indução de defensinas anti-HIV (HBD-2 e HBD-3) na mucosa de indivíduos seronegativos expostos ao vírus (77). O aumento da expressão do VDR também aumenta a expressão de várias moléculas anti-HIV, tais como elafina, TRIM5, CAMP, HAD-4 e RNase7 (78). Também foi demonstrado que os agonistas dos TLR8 inibem a replicação do HIV através de um mecanismo autofágico dependente de vitamina D e CAMP nos macrófagos humanos (79).

Por outro lado, a deficiência de vitamina D está associada a uma inflamação pronunciada de acordo com o aumento de biomarcadores de inflamação CXCL10, IL-6, TNF- α e D-Dímero e a fenótipos ativados de monócitos (CX3CR1⁺ e CD14^{dim}CD16⁺) em doentes infetados pelo HIV, os quais estão associados a disfunção tecidual, desenvolvimento de

comorbilidades, progressão da AIDS e mesmo morte (80,81). Além disso, a inflamação crónica pode também induzir a hipovitaminose D, o que pode explicar os baixos níveis de vitamina D em doentes infetados por este vírus (82). Foi descoberto que a deficiência severa de vitamina D está associada a baixas contagens de marcadores CD4 e a aumento dos marcadores de inflamação em doentes infetados pelo HIV sob terapia antirretroviral combinada (cART) (83). Além disso, o LPS e a proteína gp120 do HIV aumentam a expressão de CYP27B1 e CYP24A1 em monócitos e macrófagos, levando à hipovitaminose D e a uma redução na expressão de mRNA do VDR e dos péptidos antivirais PI3 e CAMP (84,85).

Os Inibidores Não Nucleosídicos da Transcriptase Reversa (NNRTI) têm vindo a ser associados a níveis baixos de vitamina D. Por exemplo, o efavirenz pode aumentar o catabolismo da vitamina D e interromper a síntese de 25(OH)D através da modulação do sistema do CYP450, o qual controla a hidroxilação da vitamina D (86–88). No entanto, existem estudos que não apoiam essa hipótese, visto que é possível atingir concentrações suficientes de vitamina D após suplementação (89,90). Além disso, demonstrou-se que indivíduos infetados pelo HIV que não receberam cART apresentaram níveis de catelicidina significativamente mais baixos que aqueles que a receberam, ou seja, esta terapia pode reverter os níveis reduzidos de catelicidina (91).

Conclui-se, então, que os níveis de vitamina D constituem um indicador do prognóstico de infeção por HIV (92).

4.3. Tuberculose

A associação entre a vitamina D e a tuberculose já é conhecida há anos, tal como referido. A tuberculose (TB) constitui um dos principais problemas de saúde, uma das 10 principais causas de morte em todo o mundo e a principal causa de morte por um único agente infeccioso. Em 2019, cerca de 10 milhões de pessoas desenvolveram TB e morreram 1,4 milhões. Esta doença é causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, que se transmite quando as pessoas que estão infetadas tosse, expelindo bactérias em aerossóis (93). Os indivíduos infetados são considerados como tendo tuberculose latente, um estado clínico assintomático não transmissível, caracterizado por uma resposta imune contínua, que ocorre devido à estimulação pelos antígenos do *M. tuberculosis*, ou tuberculose ativa, caracterizada pela presença de sintomatologia clinicamente manifestada. Indivíduos com tuberculose latente

representam um reservatório para casos ativos de tuberculose (94). A doença afeta geralmente os pulmões (TB pulmonar), mas também pode afetar outros locais (TB extrapulmonar) (93).

Os macrófagos alveolares têm uma função dupla. Entram em contacto com o *M. tuberculosis*, fagocitam-no e constituem uma defesa fundamental contra este bacilo; ao mesmo tempo que são permissivos para estabelecer uma infecção intracelular e perpetuar o bacilo. A indução da autofagia nos macrófagos é um importante fenómeno celular que serve de controlo à infeção, favorecendo os mecanismos microbicidas dos macrófagos alveolares (95). Os PAMPS do *M. tuberculosis* ativam os recetores TLR2/1, resultando na indução transcricional do VDR e da expressão da enzima ativadora da vitamina D, 1 α -hidroxilase. O 25(OH)D ligado à DBP entra nos monócitos na forma livre e é convertido à sua forma ativa (1 α ,25(OH) $_2$ D) pela 1 α -hidroxilase mitocondrial, ligando-se ao VDR. Esta ligação permite, então, que o 1 α ,25(OH) $_2$ D seja capaz de atuar como um fator de transcrição, levando à indução da expressão de catelicidina e à autofagia. A catelicidina e a autofagia combinam-se de forma a induzir a morte bacteriana. A ativação dos TLRs pelo *M. tuberculosis* também induz a expressão da IL-1 β e inibe a expressão do antagonista do recetor da IL-1, aumentando a sinalização intrácrina por esta citocina e a atividade do NF- κ B. A fagocitose do *M. tuberculosis* aumenta as concentrações intracelulares do muramil dipéptido (MDP) (96), presente na parede celular bacteriana (97), que se liga ao recetor NOD2, aumentando a atividade do NF- κ B. Em conjunto com o 1 α ,25(OH) $_2$ D ligado ao VDR, o NF- κ B induz a expressão genética de catelicidina e de β -defensina 2. A catelicidina, a β -defensina 2 e a autofagia contribuem para o aumento da morte bacteriana (Figura V) (96).

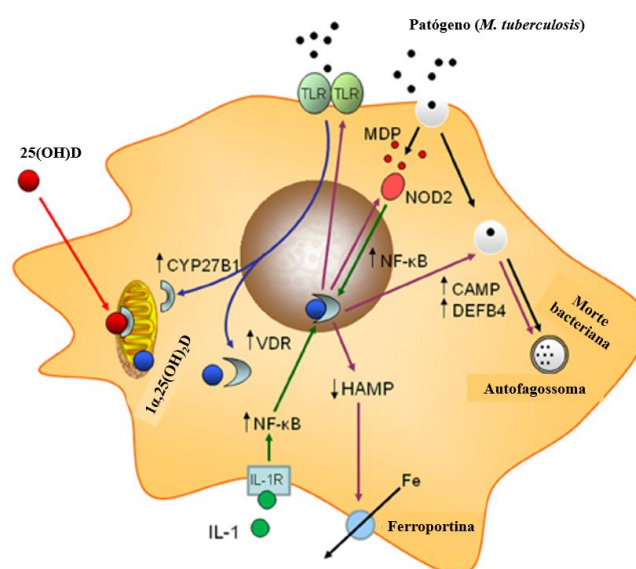


Figura V: Mecanismos para a indução de respostas antibacterianas mediadas pela vitamina D nos monócitos. Nos monócitos/macrófagos, o *M. tuberculosis* é reconhecido pelo complexo TLR2/1, cuja ativação

induz a expressão de 1 α -hidroxilase (CYP27B1) e do VDR. O 25(OH)D é convertido em 1 α ,25(OH)₂D, o qual se liga posteriormente ao VDR, induzindo a regulação transcricional. A ativação intrácrina da vitamina D inclui as seguintes respostas (setas rosas): indução de catelicidina (CAMP) e β -defensina 2 (DEFB4); inibição da produção de hepcidina (HAMP); promoção da autofagia; indução da expressão de NOD2; regulação do mecanismo de *feedback* da expressão do TLR; aumento da morte bacteriana. O NF- κ B coopera com a vitamina D na indução da expressão de CAMP e DEFB4, através da ligação do MDP ao NOD2 e do aumento da expressão de IL-1 β (setas verdes). Adaptado de (98).

A vitamina D pode, então, ter a capacidade de diminuir o risco de TB, prevenir a progressão de TB latente para doença ativa, diminuir a sua duração e melhorar a eficácia do tratamento como um adjuvante à terapia antimicrobiana (99,100). A vitamina D também pode melhorar os índices da função imunitária e o nível de expressão de fatores inflamatórios em doentes com TB pulmonar, bem como reduzir os efeitos adversos associados ao tratamento (101). Um estudo demonstrou que a estimulação de monócitos humanos com o DNA do *M. tuberculosis* aumentou a expressão de mRNA do VDR e a produção de óxido nítrico, importante para a defesa contra o bacilo (102). Um baixo índice de massa corporal (IMC) e a presença de tuberculose foram associados a deficiência grave de vitamina D em doentes recém-diagnosticados com TB pulmonar (103).

Após a realização de uma meta-análise de vários estudos em 2017, concluiu-se que existe, de facto, uma associação significativa entre a deficiência de vitamina D, a prevalência da infeção pelo *M. tuberculosis* e a suscetibilidade a infeções ativas. Foi também demonstrado que a deficiência de vitamina D constitui mais provavelmente um fator de risco do que uma consequência da infeção pelo bacilo (104).

4.4. Infeções do trato respiratório e COVID-19

As infeções respiratórias, incluindo as infeções pelos vírus influenza A e B, parainfluenza 1 e 2 e sincicial respiratório são prevalentes no inverno. Todos estes podem ser sensíveis a péptidos antimicrobianos e a vitamina D pode desempenhar um papel essencial na defesa do hospedeiro (105). Estudos epidemiológicos associaram a deficiência de vitamina D ao aumento de suscetibilidade a infeções respiratórias virais agudas (106), em particular, notou-se o desenvolvimento de infeções de origem viral em crianças com níveis séricos inadequados de vitamina D, nomeadamente infeções pelos vírus influenza e sincicial respiratório (107). Os vírus respiratórios entram no epitélio respiratório, através de recetores específicos, onde causam danos celulares e teciduais e desencadeiam respostas imunitárias inatas e adaptativas, as quais levam a uma inflamação sistémica e das vias aéreas e, em casos graves, sepsis ou síndrome respiratória aguda grave (SARS) (9).

COVID-19 foi o nome atribuído pela Organização Mundial da Saúde (OMS) à doença provocada pelo novo coronavírus SARS-CoV-2, que pode causar infecção respiratória grave. Este vírus foi identificado pela primeira vez em humanos, no final de 2019, na cidade chinesa de Wuhan (108). Em março de 2020, a OMS declara a COVID-19 como pandemia devido aos níveis alarmantes de propagação e inação (109).

O SARS-CoV-2 atinge principalmente os pulmões, as vasculaturas e o sistema imunitário (110). A etapa inicial da multiplicação viral consiste na ligação da glicoproteína S (porção S1) ao recetor celular ACE2. No entanto, para que a fusão do invólucro viral com a membrana celular ocorra, a glicoproteína S tem de ser clivada em dois locais (local da junção S1/S2 e local S2') pela TMPRSS2, presente na membrana citoplasmática de algumas células, e/ou pela catépsina L, presente inicialmente nos endossomas. A libertação da cápside viral, que contém o genoma, no citoplasma da célula, ocorre após fusão com a membrana do endossoma (entrada por endocitose) ou por fusão direta ao nível da membrana citoplasmática. Após descapsidação, o RNA genómico viral é transcrito e replicado pela RNA-polimerase RNA-dependente, dando origem aos diferentes mRNA, bem como a novas cópias do RNA genómico. A partir daqui começam a ser produzidas as proteínas que formarão as novas partículas virais, que saem da célula por gemulação ao nível da membrana citoplasmática (111–113).

A gravidade da COVID-19 está associada ao aumento exacerbado de citocinas inflamatórias (114). Foi também observada uma redução significativa na contagem de células T CD4⁺ e CD8⁺, bem como a exaustão das células T sobreviventes em doentes com doença grave (115). Contudo, a vitamina D é capaz de atenuar a resposta imunitária das células Th1 e favorecer a resposta das células Th2 e das células Treg. Isto resulta numa redução das citocinas pró-inflamatórias relacionadas com as células Th1 (IL-6, TNF- α e IFN- γ) e um aumento das citocinas anti-inflamatórias relacionadas com as células Th2 e T reg (IL-4, IL-10 e IL-13). A resposta das células Th2 também serve para diminuir ainda mais a resposta das células Th1, enquanto que a resposta das células Treg reduz ainda mais a inflamação (22).

Por outro lado, a deficiência de vitamina D está associada à síndrome de insuficiência respiratória aguda (ARDS) e insuficiência cardíaca. Existe uma relação inversa entre os níveis circulantes de vitamina D e de renina, a qual pode ser explicada pelo facto da vitamina D diminuir a expressão de renina através da supressão do promotor do seu gene, atuando, assim como um regulador negativo do eixo RAA. Esta repressão da expressão génica é independente da regulação de *feedback* da angiotensina II. Pessoas com deficiência de

vitamina D podem expressar um aumento nos níveis de renina com consequente aumento da formação da angiotensina II e efeitos prejudiciais à saúde (116). A vitamina D interage com uma proteína da via da ACE2, a qual também é usada pelo SARS-CoV-2 como um recetor de entrada na célula. Enquanto o SARS-CoV-2 diminui a expressão de ACE2, a vitamina D promove a expressão deste gene. O SARS-CoV-2 também leva a outras limitações do eixo ACE2/Ang-(1-7)/MAS através da ativação da proteína transmembranar ADAM17, o que promove a entrada do vírus na célula. Isto leva ao aumento da angiotensina II, a qual aumenta a expressão de ADAM17. Este processo pode contribuir para os danos pulmonares, cardíacos e vasculares característicos de alguns doentes com COVID-19. Deste modo, a vitamina D pode interferir com o eixo ACE2/Ang-(1-7)-ADAM17 de forma a promover a síntese de ACE2 e diminuir a de angiotensina II (116–118).

Outra característica da COVID-19 grave é a coagulopatia, que está associada à deficiência de vitamina D. Desta forma, o possível envolvimento da vitamina D na infeção pelo SARS-CoV-2 não é devido apenas à sua influência na imunidade inata e adaptativa (como no caso do vírus influenza), mas também ao efeito no sistema cardiovascular (22).

O $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ promove a reparação do endotélio vascular por induzir as células da musculatura lisa vascular a produzirem o fator de crescimento endotelial (VEGF) (22). Para além disto, a vitamina D pode reduzir o risco de infeção através da manutenção das junções celulares de oclusão, evitando que o vírus perturbe a integridade destas (119). Já os metabolitos do $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ estimulam a síntese de tensioativo nos pneumócitos tipo II, que são o principal alvo dos coronavírus (120,121). As células alveolares humanas tipo II, suplementadas com $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$, apresentaram aumento da expressão de tensioativo associado à proteína B. Isto significa que a vitamina D é capaz de reduzir a tensão superficial nos pulmões de doentes com COVID-19 (122).

5. Suplementação de vitamina D na profilaxia e tratamento de doenças infecciosas

No que concerne ao efeito da vitamina D no sistema imunitário, tem havido um interesse particular no possível papel da sua suplementação como terapia adjuvante no contexto da infecção.

A inconsistência nos resultados dos vários estudos sobre a suplementação de vitamina D na tuberculose dificulta tirar uma conclusão sobre a vitamina D no tratamento e prevenção desta doença (123). No entanto, grande parte dos estudos apoia o benefício desta hormona na TB. A suplementação de vitamina D aumenta a proporção de conversão da cultura de *M. tuberculosis* e do esfregaço de expectoração, ao melhorar a atividade bactericida dos macrófagos, apesar de não ter impacto no tempo de conversão (99,124). A suplementação de doses elevadas (600.000 IU) de vitamina D₃ pode levar a uma recuperação clínica e radiológica mais acentuada em todos os doentes com TB pulmonar e aumentar as respostas imunológicas do hospedeiro em doentes com deficiência de vitamina D (125). A administração de uma dose única de 100.000 IU de vitamina D₂ melhorou a imunidade no controlo da infecção (126). Foi também observado um aumento na contagem de linfócitos e nas concentrações de 25(OH)D sérico e cálcio plasmático e uma melhoria na radiografia de tórax após suplementação de vitamina D (99). Assim, esta vitamina pode ser recomendada como terapia adjuvante no tratamento da TB, em combinação com a medicação antituberculosa, e para fins profiláticos (127).

O restabelecimento dos níveis de vitamina D para níveis normais pode minimizar a inflamação e as complicações do HIV e da cART associadas à inflamação crónica (81). A suplementação de vitamina D em indivíduos infetados pelo HIV induz a expressão de péptidos antimicrobianos, tais como CAMP e HBD. Além disso, também parece aumentar o número de células T CD4, promovendo a sua diferenciação em células Th2 e Treg, enquanto diminui as Th1 e Th17 e os níveis de ativação de linfócitos T CD8⁺ (Figura VI) (74). A suplementação diária de vitamina D de 7.000 IU mostrou ser segura e eficaz em crianças e jovens infetados com HIV. Em indivíduos sob cART, foi observado um aumento significativo na percentagem de células T CD4⁺, uma pequena redução na carga viral e uma diminuição significativa na percentagem de células T citotóxicas ativadas (CD8⁺/CD38⁺/HLA-DR⁺)

(90). A suplementação mensal de vitamina D de 120.000 IU mostrou diminuir a ativação do sistema imunitário, bem como os marcadores de exaustão em indivíduos sob cART (128).

A co-infecção pelo HIV é um dos fatores de risco de desenvolvimento de tuberculose. Estudos epidemiológicos demonstraram que o risco de desenvolvimento de tuberculose aumenta em doentes infetados pelo HIV devido à redução da contagem de células CD4 e aos estádios clínicos avançados da doença, pelo que a suplementação de vitamina D na co-infecção TB/HIV pode apresentar alguns benefícios devido à produção de catelicidina e indução do fluxo autofágico, os quais inibirão o crescimento e a replicação de ambos os vírus (129). No entanto, mais estudos terão de ser realizados neste tipo de doentes, de forma a definir o verdadeiro papel da vitamina D na co-infecção TB/HIV.

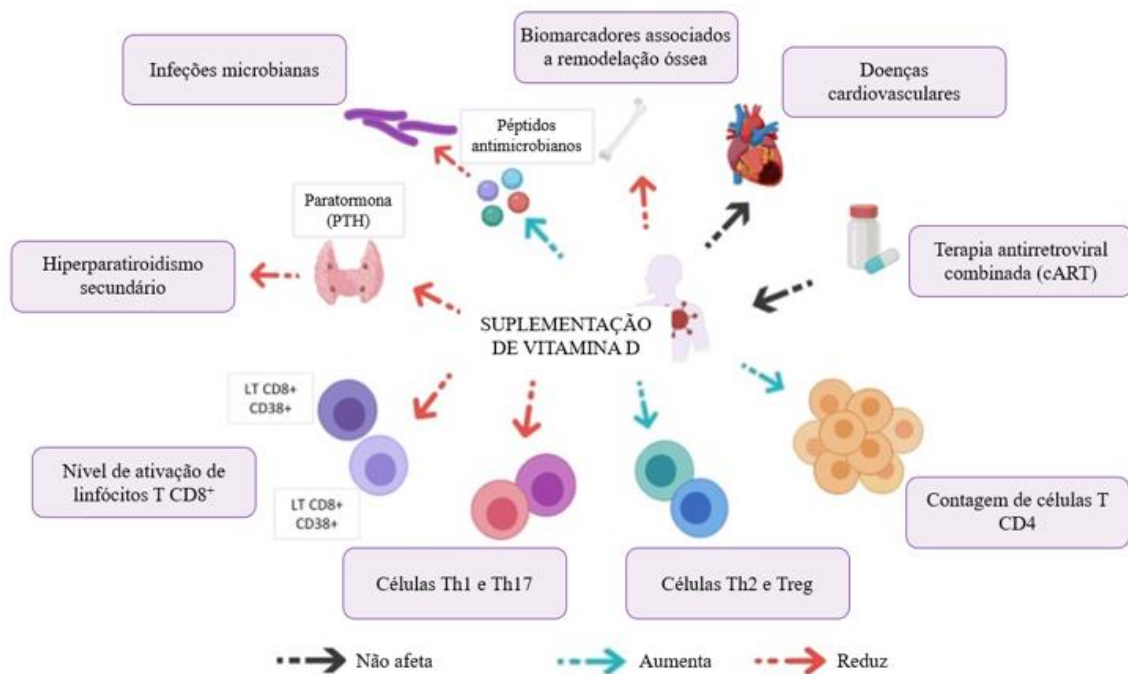


Figura VI: Efeitos da suplementação da vitamina D em aspetos clínicos e imunológicos associados à infecção pelo HIV. A suplementação de vitamina D em indivíduos infetados pelo HIV-1 reduz os níveis de PTH e, conseqüentemente, a probabilidade de hiperparatiroidismo secundário. Também induz a expressão de péptidos antimicrobianos, tais como CAMP e HBD, e promove a formação óssea, enquanto diminui os biomarcadores associados à remodelação óssea. A suplementação de vitamina D não parece ter impacto nas doenças cardiovasculares e o sucesso de reposição dos níveis de vitamina D não depende da cART. A suplementação com esta hormona parece também aumentar a contagem de células T CD4, promovendo a sua diferenciação em células Th2 e Treg, enquanto diminui as células Th1 e Th17 e os níveis de ativação de linfócitos T CD8⁺. Adaptado de (74).

O número de estudos que relacionam o HBV com a suplementação de vitamina D é ainda reduzido comparativamente às restantes infeções. Porém, foi demonstrado que a

suplementação a curto prazo pode aumentar significativamente os níveis de vitamina D, apesar de não ter havido impacto na replicação do vírus em indivíduos portadores crônicos do vírus (130).

Apesar de várias revisões sistemáticas e meta-análises positivas, a evidência experimental disponível relacionada com os efeitos da vitamina D na infecção aguda do trato respiratório (ARTI) é repleta de heterogeneidade e, portanto, é insuficiente para recomendar a suplementação de vitamina D à população em geral como agente de proteção contra a ARTI. Contudo, devem ser testados os níveis de vitamina D em doentes em risco de ARTI. Os doentes que apresentam deficiência ou insuficiência de vitamina D devem ser suplementados com esta até que o seu estado esteja normalizado. Os ensaios clínicos apoiam a administração de doses de 1.000-2.000 IU/dia em detrimento de doses baixas diárias ou em bólus (131).

Nos últimos meses, têm vindo a ser exploradas algumas opções terapêuticas no que concerne à COVID-19. Desta forma, acredita-se que a vitamina D possa ser benéfica nestes doentes (132). Contudo, por ser um tema bastante recente, ainda se aguarda pelos resultados de alguns estudos a fim de determinar a eficácia, as doses desejáveis e a segurança da suplementação da vitamina D na prevenção e tratamento da COVID-19 (133). Contudo, alguns autores já levantaram a hipótese do possível efeito benéfico da suplementação de vitamina D em doentes com COVID-19, a fim de melhorar o equilíbrio do sistema imunitário e prevenir a tempestade de citocinas inflamatórias. Os níveis de vitamina D são muito baixos em países como Espanha, Itália e Suíça, onde foi observada uma correlação entre os níveis de vitamina D e o número de casos de COVID-19, bem como a mortalidade associada a esta doença (134). Fatores como a idade, a etnia, o sexo masculino, o nível socioeconómico, bem como comorbilidades como a obesidade, a diabetes e a hipertensão estão associados tanto a um mau prognóstico da COVID-19 como à deficiência de vitamina D (135). Alguns estudos já demonstraram que níveis baixos de vitamina D estão significativamente associados a um risco aumentado de infecção pelo SARS-CoV-2 (136), bem como a uma maior taxa de hospitalização e necessidade de oxigenoterapia e de ventilação mecânica (137,138). Num outro estudo, a maioria dos indivíduos com hipovitaminose D e COVID-19 passaram a testar negativo após suplementação de 60.000 IU de vitamina D durante 7 dias, com uma redução significativa do fibrinogénio, um marcador inflamatório (139).

A vitamina D reforça a imunidade inata, por isso é expectável que diminua a infecção pelo SARS-CoV-2, bem como a sua transmissibilidade. A vitamina D também afeta o metabolismo do zinco, o que leva à diminuição da replicação dos coronavírus. No entanto, é

necessária precaução devido à presença de pessoas assintomáticas na disseminação viral. A vitamina D modula a função imunológica através dos efeitos nas células dendríticas e nas células T, o que pode promover a eliminação viral e reduzir as respostas inflamatórias que produzem sintomas. Quanto maiores os níveis de vitamina D, menores os níveis de IL-6, os quais são o principal alvo para controlar a tempestade de citocinas na COVID-19. Na medida em que previne a infecção, diminui a replicação viral ou acelera a eliminação do vírus, o tratamento com vitamina D pode reduzir a disseminação do SARS-CoV-2. Por outro lado, se a vitamina D reduz a inflamação, pode aumentar o transporte assintomático e diminuir as apresentações assintomáticas, incluindo tosse, tornando difícil prever o seu efeito na disseminação viral (140).

A vitamina D, sendo uma vitamina lipossolúvel, levantou algumas questões acerca da toxicidade associada à sua suplementação. A hipercalcemia é responsável pela produção da maioria dos sintomas da hipervitaminose D (anorexia, náuseas e vômitos, diarreia, obstipação, dores musculares e ósseas, cefaleias, micção excessiva, cálculos renais, etc.) (47). No entanto, concluiu-se que este é um evento raro e que são necessários valores superiores a 150 ng/mL para que tal ocorra. Deste modo, a suplementação de vitamina D é considerada relativamente segura, exceto em doentes com sarcoidose, tuberculose, infecções fúngicas crônicas ou alguns linfomas, visto que, nestas doenças, os macrófagos ativados produzem $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ de forma desregulada (141).

6. Vitamina D e resposta às vacinas

Em termos de prevenção de doenças infecciosas, as vacinas constituem a mais potente ferramenta de saúde pública, visto que fornecem enormes benefícios na proteção de populações vulneráveis contra muitos patógenos (7). A administração de vacinas induz a ativação do sistema imunitário adaptativo. Os antígenos provenientes das vacinas são primeiramente apresentados às células apresentadoras de antígenos, o que facilita a maturação das células dendríticas. Estas migram para os nódulos linfáticos, onde induzem a ativação e a expansão clonal das células T CD4⁺ e CD8⁺ naïve. A ativação e a diferenciação das células B naïve são induzidas pelos antígenos e pelas células T CD4⁺. As células B naïve diferenciam-se em células B de memória e em células B secretoras de anticorpos. No final, a imunidade a longo prazo é mantida pelas células B e T de memória (CD4⁺ e CD8⁺) na corrente sanguínea e nos nódulos linfáticos, bem como na medula óssea pelos plasmócitos e linfócitos T de memória (13). A capacidade do sistema imunitário em fornecer uma proteção adequada contra as infeções vai diminuindo com a idade e, por isso, os idosos demonstram uma menor resposta à vacinação (142).

Mais especificamente, o papel desempenhado pela vitamina D na vacinação pode ser explicado pela sua ação nas células apresentadoras de antígenos, mais particularmente nas células dendríticas. Esse papel pode incluir a ativação das células dendríticas, através dos TLRs pelos antígenos provenientes das vacinas (com ou sem adjuvante), e aumento intracelular de CYP27B1 com proliferação das células T, diminuição de citocinas Th1-like (IL-2 e TNF- α), aumento de citocinas Th2-like (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) e produção da citocina Th17-like, IL-17 (7). A produção local de 1 α ,25(OH)₂D em modelos animais mostrou induzir a migração das células dendríticas do local de injeção para os órgãos linfoides, onde estimularam as células B e T específicas dos antígenos de forma a obter uma boa resposta de anticorpos à vacinação contra a difteria (143,144). Deste modo, embora o 1 α ,25(OH)₂D possa atenuar diretamente as funções das células B, pode, paradoxalmente, estimular a resposta imunitária à vacinação através dos seus efeitos na imunidade inata (7).

A adição de 1 α ,25(OH)₂D a uma variedade de vacinas aumentou a imunidade contra o vírus herpes simplex, toxoide tetânico, antígeno de superfície da hepatite B e glicoproteína 160 do HIV (1). A coadministração de 1 α ,25(OH)₂D com a vacina trivalente contra o vírus influenza em ratinhos mostrou aumentar a resposta de anticorpos específicos e, logo, a capacidade de neutralização viral (145,146). Outro estudo demonstrou o aumento da resposta

imunitária específica mediada por células nas 3 semanas após a vacinação contra o herpes zoster em 150 idosos, depois de 4 meses de suplementação de vitamina D (13).

No entanto, o papel benéfico da vitamina D na resposta à vacinação ainda não está completamente esclarecido, nomeadamente no que respeita a infeções pelo vírus influenza. Num estudo que incluiu 175 indivíduos saudáveis (18-49 anos), a imunidade humoral não foi atingida após a coadministração por via intramuscular de 1.0 µg de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ com a vacina contra o vírus influenza (147). Em crianças, a administração diária de 1.000 IU durante 4 meses desde o momento da administração da primeira dose da vacina contra o vírus influenza não influenciou a resposta de anticorpos (148). Para além deste tipo de infeção, também não parece existir uma associação entre os níveis de $25(\text{OH})\text{D}$ e a resposta imunitária à vacinação contra a hepatite B e antipneumocócica (149).

Sabe-se que as estações do ano são marcadas por mudanças na quantidade de luz solar e que a radiação UV pode afetar negativamente o rumo das infeções virais, a memória imunológica e as respostas imunitárias celulares e humorais. De facto, alguns estudos sugeriram que a efetividade da imunização pode ser melhorada através da redução da exposição à luz solar (150–152).

Outros estudos também destacaram o papel desempenhado pela suplementação de vitamina D na resposta imunitária à vacinação (ex.: vacinações contra o sarampo (153), a rubéola (154) e a tuberculose (155)). No entanto, ainda não existe evidência científica que permita clarificar a verdadeira relação entre o estado de vitamina D e a vacinação (13).

7. Resposta individual à vitamina D

7.1. Polimorfismos no gene que codifica o recetor da vitamina D (VDR)

A análise molecular de alguns ensaios de suplementação de vitamina D sugere que existem diferenças entre as respostas inter-individuais a esta vitamina (156). Um polimorfismo corresponde a uma variação fenotípica que tem a capacidade de apresentar diferentes formas nos alelos de um mesmo gene. Ocorrem variações na sequência do DNA, podendo provocar efeitos biológicos. Devido à sua abundância no genoma humano, os polimorfismos têm vindo a ser estudados com o objetivo de se explicar as variações, que podem levar ao desenvolvimento de algumas doenças (157).

O VDR encontra-se localizado no cromossoma 12, na posição 12q.13.11, compreendendo uma região de aproximadamente 100.000 pares de bases de DNA. Contudo, apenas 4.600 pares de bases codificam o VDR. O VDR é uma proteína constituída por 427 aminoácidos que está localizada principalmente no núcleo, citoplasma e membrana celular (12). Foi identificado um vasto número de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) no gene que codifica o VDR (1), os quais podem influenciar a modulação da resposta do $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ aquando da ligação ao VDR. No entanto, os polimorfismos mais estudados são os seguintes: *FokI* (rs2228570), *BsmI* (rs1544410), *ApaI* (rs7975232) e *TaqI* (rs731236) (Figura VII) (12).

O polimorfismo *FokI* (rs2228570), também denominado polimorfismo do codão de iniciação, foi definido usando a enzima de restrição *FokI* (*Flavobacterium okeanoikoites*) através da técnica de RFLP. Situa-se no exão 2 e é considerado um polimorfismo não-sinónimo devido à alteração C > T (alelo T), também referido como alteração F > f, o qual origina uma alteração não-sinónima de treonina para metionina e dita dois potenciais locais de início de tradução. A presença do sítio de restrição *FokI* é quando o alelo C está presente (também denominado alelo F pelo corte da enzima de restrição *FokI*). Este alelo C origina um novo codão de iniciação (ATG), o qual traduz uma proteína mais curta de 424 aminoácidos. Na ausência de sítio de restrição *FokI*, o alelo T (alelo f) começa a tradução no sítio original do exão 2, ocorrendo a expressão da proteína de 427 aminoácidos, a qual apresenta menor estabilidade e menor capacidade de transativação (12).

Os polimorfismos *BsmI* (rs1544410) e *ApaI* (rs7975232) foram definidos usando as enzimas de restrição *BsmI* (*Bacillus stearothermophilus*) e *ApaI* (*Acetobacter pasteurianus*), respetivamente, pela técnica de RFLP. O polimorfismo *BsmI* (rs1544410), localizado no intrão 8, apresenta uma alteração A > G (B > b) e o alelo ancestral é o alelo G. Este

polimorfismo pode originar uma alteração nos sítios de *splicing* para a transcrição do mRNA ou uma alteração nos elementos reguladores do intrão. O polimorfismo *Apal* (rs7975232) também localizado no intrão 8, apresenta uma alteração A > C (A > a) e o alelo ancestral é o alelo C. Ambos os polimorfismos estão localizados na extremidade 3' do VDR e não alteram a sequência de aminoácidos do VDR. Deste modo, podem afetar a estabilidade do mRNA e a expressão gênica do VDR pelo desequilíbrio de ligação (DL) (12). O DL indica a coocorrência de alelos correspondentes a polimorfismos adjacentes. Desta forma, a presença de um polimorfismo prevê a presença de outro, ligados entre si, devido à ocorrência de uma pequena recombinação durante a sua evolução. Quando existem muitos DLs numa determinada área, apenas haverá um número limitado de haplótipos nessa mesma área. Os haplótipos correspondem a agregados de alelos de polimorfismos adjacentes. No gene que codifica o VDR, a estrutura de haplótipos e de DLs pode ser útil para analisar em que medida um determinado polimorfismo pode estar associado ao risco de desenvolver determinada patologia. Os haplótipos mais comuns são o haplótipo 1 (baT) e o haplótipo 2 (BA_T) (157).

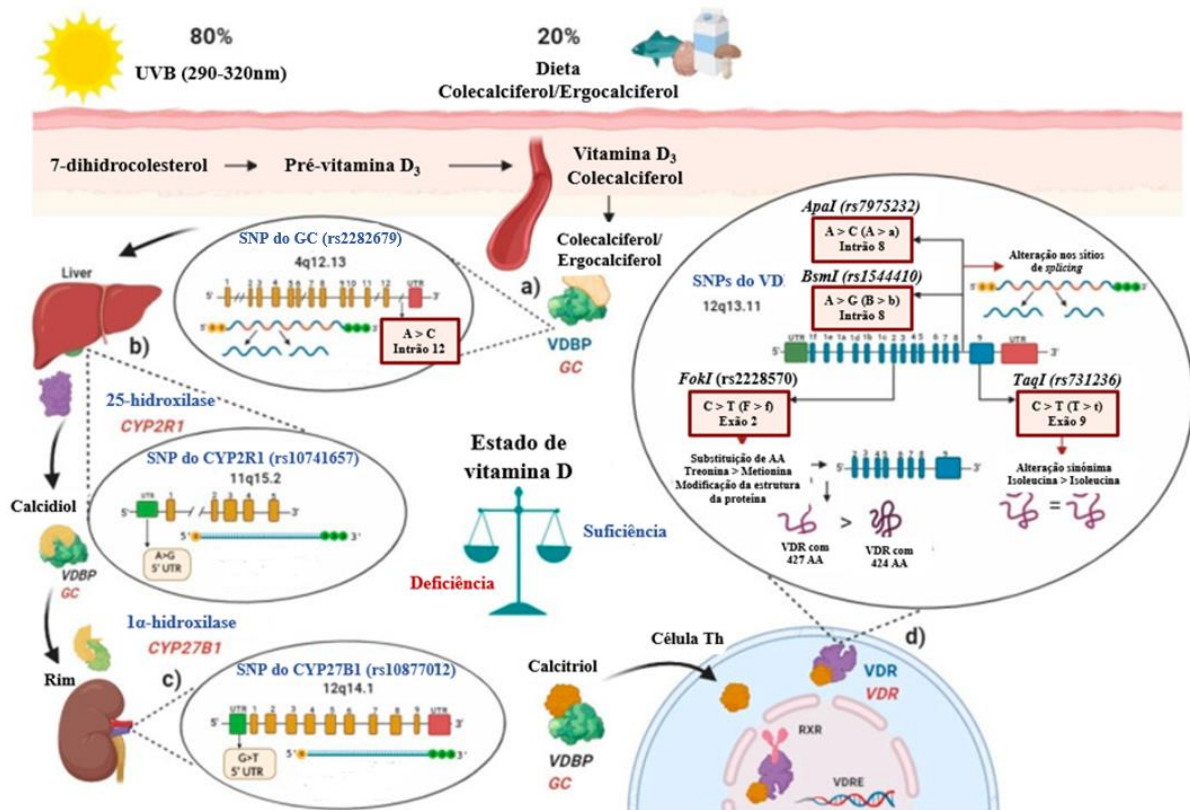


Figura VII: Principais polimorfismos associados ao metabolismo da vitamina D. (a) A DBP (codificada pelo gene *GC*) liga-se ao ergocalciferol/colecalciferol de modo a ser transportada para o fígado; o SNP do *GC* (rs2282679) pode originar uma alteração no mecanismo de *splicing*; (b) No fígado, a 25-hidroxilase (codificada pelo gene *CYP2R1*) converte o ergocalciferol/colecalciferol em calcidiol e este liga-se à DBP para ser transportado para o rim (C), onde é convertido a calcitriol pela enzima 1 α -hidroxilase (codificada pelo gene

CYP27B1); o SNP do *CYP27B1* (rs10877012) localizado na extremidade 5' pode afetar a estabilização da transcrição e o controle pós-transcricional do mRNA; (d) Após a entrada do calcitriol nas células alvo e ligação ao recetor da vitamina D (VDR) (codificado pelo gene *VDR*), o complexo VDR-calcitriol é translocado do citosol para o núcleo, onde se liga ao recetor X retinoide (RXR) para formar um heterodímero, o qual interage com o elemento de resposta da vitamina D (VDRE), por exemplo nos linfócitos Th para inibir a IL-17A ou ativar o FoxP3. Foram descritos quatro SNPs principais no gene *VDR*: o *FokI* (rs2228570), localizado no exão 2, origina um polimorfismo não-sinónimo com a alteração C > T (F > f) – a presença do sítio de restrição *FokI* origina um codão de iniciação 9 pares de bases após o sítio normal de iniciação, levando à tradução de uma proteína mais curta de 424 aminoácidos com maior capacidade de transativação como fator de transcrição; o *BsmI* (rs1544410), localizado no intrão 8, origina uma alteração A > G (B > b), a qual pode afetar a estabilidade do mRNA e expressão génica do *VDR*, podendo também originar uma alteração nos sítios de *splicing* para a transcrição do mRNA ou uma alteração nos elementos reguladores do intrão; o *ApaI* (rs7975232), localizado no intrão 8, origina uma alteração A > C (A > a), podendo afetar a estabilidade do mRNA e da expressão génica do *VDR*, apesar de não haver alteração na sequência de aminoácidos; o *TaqI* (rs731236) está localizado no exão 9, apresenta uma alteração C > T (T > t) e origina uma alteração sinónima do aminoácido isoleucina, por isso não altera a proteína codificada, mas pode influenciar a estabilidade do mRNA. Todos estes SNPs estão relacionados com a modulação dos níveis séricos de vitamina D na saúde e na doença. Adaptado de (12).

O polimorfismo *TaqI* (rs731236), localizado no exão 9, foi definido usando a enzima de restrição *TaqI* (*Thermus aquaticus*) e apresenta a alteração C > T (T > t) e o alelo ancestral é o alelo C. Este polimorfismo origina uma alteração sinónima da sequência codificante, ou seja, não existe alteração de aminoácidos da proteína codificada, mas pode influenciar a estabilidade do mRNA (12).

Estudos de polimorfismos do VDR em humanos apoiam a hipótese de que a variabilidade no estado de vitamina D e nos genes que codificam elementos de resposta da vitamina D afeta a resposta imunitária (1). Por exemplo, a homozigose (genótipo ff) para o polimorfismo *FokI* pode estar associada ao desenvolvimento de infeções agudas do trato respiratório inferior e de tuberculose, visto que o alelo f produz um VDR menos ativo do que o alelo F (7,158,159). Foi também observado noutro estudo que a frequência dos haplótipos f-T-B e f-t-b dos polimorfismos *FokI*, *TaqI* e *BsmI* era significativamente maior em doentes com TB pulmonar (160). Para além disso, os polimorfismos *FokI*, *TaqI* e *BsmI* são também indicadores da resposta ao tratamento de doentes com hepatite C crónica (161,162). Já o polimorfismo *ApaI* parece ser um fator genético associado à progressão da hepatite B (163). Os polimorfismos no gene que codifica o VDR também estão associados a um maior estado pró-inflamatório na infeção por *Bordetella pertussis* (164). As variações alélicas específicas e os haplótipos parecem modular a resposta imunitária específica à vacinação contra o sarampo. Foram encontradas associações significativas entre os múltiplos SNPs/haplótipos e a secreção de

várias citocinas (IL-2, IL-6, IL-10, IFN- γ , IFN λ -1 e TNF- α) (153). De forma semelhante, foi demonstrado que, após duas doses da vacina contra a rubéola, os polimorfismos no gene que codifica o VDR influenciam a resposta adaptativa (153). Variações genéticas no VDR podem diminuir a sua expressão, influenciando a sua ligação ao 1 α ,25(OH) $_2$ D e induzindo a apoptose, o que afeta conseqüentemente a recuperação das células T CD4 $^+$ em indivíduos seropositivos para HIV submetidos a terapia antirretroviral (165).

7.2. Polimorfismos no gene que codifica a proteína ligante da vitamina D (DBP)

Os polimorfismos genéticos no âmbito da vitamina D também abrangem o gene que codifica a proteína ligante da vitamina D. A DBP, inicialmente conhecida como um componente de grupo específico (Gs-globulina), é uma proteína multifuncional altamente expressa que é codificada no cromossoma 4, na posição 4q.13.3, e tem um tamanho de 55.136 pares de bases. Tem um peso molecular de 58 kDa, cujos valores fisiológicos normais variam de 300-600 μ g/mL. Assim que a vitamina D e os seus metabolitos entram em circulação, ligam-se à DBP. Esta apresenta uma elevada afinidade para o 25(OH)D, sendo que aproximadamente 99% do 25(OH)D circulante encontra-se ligado à DBP. O seu tempo de semivida é de 2,5-3 dias. O gene que codifica a DBP é o gene mais amplamente estudado na via metabólica da vitamina D. Foram identificados mais de 120 alelos diferentes neste gene na população humana, sendo que os dois SNPs mais estudados na DBP correspondem ao rs4588 e ao rs7466 (3,12). Contudo, estes dois polimorfismos apenas explicam 9,9% das concentrações do 25(OH)D. Foram identificados mais quatro SNPs, os quais afetam a concentração do 25(OH)D: rs2282679 (DBP), rs10741657 (CYP2R1), rs12785878 (DHCR7) e rs6013897 (CYP24A1) (166).

Para além da função de transporte, a DBP desempenha um papel fundamental na regulação da biodisponibilidade de 25(OH)D para os monócitos. Deste modo, as respostas antimicrobianas dependentes de vitamina D parecem ser influenciadas pelos polimorfismos da DBP. Existem 3 formas alélicas da DBP em diferentes concentrações séricas (Gc1F > Gc1S > Gc2) e com diferentes afinidades para os metabolitos da vitamina D (Gc1F > Gc1S > Gc2) e são compostas por sequências de aminoácidos idênticas exceto nas posições 416 e 420. A DBP influencia a síntese renal do 1 α ,25(OH) $_2$ D por facilitar a reabsorção glomerular do 25(OH)D. Este efeito é mais relevante quando se considera a forma Gc1F devido à sua elevada abundância/afinidade. A DBP também transporta os metabolitos da vitamina D até

aos monócitos, onde as suas ações parecem ser opostas às observadas no rim. De facto, a conversão intrácina do 25(OH)D em $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ induz geralmente respostas antibacterianas. Nos monócitos, as respostas ao 25(OH)D são mais pronunciadas na presença das formas da DBP de baixa afinidade (Gc2 e Gc1S) comparativamente à forma de elevada afinidade (Gc1F). Estas observações, juntamente com o facto de o 25(OH)D apresentar uma maior afinidade de ligação para a DBP do que o $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$, sugerem que a DBP livre é a mais biologicamente ativa nos monócitos (1,167,168).

No contexto da tuberculose, o genótipo Gc2/2 demonstrou estar significativamente associado à infeção pelo *M. tuberculosis*, mas apenas quando a concentração sérica de 25(OH)D foi inferior a 20 nmol/L (7,169). Já os polimorfismos rs16846876 e rs12512631 estão associados à progressão para AIDS em doentes seropositivos submetidos a cART (170). Polimorfismos genéticos no locus rs7041 estão provavelmente associados a um aumento da suscetibilidade à infeção pelo HCV (171) e pelo SARS-CoV-2 (172).

8. Conclusões

A vitamina D é uma molécula que tem adquirido especial destaque na área da saúde nos últimos tempos. Para além do seu efeito já conhecido a nível dos ossos, a descoberta das suas propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias permitiu começar a associar a deficiência de vitamina D a uma grande variedade de doenças infecciosas.

A vitamina D pode ser obtida através da luz solar, dieta e suplementos. No entanto, a principal fonte de produção desta vitamina é através da exposição da pele ao sol, a partir do 7-dihidrocolesterol. A vitamina D circula no sangue maioritariamente ligada à proteína ligante da vitamina D (DBP) e é metabolizada primeiramente no fígado em 25(OH)D, a sua forma inativa, através da ação do CYP2R1. A segunda hidroxilação ocorre no rim através da ação do CYP27B1, onde é produzido o seu metabolito ativo, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$, que se liga posteriormente ao recetor da vitamina D (VDR) e exerce múltiplas funções fisiológicas de modo a regular a expressão génica em vários tecidos e células, incluindo células do sistema imunitário. Para além do VDR, estas também possuem o CYP27B1, que converte o 25(OH)D em $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$. Desta forma, a vitamina D é capaz de atuar de uma forma autócrina, intrácrina ou parácrina.

A nível do sistema imunitário, a vitamina D atua de duas formas distintas: através da imunidade inata e através da imunidade adaptativa. No que concerne à imunidade inata, células como os monócitos/macrófagos, os neutrófilos e as células apresentadoras de antígenos são influenciados pela presença do metabolito biologicamente ativo da vitamina D, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$. Este é responsável pela produção de péptidos antimicrobianos (catelicidina e β -defensinas) e pela diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-23) a nível dos macrófagos. O $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ também é capaz de aumentar a atividade antimicrobiana dos neutrófilos e de tornar as células apresentadoras de antígenos mais tolerogénicas acompanhadas de uma diminuição da expressão do MHC classe II e de moléculas co-estimuladoras na superfície celular (CD40, CD80 e CD86). No que respeita à imunidade adaptativa, a vitamina D atua nas células T pela diminuição de citocinas das células Th1 e Th17 e aumento da proliferação e diferenciação das células Th2 e Treg. A vitamina D também atua nas células B pelo aumento da expressão do VDR, CYP27B1 e CYP24A1, inibição da formação de plasmócitos, aumento da apoptose de células B ativadas e de plasmócitos, aumento de citocinas anti-inflamatórias de células B (IL-10 e CCR10) e inibição da diferenciação de células B de memória.

Ainda não existe um consenso acerca do nível ótimo de vitamina D que garanta o correto funcionamento do sistema imunitário, bem como a prevenção de infecções. No entanto, a maioria dos especialistas considera que esse valor deve estar dentro do intervalo 75-100 nmol/mL. Valores inferiores a 50 nmol/mL indicam deficiência de vitamina D, pelo que se deve monitorizar os seus níveis através da medição da concentração do metabolito 25(OH)D, visto estar numa concentração 1000 vezes superior à do $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ e apresentar uma estabilidade sérica de 2 semanas.

Tendo em conta os efeitos da vitamina D no sistema imunitário, diversos estudos apontam para uma clara relação entre a deficiência de vitamina D e a incidência e a gravidade de algumas doenças infecciosas. A sua ação anti-infecciosa tornou-a benéfica como terapia adjuvante nesse tipo de doenças.

Na hepatite B, existe um comprometimento funcional do fígado, pelo que estes doentes pertencem ao grupo de risco da hipovitaminose D. Por outro lado, a gravidade da doença pode afetar a biodisponibilidade do metabolito 25(OH)D e conseqüentemente contribuir para os baixos níveis de vitamina D. Apesar de ainda não existir um consenso acerca da relação entre os níveis reduzidos de vitamina D e a replicação do vírus, a suplementação desta vitamina não mostrou influenciar a replicação viral.

Níveis aumentados de vitamina D são benéficos na infeção pelo HIV devido ao aumento da produção de citocinas anti-inflamatórias e da expressão de várias moléculas anti-HIV. Já níveis reduzidos de vitamina D estão associados a fenómenos de inflamação pronunciada. A cART pode aumentar os níveis de catelicidina. A suplementação de vitamina D em indivíduos infetados pelo HIV apresenta vários benefícios: aumento do número de células T CD4⁺ e de péptidos antimicrobianos e diminuição da inflamação e da carga viral.

A vitamina D desempenha um papel fundamental nos mecanismos de defesa contra o *M. tuberculosis*, bem como na melhoria do estado de saúde de doentes com tuberculose. A deficiência de vitamina D constitui um fator de risco para a tuberculose, pelo que a suplementação desta vitamina pode ter impacto na redução do risco de infeção pelo bacilo e no tratamento da tuberculose.

No que respeita às infeções do trato respiratório, incluindo a infeção pelo SARS-CoV-2, apesar de a vitamina D parecer contribuir para uma diminuição do risco e da gravidade deste tipo de infeções, os dados são ainda insuficientes para se poder recomendar a suplementação de vitamina D à população.

O efeito modulador da vitamina D na resposta imunitária à vacinação contra algumas infecções também tem vindo a ser discutido. A deficiência de vitamina D pode estar associada a uma baixa imunogenicidade das vacinas. Contudo, este tema ainda permanece bastante controverso. Existem autores que defendem que a adição de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ às vacinas permite aumentar a imunidade contra diversos vírus, enquanto outros demonstram não existir qualquer associação entre os níveis de vitamina D e a resposta imunitária à vacinação. A suplementação de vitamina D ainda carece de mais estudos a fim de comprovar a sua eficácia nestes casos.

Os diferentes polimorfismos no gene que codifica o VDR têm vindo a ser associados a algumas doenças infecciosas, tais como a tuberculose, a hepatite B e C e a infeção por *Bordetella pertussis* e pelo HIV. Também parecem modular a resposta imunitária à vacinação contra o sarampo e a rubéola. Os polimorfismos mais estudados no gene que codifica o VDR incluem o *BsmI*, *FokI*, *TaqI* e *ApaI*. São também descritos dois haplótipos, o baT e o BA_T. Da mesma forma, os polimorfismos no gene que codifica a DBP também podem contribuir para uma maior suscetibilidade à infeção, nomeadamente na tuberculose, hepatite C, AIDS e COVID-19.

Assim, tendo em conta os efeitos da vitamina D no sistema imunitário, torna-se necessário definir o potencial terapêutico desta molécula no tratamento e profilaxia de infeções.

9. Referências Bibliográficas

1. Lang PO, Samaras N, Samaras D, Aspinall R. How important is vitamin D in preventing infections? *Osteoporos Int* [Internet]. 2013;24(5):1537–53. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00198-012-2204-6>
2. Meca A, Andrei AM, S EC, Pisoschi G. Vitamins as immunomodulators and antituberculosis targets. *Rom J Med Dent Educ* [Internet]. 2020;9(2):21–9. Available from: <http://www.journal.adre.ro/vitamins-as-immunomodulators-and-antituberculosis-targets/>
3. Junaid K, Rehman A. Impact of vitamin D on infectious disease-tuberculosis-a review. *Clin Nutr Exp* [Internet]. 2019;25:1–10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2019.02.003>
4. Daniel TM. The history of tuberculosis. *Respir Med* [Internet]. 2006;100(11):1862–70. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2006.08.006>
5. Jarrett P, Scragg R. A short history of phototherapy, Vitamin D and skin disease. *Photochem Photobiol Sci* [Internet]. 2017;16:283–90. Available from: <https://doi.org/10.1039/C6PP00406G>
6. Yamshchikov A V, Nirali DS, Blumberg HM, Ziegler TR, Tangpricha V. Vitamin D for Treatment and Prevention of Infectious Diseases; A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Endocr Pr* [Internet]. 2009;15:438–49. Available from: <https://doi.org/10.4158/EP09101.ORR>
7. Lang PO, Aspinall R. Vitamin D Status and the Host Resistance to Infections: What It Is Currently (Not) Understood. *Clin Ther* [Internet]. 2017;39(5):930–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinthera.2017.04.004>
8. De Castro Kroner J, Sommer A, Fabri M. Vitamin D Every Day to Keep the Infection Away? *Nutrients* [Internet]. 2015;7(6):4170–88. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu7064170>
9. Charoenngam N, Holick M. Immunologic Effects of Vitamin D on Human Health and Disease. *Nutrients* [Internet]. 2020;12(7):2097. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu12072097>
10. Marques CDL, Dantas AT, Fragoso TS, Duarte ALBP. The importance of vitamin D

- levels in autoimmune diseases. *Rev Bras Reumatol* [Internet]. 2010;50(1):67–80. Available from: <https://dx.doi.org/10.1590/S0482-50042010000100007>
11. Maruotti N, Cantatore FP. Vitamin D and the Immune System. *J Rheumatol* [Internet]. 2010;37(3):491–5. Available from: <https://doi.org/10.3899/jrheum.090797>
 12. Ruiz-Ballesteros AI, Meza-Meza MR, Vizmanos-Lamotte B, Parra-Rojas I, de la Cruz-Mosso U. Association of Vitamin D Metabolism Gene Polymorphisms with Autoimmunity: Evidence in Population Genetic Studies. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020;21(24):9626. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms21249626>
 13. Lang PO, Aspinall R. Can We Translate Vitamin D Immunomodulating Effect on Innate and Adaptive Immunity to Vaccine Response? *Nutrients* [Internet]. 2015;7(3):2044–60. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu7032044>
 14. Sassi F, Tamone C, D'amelio P. Vitamin D: Nutrient, Hormone, and Immunomodulator. *Nutrients* [Internet]. 2018;10(11):1656. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu10111656>
 15. Bishop E, Ismailova A, Dimeloe SK, Hewison M, White JH. Vitamin D and Immune Regulation: Antibacterial, Antiviral, Anti-Inflammatory. *JBMR Plus* [Internet]. 2021;5:e10405. Available from: <https://doi.org/10.1002/jbm4.10405>
 16. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, Ochoa MT, Schaubert J, Wu K, Meinken C et al. Toll-Like Receptor Triggering of a Vitamin D–Mediated Human Antimicrobial Response. *Science* [Internet]. 2006;311(5768):1770–3. Available from: <https://science.sciencemag.org/content/311/5768/1770.long>
 17. Bickle D. Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chem Biol* [Internet]. 2014;21(3):319–29. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2013.12.016>
 18. Lai Y-H, Fang T-C. The Pleiotropic Effect of Vitamin D. *ISRN Nephrol* [Internet]. 2013;2013. Available from: <https://doi.org/10.5402/2013/898125>
 19. Prietl B, Treiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and Immune Function. *Nutrients* [Internet]. 2013;5(7):2502–21. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu5072502>
 20. 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* [Internet]. 2009;6(3):231–43. Available from:

<https://doi.org/10.1016/j.chom.2009.08.004>

21. Ojaimi S, Skinner NA, Strauss B, Sundararajan V, Woolley I, Visvanathan K. Vitamin d deficiency impacts on expression of toll-like receptor-2 and cytokine profile: A pilot study. *J Transl Med* [Internet]. 2013;11:176. Available from: <https://doi.org/10.1186/1479-5876-11-176>
22. Hetta HF, Muhammad K, Taha AE, Ahmed EA. The interplay between vitamin D and COVID-19: protective or bystander? *Eur Rev Med Pharmacol Sci* [Internet]. 2021;25(4):2131–45. Available from: https://doi.org/10.26355/eurrev_202102_25119
23. Teixeira HC, Dias L da S, Bizarro HD da S, Castro JM de A. Efeitos contrastantes da vitamina D sobre a resposta imune inata e adquirida e seu impacto na recuperação da tuberculose. *HU Rev* [Internet]. 2019;44(3):369–78. Available from: <https://doi.org/10.34019/1982-8047.2018.v44.22232>
24. Cherayil BJ. The role of iron in the immune response to bacterial infection. *Immunol Res* [Internet]. 2011;50:1–9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12026-010-8199-1>
25. Drakesmith H, Prentice AM. Heparin and the Iron-Infection Axis. *Science* [Internet]. 2012;338(6108):768–72. Available from: <https://doi.org/10.1126/science.1224577>
26. Hewison M. An update on vitamin D and human immunity. *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. 2012;76(3):315–25. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2011.04261.x>
27. Chen Y, Zhang J, Ge X, Du J, Deb DK, Li YC. Vitamin D Receptor Inhibits Nuclear Factor κ B Activation by Interacting with I κ B Kinase β Protein. *J Biol Chem* [Internet]. 2013;288(27):19450–8. Available from: <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.467670>
28. Provvedini D, Tsoukas C, Deftos L, Manolagas S. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Receptors in Human Leukocytes. *Science* [Internet]. 1983;221(4646):1181–3. Available from: <https://doi.org/10.1126/science.6310748>
29. Wishart K, Maggini S, Wintergerst ES. Vitamin D and Immunity [Internet]. *Foods and Dietary Supplements in the Prevention and Treatment of Disease in Older Adults*. Elsevier Inc.; 2015. 253–263 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418680-4.00024-5>
30. Rausch-Fan X, Leutmezer F, Willheim M, Spittler A, Bohle B, Ebner C, et al.

- Regulation of Cytokine Production in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells and Allergen-Specific Th Cell Clones by 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2002;128:33–41. Available from: <https://doi.org/10.1159/000058001>
31. Ross SH, Cantrell DA. Signaling and Function of Interleukin-2 in T Lymphocytes. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2018;36:411–33. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053352>
 32. Chambers ES, Hawrylowicz CM. The Impact of Vitamin D on Regulatory T Cells. *Curr Allergy Asthma Rep* [Internet]. 2011;11:29–36. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11882-010-0161-8>
 33. Edfeldt K, Liu PT, Chun R, Fabri M, Schenk M, Wheelwright M, et al. T-cell cytokines differentially control human monocyte antimicrobial responses by regulating vitamin D metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2010;107(52):22593–8. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1011624108>
 34. Ardalan MR, Maljaei H, Shoja MM, Piri AR, Khosroshahi HT, Noshad H, et al. Calcitriol Started in the Donor, Expands the Population of CD4+CD25+ T Cells in Renal Transplant Recipients. *Transplant Proc* [Internet]. 2007;39(4):951–3. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2007.04.012>
 35. Ragab D, Soliman D, Samaha D, Yassin A. Vitamin D status and its modulatory effect on interferon gamma and interleukin-10 production by peripheral blood mononuclear cells in culture. *Cytokine* [Internet]. 2016;85:5–10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.05.024>
 36. Jeffery LE, Burke F, Mura M, Zheng Y, Qureshi OS, Hewison M, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and IL-2 Combine to Inhibit T Cell Production of Inflammatory Cytokines and Promote Development of Regulatory T Cells Expressing CTLA-4 and FoxP3. *J Immunol* [Internet]. 2009;183(9):5458–67. Available from: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803217>
 37. Dankers W, Davelaar N, Van Hamburg JP, Van De Peppel J, Colin EM, Lubberts E. Human Memory Th17 Cell Populations Change Into Anti-inflammatory Cells With Regulatory Capacity Upon Exposure to Active Vitamin D. *Front Immunol* [Internet]. 2019;10:1504. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01504>

38. Kang SW, Kim SH, Lee N, Lee W-W. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Promotes FOXP3 Expression via Binding to Vitamin D Response Elements in Its Conserved Noncoding Sequence Region. *J Immunol* [Internet]. 2012;188(11):5276–82. Available from: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1101211>
39. Joshi S, Pantalena L-C, Liu XK, Gaffen SL, Liu H, Rohowsky-Kochan C, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Ameliorates Th17 Autoimmunity via Transcriptional Modulation of Interleukin-17A. *Mol Cell Biol* [Internet]. 2011;31(17):3653–69. Available from: <https://dx.doi.org/10.1128%2FMCB.05020-11>
40. Zhou L, Lopes JE, Chong MMW, Ivanov II, Min R, Gabriel D, et al. TGF- β -induced Foxp3 inhibits Th17 cell differentiation by antagonizing ROR γ t function. *Nature* [Internet]. 2008;453:236–40. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature06878>
41. Zhou Q, Qin S, Zhang J, Zhon L, Pen Z, Xing T. 1,25(OH)₂D₃ induces regulatory T cell differentiation by influencing the VDR/PLC- γ 1/TGF- β 1/pathway. *Mol Immunol* [Internet]. 2017;91:156–64. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2017.09.006>
42. Chambers ES, Suwannasaen D, Mann EH, Urry Z, Richards DF, Lertmemongkolchai G, et al. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ in combination with transforming growth factor- β increases the frequency of Foxp3⁺ regulatory T cells through preferential expansion and usage of interleukin-2. *Immunology* [Internet]. 2014;143(1):52–60. Available from: <https://doi.org/10.1111/imm.12289>
43. Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, Heath VL, Savelkoul HFJ, O’Garra A. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ Has a Direct Effect on Naive CD4⁺ T Cells to Enhance the Development of Th2 Cells. *J Immunol* [Internet]. 2001;167(9):4974–80. Available from: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.9.4974>
44. Rolf L, Muris AH, Hupperts R, Damoiseaux J. Vitamin D effects on B cell function in autoimmunity. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2014;1317:84–91. Available from: <https://doi.org/10.1111/nyas.12440>
45. Di Rosa M, Malaguarnera M, Nicoletti F, Malaguarnera L. Vitamin D₃: a helpful immuno-modulator. *Immunology* [Internet]. 2011;134(2):123–39. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2011.03482.x>
46. 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* [Internet]. 2007;179(3):1634–47. Available from: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.3.1634>
47. Alshahrani F, Aljohani N. Vitamin D: Deficiency, Sufficiency and Toxicity. *Nutrients* [Internet]. 2013;5(9):3605–16. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu5093605>
 48. Abhimanyu, Coussens AK. The role of UV radiation and Vitamin D in the seasonality and outcomes of infectious disease. *Photochem Photobiol Sci* [Internet]. 2017;16:314–38. Available from: <https://doi.org/10.1039/C6PP00355A>
 49. Buonomo AR, Zappulo E, Scotto R, Pinchera B, Perruolo G, Formisano P, et al. Vitamin D deficiency is a risk factor for infections in patients affected by HCV-related liver cirrhosis. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2017;63:23–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2017.07.026>
 50. Farnik H, Bojunga J, Berger A, Allwinn R, Waidmann O, Kronenberger B, et al. Low vitamin D serum concentration is associated with high levels of hepatitis B virus replication in chronically infected patients. *Hepatology* [Internet]. 2013;58(4):1270–6. Available from: <https://doi.org/10.1002/hep.26488>
 51. Sudfeld CR, Giovannucci EL, Isanaka S, Aboud S, Mugusi FM, Wang M, et al. Vitamin D Status and Incidence of Pulmonary Tuberculosis, Opportunistic Infections, and Wasting Among HIV-Infected Tanzanian Adults Initiating Antiretroviral Therapy. *J Infect Dis* [Internet]. 2013;207(3):378–85. Available from: <https://doi.org/10.1093/infdis/jis693>
 52. Charan J, Goyal JP, Saxena D, Yadav P. Vitamin D for prevention of respiratory tract infections: A systematic review and meta-analysis. *J Pharmacol Pharmacother* [Internet]. 2012;3(4):300–3. Available from: <https://dx.doi.org/10.4103%2F0976-500X.103685>
 53. Luong KVQ, Thi Hoàng Nguyễn L. The role of vitamin D in malaria. *J Infect Dev Ctries* [Internet]. 2015;9(1):008–19. Available from: <https://doi.org/10.3855/jidc.3687>
 54. Havers FP, Detrick B, Cardoso SW, Berendes S, Lama JR, Sugandhavesa P, et al. Change in Vitamin D Levels Occurs Early after Antiretroviral Therapy Initiation and Depends on Treatment Regimen in Resource-Limited Settings. *PLoS One* [Internet]. 2014;9(4):e95164. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095164>
 55. Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA. Association between Serum 25-

- hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* [Internet]. 2009;169(4):384–90. Available from: <https://dx.doi.org/10.1001%2Farchinternmed.2008.560>
56. Lang PO, Samaras D. Aging Adults and Seasonal Influenza: Does the Vitamin D Status (H)Arm the Body? *J Aging Res* [Internet]. 2012;2012. Available from: <https://doi.org/10.1155/2012/806198>
 57. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2006;84(1):18–28. Available from: <https://doi.org/10.1093/ajcn/84.1.18>
 58. Moromizato T, Litonjua AA, Braun AB, Gibbons FK, Giovannucci E, Christopher KB. Association of Low Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels and Sepsis in the Critically Ill. *Crit Care Med* [Internet]. 2014;42(1):97–107. Available from: <https://doi.org/10.1097/ccm.0b013e31829eb7af>
 59. Alves M, Bastos M, Leitão F, Marques G, Ribeiro G, Carrilho F. Vitamina D—importância da avaliação laboratorial. *Rev Port Endocrinol Diabetes e Metab* [Internet]. 2013;8(1):32–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rpedm.2012.12.001>
 60. Ghanaati S, Choukroun J, Volz U, Hueber R, Mourão C de AB, Sader R, et al. One hundred years after Vitamin D discovery: Is there clinical evidence for supplementation doses? *Int J Growth Factors Stem Cells Dent* [Internet]. 2020;3(1):3–11. Available from: <https://www.cellsindentistry.org/text.asp?2020/3/1/3/282568>
 61. Hu YC, Wang WW, Jiang WY, Li CQ, Guo JC, Xun YH. Low vitamin D levels are associated with high viral loads in patients with chronic hepatitis B: A systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol* [Internet]. 2019;19:84. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12876-019-1004-2>
 62. Trépo C, Chan HLY, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet* [Internet]. 2014;384(9959):2053–63. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60220-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60220-8)
 63. Lampertico P, Agarwal K, Berg T, Buti M, Janssen HLA, Papatheodoridis G, et al. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus

- infection. *J Hepatol* [Internet]. 2017;67(2):370–98. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.03.021>
64. Parfieniuk-Kowerda A, Świdarska M, Rogalska M, Maciaszek M, Jaroszewicz J, Flisiak R. Chronic hepatitis B virus infection is associated with decreased serum 25(OH)D concentration in non-cirrhotic patients. *Clin Exp Hepatol* [Internet]. 2019;5(1):75–80. Available from: <https://doi.org/10.5114/ceh.2019.83160>
 65. Price JK, Srivastava R, Bai C, Diao G, Gerber LH, Younossi ZM. Comparison of activity level among patients with chronic liver disease. *Disabil Rehabil* [Internet]. 2013;35(11):907–12. Available from: <https://doi.org/10.3109/09638288.2012.712601>
 66. Zhao XY, Li J, Wang JH, Habib S, Wei W, Sun SJ, et al. Vitamin D serum level is associated with Child-Pugh score and metabolic enzyme imbalances, but not viral load in chronic hepatitis B patients. *Medicine* [Internet]. 2016;95(27):e3926. Available from: <https://doi.org/10.1097/md.0000000000003926>
 67. Ko WS, Yang YP, Shen FP, Wu MC, Shih CJ, Lu MC, et al. The Study of Correlation between Serum Vitamin D3 Concentrations and HBV DNA Levels and Immune Response in Chronic Hepatitis Patients. *Nutrients* [Internet]. 2020;12(4):1114. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu12041114>
 68. Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2005;5:215–29. Available from: <https://doi.org/10.1038/nri1573>
 69. Carrasco J, Godelaine D, Van Pel A, Boon T, Van Der Bruggen P. CD45RA on human CD8 T cells is sensitive to the time elapsed since the last antigenic stimulation. *Blood* [Internet]. 2006;108(9):2897–905. Available from: <https://doi.org/10.1182/blood-2005-11-007237>
 70. Wong GLH, Chan HLY, Chan HY, Tse CH, Chim AML, Lo AOS, et al. Adverse Effects of Vitamin D Deficiency on Outcomes of Patients With Chronic Hepatitis B. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2015;13(4):783-790.e1. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.09.050>
 71. Li Y, Li X. The association of vitamin D with hepatitis B virus replication: Just the bystander? *J Formos Med Assoc* [Internet]. 2021;120(2):908. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2020.08.029>

72. Wu M, Xu Y, Lin S, Zhang X, Xiang L, Yuan Z. Hepatitis B virus polymerase inhibits the interferon-inducible MyD88 promoter by blocking nuclear translocation of Stat1. *J Gen Virol* [Internet]. 2007;88(12):3260–9. Available from: <https://doi.org/10.1099/vir.0.82959-0>
73. Gotlieb N, Tachlytski I, Lapidot Y, Sultan M, Safran M, Ben-Ari Z. Hepatitis B virus downregulates vitamin D receptor levels in hepatoma cell lines, thereby preventing vitamin D-dependent inhibition of viral transcription and production. *Mol Med* [Internet]. 2018;24:53. Available from: <https://doi.org/10.1186/s10020-018-0055-0>
74. Alvarez N, Aguilar-Jimenez W, Rugeles MT. The Potential Protective Role of Vitamin D Supplementation on HIV-1 Infection. *Front Immunol* [Internet]. 2019;10:2291. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02291>
75. Gonzalez SM, Aguilar-Jimenez W, Alvarez N, Rugeles MT. Cholecalciferol modulates the phenotype of differentiated monocyte-derived dendritic cells without altering HIV-1 transfer to CD4+ T cells. *Horm Mol Biol Clin Investig* [Internet]. 2019;40(1). Available from: <https://doi.org/10.1515/hmbci-2019-0003>
76. Akimbekov NS, Ortoski RA, Razzaque MS. Effects of sunlight exposure and vitamin D supplementation on HIV patients. *J Steroid Biochem Mol Biol* [Internet]. 2020;200:105664. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2020.105664>
77. Aguilar-Jiménez W, Zapata W, Caruz A, Rugeles MT. High Transcript Levels of Vitamin D Receptor Are Correlated with Higher mRNA Expression of Human Beta Defensins and IL-10 in Mucosa of HIV-1-Exposed Seronegative Individuals. *PLoS One* [Internet]. 2013;8(12):e82717. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082717>
78. Aguilar-Jimenez W, Zapata W, Rugeles MT. Antiviral molecules correlate with vitamin D pathway genes and are associated with natural resistance to HIV-1 infection. *Microbes Infect* [Internet]. 2016;18(7–8):510–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.03.015>
79. Campbell GR, Spector SA. Toll-Like Receptor 8 Ligands Activate a Vitamin D Mediated Autophagic Response that Inhibits Human Immunodeficiency Virus Type 1. *PLoS Pathog* [Internet]. 2012;8(11):e1003017. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003017>

80. Manion M, Hullsiek KH, Wilson EMP, Rhame F, Kojic E, Gibson D, et al. Vitamin D deficiency is associated with IL-6 levels and monocyte activation in HIV-infected persons. *PLoS One* [Internet]. 2017;12(5):e0175517. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175517>
81. Jiménez-Sousa M ángeles, Martínez I, Medrano LM, Fernández-Rodríguez A, Resino S. Vitamin D in Human Immunodeficiency Virus Infection: Influence on Immunity and Disease. *Front Immunol* [Internet]. 2018;9:458. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00458>
82. Mansueto P, Seidita A, Vitale G, Gangemi S, Iaria C, Cascio A. Vitamin D Deficiency in HIV Infection: Not Only a Bone Disorder. *Biomed Res Int* [Internet]. 2015;2015. Available from: <https://doi.org/10.1155/2015/735615>
83. Legeai C, Vigouroux C, Souberbielle JC, Bouchaud O, Boufassa F, Bastard JP, et al. Associations between 25-Hydroxyvitamin D and Immunologic, Metabolic, Inflammatory Markers in Treatment-Naive HIV-Infected Persons: The ANRS CO9 «COPANA» Cohort Study. *PLoS One* [Internet]. 2013;8(9):e74868. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074868>
84. Pinzone MR, Di Rosa M, Celesia BM, Condorelli F, Malaguarnera M, Madeddu G, et al. LPS and HIV gp120 modulate monocyte/macrophage CYP27B1 and CYP24A1 expression leading to vitamin D consumption and hypovitaminosis D in HIV-infected individuals. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* [Internet]. 2013;17(14):1938–50. Available from: <https://www.europeanreview.org/article/4655>
85. Aguilar-Jimenez W, Saulle I, Trabattoni D, Vichi F, Lo Caputo S, Mazzotta F, et al. High Expression of Antiviral and Vitamin D Pathway Genes Are a Natural Characteristic of a Small Cohort of HIV-1-Exposed Seronegative Individuals. *Front Immunol* [Internet]. 2017;8:136. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00136>
86. Mueller NJ, Fux CA, Ledergerber B, Elzi L, Schmid P, Dang T, et al. High prevalence of severe vitamin D deficiency in combined antiretroviral therapy-naive and successfully treated Swiss HIV patients. *Aids* [Internet]. 2010;24(8):1127–34. Available from: <https://doi.org/10.1097/qad.0b013e328337b161>
87. Welz T, Childs K, Ibrahim F, Poulton M, Taylor CB, Moniz CF, et al. Efavirenz is associated with severe vitamin D deficiency and increased alkaline phosphatase. *Aids*

- [Internet]. 2010;24(12):1923–8. Available from: <https://doi.org/10.1097/qad.0b013e32833c3281>
88. Yin M, Stein E. The Effect of Antiretrovirals on Vitamin D. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2011;52(3):406–8. Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/ciq169>
 89. Steenhoff AP, Schall JJ, Samuel J, Seme B, Marape M, Ratshaa B, et al. Vitamin D₃ Supplementation in Botswana Children and Adults with HIV: A Pilot Double Blind Randomized Controlled Trial. *PLoS One* [Internet]. 2015;10(2):e0117123. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117123>
 90. Dougherty KA, Schall JJ, Zemel BS, Tuluc F, Hou X, Rutstein RM, et al. Safety and Efficacy of High-Dose Daily Vitamin D₃ Supplementation in Children and Young Adults Infected With Human Immunodeficiency Virus. *J Pediatric Infect Dis Soc* [Internet]. 2014;3(4):294–303. Available from: <https://doi.org/10.1093/jpids/piu012>
 91. Honda JR, Connick E, MaWhinney S, Chan ED, Flores SC. Plasma LL-37 correlates with vitamin D and is reduced in human immunodeficiency virus-1 infected individuals not receiving antiretroviral therapy. *J Med Microbiol* [Internet]. 2014;63(7):997–1003. Available from: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.070888-0>
 92. Siddiqui M, Manansala JS, Abdulrahman HA, Nasrallah GK, Smatti MK, Younes N, et al. Immune Modulatory Effects of Vitamin D on Viral Infections. *Nutrients* [Internet]. 2020;12(9):2879. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu12092879>
 93. Organization WH. GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT 2020 [Internet]. Organization WH, editor. 2020. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>
 94. Kiazzyk S, Ball TB. Latent tuberculosis infection: An overview. *Canada Commun Dis Rep* [Internet]. 2017;43(3):62–6. Available from: <https://doi.org/10.14745/ccdr.v43i34a01>
 95. Aggarwal S, DeBerry J. Can a Vitamin a Day Keep Tuberculosis Away? *Am J Respir Cell Mol Biol* [Internet]. 2018;59(5):523–4. Available from: <https://doi.org/10.1165/rcmb.2018-0198ED>
 96. Hewison M. Antibacterial effects of vitamin D. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2011;7:337–45. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2010.226>
 97. Ogawa C, Liu Y-J, Kobayashi KS. Muramyl dipeptide and its derivatives: peptide

- adjuvant in immunological disorders and cancer therapy. *Curr Bioact Compd* [Internet]. 2011;7(3):180–97. Available from: <https://doi.org/10.2174/157340711796817913>
98. Chun RF, Liu PT, Modlin RL, Adams JS, Hewison M. Impact of vitamin D on immune function lessons learned from genome-wide analysis. *Front Physiol* [Internet]. 2014;5:151. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00151>
 99. Wu H xia, Xiong X feng, Zhu M, Wei J, Zhuo K quan, Cheng D yun. Effects of vitamin D supplementation on the outcomes of patients with pulmonary tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. *BMC Pulm Med* [Internet]. 2018;18:108. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12890-018-0677-6>
 100. Martineau AR, Honecker FU, Wilkinson RJ, Griffiths CJ. Vitamin D in the treatment of pulmonary tuberculosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* [Internet]. 2007;103(3–5):793–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.12.052>
 101. Cheng C, Pan W, Li X, Qu H. Clinical effect of vitamin D supplementation on patients with pulmonary tuberculosis and its influence on the expression of immune cells and inflammatory factors. *Exp Ther Med* [Internet]. 2020;20(3):2236–44. Available from: <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8957>
 102. Siswanto S, Zuhriyah L, Handono K, Fitri LE, Prawiro SR. Mycobacterium tuberculosis DNA Increases Vitamin D Receptor mRNA Expression and the Production of Nitric Oxide and Cathelicidin in Human Monocytes. *Malaysian J Med Sci* [Internet]. 2015;22(3):18–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc4681717/>
 103. Workineh M, Mathewos B, Moges B, Gize A, Getie S, Stendahl O, et al. Vitamin D deficiency among newly diagnosed tuberculosis patients and their household contacts: A comparative cross-sectional study. *Arch Public Heal* [Internet]. 2017;75:25. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13690-017-0195-7>
 104. Huang S-J, Wang X-H, Liu Z-D, Cao W-L, Han Y, Ma A-G, et al. Vitamin D deficiency and the risk of tuberculosis: a meta-analysis. *Drug Des Devel Ther* [Internet]. 2017;11:91–102. Available from: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S79870>
 105. Balla M, Merugu GP, Konala VM, Sangani V, Kondakindi H, Pokal M, et al. Back to basics: review on vitamin D and respiratory viral infections including COVID-19. *J*

- Community Hosp Intern Med Perspect [Internet]. 2020;10(6):529–36. Available from: <https://doi.org/10.1080/20009666.2020.1811074>
106. Monlezun DJ, Bittner EA, Christopher KB, Camargo CA, Quraishi SA. Vitamin D Status and Acute Respiratory Infection: Cross Sectional Results from the United States National Health and Nutrition Examination Survey, 2001–2006. *Nutrients* [Internet]. 2015;7(3):1933–44. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu7031933>
 107. Zdrengeha MT, Makrinioti H, Bagacean C, Bush A, Johnston SL, Stanciu LA. Vitamin D modulation of innate immune responses to respiratory viral infections. *Rev Med Virol* [Internet]. 2017;27(1). Available from: <https://doi.org/10.1002/rmv.1909>
 108. Direção-Geral da Saúde. COVID-19 [Internet]. 2020 [cited 2021 Jan 22]. Available from: <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/covid-19/>
 109. Lusa. Covid-19 | Pandemia [Internet]. 2020 [cited 2021 Jan 22]. Available from: <https://www.sns.gov.pt/noticias/2020/03/11/covid-19-pandemia/>
 110. Das SK. The Pathophysiology, Diagnosis and Treatment of Corona Virus Disease 2019 (COVID-19). *Indian J Clin Biochem* [Internet]. 2020;35(4):385–96. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12291-020-00919-0>
 111. Azevedo-Pereira JM. SARS-CoV-2 e COVID-19: Os Aspectos Viroológicos de uma Pandemia SARS-CoV-2 and COVID-19: Virologic Aspects of a Pandemic. 2020;21–6. Available from: <https://doi.org/10.25756/rpf.v12i1-2.237>
 112. Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ* [Internet]. 2020;371:m3862. Available from: <https://doi.org/10.1136/bmj.m3862>
 113. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends Immunol* [Internet]. 2020;41(12):1100–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.10.004>
 114. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* [Internet]. 2020;395(10223):497–506. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
 115. Diao B, Wang C, Tan Y, Chen X, Liu Y, Ning L, et al. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Front*

- Immunol [Internet]. 2020;11:827. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00827>
116. Farid N, Rola N, Koch EAT, Nakhoul N. Active vitamin D supplementation and COVID-19 infections: review. *Ir J Med Sci* [Internet]. 2021; Available from: <https://doi.org/10.1007/s11845-020-02452-8>
 117. Bourgonje AR, Abdulle AE, Timens W, Hillebrands JL, Navis GJ, Gordijn SJ, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J Pathol* [Internet]. 2020;251(3):228–48. Available from: <https://doi.org/10.1002/path.5471>
 118. Mendoza A, Lazartigues E. The compensatory renin-angiotensin system in the central regulation of arterial pressure: New avenues and new challenges. *Ther Adv Cardiovasc Dis* [Internet]. 2015;9(4):201–8. Available from: <https://doi.org/10.1177/1753944715578056>
 119. Grant WB, Lahore H, McDonnell SL, Baggerly CA, French CB, Aliano JL, et al. Evidence that Vitamin D Supplementation Could Reduce Risk of Influenza and COVID-19 Infections and Deaths. *Nutrients* [Internet]. 2020;12(4):988. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu12040988>
 120. Rehan VK, Torday JS, Peleg S, Gennaro L, Vouros P, Padbury J, et al. 1 α ,25-Dihydroxy-3-epi-vitamin D₃, a natural metabolite of 1 α ,25-dihydroxy vitamin D₃: Production and biological activity studies in pulmonary alveolar type II cells. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2002;76(1):46–56. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1096-7192\(02\)00022-7](https://doi.org/10.1016/S1096-7192(02)00022-7)
 121. Bombardini T. Angiotensin-Converting Enzyme 2 as the Molecular Bridge Between Epidemiologic and Clinical Features of COVID-19. *Can Cardiovasc Soc* [Internet]. 2020;36(5):784.e1-784.e2. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.03.026>
 122. Phokela SS, Peleg S, Moya FR, Alcorn JL. Regulation of human pulmonary surfactant protein gene expression by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol* [Internet]. 2005;289(4):L617–26. Available from: <https://doi.org/10.1152/ajplung.00129.2004>
 123. Kearns MD, Tangpricha V. The role of vitamin D in tuberculosis. *J Clin Transl Endocrinol* [Internet]. 2014;1(4):167–9. Available from:

<https://doi.org/10.1016/j.jcte.2014.08.002>

124. Karbalaei M, Ghazvini K, Keikha M. Clinical efficacy of vitamin D supplementation on pulmonary TB patients: The evidence of clinical trials. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis* [Internet]. 2020;20:100174. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jctube.2020.100174>
125. Salahuddin N, Ali F, Hasan Z, Rao N, Aqeel M, Mahmood F. Vitamin D accelerates clinical recovery from tuberculosis: Results of the SUCCINCT Study [Supplementary Cholecalciferol in recovery from tuberculosis]. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of vitamin D supplementation in patients with pulmonar. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2013;13:22. Available from: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-22>
126. Martineau AR, Wilkinson RJ, Wilkinson KA, Newton SM, Kampmann B, Hall BM, et al. A single dose of vitamin D enhances immunity to mycobacteria. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2007;176(2):208–13. Available from: <https://doi.org/10.1164/rccm.200701-007OC>
127. Hassanein EG, Mohamed EE, Baess AI, EL-Sayed ET, Yossef AM. The role of supplementary vitamin D in treatment course of pulmonary tuberculosis. *Egypt J Chest Dis Tuberc* [Internet]. 2016;65(3):629–35. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejcdt.2016.03.004>
128. Eckard AR, Riordan MAO, Rosebush JC, Lee T, Habib JG, Ruff JH, et al. Vitamin D supplementation decreases immune activation and exhaustion in HIV-1-infected youth. *Antivir Ther* [Internet]. 2018;23:315–24. Available from: <https://doi.org/10.3851/imp3199>
129. Ayelign B, Workneh M, Molla MD, Dessie G. Role Of Vitamin-D Supplementation In TB/HIV Co-Infected Patients. *Infect Drug Resist* [Internet]. 2020;13:111–8. Available from: <https://doi.org/10.2147/IDR.S228336>
130. Wang CC, Tzeng IS, Su WC, Li CH, Lin HH, Yang CC, et al. The association of vitamin D with hepatitis B virus replication: Bystander rather than offender. *J Formos Med Assoc* [Internet]. 2020;119(11):1634–41. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2019.12.004>
131. Bradley R, Schloss J, Brown D, Celis D, Finnell J. The effects of vitamin D on acute viral respiratory infections: A rapid review. *Adv Integr Med* [Internet]. 2020;7(4):192–

202. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aimed.2020.07.011>
132. National Institute for Health and Care Excellence. Vitamin D for COVID-19. 2020.
133. Bassatne A, Basbous M, Chakhtoura M, Zein O El, Rahme M, Fuleihan GE-H. The link between COVID-19 and Vitamin D (VIVID): A systematic review and meta-analysis. *Metab Clin Exp* [Internet]. 2021;119:154753. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2021.154753>
134. Tarazona-santabalbina FJ, Cuadra L, Cancio JM, Carbonell FR, Garrote JMP, Casas-herrero Á, et al. VitaminD supplementation for the prevention and treatment of COVID-19: a position statement from the Spanish Society of Geriatrics and Gerontology. *Rev Esp Geriatr Gerontol* [Internet]. 2021;56:177–82. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.regg.2021.02.001>
135. Cutolo M, Paolino S, Smith V. Evidences for a protective role of vitamin D in COVID-19. *RMD Open* [Internet]. 2020;6:e001454. Available from: <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2020-001454>
136. 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 Heal* [Internet]. 2021;9:624559. Available from: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.624559>
137. Entrenas M, Manuel L, Costa E, Barrios V, Bouillon R, Francisco J, et al. “Effect of calcifediol treatment and best available therapy versus best available therapy on intensive care unit admission and mortality among patients hospitalized for COVID-19: A pilot randomized clinical study.” *J Steroid Biochem Mol Biol* [Internet]. 2020;203:105751. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2020.105751>
138. Anderson DC, Grimes DS. Vitamin D Deficiency and Outcome of COVID-19 Patients. *Nutrients* [Internet]. 2020;12(9):2757. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu12092757>
139. Rastogi A, Bhansali A, Khare N, Suri V, Yaddanapudi N, Sachdeva N, et al. Short term, high-dose vitamin D supplementation for COVID-19 disease: a randomised, placebo-controlled, study (SHADE study). *Postgr Med J* [Internet]. 2020;0:1–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-139065>
140. Meltzer DO, Best TJ, Zhang H, Vokes T, Arora V, Solway J. Association of Vitamin D Status and Other Clinical Characteristics With COVID-19 Test Results. *JAMA Netw*

- Open [Internet]. 2020;3(9):e2019722. Available from: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.19722>
141. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2011;96(7):1911–30. Available from: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-0385>
 142. Gustafson CE, Kim C, Weyand CM, Goronzy JJ. Influence of immune aging on vaccine responses. *Clin Rev allergy Immunol* [Internet]. 2020;145(5):1309–21. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.03.017>
 143. Enioutina EY, Bareyan D, Daynes RA. TLR ligands that stimulate the metabolism of vitamin D3 in activated murine dendritic cells can function as effective mucosal adjuvants to subcutaneously administered vaccines. *Vaccine* [Internet]. 2008;26(5):601–13. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.11.084>
 144. Enioutina EY, Bareyan D, Daynes RA. TLR-Induced Local Metabolism of Vitamin D 3 Plays an Important Role in the Diversification of Adaptive Immune Responses. *J Immunol* [Internet]. 2009;182(7):4296–305. Available from: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0804344>
 145. Daynes RA, Araneo BA, Hennebold J, Enioutina E, Mu HH. Steroids as Regulators of the Mammalian Immune Response. *J Invest Dermatol* [Internet]. 1995;105(1):14S-19S. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/jid.1995.4>
 146. DAYNES RA, ARANEO BA. The Development of Effective Vaccine Adjuvants Employing Natural Regulators of T-Cell Lymphokine Production in Vivo. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 1994;730(1):144–61. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1994.tb44246.x>
 147. Kriesel JD, Spruance J. Calcitriol (1,25-dihydroxy-vitamin D3) coadministered with influenza vaccine does not enhance humoral immunity in human volunteers. *Vaccine* [Internet]. 1999;17(15–16):1883–8. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(98\)00476-9](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(98)00476-9)
 148. 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* [Internet].

- 2013;9(5):969–74. Available from: <https://doi.org/10.4161/hv.23540>
149. Viard JP, Assuied A, Lévy Y, Souberbielle JC, Thiébaud R, Carrat F, et al. No Positive Association between Vitamin D Level and Immune Responses to Hepatitis B and Streptococcus pneumoniae Vaccination in HIV-Infected Adults. *PLoS One* [Internet]. 2016;11(12):e0168640. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168640>
 150. Linder N, Abudi Y, Abdalla W, Badir M, Amitai Y, Samuels J, et al. Effect of Season of Inoculation on Immune Response to Rubella Vaccine in Children. *J Trop Pediatr* [Internet]. 2011;57(4):299–302. Available from: <https://doi.org/10.1093/tropej/fmp104>
 151. Hart PH, Norval M. Are there differences in immune responses following delivery of vaccines through acutely or chronically sun-exposed compared with sun-unexposed skin? *Immunology* [Internet]. 2020;159(2):133–41. Available from: <https://doi.org/10.1111/imm.13128>
 152. Wright CY, Albers PN, Mathee A, Kunene Z, D’Este C, Swaminathan A, et al. Sun protection to improve vaccine effectiveness in children in a high ambient ultraviolet radiation and rural environment: An intervention study. *BMC Public Health* [Internet]. 2017;17:37. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12889-016-3966-0>
 153. Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Vierkant RA, Byrne MMO, Jacobson RM, Poland GA. Effects of vitamin A and D receptor gene polymorphisms/haplotypes on immune responses to measles vaccine. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2012;22(1):20–31. Available from: <https://doi.org/10.1097/fpc.0b013e32834df186>
 154. Frankenberg E. Rubella vaccine-induced cellular immunity: evidence of associations with polymorphisms in the Toll-like, vitamin A and D receptors, and innate immune response genes. *Hum Genet* [Internet]. 2010;127(2):207–21. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00439-009-0763-1>
 155. Lalor MK, Floyd S, Gorak-Stolinska P, Weir RE, Blitz R, Branson K, et al. BCG Vaccination: A Role for Vitamin D? *PLoS One* [Internet]. 2011;6(1):e16709. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016709>
 156. Carlberg C, Haq A. The concept of the personal vitamin D response index. *J Steroid Biochem Mol Biol* [Internet]. 2018;175:12–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.12.011>
 157. Köstner KIM, Denzer N, Müller CSL, Klein R, Tilgen W, Reichrath J. The Relevance

- of Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms for Cancer: A Review of the Literature. *Anticancer Res* [Internet]. 2009;29(9):3511–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19667145/>
158. Cao Y, Wang X, Cao Z, Cheng X. Vitamin D receptor gene FokI polymorphisms and tuberculosis susceptibility: A meta-analysis. *Arch Med Sci* [Internet]. 2016;12(5):1118–34. Available from: <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.60092>
159. Panda S, Tiwari A, Luthra K, Sharma SK, Singh A. Association of FokI VDR polymorphism with Vitamin D and its associated molecules in pulmonary tuberculosis patients and their household contacts. *Sci Rep* [Internet]. 2019;9:15251. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51803-8>
160. Salimi S, Farajian-Mashhadi F, Alavi-Naini R, Talebian G, Narooie-Nejad M. Association between vitamin D receptor polymorphisms and haplotypes with pulmonary tuberculosis. *Biomed Reports* [Internet]. 2015;3(2):189–94. Available from: <https://doi.org/10.3892/br.2014.402>
161. Abdelsalam A, Rashed L, Salman T, Hammad L, Sabry D. Molecular assessment of vitamin D receptor polymorphism as a valid predictor to the response of interferon/ribavirin-based therapy in Egyptian patients with chronic hepatitis C. *J Dig Dis* [Internet]. 2016;17(8):547–53. Available from: <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12353>
162. Hung CH, Hu TH, Lu SN, Chen CH, Wang JH, Lee CM. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with response to peginterferon plus ribavirin in Asian patients with chronic hepatitis C. *J Formos Med Assoc* [Internet]. 2016;115(4):278–83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2015.11.008>
163. Hoan NX, Khuyen N, Giang DP, Binh MT, Toan NL, Anh DT, et al. Vitamin D receptor ApaI polymorphism associated with progression of liver disease in Vietnamese patients chronically infected with hepatitis B virus. *BMC Med Genet* [Internet]. 2019;20:201. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12881-019-0903-y>
164. Han WGH, Hodemaekers HM, Nagarajah B, Poelen MMC, Helm K, Janssen R, et al. Association of Vitamin D Receptor Polymorphism with Susceptibility to Symptomatic Pertussis. *PLoS One* [Internet]. 2016;11(2):e0149576. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149576>

165. da Silva RC, Alves NMP, Pereira JJ de S, Coelho AVC, Arraes LC, Brandão LAC, et al. VDR polymorphisms influence immunological response in HIV-1+ individuals undergoing antiretroviral therapy. *Genet Mol Biol* [Internet]. 2019;42(2):351–6. Available from: <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2017-0289>
166. Speeckaert MM, Buyzere ML De, Delanghe JR. Vitamin D binding protein polymorphism and COVID-19. *J Med Virol* [Internet]. 2021;93(2):705–7. Available from: <https://doi.org/10.1002/jmv.26508>
167. Chun RF, Lauridsen AL, Suon L, Zella LA, Pike JW, Modlin RL, et al. Vitamin D-Binding Protein Directs Monocyte Responses to 25-Hydroxy- and 1,25-Dihydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2010;95(7):3368–76. Available from: <https://doi.org/10.1210/jc.2010-0195>
168. Chun RF. New perspectives on the vitamin D binding protein. *Cell Biochem Funct* [Internet]. 2012;30(6):445–56. Available from: <https://doi.org/10.1002/cbf.2835>
169. Martineau AR, Leandro ACCS, Anderson ST, Newton SM, Wilkinson KA, Nicol MP, et al. Association between Gc genotype and susceptibility to TB is dependent on vitamin D status. *Eur Respir J* [Internet]. 2010;35(5):1106–12. Available from: <https://dx.doi.org/10.1183%2F09031936.00087009>
170. Jiménez-Sousa MÁ, Jiménez JL, Fernández-Rodríguez A, Bellón JM, Rodríguez C, Riera M, et al. DBP rs16846876 and rs12512631 polymorphisms are associated with progression to AIDS naïve HIV-infected patients: A retrospective study. *J Biomed Sci* [Internet]. 2019;26:83. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0577-y>
171. Xie CN, Yue M, Huang P, Tian T, Fan HZ, Wu MP, et al. Vitamin D binding protein polymorphisms influence susceptibility to hepatitis C virus infection in a high-risk Chinese population. *Gene* [Internet]. 2018;679:405–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.09.021>
172. Karcioğlu Batur L, Hekim N. The role of DBP gene polymorphisms in the prevalence of new coronavirus disease 2019 infection and mortality rate. *J Med Virol* [Internet]. 2020;93(3):1409–13. Available from: <https://doi.org/10.1002/jmv.26409>