



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2009/2010

Liliana Ernestina Silva Ferreira Alves
Acções Extra-Esqueléticas da
Vitamina D

Abril, 2010

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Liliana Ernestina Silva Ferreira Alves
Acções Extra-Esqueléticas da Vitamina D

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Reumatologia

Trabalho efectuado sobre a Orientação de:

Professor Doutor Carlos Vaz

Revista: Acta Reumatológica Portuguesa

Abril, 2010

FMUP

Nome: Liliana Ernestina Silva Ferreira Alves

Endereço electrónico: ljodje@med-up.pt

Título da Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio:

Ações extra-esqueléticas da vitamina D

Nome completo do Orientador:

Prof. Doutor Carlos Jorge Cabral Vaz

Nome completo do Co-Orientador:

Ano de conclusão: 2009/10

Designação da área do projecto de opção:

Reumatologia

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio (*cutar o que não interessar*) apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 20/04/2010

Assinatura: Liliana Ernestina Silva Ferreira Alves

Eu, Siliana Ernestina Silva Ferreira Alves, abaixo assinado, nº mecanográfico 020801220, aluno do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter actuado com absoluta integridade na elaboração deste projecto de opção.

Neste sentido, confirmo que NÃO incorri em plágio (acto pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 20/04/2010

Assinatura: Siliana Ernestina Silva Ferreira Alves

Agradecimentos:

Ao Professor Doutor Carlos Vaz, pela disponibilidade e orientação.

Acções Extra-Esqueléticas da Vitamina D

Resumo

A vitamina D é um precursor hormonal esteróide, lipossolúvel, encontrada sob duas formas, o colecalciferol ou vitamina D₃ (sintetizada na pele) e o ergocalciferol ou vitamina D₂ (proveniente da dieta de origem vegetal). A sua síntese inicia na epiderme e derme levando a formação da forma biologicamente activa, a 1 α ,25-dihidroxitamina D (1 α ,25-(OH)₂D₃ ou calcitriol), que actua sobre o receptor da vitamina D e exerce a sua acção biológica. Sabe-se actualmente que este receptor e a enzima, que cataliza a síntese da 1 α ,25-(OH)₂D₃, estão presentes em inúmeras células do organismo, não envolvidas no metabolismo ósseo, nomeadamente, as células do sistema imunológico, do sistema cardiovascular, do cólon, da mama, entre outras. A síntese extra renal da hormona actua de forma parácrina na regulação, na proliferação, na maturação e na apoptose das células. Assim sendo, influencia o desenvolvimento das doenças auto-imunes, cardiovasculares e neoplásicas. Existem inúmeros estudos que evidenciam a elevada prevalência de baixos níveis de vitamina D em indivíduos saudáveis e não saudáveis, e que relacionam estes níveis à uma maior incidência e prevalência de doenças crónicas como as auto-imunes, as neoplásicas e as cardiovasculares. Também se associam à um maior risco de mortalidade. Procurou-se, neste trabalho, fazer uma revisão da literatura onde se descrevam as acções extra-esqueléticas da Vitamina D, nomeadamente, ao nível do sistema imunológico, a sua acção anti-neoplásica e os seus benefícios cardiovasculares.

Palavras-chave: Vitamina D; Doenças auto-imunes; Doenças cardiovasculares; Neoplasias; Deficiência;

Nonskeletal Actions of Vitamin D

Abstract

Vitamin D is a fat-soluble steroid hormone precursor found in two different kinds, the cholecalciferol or vitamin D₃ (synthesized in the skin) and ergocalciferol or vitamin D₂ (from vegetable diets). Their synthesis begins in the epidermis and dermis leading to formation of the biologically active form, the 1 α , 25-(OH) 2D₃ or calcitriol, which acts on the vitamin D receptor and exerts its biological action. Currently it is known that this receptor and the enzyme that catalyzes the synthesis of 1 α , 25-(OH) 2D₃ are present in many cells of the organism not involved in bone metabolism including the immune system cells, the cardiovascular system cells, the colon and breast cells among others. This extra renal synthesis of the hormone acts in a paracrine way to regulate proliferation, maturation and apoptosis of cells. Thus, influences the development of autoimmune diseases, cardiovascular diseases and cancer. There are many studies which show a high prevalence of low vitamin D levels in healthy and unhealthy individuals and relate these levels to a higher incidence and prevalence of chronic diseases such as autoimmune diseases, cancer and cardiovascular diseases. It also associated with an increased risk of mortality. This article reviews the literature which describes the nonskeletal actions of vitamin D, primarily at the immune system level, its anti-cancer actions and its cardiovascular benefits.

Key-words: Vitamin D; Autoimmune diseases; Cardiovascular diseases; Neoplasms; Deficiency.

Índice

Lista de abreviaturas e siglas.....	5
Introdução.....	7
Métodos.....	10
Acções imunológicas da vitamina D.....	11
Acções antineoplásicas da vitamina D.....	17
Benefícios cardiovasculares da vitamina D.....	20
Níveis adequados de vitamina D.....	22
Conclusão.....	24
Bibliografia.....	25

Lista de abreviaturas e siglas

APC – antigen presenting cell

AR – artrite reumatóide

DII – doença inflamatória intestinal

DM1 – diabetes mellitus tipo 1

DM2 – diabetes mellitus tipo 2

EAE – encefalite auto-imune experimental

EDSS - expanded disability status scale

EM – esclerose múltipla

HTA – hipertensão arterial

LES – lúpus eritematoso sistémico

NOD – nonobese diabetic mice

TGF - transforming growth factor

TLR – toll-like receptor

UV – ultravioleta

VDBP – vitamin D binding protein

VDR – vitamin D receptor

VDRE – vitamin D responsive elements

$1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ - 1α 25-dihidroxitamina D

25- (OH) D - 25- hidroxivitamina D

CYP27B1 - 25- (OH) D-1 α -hidroxilase

Introdução

A vitamina D é um precursor hormonal esteróide, lipossolúvel, encontrada sob duas formas, o colecalciferol ou vitamina D₃ (sintetizada na pele) e o ergocalciferol ou vitamina D₂ (proveniente da dieta de origem vegetal).¹

Mais de 90% das necessidades do organismo em vitamina D são supridas pela exposição solar.² Sob a acção da radiação ultravioleta (UV) B, o 7-deidrocolesterol presente na membrana plasmática das células da epiderme e da derme é fotoconvertido em pré-vitamina D₃.³ Esta sofre isomerização térmica em vitamina D₃ que se liga à proteína de ligação à vitamina D (VDBP- “*vitamin D binding protein*”), sendo transportada para o fígado.⁴ Tanto a vitamina D₃ como a D₂ são hidroxiladas no fígado a 25-hidroxivitamina D (25-(OH) D), o indicador mais fiável do *status* de vitamina D no organismo.⁵ A 25-(OH) D é transportada para o rim e metabolizada pela enzima 25-(OH) D-1 α -hidroxilase (CYP27B1) a 1 α 25-dihidroxivitamina D (1 α ,25-(OH)₂D₃, ou calcitriol), a forma biologicamente activa da hormona.^{4,6} A produção renal de calcitriol é regulada pelos níveis plasmáticos de cálcio, de fósforo, de paratohormona e pela própria 1 α ,25-(OH)₂D₃, por mecanismos de feedback negativo.^{5,6,7}

Após entrar na circulação sanguínea, o calcitriol alcança os seus órgãos-alvo (o intestino delgado, o osso, a paratireóide e o próprio rim) e desempenha um papel importante na homeostasia do cálcio, do fósforo e, conseqüentemente, no metabolismo ósseo.⁷

Até há algumas décadas, estas eram as únicas funções conhecidas da vitamina D no organismo.

Toda a acção biológica da 1 α ,25-(OH)₂D₃ depende da sua ligação ao receptor da vitamina D (VDR- “*vitamin D receptor*”), um factor de transcrição dependente do ligando, pertencente à superfamília de receptores nucleares para hormonas esteróides.⁷ A ligação da

$1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ ao VDR promove a heterodimerização do complexo formado ao receptor do retinóide X.^{7,8,9} Este heterodímero regula a expressão de genes por acção directa sobre as regiões promotoras dos genes responsivos à vitamina D, ligando-se aos elementos responsivos à vitamina D (VDRE- “*vitamin-D-responsive elements*”), ou por interacção com determinados factores de transcrição.¹⁰

Ao longo do tempo, têm sido publicados inúmeros estudos que associam a exposição solar diminuída à susceptibilidade ou ao aumento da mortalidade por doenças crónicas como as auto-imunes, as cardiovasculares e o cancro.

Actualmente, conhecem-se numerosas células não envolvidas na homeostasia do cálcio, que expressam a CYP27B1, os VDRs e que possuem capacidade de síntese e de resposta à forma activa da vitamina D, nomeadamente, as do cólon, da próstata, da mama, do endotélio, do sistema imunológico, entre outras.^{2,5,6,7,11,12,13}

A produção extra renal de calcitriol é independente dos mecanismos que regulam a síntese renal, estando sujeita a regulação por citocinas e factores de crescimento locais.⁷ Assim sendo, a sua concentração tecidual depende principalmente da síntese local pelas células que expressam a CYP27B1.⁵

Sabe-se, então, que as acções da $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ e do seu receptor não se resumem na regulação da homeostasia do cálcio. A produção de calcitriol e a presença de VDR, em tecidos não envolvidos na regulação de minerais, levaram à descoberta de outras funções da vitamina D. A hormona produzida localmente actua de forma parácrina/autócrina e, uma vez concluída a função, é degradada em metabolitos inactivos, não influenciando os níveis circulantes da $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$.¹⁴

Ela inibe a proliferação, induz a diferenciação e a apoptose das células, bem como, diminui a angiogénese, acções favoráveis à inibição da carcinogénese.^{6,8,15} Possui efeitos

imunomoduladores directos sobre as células do sistema imunológico, contribuindo na regulação autócrina/parácrina da resposta imune inata e adaptativa^{4,8} As suas acções anti-inflamatórias e as antiproliferativas sobre as células musculares lisas, a inibição da síntese renal da renina e a regulação da função das células β pancreáticas diminuem o risco de doenças cardiovasculares.^{6,8}

Propõe-se, neste trabalho, uma revisão da literatura onde se descrevam as acções extra-esqueléticas da Vitamina D, nomeadamente, ao nível do sistema imunológico, sua acção antineoplásica e os seus benefícios cardiovasculares.

Métodos

Para a revisão foram pesquisados artigos científicos na base de dados da PubMed e Science Direct. As palavras-chave utilizadas foram “Vitamin D”, “Autoimmune diseases”, “Cardiovascular diseases”, “Neoplasms” e “Deficiency”.

Acções imunológicas da vitamina D

As células apresentadoras de antígenos (APC- “*antigen presenting cell*”) e os linfócitos B e T respondem à forma activa da vitamina D, bem como, a sintetizam.⁶ A $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ actua, de forma parácrina/autócrina, na regulação da proliferação e da função destas células e, conseqüentemente, na resposta imune.^{8,9,11} Ela inibe a diferenciação dos monócitos em células dendríticas imaturas e a sua maturação terminal, assim como, a expressão de suas moléculas co-estimuladoras, induzindo células com propriedades tolerogénicas.⁸ Também, inibe a secreção, pelas células dendríticas e outras APCs, de citocinas importantes para o recrutamento e activação dos linfócitos Th1, como a IL-12, e, conseqüente, propagação da resposta imunológica celular.⁴ A hormona não só inibe a IL-12 como, também, estimula a produção, pelas APCs, da IL-10, que inibe a resposta Th1.⁹ Ela induz a formação de células T reguladoras CD4^+ e CD25^+ , aumenta a sua capacidade supressora, promovendo a tolerância aos auto-antígenos e ao transplante.^{8,9}

Dado à extensa acção sobre as células dendríticas, estas parecem ser o alvo primário da $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ na regulação imunológica, porém, a hormona possui acção directa sobre as células T.⁹ Ela inibe a proliferação dos linfócitos Th1 e a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-2, $\text{INF}\gamma$, $\text{TNF-}\alpha$), induzidas por antígenos, enquanto promove a diferenciação de linfócitos Th2 e a secreção de citocinas anti-inflamatórias.^{9,11} Possui efeitos moderados na expressão constitutiva das citocinas Th1 e Th2 e aparenta inibir primariamente as células pró-inflamatórias (Th1/Th17) e, em condições apropriadas, favorecer a resposta anti-inflamatória (Th2).^{5,8}

A $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ influencia não só a imunidade adaptativa como também a inata. Os receptores Toll-like (TLR- “*Toll-like receptor*”) têm um papel fundamental no início da resposta imune inata. Ao interagirem com padrões moleculares associados aos patogénios, como os lipopolissacarídeos, induzem a expressão de defensinas, como a catelicidina, que é

codificada por genes responsivos à vitamina D e regulada positivamente pela mesma.⁸ Os macrófagos e as células epiteliais possuem VDRs e sintetizam a hormona.¹⁶ Nestas células, a activação inicial dos TLRs por peptídeos patogénicos é necessária para induzir a expressão dos VDRs, da CYP27B e da $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$. A última induz de forma autócrina a expressão da catelicidina e da síntese do óxido nítrico, promovendo a morte do microrganismo.^{11,16}

Nos monócitos, a $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ inibe a expressão de TLRs induzida pelos peptídeos patogénicos, o que atenua a activação final das células Th1.¹¹

Os queratinócitos, ao contrário dos macrófagos, não expressam constitutivamente os TLRs.¹¹ Nestas células, o *transforming growth factor* (TGF) $\beta 1$ actua como uma via alternativa, na produção da CYP27B e da $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, que induz a produção de catelicidina, a expressão dos TLR2 e do seu co-receptor CD-14.⁸ Este mecanismo parece conferir protecção contra as infecções durante a cicatrização das lesões cutâneas.⁸

Nas inflamações cutâneas, a $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ produzida, localmente, pelas células dendríticas da epiderme, influencia o recrutamento dos linfócitos T.¹¹ A hormona estimula as células T a expressar *epidermotropic chemokine receptor CCR 10*, o que promove a migração/retenção destas células CCR⁺ para a pele, em resposta à quimiocina CCL27, secretada pelos queratinócitos.¹¹

A vasta acção da $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ sobre o sistema imunológico parece ser consistente com inúmeros estudos, que associam a deficiência da vitamina D à prevalência aumentada de certas doenças auto-imunes, mediadas por células Th1, como a esclerose múltipla (EM), a artrite reumatóide (AR), o lúpus eritematoso sistémico (LES), a diabetes mellitus tipo 1 (DM1) e a doença inflamatória intestinal (DII). As mesmas parecem ter uma distribuição geográfica relacionada com a exposição solar.^{15,17} A EM é praticamente desconhecida nas regiões equatoriais e, de acordo inúmeros estudos epidemiológicos, a sua prevalência é

elevada nas regiões do hemisfério norte, devido à exposição solar diminuída e à baixa disponibilidade da vitamina D.^{17,18,19} Alguns estudos realizados evidenciaram uma associação significativa entre a exposição solar elevada, na infância e na adolescência, e o risco diminuído de EM.^{20,21} Existe uma forte associação entre as estações do nascimento e a incidência de EM, com excesso de casos nos meses de primavera, o que poderá ser explicado pelas variações sazonais da concentração materna de calcitriol.^{22,23} Diversos estudos evidenciaram flutuações sazonais da gravidade da EM, com exacerbações mais frequentes no final do inverno, altura em que os níveis circulantes de calcitriol são mais baixos.¹⁸ Existem estudos prospectivos que relacionam o *status* de calcitriol e a EM. Um estudo caso-controlo, onde se quantificou os níveis séricos de 25-(OH) D, evidenciou uma diminuição de risco nos indivíduos com níveis elevados, principalmente, nos que foram quantificados antes da idade dos 20.²⁴ Num estudo em que se incluiu indivíduos com e sem EM verificou-se, em mulheres, uma relação inversa entre os níveis séricos de 25-(OH) D e o risco da doença, associada à uma diminuição de 19% deste a cada aumento de 10 nmol/L de 25-(OH) D sérica.²⁵ Foi observada uma correlação negativa entre os níveis da 25-(OH) D e a escala EDSS (*Expanded Disability Status Scale*), usada para quantificar a incapacidade nos indivíduos com EM.^{25,26,27} Os níveis da 25-(OH) D também se relacionam com actividade da doença, sendo significativamente mais baixos durante a exacerbação.²⁸ A forma progressiva da doença foi associada a níveis mais baixos da 25-(OH) D, em relação à forma recorrente/remitente.²⁷ Munger *et al.* (*in Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis*), citados por Mullin e Dobs, mostraram num grande estudo observacional que, mulheres que ingeriram quantidades elevadas de vitamina D, em forma de suplemento, diminuíram em 40% o risco de EM.⁴ Outros estudos mostraram o papel benéfico de uma dieta rica em vitamina D na EM.²¹ Verificou-se um aumento dos níveis séricos de TGF- β 1, nos indivíduos com EM, após 6 meses de suplementação com vitamina D.²⁹ A TGF- β 1 é uma citocina anti-inflamatória, que

se demonstrou ter um papel importante em modelos animais de EM, Encefalite Auto-imune Experimental (EAE), ao suprimir os sintomas e o desenvolvimento da doença.²⁹ Demonstrou-se que a $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ previne o desenvolvimento e a progressão da EAE, e que esta inibição era reversível.³⁰ A $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ e o seu análogo não hipercalcémico inibem a resposta Th1 dependente da IL-12 e a EAE.³¹

A AR, o LES, a DM1 e a DII, também, têm sido descritos como sendo mais prevalentes nas regiões de maior latitude e associados à deficiência da vitamina D.^{19,32,33,34}

Patel, S. *et al* demonstraram num estudo, incluindo indivíduos com AR, que baixos níveis séricos de $25\text{-(OH)}_2\text{D}$ se associam, no início da evolução da doença, à um maior número de marcadores da incapacidade funcional e da actividade da doença.³⁵ Ao fim de 1 ano, os doentes com níveis séricos mais elevados de metabolitos da vitamina D tinham um baixo *score* na escala de *Health Assessment Questionnaire*.³⁵ Num estudo de coorte prospectivo, incluindo mulheres sem AR, a ingestão de vitamina D proveniente da dieta ou de suplementos esteve associada à menor incidência da doença.³⁶ Andjelkovic, Z. *et al* (*in Disease modifying and immunomodulatory effects of high dose $1\alpha\text{(OH)}_2\text{D}_3$ in rheumatoid arthritis patients*), citados por Nagpal *et al.*, demonstraram que, em indivíduos tratados com a terapêutica *standard* para a AR, os análogos de vitamina D possuem efeitos benéficos na actividade da doença em 89% dos doentes.¹⁰

Em modelos animais de AR, o tratamento com $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ e seu análogo diminui os sintomas e inibe a progressão da doença.⁹

A deficiência da vitamina D em indivíduos com LES tem sido descrita em vários estudos.^{32,37,38,39} Num estudo caso-controlo, incluindo indivíduos com diagnóstico recente da doença, demonstrou-se uma tendência para níveis séricos muito baixos de $25\text{-(OH)}_2\text{D}$, nestes, comparativamente ao grupo controlo.³⁷ Entre os casos, o nível sérico médio de $25\text{-(OH)}_2\text{D}$ foi

de 21ng/ml, tendo sido encontrado valores excessivamente diminuídos (< 10 ng/ml) em 18% dos indivíduos.³⁷ Além de níveis séricos baixos de 25-(OH) D, em indivíduos com LES, demonstrou-se que a estes valores bastante diminuídos associam-se um *score* elevado nas escalas utilizadas para avaliar a incapacidade funcional e a actividade da doença, comparativamente aos doentes com níveis séricos considerados normais neste estudo.³⁸ Num estudo transversal, incluindo doentes com uma mediana de 7 anos de duração da doença, demonstrou-se que aos níveis muito baixos de 25-(OH) D (<10ng/ml) se associam um maior grau de fadiga, no entanto, não se verificou nenhuma associação com a duração e severidade da doença.³⁹

Sheng, S. *et al*/ demonstraram que os indivíduos com LES, particularmente, os com maior actividade da doença e anticorpos antinucleares positivos, tinham baixos níveis de 1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$.³² Esta inibe a proliferação, a diferenciação e a produção de imunoglobulinas, e induz a apoptose dos linfócitos B, o que atenua a hiperactividade destas células no LES.³² Em modelos animais que espontaneamente desenvolvem LES o tratamento com agonistas dos VDRs atenuou os sintomas e melhorou a sobrevivência.⁸

A DM1 caracteriza-se por destruição auto-imune das células β dos ilhéus pancreáticos, produtoras de insulina.¹⁰ E estudos experimentais, em modelos animais de diabetes auto-imune, demonstraram que a 1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$ possui acções anti-inflamatórias e imunomoduladoras sobre as células dos ilhéus pancreáticos.⁴⁰ Nos *nonobese diabetic mice* (NOD), modelos animais que desenvolvem espontaneamente a DM1, o tratamento com a 1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$ e seus análogos, antes das 3 semanas de idade, inibe o desenvolvimento da insulite e da diabetes, enquanto que nos NOD adultos apenas inibe a progressão da doença.^{4,8,9} Foi demonstrada que a suplementação da vitamina D, em doses elevadas (2000 UI), durante primeiro ano de vida, diminui o risco de desenvolvimento da DM1.⁴⁰ Também, confere um efeito protector em relação ao desenvolvimento de diabetes auto-imune em crianças, que as

mães receberam doses elevadas de vitamina D durante a gestação.⁴⁰ Existem vários estudos que confirmam este efeito protector da vitamina D, relativamente DM1.^{19,40}

Estudos experimentais em modelos animais para DII têm demonstrado a importante influência da vitamina D na patogénese da doença.³³ A deficiência de vitamina D diminui a supressão da resposta Th1 associada a DII.⁵

Acções antineoplásicas da vitamina D

As células do cólon, da mama, da próstata e de muitos outros tecidos do organismo expressam a CYP27B1, o VDR e sintetizam a $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$.^{2,14} Esta actua nos VDRs das células normais e neoplásicas, regula o ciclo celular e desempenha acções favoráveis à inibição da carcinogénese, através de vários mecanismos biológicos.⁴ Por acção sobre os factores de crescimento, os proto-oncogenes e os genes supressores tumorais induz a apoptose, a diferenciação e inibe a proliferação celular, assim como, a angiogénese, a invasão e a metástase tumoral.⁴

Há algumas décadas, associou-se ao facto de se viver em latitudes elevadas um risco maior de desenvolver e morrer por alguns tipos de cancro como o do cólon, da mama, próstata, entre outros.^{2,4,15} Grant concluiu que essa disparidade pode ser atribuída às variações na exposição à radiação solar UVB e na disponibilidade da vitamina D.⁴¹ Evidenciou-se, ainda, uma correlação inversa entre a radiação solar UVB e a incidência e mortalidade por cancros da bexiga, do esófago, do rim, do pâncreas, do pulmão, do estômago, do recto, do ânus, do corpo e colo do útero, da vulva, do ovário, do linfoma não-Hodgkin, entre outros.^{41,42}

Num estudo de coorte realizado entre 1986 e 2000, um aumento de 25nmol/L do nível sérico de 25-(OH) D esteve associado, respectivamente, à uma diminuição de 17% e de 29% na incidência e na mortalidade total por cancro, nos homens, com grande impacto sobre cancros do tracto digestivo.⁴³ Ducloux, D. *et al* (*in Pretransplant Serum Vitamin D Levels and Risk of Cancer After Renal Transplantation*), citados por Wang, evidenciaram, em transplantados renais, uma relação inversa entre a incidência de cancro e os níveis séricos de 25-(OH) D previamente ao transplante.⁴⁴

Observou-se uma redução de 60%, da incidência total de cancro em mulheres em pós-menopausa, saudáveis, que receberam suplemento diário de cálcio/vitamina D₃

(1000mg/1100UI) durante 4 anos, comparativamente aos grupos que receberam apenas cálcio ou placebo.⁴⁵ Grant, WB. *et al* (in *An estimate of cancer mortality rate reductions in Europe and the US with 1,000 IU of oral vitamin D per day*), citados por Pérez López, concluíram haver uma redução significativa da mortalidade por cancro, em ambos os sexos, na Europa e nos Estados Unidos com a ingestão diária de 1000UI de vitamina D.⁴⁶

Inúmeros estudos que associam a ingestão de vitamina D e de cálcio ao risco de cancro do cólon foram publicados ao longo dos anos, com resultados variáveis. Alguns mostraram uma associação positiva ou pouco significativa, enquanto noutros não se observaram qualquer associação.⁴⁴ Vários factores podem explicar esses resultados controversos, entre os quais a duração do estudo e a suplementação insuficiente da vitamina D, uma vez que na grande maioria dos estudos foram usados doses diárias de 400-500UI.⁴⁴

Garland, *et al* (in *Serum 25-Hydroxyvitamin D and Colon cancer: Eight-year Prospective Study*), citados por Holick, observaram que os indivíduos com concentrações séricas de 25-(OH) D ≥ 20 ng/ml o risco de cancro de cólon diminuía até 3 vezes.³ Uma metanálise, baseada em estudos que associam 25-(OH) D ao cancro colorectal, concluiu que níveis séricos ≥ 33 ng/ml estão associados a uma incidência 50% menor do cancro colorectal.⁴⁷ O *status* de vitamina D associa-se inversamente ao risco de adenomas colorectais, de progressão e de recorrência.⁴⁸ Estudos em modelos experimentais também evidenciaram uma associação positiva entre o *status* vitamina D e o cancro do cólon.⁴

Diferentes desenhos de estudo evidenciam benefícios significativos da vitamina D no cancro da mama.⁴⁴ Num estudo recente, randomizado e duplo cego, a suplementação diária de cálcio e de 1100UI de vitamina D esteve associada à um menor risco de cancro da mama, comparativamente ao grupo que recebeu apenas cálcio ou placebo.⁴⁵

Apesar da associação positiva entre o cancro da próstata e a exposição à radiação solar UVB, a maioria dos estudos em que se avaliaram a ingestão e o *status* da vitamina D não obtiveram o mesmo resultado.⁴⁴ São necessários mais estudos para melhor esclarecer a relação entre o cancro da próstata e a vitamina D. Entretanto, num ensaio clínico com calcitriol e o antineoplásico docetaxel no cancro metastático da próstata não-dependente do androgénio demonstrou-se que, em combinação, têm melhores resultados, inclusive na sobrevida, comparativamente ao tratamento apenas com docetaxel.⁴⁹

Actualmente, têm-se levantado questões quanto ao papel de análogos de calcitriol na prevenção/tratamento de neoplasias do endométrio, do ovário e do colo do útero.⁴⁶

Benefícios cardiovasculares da vitamina D

A deficiência de vitamina D é considerada um importante factor de risco cardiovascular, que predispõe à inflamação vascular crónica, à hipertensão arterial (HTA), à pré-eclampsia, à diabetes mellitus tipo 2 (DM2), à hipertrofia ventricular esquerda e à insuficiência cardíaca congestiva.^{50,51,52,53} Através de VDRs, presentes no sistema cardiovascular, e por meio de vários mecanismos, inibe os processos envolvidos na calcificação e na proliferação do músculo liso vascular.⁵⁴ Regula, negativamente, o sistema renina angiotensina reduzindo a actividade plasmática da renina, os níveis da angiotensina II e a pressão arterial.⁵⁴

Rostand demonstrou que a pressão arterial era mais elevada nas regiões mais afastadas do equador, nos meses de inverno e nos indivíduos de pele escura, que vivem em regiões de clima temperado.⁵⁵ Também foi observada que a incidência de doença cardíaca isquémica é maior nas latitudes mais elevadas.⁵⁴ E essas variações poderiam dever-se às alterações no *status* de vitamina D, consequentes à baixa radiação solar UVB.^{54,55}

Num estudo transversal, observou-se uma redução de 20% na elevação da pressão arterial sistólica associada à idade, em caucasianos com concentrações elevadas de 25-(OH) D.⁵⁶ Os níveis séricos de 25-(OH) D <30ng/ml associaram-se à maior prevalência de doenças cardiovasculares, nomeadamente, a doença coronária, o enfarte do miocárdio, a insuficiência cardíaca e o acidente vascular cerebral.⁵⁷

Num estudo prospectivo, seguido por 5 anos, incluindo indivíduos sem antecedentes de doenças cardiovasculares, observou-se uma incidência mais elevada de eventos cardiovasculares naqueles com níveis séricos de 25-(OH) D <15ng/ml, sendo maior o risco nos indivíduos com défice de vitamina D e HTA associada.⁵⁸ Os baixos níveis séricos de 25-(OH) D também têm sido associados à uma maior incidência de DM2.⁵⁹

Relativamente à doença cardiovascular já estabelecida, demonstrou-se um aumento do risco de mortalidade em doentes com baixos níveis séricos de 25-(OH) D, comparativamente aos níveis mais elevados.⁶⁰

A exposição de indivíduos hipertensos ligeiros não tratados à radiação UVA e UVB, três vezes por semana, resultou em diminuição da pressão arterial sistólica e diastólica de 6mmHg e aumento significativo do nível sérico da 25-(OH) D, no grupo exposto a UVB.⁶¹ Sugden, JA. *et al* (in *Vitamin D improves endothelial function in patients with Type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels*), citados por Lee *et al*, demonstraram num estudo randomizado, incluindo indivíduos com baixos níveis séricos de 25-(OH) D e DM2, que uma dose única de 100000 UI reduz significativamente a pressão arterial sistólica e melhora a função endotelial.⁵⁰

Após 20 anos de “*follow up*”, a suplementação oral diária de vitamina D, em doses superiores a 800 UI, diminuiu em cerca de 23% o risco de diabetes, em mulheres, comparativamente às doses diárias inferiores a 200 UI.⁶²

A suplementação oral de vitamina D resultou em redução significativa da mortalidade global, inclusive da mortalidade de causa cardiovascular, em doentes renais crónicos, em hemodiálise, onde a deficiência de vitamina D é muito prevalente e associada à mortalidade cardiovascular precoce.^{63,64} Não obstante, num estudo randomizado por 7 anos, incluindo mulheres em pós-menopausa, a suplementação com cálcio+vitamina D (500mg+200UI) não resultou em diminuição do risco cardiovascular.⁶⁵

Níveis adequados de vitamina D

Tem-se demonstrado cada vez mais a importância da vitamina D e o impacto de baixos níveis séricos na saúde em geral. Inúmeros estudos têm comparado o *status* (a deficiência/insuficiência e suficiência) da vitamina D à susceptibilidade ou mortalidade aumentada por doenças crônicas como as auto-imunes, as cardiovasculares e o cancro. No entanto, não existe uma definição precisa quanto ao nível sérico óptimo da vitamina D.^{66,66,67} A 25-(OH) D é a forma biológica usada para determinar o *status* da vitamina D no organismo.⁶⁶ Demonstrou-se num estudo, incluindo adultos com níveis séricos de 25-(OH) D entre 25 e 60nmol/L (11 e 25ng/ml), que a suplementação oral com cálcio e vitamina D em doses de 50000UI, semanalmente durante 8 semanas, resulta em diminuição da concentração sérica da paratohormona, em cerca de 35% nos indivíduos com níveis séricos mais baixos de 25-(OH) D (entre 27.5 a 39.9nmol/L).⁶⁸ Nos indivíduos com níveis mais elevados de 25-(OH) D (entre 50 e 60nmol/L) a diminuição não foi significativa, apesar do aumento em 66% da concentração sérica da 25-(OH) D.⁶⁸ Concluiu-se, neste estudo, que é necessária uma concentração sérica mínima de 25-(OH) D de 50nmol/L (20ng/ml) para atingir a concentração sérica óptima da paratohormona e prevenir as consequências do hiperparatireoidismo secundário.⁶⁸ Um estudo mais recente evidenciou que os níveis da paratohormona atingem um “plateau” a partir de concentrações séricas de 29.8ng/ml de 25-(OH) D, em mulheres em pós-menopausa.⁶⁹ Heaney *et al* (*in calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D*), citados por Holick, evidenciaram que a elevação da concentração sérica média de 25-(OH) D de 20 para 32 ng/ml resulta num aumento de 65% na absorção intestinal de cálcio.⁶⁶ Estes estudos, entre outros, levaram a que, a grande maioria dos autores, concordassem em definir a deficiência de vitamina D como valores séricos de 25-(OH) D <20ng/ml, a insuficiência como valores entre 21 a 29 ng/ml e a suficiência > 30ng/ml.⁶⁶ Considera-se que concentrações séricas da 25-(OH) D > 30ng/ml são necessárias para

obtenção de quantidades adequadas de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ para a regulação do metabolismo das células.¹⁴

Conclusão

A $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ influencia a função de vários órgãos e sistemas biológicos independentemente da sua acção endócrina. Diminui o risco de desenvolvimento de doenças auto-imunes, cancerígenas e cardiovasculares. A prevalência, a incidência e a mortalidade destas doenças foram relacionadas com a exposição à radiação solar UVB (a principal fonte da vitamina D), com as concentrações séricas da vitamina D e com a própria suplementação desta, obtendo-se resultados significativos quanto aos benefícios da vitamina D na saúde em geral. No entanto, serão necessários mais estudos prospectivos e anos de “*follow up*” para que melhor se perceba o papel da suplementação da vitamina D na prevenção/tratamento de doenças.

Com os resultados obtidos nos estudos abordados, neste trabalho, torna-se importante que se defina de forma precisa o nível sérico óptimo da vitamina D, quando e em que indivíduos rastrear a sua deficiência, e adequar as recomendações da sua suplementação para um maior benefício na saúde.

Bibliografia

1. Kulie T, Groff A, Redmer J, Hounshell J, Schrager S. Vitamin D: An evidence based-review. *J Am Board Fam Med* 2009; 22:698-706.
2. Holick MF. Vitamin D: A Millenium Perspective. *J Cell Biochem* 2003; 88:296-307.
3. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1678-1688.
4. Mullin GE, Dobs A. Vitamin D and its role in cancer and immunity: A prescription for sunlight. *Nutr Clin Pract* 2007; 22:305-322.
5. Peterlik M, Cross HS. Vitamin D and calcium deficits predispose for multiple chronic diseases. *E J Clin Invest* 2005; 35:290-304.
6. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007; 357:266-281.
7. Dusso AS, Brown AJ, Stalopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289:8-28.
8. Adorini L, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Clin Pract Rheumatol* published online first: 1 July 2008. doi: 10.1038/ncprheum0855.
9. Adorini L. Immunomodulatory effects of vitamin D receptor ligands in autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol* 2002; 2:1017-1028.
10. Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev* 2005; 26:662-687.
11. Adams JS, Hewison M. Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008; 4:80-90.
12. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D1. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1689-1696.

13. Veldman CM, Cantorna MT, DeLuca HF. Expression of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Receptor in the Immune System. *Arch Biochem Biophys* 2000; 374:334-338.
14. Holick MF. Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 2002; 9:87-98.
15. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* 2008; 87:1080-1086.
16. Bikle DD. Vitamin D and the immune system: role in protection against bacterial infection. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008; 17:348-352.
17. Cantorna MT. Vitamin D and its role in immunology: Multiple sclerosis and inflammatory bowel disease. *Prog Biophys Mol Biol* Published online first: 28 February 2006. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2006.02.020.
18. Cantorna MT, Mahon BD. Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. *Exp Biol Med* 2004; 229:1136–1142.
19. Ponsonby AL, McMichael A, Van der Mei I. Ultraviolet radiation and autoimmune disease: insights from epidemiological research. *Toxicology* 2002; 181-182:71-78.
20. Van der Mei I, Ponsonby AL, Dwyer T et al. Past exposure to sun, skin phenotype, and risk of multiple sclerosis: case-control study. *BMJ* Published online first: 9 August 2003. doi:10.1136/bmj.327.7410.316.
21. Kampman MT, Wilsgaard T, Mellgren ST. Outdoor activities and diet in childhood and adolescence relate to MS risk above the Arctic Circle. *J Neurol* Published online 21 March 2007. doi: 10.1007/s00415-006-0395-5.
22. Bayes HK, Weir JC, O’Leary C. Timing of birth and risk of multiple sclerosis in the scottish population. *Eur Neurol* Published on line first: 23 December 2009. doi: 10.1159/000268163.

23. Willer CJ, Dyment DA, Sadovnick AD, Rothwell PM, Murray TJ, Ebers GC. Timing of birth and risk of multiple sclerosis: population based study. *BMJ* Published online first: 7 December 2007. doi:10.1136/bmj.38301.686030.63.
24. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Sclerosis Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels and risk for multiple sclerosis. *JAMA* 2006; 269:2832-2838.
25. Kragt JJ, Van Amerongen BM, Killestein J et al. Higher levels of 25-hydroxyvitamin D are associated with a lower incidence of multiple sclerosis only in women. *Mult Scler* 2009; 15:9-15.
26. Van der Mei I, Ponsonby AL, Dwyer T et al. Vitamin D levels in people with multiple sclerosis and community controls in Tasmania, Australia. *J Neurol* Published online first: 11 April 2007. doi: 10.1007/s00415-006-0315-8.
27. Smolders J, Menheere P, Kessels A, Damoiseaux J, Hupperts R. Association of vitamin D metabolite levels with relapse rate and disability in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008; 14:1220-1224.
28. Soilu-Hänninen M, Airas L, Mononen I, Heikkilä A, Viljanen M, Hänninen A. 25-Hydroxyvitamin D levels in serum at the onset of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2005; 11:266-271.
29. Mahon BD, Gordon SA, Cruz J, Cosman F, Cantorna MT. Cytokine profile in patients with multiple sclerosis following vitamin D supplementation. *J Neuroimmunol* 2003; 134: 128-132.
30. Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. *Immunology* 1996; 93:7861-7864.

31. Mattner F, Smirolodo S, Galbiati F et al. Inhibition of Th1 development and treatment of chronic-relapsing experimental allergic encephalomyelitis by a non-hypercalcemic analogue of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Eur J Immunol* 2000; 30:498–508.
32. Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsk PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol* 2007; 179:1634-1647.
33. Cantorna MT, Zhun Y, Froicu M, Wittke A. Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D3, and the immune. *Am J Clin Nutri* 2004; 80: 1717-1720.
34. Cantorna MT. Vitamin D and autoimmunity: is Vitamin D status an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence?. *Proc Soc Exp Biol* 2000; 223:203-233.
35. Patel S, Farragher T, Berry J, Bunn D, Silman, Symmon D. Association between serum vitamin D metabolite levels and disease activity in patients with early inflammatory polyarthritis. *Arthritis Rheum* 2007; 56:2143-2149.
36. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004; 50:72-77.
37. Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2006; 5:114-117.
38. Thudi A, Yin S, Wandstrat AE, Li QZ, Olsen NJ. Vitamin D levels and disease status in texas patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci* 2008; 335:99-104.
39. Ruiz-Irastorza G, Egurbide MV, Olivares N, Martinez-Berriotxoa A, Aguirre C. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus: prevalence, predictors and clinical consequences. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47:920-923.

40. Danescu LG, Levy S, Levy J. Vitamin D and diabetes mellitus. *Endocrine* Published online first: 1 November 2008. doi:10.1007/s12020-008-9115-5.
41. Grant WB. An estimate of premature cancer mortality in the U.S. due to inadequate doses of solar ultraviolet-B radiation. *Cancer* 2002; 94:1867-1875.
42. Boscoe FP, Schymura MJ. Solar ultraviolet-B exposure and cancer incidence and mortality in the United States, 1993-2002. *Cancer BMC* Published online first:10 November 2006. doi:10.1186/1471-2407-6-264.
43. Giovannucci E, Liu Y, Rimm EB et al. Prospective Study of Predictors of Vitamin D Status and Cancer Incidence and Mortality in Men. *J Natl Cancer* 2006; 98:451-459.
44. Wang S. Epidemiology of vitamin D in health and disease. *Nutr Res Rev* 2009; 22:188-203.
45. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 85:1586–1591.
46. Pérez-López FR. Sunlight, the vitamin D endocrine system, and their relationships with gynaecologic cancer. *Maturitas* 2008; 59:101-113.
47. Gorham ED, Garland CF, Garland FC et al. Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention: a quantitative meta analysis. *Am J Prev Med* 2007; 32:210-216.
48. Wei MY, Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, Giovannucci E. Vitamin D and prevention of colorectal adenoma: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17:2958-2969.
49. Beer TM, Eilers KM, Garzotto M, Egorin MJ, Lowe BA, Henner WD. Weekly high-dose calcitriol and docetaxel in metastatic androgen-independent prostate cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21:123-128.

50. Lee JH, O'Keefe JH, Bell D, Hensrud DD, Holick MF. Vitamin D Deficiency: An Important, Common, and Easily Treatable Cardiovascular Risk Factor? *J Am Coll Cardiol* 2008; 52:1949-1956.
51. Michos ED, Melamed ML. Vitamin D and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008; 11:7-12.
52. Martins D, Wolf M, Pan D et al. Prevalence of Cardiovascular Risk Factors and the Serum Levels of 25-Hydroxyvitamin D in the United States. *Arch Intern Med* 2007; 167:1159-65.
53. Grant WB. Low vitamin D may explain the link between preeclampsia and cardiovascular disease. *Am Heart J* 2010; 159:e19.
54. Zittermann A, Schleithoff SS, Koerfer R. Putting cardiovascular disease and vitamin D insufficiency into perspective. *Br J Nutr* 2005; 94:483-492.
55. Rostand SG. Ultraviolet light may contribute to geographic and racial blood pressure differences. *Hypertension* 1997; 30:150-156.
56. Judd SE, Nanes MS, Ziegler TR, Wilson PW, Tangpricha V. Optimal vitamin D status attenuates the age-associated increase in systolic blood pressure in white Americans: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Clin Nutr* 2008; 87:136-141.
57. Kim DH, Sabour S, Sagar UN, Adams S, Whellan DJ. Prevalence of hypovitaminosis D in cardiovascular diseases (from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001 to 2004). *Am J Cardiol* 2008; 102:1540-1544.
58. Wang TJ, Pencina MJ, Booth L et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* Published online first: 7 January 2008; doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.706127.

59. Mattila C, Knekt P, Männistö S et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration and subsequent risk of type 2 diabetes. *Diabetes Care* Published online first: 12 July 2007. doi 10.2337/dc07-0292.
60. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H et al. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med* 2008; 168:1340-1349.
61. Krause R, Bühring M, Hopfenmüller W, Holick MF, Sharma AM. Ultraviolet B and blood pressure. *Lancet* 1998; 352:709-710.
62. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T et al. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2006; 29:650-656.
63. Naves-Díaz M, Alvarez-Hernández D, Passlick-Deetjen J et al. Oral active vitamin D is associated with improved survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* Published online first: 16 July 2008. doi:10.1038/ki.2008.343.
64. Wolf M, Shah A, Gutierrez O et al. Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int* Published online first: 8 August 2007. doi:10.1038/sj.ki.5002451.
65. Hsia J, Heiss G, Ren H et al. Calcium/vitamin D supplementation and cardiovascular events. *Circulation* 2007; 115:846-854.
66. Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol* 2009; 19:73-78.
67. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* Published online first: 18 March 2005. doi: 10.1007/s00198-005-1867-7.
68. Malabanan A, Veronikis IE, Holick MF. Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet* 1998; 351:805-806.

69. Holick MF, Siris ES, Binkley N et al. Prevalence of Vitamin D inadequacy among postmenopausal North American women receiving osteoporosis therapy. *J Clin Endocrinol Metab* Published online first: 29 March 2005. doi: 10.1210/jc.2004-2364.