



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

JOSÉ MANUEL DE ABRANTES VEIGA

VITAMINA D E DOENÇA CARDIOVASCULAR

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE NUTRIÇÃO CLÍNICA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROF. DOUTORA LÉLITA SANTOS**

MARÇO 2016

Resumo

Introdução: A doença cardiovascular é a principal causa de morbidade e mortalidade mundial. Para que esses indicadores diminuam é necessário encontrar novos factores de risco e as suas causas. A vitamina D tem como alvos não só a mucosa intestinal, o osso e o rim mas também o sistema cardiovascular, devido à presença do receptor de vitamina D no coração e vasculatura. Para além disso, estudos transversais, casos-controlado e epidemiológicos mostraram uma associação entre os baixos níveis de vitamina D e doença cardiovascular estabelecida. Assim sendo, nesta revisão foram abordadas as bases fisiopatológicas, assim como analisada a relação entre a vitamina D e a doença cardiovascular e se existe necessidade de suplementação de vitamina D como prevenção ou terapêutica da doença cardiovascular.

Materiais e métodos: A pesquisa bibliográfica foi realizada utilizando a base de dados PubMed com filtros para a língua inglesa, textos livres, artigos de revisão, publicados nos últimos 10 anos, sendo os termos Mesh usados “vitamin D” e “cardiovascular diseases”. Foram ainda consultadas referências bibliográficas destes artigos.

Fisiopatologia: Os mecanismos fisiopatológicos abordados basearam-se na influência da vitamina D na sinalização celular, na regulação epigenética, na disfunção endotelial, na resposta inflamatória, na coagulação e fibrinólise, no metabolismo da glucose e insulina, na hormona da paratiróide e no metabolismo lipídico, tendo em conta o sistema cardiovascular.

Resultados: Os estudos sobre a influência da vitamina D na pressão arterial mostraram resultados heterogéneos. A maioria dos estudos não demonstrou influência da vitamina D no perfil lipídico. Relativamente ao metabolismo da glucose parece existir uma associação inversa entre os níveis de vitamina D e incidência de diabetes mellitus, no entanto os estudos intervencionais são inconclusivos. Meta-análises que relacionam vitamina D e doença cardiovascular mostraram uma relação linear inversa, entre os níveis de vitamina D e o risco

relativo de doença cardiovascular até níveis de 60 nmol/L de 25(OH)D. Indivíduos com hipertensão têm o dobro do risco cumulativo de primeiro evento cardiovascular se tiverem níveis de 25(OH)D inferiores a 15 ng/mL. Uma diminuição de 10 ng/mL equivale a um aumento de 29% de doença arterial periférica mas não foi possível concluir uma relação causal. A mortalidade cardiovascular nos doentes com níveis baixos de vitamina D é superior apenas nalguns estudos, não sendo estatisticamente significativa noutros. No estudo Women's Health Initiative, não ficaram demonstradas diferenças significativas entre o grupo de tratamento e o placebo. Noutra meta-análise, com diferentes doses de vitamina D entre os estudos, chegou-se a um risco relativo de mortalidade reduzido em 7%, no grupo com terapêutica. Num estudo, com separação dos participantes com défice de vitamina D, a suplementação com vitamina D melhorou a sobrevivência de maneira geral. Em relação à toxicidade potencial da vitamina D, apenas doses superiores a 50000 UI/d é que estão associadas a hipercalcémia e hiperfosfatémia.

Conclusões: Foi possível concluir que apesar de existir evidência em estudos observacionais e existir uma base fisiopatológica compreensível, são ainda necessários estudos controlo-randomizados, bem desenhados e incidindo na doença cardiovascular. São esperados os resultados de estudos em curso entre 2017 e 2020. Até lá, não existem dados científicos suficientes que aconselhem a suplementação com vitamina D, tendo como objectivo a prevenção ou terapêutica cardiovascular.

Abstract

Introduction: The cardiovascular disease is the main cause of morbidity and mortality worldwide. For these indicators to diminish it is necessary to find new risk factors and their causes. Vitamin D has as targets the intestinal mucosa, the bone and kidney but also the cardiovascular system, due to the presence of the vitamin D receptor in the heart and vasculature. Moreover, cross-sectional, case-control and epidemiologic studies showed an association between low levels of vitamin D and established cardiovascular disease. Due to that, in this review the physiopathology was mentioned, as well as the relation between vitamin D and cardiovascular disease and if there is the need for supplementation with vitamin D as a preventive or therapeutic measure for cardiovascular disease.

Materials and methods: The literature research was made in the PubMed database with filters for English language, free texts, review articles, published in the last 10 years, using the Mesh terms “vitamin D” and “cardiovascular diseases”. References from the articles found were also used.

Physiopathology: The physiopathologic mechanisms mentioned in this review were based on the influence of vitamin D in cellular signalling, epigenetic regulation, endothelial dysfunction, inflammatory response, coagulation and fibrinolysis, glucose metabolism and insulin, parathyroid hormone and lipid metabolism, concerning the cardiovascular system.

Results: The studies about the influence of vitamin D in blood pressure showed heterogeneous results. The majority did not show influence of vitamin D in the lipid profile. Concerning the glucose metabolism it seems to be an inverse association between the levels of vitamin D and the incidence of diabetes mellitus, however, the interventional studies are inconclusive. Meta-analysis that correlate vitamin D and cardiovascular disease showed a linear inverse relation, between levels of vitamin D and relative risk of cardiovascular disease until levels of 60 nmol/L of 25(OH)D. Subjects with hypertension have two times more

cumulative risk of first cardiovascular event if they have levels of 25(OH)D under 15 ng/mL. A decrease of 10 ng/mL is equivalent to an increase of 29% in peripheral artery disease, but it was not possible to achieve a causal relation. The cardiovascular mortality in patients with low levels of vitamin D is superior in some studies but it is not statistically significant in others. In the Women's Health Initiative study, there were no significant differences between the treatment group and placebo. In other meta-analysis, with different doses of vitamin D between studies, there was a reduction of 7% in the relative risk of mortality in the treatment group. In a study with separation of participants with vitamin D deficit, the supplementation with vitamin D improved the overall survival. In what concerns the potential toxicity of vitamin D, only doses superior to 50000 UI/d were associated with hypercalcemia and hyperphosphatemia.

Conclusion: It was possible to conclude that despite the evidence in observational studies and the comprehensible physiopathology, more well designed randomized controlled trials are necessary and with primary outcome the cardiovascular disease. Results from on-going studies are expected between 2017 and 2020. Until then, there are no scientific data sufficient to support the supplementation with vitamin D for the prevention or treatment of cardiovascular disease.

Palavras-chave/Keywords

Palavras-chave: doença cardiovascular; vitamina D; calcidiol; calcitriol

Keywords: cardiovascular disease; vitamin D; calcidiol; calcitriol

Índice

Resumo	1
Abstract	3
Palavras-chave/Keywords	4
Índice	5
Introdução	7
Epidemiologia da doença cardiovascular	7
Vitamina D	7
Fisiologia da vitamina D	7
Níveis de vitamina D.....	10
Relação da vitamina D e doença cardiovascular	11
Objetivos	11
Materiais e métodos	12
Fisiopatologia	13
Sinalização celular	13
Nrf2	15
Klotho	17
Sinalização Ca ²⁺ e ROS	18
Regulação epigenética	20
Disfunção endotelial	21
Resposta inflamatória	22
Coagulação e fibrinólise	23
Glucose e insulina	23
Hormona da paratiróide	24
Metabolismo lipídico	24
Resultados	26
Influência da vitamina D nos factores de risco cardiovasculares	26
Hipertensão.....	26
Síndrome metabólico, hiperlipidemia e obesidade.....	29
Diabetes	31
Estudos de vitamina D e doença cardiovascular	34
Estudos controlo randomizados com suplementação de vitamina D	44
Toxicidade potencial da vitamina D	49
Estudos futuros	51
Recomendações para a prática clínica	52
Conclusão	55
Agradecimentos	58
Referências	59

Introdução

Epidemiologia da doença cardiovascular

A doença cardiovascular é a principal causa de morbidade e mortalidade mundial (1) e a principal causa de morte nos Estados Unidos desde os anos 90 (2), tendo tido um pico nos anos 60 e tendo vindo a diminuir gradualmente nos 50 anos seguintes. Desde 1980 até 2000, a mortalidade por doença coronária nos homens, ajustada à idade, diminuiu de 543 para 267 por cada 100,000 e para as mulheres, a mortalidade diminuiu de 263 para 134 por cada 100,000. Quase metade dessa diminuição pode ser atribuída ao decréscimo dos factores de risco cardiovascular, incluindo a hipertensão, hábitos tabágicos e dislipidémia (3). A mortalidade atingiu agora um plateau, mas pode estar a aumentar (1), reduzindo a esperança média de vida pela primeira vez (4). É portanto necessário identificar os novos factores de risco e as suas causas, com vista a diminuir a morbidade e mortalidade cardiovascular.

Vitamina D

Fisiologia da vitamina D

A vitamina D₃, ou colecalciferol, é uma hormona secoesteróide que ou é consumida pela dieta ou gerada de novo através da interação de luz ultravioleta com o precursor esterol na camada basal da epiderme. É metabolizada através de duas hidroxilações sequenciais na posição 25 (que ocorre no fígado) e posição 1 (que ocorre largamente no rim ainda que presente na maioria dos tecidos) para gerar um metabolito mais polar e bioactivo chamado calcitriol (1,25-dihidroxitamina D ou 1,25(OH)₂D) [Fig.1 e 2]. (5)

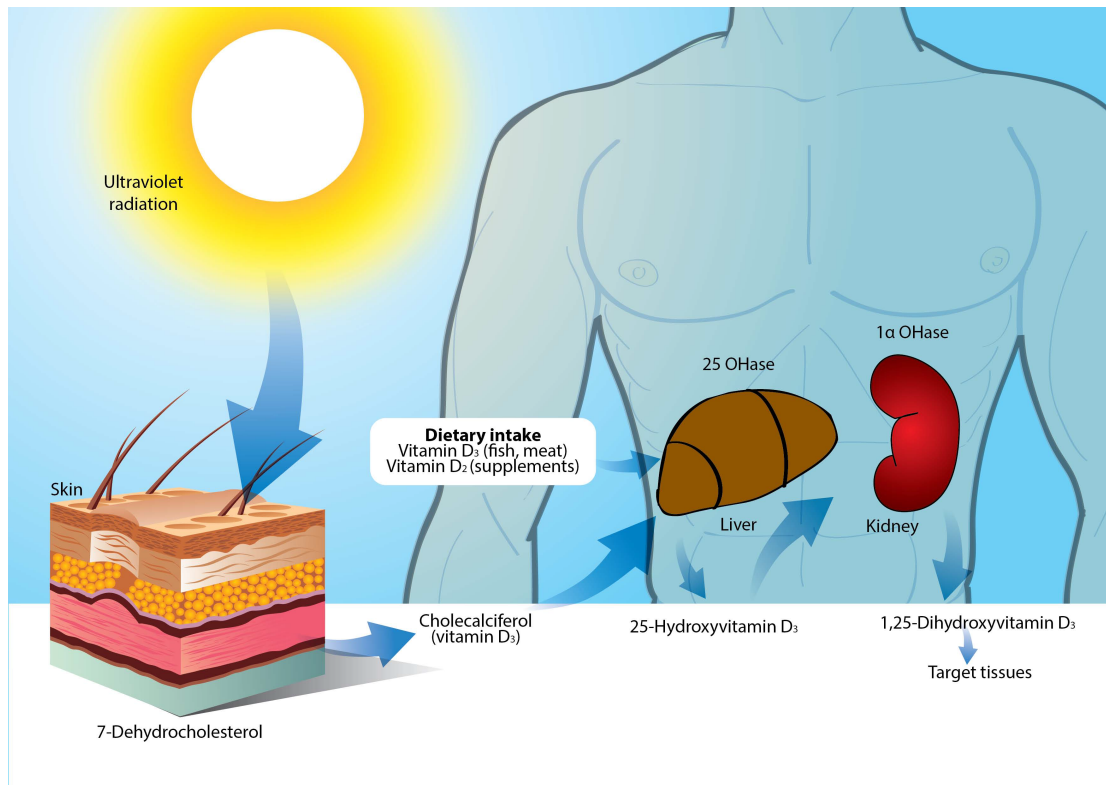


Fig. 1 – Representação esquemática da biossíntese da vitamina D (6).

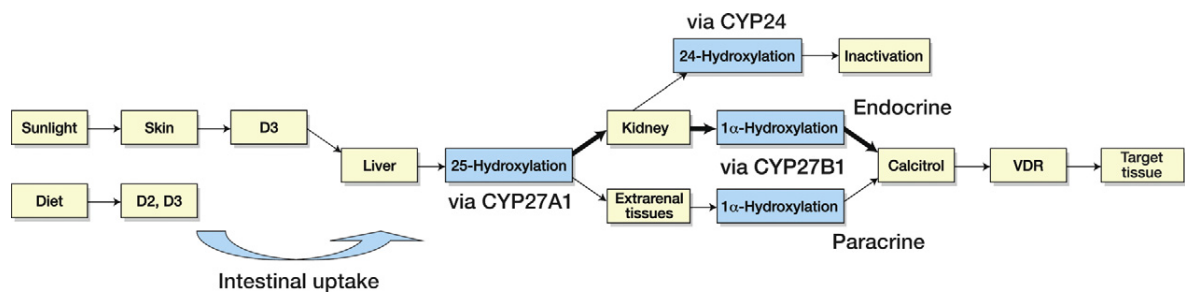


Fig. 2 - Visão geral dos passos da activação de vitamina D nativa através do fígado e hidroxilação para calcitriol predominantemente no rim. A resposta à vitamina D na maioria dos tecidos é mediada via receptor de vitamina D (VDR). A contribuição exacta da 25-hidroxivitamina D-1 α -hidroxilase (CYP27B1) nos efeitos teciduais do calcitriol, especialmente fora do osso (chamados efeitos pleiotrópicos) é matéria de debate (7).

A 1,25(OH)₂D exerce a sua actividade biológica ao ligar-se ao receptor de vitamina D (VDR), activando-o. O complexo 1,25(OH)₂D-VDR sofre uma translocação para o núcleo e heterodimeriza com o receptor do ácido retinóico (RXR), sendo que depois todo esse complexo se liga aos elementos responsivos à vitamina D (VDRE) no DNA, aumentando a transcrição para RNA do genes responsáveis pela expressão de proteínas envolvidas nas acções da vitamina D [Fig. 3].

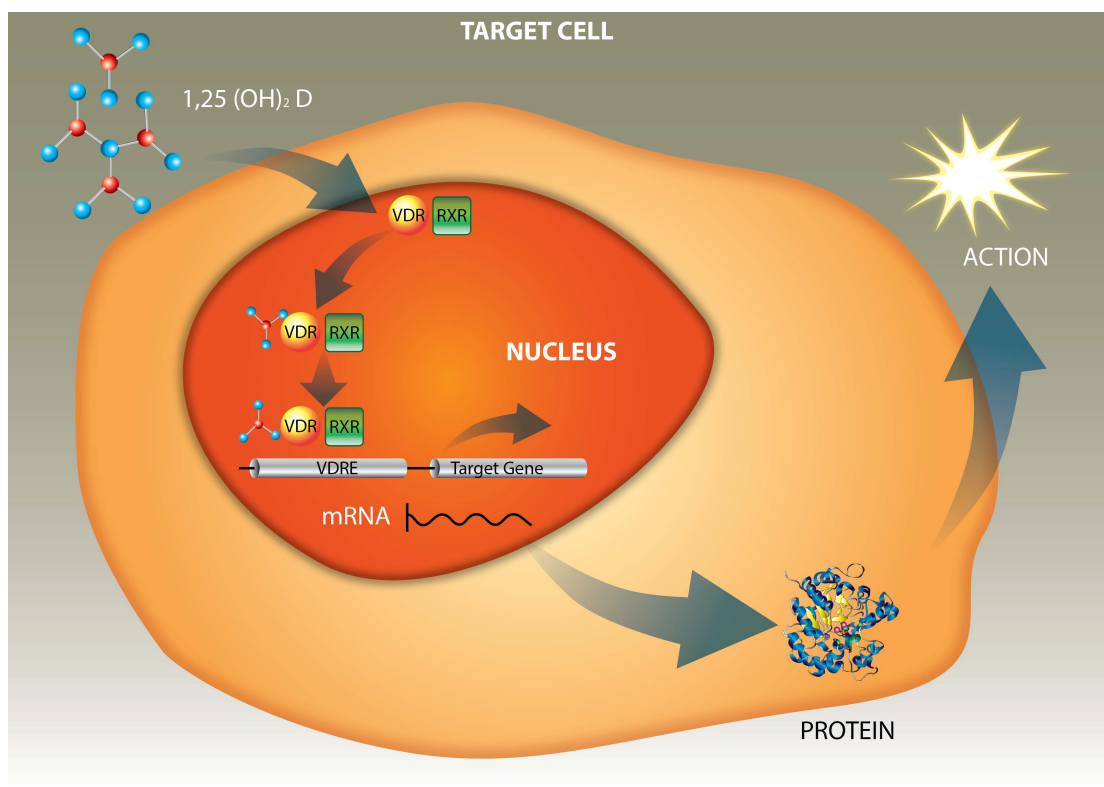


Fig. 3 – Representação esquemática do controlo transcripcional da expressão genética pelo 1,25(OH)₂D via VDR. (6)

Os alvos da 1,25(OH)₂D não estão confinados à mucosa intestinal, osso e rim. Os alvos estendem-se por diferentes sistemas de órgãos, modulando as funções desde o desenvolvimento epidermal até funções imunes. Um dos exemplos é o sistema cardiovascular, onde o VDR está presente no coração e na vasculatura (5).

Níveis de vitamina D

Em termos de definição do déficit de vitamina D e dos seus níveis ótimos, existe grande controvérsia. A Endocrine Society Clinical Practice Guideline define déficit de vitamina D por valores de calcidiol (25(OH)D) <50 nmol/L (20ng/mL) e insuficiência entre 52,5 e 72,5 nmol/L. A International Osteoporosis Foundation define o déficit de vitamina D em níveis de 25(OH)D <25 nmol/L, insuficiência quando <50 nmol/L e refere como nível alvo, valores de 75nmol/L. O Institute of Medicine recomenda um nível alvo de 50 nmol/L como suficiente para a saúde óssea. Esta falta de consenso e outros factores, como a variação sazonal, a dieta e os suplementos, faz com que seja complexa a avaliação da associação entre a vitamina D e a doença cardiovascular. (8)

Existem dois sistemas de unidades utilizados na determinação dos níveis de 25(OH)D, pelo que 1 nmol/L corresponde a 0,4 ng/mL. Devido à divergência ao longo da bibliografia é necessário apresentar aqui a conversão, para ser feita uma análise adequada dos resultados.

	Endocrine Society Clinical Practice Guidelines	International Osteoporosis Foundation
Déficit vitamina D	< 50 nmol/L (20 ng/ml)	< 25 nmol/L (10 ng/ml)
Insuficiência	52,5-72,5 nmol/L (21-29 ng/ml)	< 50 nmol/L (20 ng/ml)
Alvo		75 nmol/L (30 ng/ml)

Tabela 1 – Níveis de vitamina D séricos.

Relação da vitamina D e doença cardiovascular

O défice de vitamina D é altamente prevalente em diferentes populações pelo mundo. Estudos sugerem que aproximadamente 30-50% da população adulta está em risco de défice de vitamina D. A população mais velha é especialmente vulnerável ao défice de vitamina D, devido à diminuída capacidade de síntese de vitamina D através da luz solar. Adicionalmente, o envelhecimento está associado a níveis mais baixos de 7-dehidrocolesterol, que é um precursor necessário para a síntese de vitamina D na pele (9). Estudos transversais e casos-controlado retrospectivos mostraram défices (<25nmol/L) ou níveis insuficientes (25-50nmol/L) de 25-hidroxivitamina D em doentes com doença cardiovascular estabelecida (10). Níveis baixos de 25-hidroxivitamina D foram associados com doença cardiovascular em estudos epidemiológicos (11). Concentrações séricas baixas de 25(OH)D estavam mais presentes em doentes com pressão arterial elevada, síndrome metabólico, insuficiência cardíaca e acidente vascular cerebral do que em doentes sem estas patologias (11).

Objectivos

Assim, este artigo de revisão pretende compreender as bases fisiopatológicas, analisar a eventual relação entre a 25(OH)D e a doença cardiovascular e se existe evidência científica para a suplementação com vitamina D como prevenção ou terapêutica da doença cardiovascular.

Materiais e métodos

A pesquisa bibliográfica foi realizada utilizando a base de dados PubMed com filtros para a língua inglesa, textos livres, artigos de revisão, publicados nos últimos 10 anos (desde 25 de Julho de 2005 até 25 de Julho 2015). Os termos Mesh pesquisados foram “vitamin D” e “cardiovascular diseases” como Major topics. Quando justificável foram consultadas referências bibliográficas dos artigos resultantes da pesquisa.

Fisiopatologia

Sinalização celular

Uma das hipóteses possíveis para a influência da vitamina D na doença cardiovascular provém da seu efeito na estabilidade da sinalização celular, particularmente no Ca^{2+} e redox [Fig. 7]. Esta hipótese de estabilidade fenotípica vitamina D-dependente, é suportada pela actuação ao nível do receptor de vitamina D (VDR) que regula a expressão do Klotho e do Nrf2, que também são reguladores da estabilidade fenotípica. (12)

O componente activo da vitamina D é a 1,25-dihidroxitamina D que é formada por uma série de reacções que têm lugar em diversos tecidos [Fig. 4] (13).

Quando as células se diferenciam, normalmente param de proliferar e começam a expressar mecanismos de sinalização específicos para controlar a sua função. É necessário que os sistemas de sinalização sejam mantidos. Existe um aumento da evidência de que a vitamina D regula a expressão de vários componentes de diferentes vias de sinalização, tais como as activadas pela insulina, ETS, factor de necrose tumoral (TNF), ErB, citocinas, $\text{TGB}\beta 1$, Hedgehog, Notch and Wnt (14). Para além disso, a vitamina D pode regular a expressão de componentes que estão presentes em processos do ciclo celular, autofagia, apoptose, remodelação da actina, adesão celular, orientação axonal e endocitose (15).

A primeira função de homeostasia reconhecida à vitamina D foi a regulação da homeostasia do Ca^{2+} , ao promover a reabsorção pelo rim e intestino. A vitamina D actua ao aumentar a expressão dos principais componentes pelo transporte epitelial de Ca^{2+} , tais como o TRPV5, TRPV6, calbindina D-9K, calbindina D-28k, $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger (NCX) e membrana plasmática Ca^{2+} -ATPase 1b (PMCA1b) (16). Defeitos nestes mecanismos dependentes de vitamina D na homeostasia do Ca^{2+} , levam a doenças como o raquitismo e osteomalacia, no entanto não existe explicação para o contributo da vitamina D noutras doenças.

Assim sendo, é posta a hipótese de que a vitamina D seja também responsável pela estabilidade nas vias de sinalização celular, nomeadamente na via do Ca^{2+} e redox (13).

Ao considerar esta acção da vitamina D, é importante referir a actividade do Nrf2 e Klotho, porque a sua expressão é regulada pela vitamina D [Fig. 5], sendo que todos mantêm a estabilidade da via de sinalização celular. Assim sendo, a vitamina D em conjunto com o Nrf2 e Klotho criam uma extensa rede regulatória que permitem a normal função das vias de sinalização do cálcio e do ROS (13).

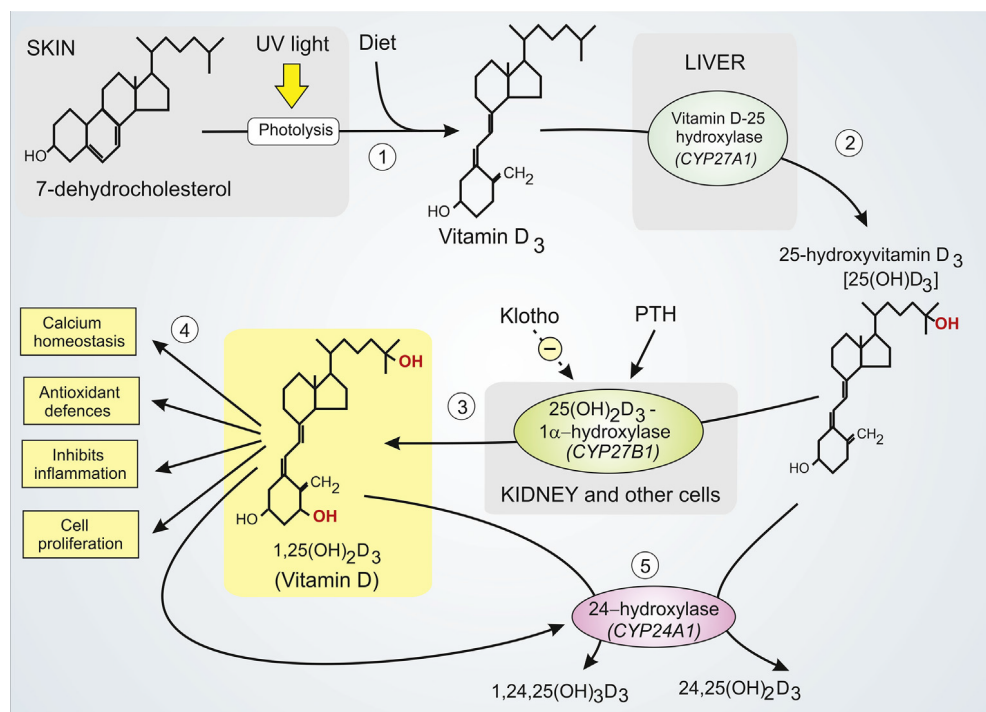


Fig. 4 - Formação e metabolismo da vitamina D. Síntese de 1,25-dihidroxitamina D ocorre através de 3 passos levados a cabo em diferentes tecidos. 1- A sequência começa na pele com a fotólise UV-dependente do 7-dehidrocolesterol para vitamina D₃, que também pode ser obtida da dieta. 2- O passo seguinte ocorre no fígado, onde a vitamina D-25 hidroxilase adiciona um grupo hidroxilo à vitamina D₃, formando a 25(OH)D₃. 3- A reacção final ocorre no rim e em muitos outros tipos de células onde a 1 α -hidroxilase adiciona outro grupo hidroxilo, para formar 1,25(OH)₂D. 4- A 1,25(OH)₂D é a hormona activa que tem múltiplas funções de sinalização. 5- Ambas 1,25(OH)₂D e o seu precursor 25(OH)D são metabolizadas por uma 24-hidroxilação levado a cabo pela 1,25(OH)₂D 24-hidroxilase (codificada pelo CYP24A1) que as converte em 1,24,25(OH)₃D e 24,25(OH)₂D, respectivamente. A expressão do CYP24A1 é aumentada pela 1,25(OH)₂D (13).

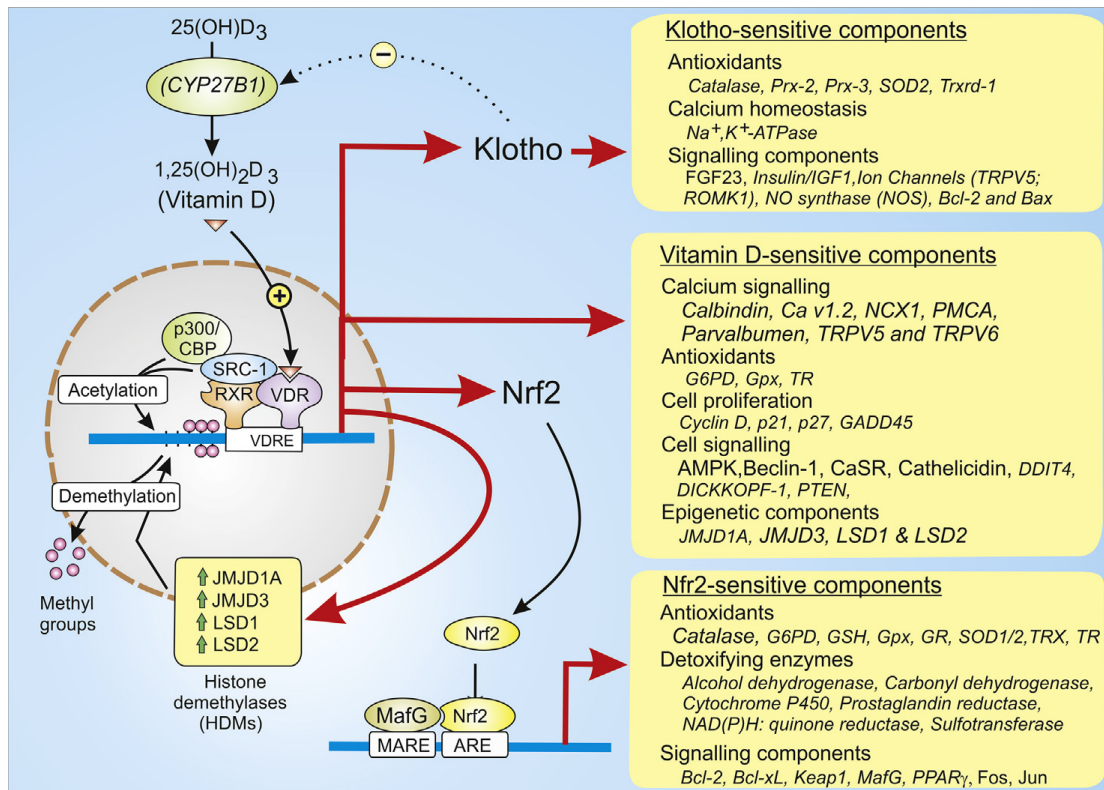


Fig. 5 - Ativação do receptor de vitamina D. A hormona de vitamina D, 1,25-dihidrovitamina D3 (1,25(OH)2D) liga-se ao receptor de vitamina D (VDR) que interage com o receptor retinóide X (RXR) para formar o heterodímero VDR/RXR que se liga ao elemento responsivo de vitamina D (VDRE). O VDR inicia a expressão de um largo número de genes localizados em diferentes tipos de células, para exprimir proteínas que funcionam em diversos processos celulares. A vitamina D também aumenta a expressão de Klotho e Nrf2 que levam a cabo inúmeras funções de homeostasia. (13)

Nrf2

A vitamina D regula a expressão do factor de transcrição Nrf2 que é redox sensível e que controla a expressão de vários antioxidantes e enzimas detoxificantes tais como a glutamato cisteína ligase (GCL) que sintetiza o tampão redox glutationa (GSH), glutationa S-transferase (GST), hemoxigenase 1 (HO1), NAD(P)H quinona oxidase 1, peroxiredoxinas, TRX e sulfiredoxinas [Fig. 6] (17). Alterações na actividade de Nrf2 podem contribuir para numerosas doenças, muitas das quais ligadas à deficiência de vitamina D, enfatizando a importância da vitamina D e Nrf2 como responsáveis pela estabilidade fenotípica (13). O Nrf2 actua ao ligar-se ao elemento responsivo antioxidante (ARE) para aumentar a expressão de um grande número de genes. Nrf2 consegue aumentar a expressão de Fos e JUN, que aumenta

a expressão do VDR e RXR α e que aumentam a capacidade das células para responder a níveis baixos de vitamina D (18). Nrf2 também influencia a sinalização do Ca²⁺ ao regular a expressão do Bcl-2 (19).

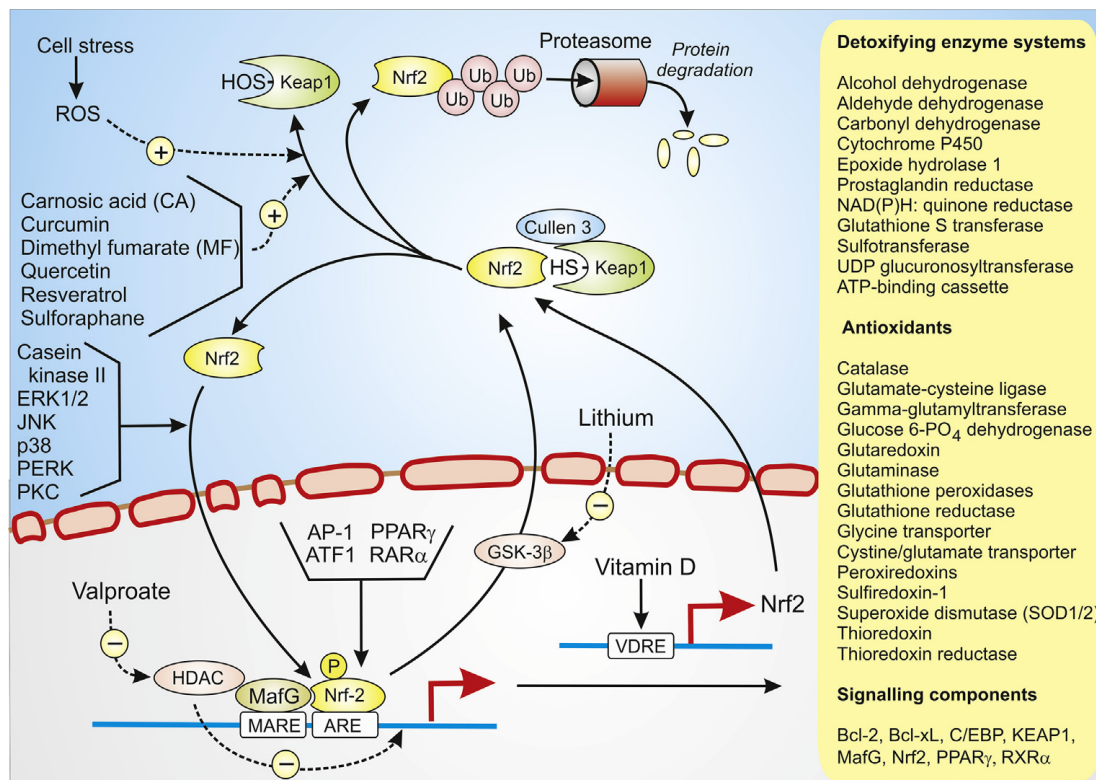


Fig. 6 – Regulação da função do Nrf2. A vitamina D actua ao aumentar a expressão do Nrf2, que é um factor de transcrição sensível ao stress e responde às espécies reactivas de oxigénio (ROS). Na ausência de stress celular e ROS, Nrf-2 liga-se à proteína Keap1, que está associada com a ubiquitina ligase cullin 3 que ubiquitina Nrf2 resultando na sua degradação pelo proteossoma. Quando os níveis de ROS aumentam, a Keap1 é oxidada e deixa de se ligar ao Nrf-2, que entra no núcleo e se liga ao elemento responsivo antioxidante (ARE) para aumentar a expressão de um largo número de antioxidantes, enzimas de desintoxicação e vários componentes de sinalização (13).

Klotho

Klotho é incluído na hipótese, por ser também responsável em diferentes vias de sinalização celular. Defeitos no Klotho, que é um gene anti-envelhecimento, têm diversos efeitos, nomeadamente disfunção endotelial. O Klotho é uma proteína transmembranar que contém um grande domínio extracelular, o qual é libertado com funções de factor humoral para controlar as vias de sinalização do factor de crescimento de insulina 1 (IGF1), Wnt, p53/p21, AMP cíclico e proteína kinase C (PKC) [Fig. 7] (20).

Para além do papel da vitamina D no controlo da expressão do Nrf2 e Klotho, existe um feedback negativo do Klotho em relação à 25(OH)D3-1 α -hidroxilase responsável pela síntese de vitamina D e o Nrf2 aumenta a expressão de Fos e JUN que aumentam a expressão de VDR e RXR que medeiam a actividade transcricional da vitamina D (13).

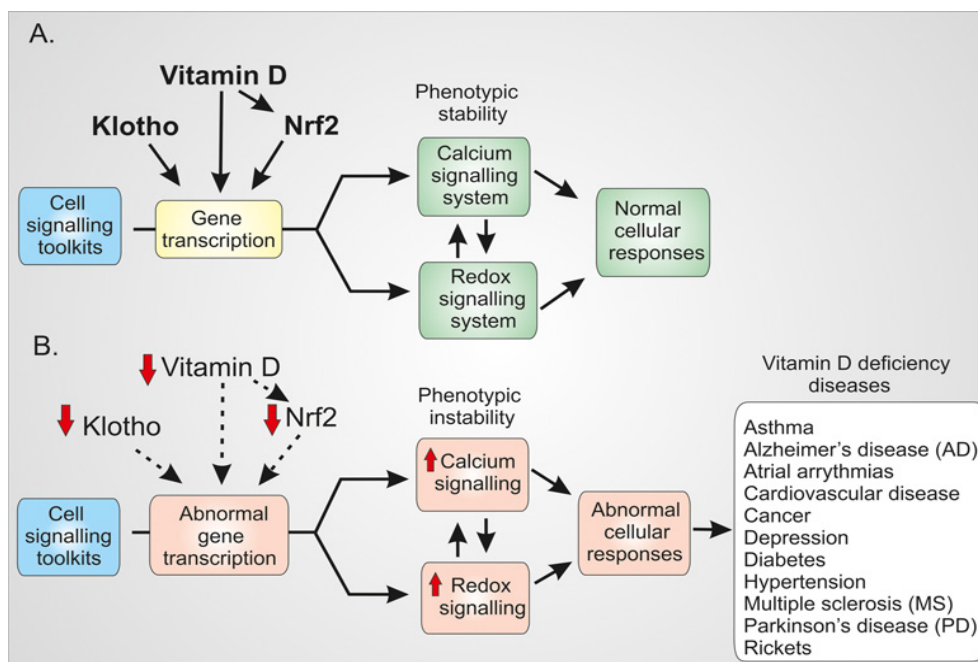


Fig. 7 – Hipótese de estabilidade fenotípica dependente da vitamina D. A- Vitamina D actua em conjunto com o Klotho e o Nrf2 activando a transcrição genética que é necessária para a estabilidade fenotípica das vias de sinalização do Ca²⁺ e redox. B- Uma diminuição nesta rede regulatória de vitamina D-klotho-Nrf2 resulta na instabilidade fenotípica destas vias de sinalização. As respostas celulares anormais, resultantes do aumento na sinalização do Ca²⁺ e redox, têm um papel importante no desenvolvimento de muitas doenças que têm sido ligadas aos défices de vitamina D (12).

Sinalização Ca²⁺ e ROS

A sinalização redox modula o sistema de sinalização do Ca²⁺ [Fig. 8]. Por exemplo, H₂O₂ aumenta a libertação de Ca²⁺ do retículo endoplasmático ao sensibilizar o receptor de inositol 1,4,5-trifosfatos e os receptores de rianodina. As espécies reactivas de oxigénio aumentam a actividade do SERCA (transporte ATPase de cálcio do retículo endoplasmático) que provoca um aumento no Ca²⁺ do retículo endoplasmático, fazendo com que o aumento da concentração de Ca²⁺ no retículo endoplasmático sensibilize os RYRs e os InsP₃Rs. Reciprocamente, a entrada de Ca²⁺ na mitocôndria aumenta o metabolismo energético, resultando num aumento da formação de superóxido e H₂O₂. A membrana plasmática e a mitocôndria são os dois principais locais de formação de ROS. Muitos sinais externos que se ligam aos receptores acoplados ao fosfoinosítido 3-kinase (PI3K) produzem fosfoinosítido (3,4,5)P₃ (PIP₃) que depois estimulam o NADPH oxidase (NOX) para formar O₂^{-•}. Este O₂^{-•} é depois transformado em H₂O₂ pelo superóxido dismutase (SOD). A formação de ROS pela mitocôndria é uma consequência do seu metabolismo energético.

A vitamina D regula o metabolismo do ROS por *down-regulation* do NOX que gera ROS e por *up-regulation* do SOD que converte O₂^{-•} em H₂O₂ (12). Também existe *up-regulation* de glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) para aumentar a formação de NADPH que é usado pelo GSH reductase para gerar o tampão major redox GSH (12). Finalmente, existe também *up-regulation* da expressão de glutathiona peroxidase (Gpx) que converte H₂O₂ em água (12).

A vitamina D mantém a homeostasia intracelular de Ca²⁺ através da regulação da expressão dos componentes da sinalização, tais como a calbindina D28k, Na⁺/Ca²⁺ exchanger (NCX) e membrana plasmática Ca²⁺-ATPase 1b (PMCA1b) (12). A actividade do NCX é também aumentada pelo Klotho que estimula o Na⁺,K⁺-ATPase que mantém o gradiente de Na⁺. A

vitamina D consegue ainda reduzir os níveis de Ca^{2+} , ao reduzir a expressão dos canais de cálcio dependentes de voltagem (12).

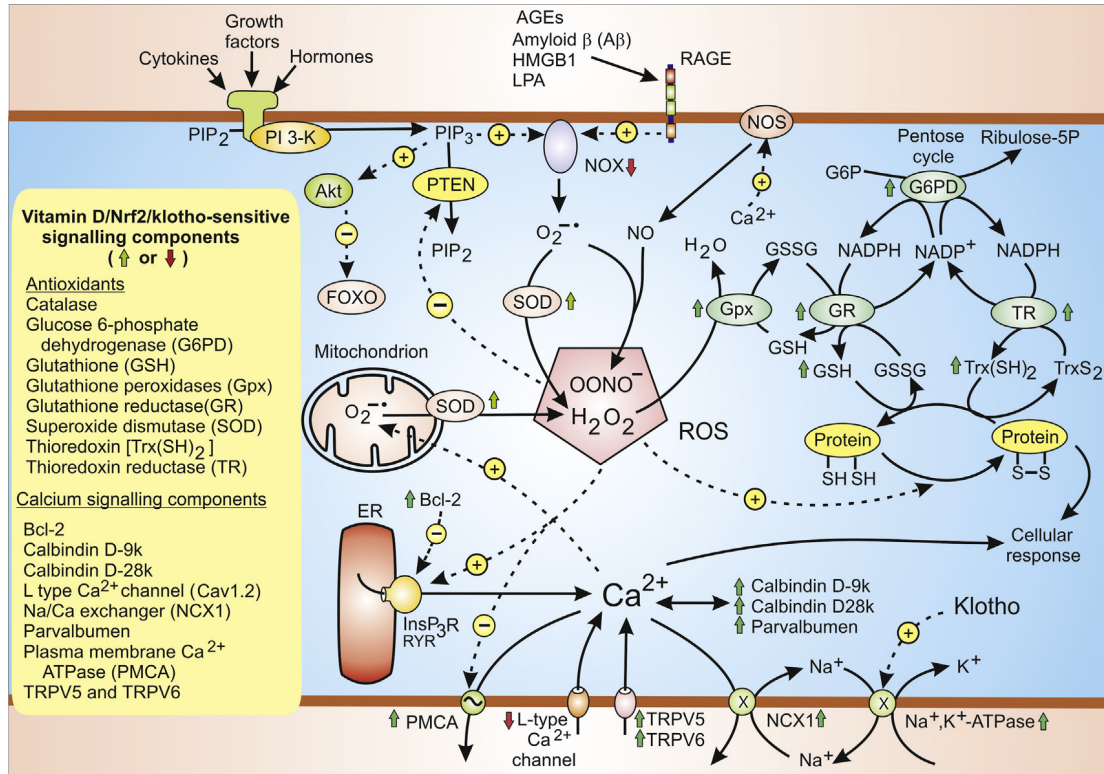


Fig. 8 – Regulação do Ca^{2+} e estabilidade da sinalização redox. As setas representam os componentes celulares que estão aumentados (verde) ou diminuídos (vermelho) pela vitamina D e Nrf2. As principais espécies reativas de oxigênio (ROS) nas células são superóxidos (O_2^-), peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e peroxinitrito ($ONOO^-$). As linhas tracejadas representam as principais interações entre o Ca^{2+} e as vias de sinalização redox. A caixa amarela sumaria alguns dos componentes de sinalização que são controlados pela sistema regulador vitamina D/NRF2/Klotho. (13)

Regulação epigenética

A vitamina D regula os mecanismos epigenéticos que mantêm a actividade transcricional dos genes que operam na rede regulatória [Fig. 9]. Isto é feito através do controlo da acetilação e metilação dos genes das regiões promotoras.

O dímero VDR-RXR (receptor retinóide X) recruta histonas acetiltransferases (HATs), tais como p300-CBP e receptores esteroides coactivadores 1 e 2 que levam a reacções de acetilação que abrem a cromatina e facilitam a transcrição.

A demetilação é essencial porque muitos dos genes regulados pela vitamina D estão silenciados pela metilação das ilhas CpG localizadas nas regiões promotoras. Por exemplo, a hipermetilação leva ao declínio da actividade da SERCA na doença cardiovascular (12).

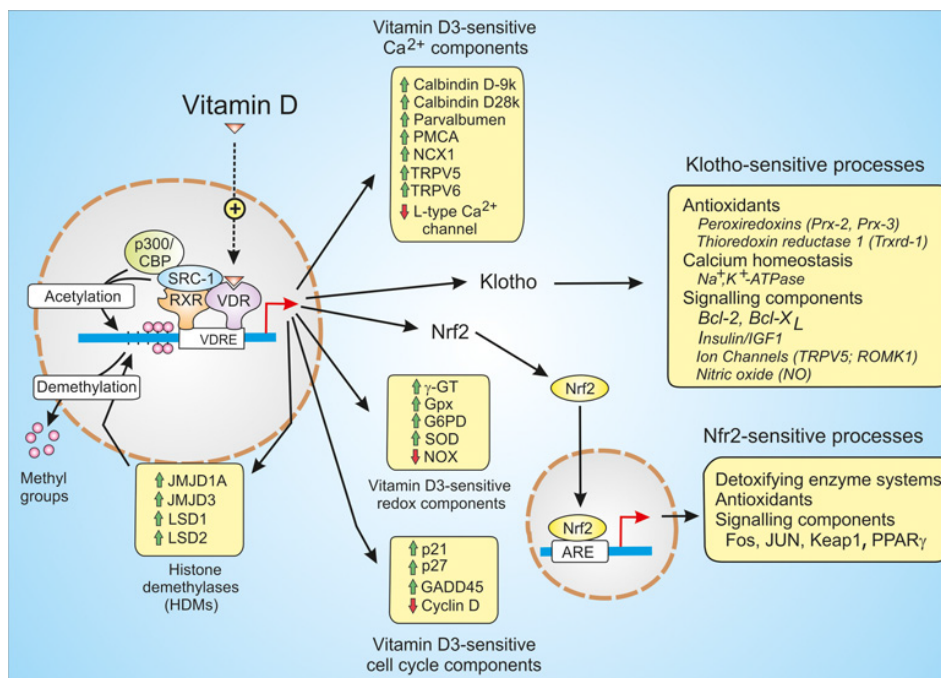


Fig. 9 – Regulação da vitamina D em múltiplos genes, como parte do seu papel na estabilidade fenotípica das vias de sinalização. A vitamina D liga-se ao VDR que interage com o RXR antes de se ligar aos elementos responsivos da vitamina D (VDRE) localizados num grande número de genes alvos sensíveis à vitamina D, muitos dos quais activados (verde) enquanto alguns inibidos (vermelho). O complexo VDR altera a paisagem epigenética ao recrutar acetilases de histonas, tais como o p300-CBP e SRC-1 que acetilam a cromatina, e ao aumentar a expressão das demetilases, tais como JMJD1A, JMJD3, LSD1 e LSD2, responsáveis pela demetilação da cromatina. Muitos destes genes regulam as vias de sinalização do Ca²⁺ e redox. Para além disso, a vitamina D controla a expressão do klotho e Nrf2, que são importantes reguladores de múltiplos sistemas de sinalização incluindo a via de sinalização do Ca²⁺ e redox. (12)

Disfunção endotelial

A vitamina D tem efeitos nas células endoteliais, onde estimula a produção de óxido nítrico (21), protege do stress oxidativo e previne a apoptose endotelial (22), através de diversas vias genómicas e não genómicas [Fig. 10].

Em culturas de células endoteliais de veias umbilicais humanas, a vitamina D estimula a produção de óxido nítrico através da activação da sintetase de óxido nítrico endotelial. Este mecanismo é dependente da activação do receptor de vitamina D (VDR) que despoleta a fosforilação do eNOS via p38 e proteína kinase B (Akt) (23). A interação entre o VDR e a activação do eNOS representa a principal acção da 25(OH)D na vasodilatação endotelial. No entanto, a vitamina D está também implicada na modulação do tónus vascular, através de mecanismos dependentes e independentes de cálcio nas células endoteliais. O endotélio produz e liberta factores constrictores, que são metabolitos derivados do ácido araquidónico. Esta libertação de factores depende do influxo de cálcio intracelular e da expressão da ciclooxigenase-1 (COX-1) (24).

A vitamina D pode proteger as células endoteliais do stress oxidativo, ao actuar contra a formação do anião superóxido e bloquear a cascada pro-oxidante (24).

Adicionalmente, parece existir um papel modulador da vitamina D na expressão das sirtuinas (proteínas reguladoras implicadas no stress oxidativo relacionado com a idade e na aterogénese). A 1,25(OH)₂D *upregulate* a expressão genómica da sirtuina-1 nas células HUVEC e reverte a *downregulation* da Sirtuina-1 induzida pelo H₂O₂. SirT-1 reduz as espécies reactivas de oxigénio em ratos, via inibição do receptor angiotensina tipo 1 e reduz a expressão do receptor para LDL oxidadas tipo 1 (LOX-1), o que diminui a formação de *foam cells* por acção dos macrófagos.

Em modelos HUVEC, a vitamina D contribuiu para a manutenção da função mitocondrial ao inibir a produção de superóxido, prevenindo a libertação de citocromo C e activação das caspases (22).

A vitamina D também reduziu a expressão de genes relacionados com a apoptose e a activação de vias pro-autofágicas, incluindo a fosforilação do ERK1/2 e AKt (22). Não só pode inibir a morte celular, como promover a regeneração vascular através do aumento das células mielóides angiogénicas e promover a reendotelização após dano na artéria carótida em ratos diabéticos (24).

Em grandes estudos clínicos em doentes com diabetes ou doença arterial coronária, a suplementação com vitamina D, não mostrou melhoria na função endotelial.

Resposta inflamatória

Vários estudos in vitro sugerem que a vitamina D suprime as citocinas pró-inflamatórias e aumenta as citocinas anti-inflamatórias. Os mecanismos envolvidos estão relacionados com a inibição das vias do NF- κ B e p38 pelos VDRs (25). Foi demonstrado efeito inibitório do calcitriol na expressão das interleucinas IL-6, IL-8 e RANTES e também na expressão de moléculas de adesão intercelulares e vasculares (ICAM-1 e VCAM-1) e moléculas de adesão celular endotelial plaquetária 1 [Fig.10] (25).

Existem estudos clínicos contraditórios, variando os estudos no tamanho da amostra, na duração do tratamento, diferentes níveis basais de vitamina D e doentes com diferentes patologias, sendo por isso necessário um estudo clínico bem desenhado para tirar conclusões (24).

Coagulação e fibrinólise

A vitamina D tem actividade anticoagulante (26), através da regulação da expressão dos factores pro-coagulantes e fibrinolíticos. Em células de músculo liso vascular, 1,25(OH)₂D reduziu a expressão do inibidor da activação do plasminogénio-1 (PAI-1), um dos principais inibidores da fibrinólise [Fig. 10] (27). Adicionalmente, 1,25(OH)₂D também conseguiu reduzir a expressão do factor tecidual e trombomodulina [Fig. 10] (26).

No entanto, não existem estudos clínicos prospectivos sobre este assunto, sendo necessários estudos em humanos, para confirmar estas hipóteses.

Glucose e insulina

VDR e 1 α -hidroxilase estão expressas em tecidos que têm um papel na homeostasia da glucose, incluindo músculo esquelético, tecido adiposo e células beta pancreáticas [Fig. 10] (28). Elementos responsivos à vitamina D (VDRE), estão distribuídos pelas regiões promotoras de vários genes envolvidos na sensibilização e secreção de insulina. Para além disso, a vitamina D regula o influxo de cálcio e o pool citosólico de cálcio em diferentes tipos de células, o que contribui para a fusão e secreção das vesículas de insulina nas células beta pancreáticas, favorecendo a fosforilação do receptor de insulina e a translocação do transportador de glucose-4 (GLUT-4) para a membrana plasmática dos adipócitos [Fig. 10] (29).

A vitamina D activa directamente o factor de transcrição do receptor do proliferador do peroxisoma activado (PPAR) γ , que está implicado na regulação do metabolismo dos ácidos gordos no músculo e tecido adiposo [Fig. 10] (24).

Em ilhas de Langerhans cultivadas, a exposição a citocinas, causa um aumento na apoptose das células beta, o qual foi quase totalmente prevenido com o tratamento com 1,25(OH)₂D.

A vitamina D restaurou a secreção de insulina através da modificação do perfil genético das células beta (24).

Numa meta-análise de estudos observacionais, apenas 3 de 6 estudos reportaram um menor risco da incidência de diabetes em doentes com altos níveis de vitamina D, comparado com o grupo com níveis baixos (30). Para além disso, 8 estudos clínicos não encontraram efeito da suplementação com vitamina D na glicémia ou incidência de diabetes (30). São por isso necessários mais ensaios clínicos, para verificar a associação entre a suplementação com vitamina D e uma melhoria na homeostasia da glucose (24).

Hormona da paratiróide

A vitamina D inibe a secreção de hormona da paratiróide e antagoniza a sua acção nos adipócitos e em culturas HUVEC (24). A PTH *downregulate* a expressão da 1α -hidroxilase e 25(OH)D nas células do músculo liso vascular, sugerindo um mecanismo de feedback entre o metabolismo da vitamina D e PTH no sistema cardiovascular e no tecido adiposo (24). Dado que a PTH contribui para um aumento da pressão arterial, hipertrofia do miocárdio e arritmias ventriculares, os efeitos da vitamina D podem contribuir para diminuir o risco cardiovascular [Fig. 10] (24).

A relevância clínica destes mecanismos ainda não foi provada.

Metabolismo lipídico

Em estudos *in vitro*, com modelos de hepatócitos, foi demonstrada uma relação entre a activação dos VDR e um aumento na expressão da apolipoproteína (apo) AI, através da modelação da proteína de ligação 2 responsiva ao elemento esterol (SREBP2) (24).

Num estudo transversal baseado na população com 4,06 milhões de participantes, observou-se uma relação entre o défice de vitamina D e um baixo nível de colesterol HDL, altos níveis de colesterol LDL e triglicéridos [Fig. 10] (31). No entanto, numa análise retrospectiva longitudinal no mesmo estudo, os doentes com um aumento nos níveis de vitamina D, passado 1 ano, não demonstraram alterações significativas, em comparação com os doentes que mantiveram os níveis de 25(OH)D abaixo de 30 ng/mL (31).

Numa meta-análise de estudos clínicos randomizados não foi demonstrada associação entre os baixos níveis de vitamina D e os *outcomes* analisados (pressão arterial, triglicéridos, LDL-C e HDL-C) (32).

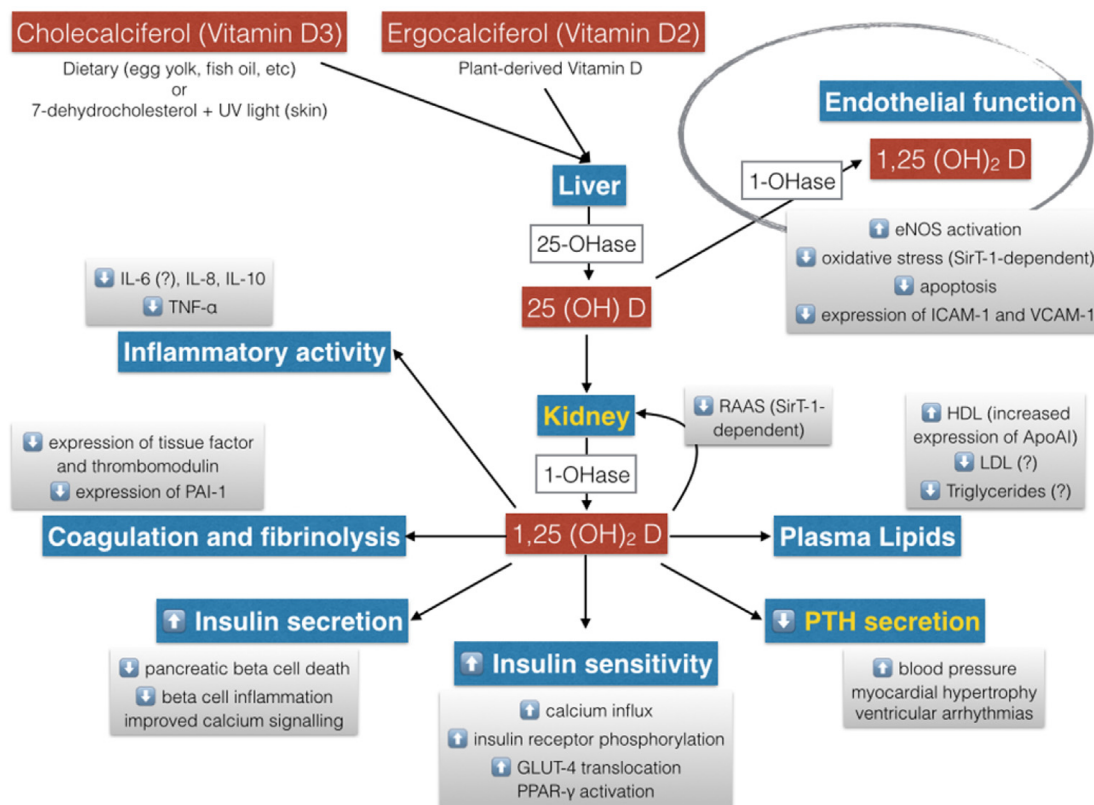


Fig. 10 – Representação esquemática do metabolismo e ações da vitamina D, que podem estar implicadas directa ou indirectamente no processo aterogénico. (24)

Resultados

Influência da vitamina D nos factores de risco cardiovasculares

Hipertensão

Níveis baixos de 25(OH)D têm sido associados com um aumento do risco de prevalência e incidência de hipertensão. Existem 2 mecanismos principais pelos quais se pensa que a vitamina D influencia a pressão arterial. O VDR está presente nas células musculares lisas vasculares, onde inibe o crescimento celular, consequentemente aumentando a *compliance* arterial. Adicionalmente, a vitamina D inibe o sistema renina-angiotensina-aldosterona ao reduzir a produção de renina (33).

A secreção de renina pelas células granulares produtoras de renina, é controlada pela via de sinalização do AMP cíclico, sendo que a vitamina D actua, ao prevenir a ligação da CREB ao gene promotor da renina (34). A excessiva libertação de renina e o resultante aumento na angiotensina II, podem ter múltiplos efeitos em alguns componentes chave do sistema cardiovascular. Uma das acções da angiotensina II é o aumento da formação de endotelina-1, que é um potente vasoconstritor e contribui para hipertensão induzida pela angiotensina II. Esta acção vasoconstrictora da angiotensina II é amplificada pela activação do NOX1 de superfície que aumenta a formação de ROS, que vai estimular a sinalização do Ca²⁺ e subsequentemente a contracção da células musculares lisas, originando hipertensão (13).

O tónus das células musculares lisas, que determina a pressão arterial, também é regulado pelas células endoteliais que libertam factores de relaxamento e contracção. Na hipertensão, a libertação de factores de contracção está aumentada, devido a *up-regulation* da sinalização de Ca²⁺ endotelial. A vitamina D pode normalizar o tónus muscular liso pela redução da entrada

de Ca²⁺ provocado pelos factores de contração (13). O Klotho pode também ter um papel importante como já foi abordado anteriormente.

Foi reportada uma associação entre o nível sérico de 25(OH)D e a pressão arterial sistólica em dois estudos transversais.

Scragg et al (35) examinou 12644 sujeitos do estudo NHANES III e excluiu aqueles com diagnóstico de hipertensão. Realizou uma análise por quintis de concentração de 25(OH)D ajustado para multivariáveis e descobriu uma pressão arterial sistólica 1,8 mmHG mais baixa e pressão de pulso 1,6 mmHg mais baixa no quintil mais elevado (>85,7 nmol/L) que no quintil mais baixo (<40,4 nmol/L). Um aumento de 25(OH)D de 20 para 100 nmol/L provocou uma diminuição de 1,8 mmHg na pressão arterial sistólica em sujeitos com <50 anos e 4,6 mmHg em sujeitos com >50 anos.

Judd et al (36) realizou uma análise de 7699 sujeitos sem diagnóstico anterior de hipertensão. Após controlo para a idade, não foi encontrada relação linear entre a concentração de 25(OH)D e a pressão arterial. No entanto, encontraram uma interacção estatisticamente significativa entre a idade e 25(OH)D, sugerindo que a vitamina D modera o aumento da pressão arterial sistólica, associada à idade.

Em contraste, Snijder et al (37) não encontrou associação entre as concentrações de 25(OH)D e pressão arterial sistólica ou diastólica numa análise transversal em adultos idosos, no estudo Longitudinal Aging Study Amsterdam. Apesar de não existir associação entre a concentração de 25(OH)D e a pressão arterial sistólica ou diastólica, as concentrações de PTH estavam positivamente associadas com a pressão arterial, após ajuste para variáveis de confundimento. Uma possível explicação dos resultados negativos, deve-se ao facto de apenas 10% dos sujeitos terem défice de 25(OH)D (<12ng/mL).

Dois grandes estudos de coorte examinaram a relação entre as concentrações de 25(OH)D e a incidência de hipertensão.

Forman et al (38) fez uma análise combinada do Nurses' Health Study e do Health Professionals' Follow-Up Study, em que analisou 1198 mulheres e 613 homens sem história prévia de hipertensão. Após um follow-up de 4 anos, o risco relativo da incidência de hipertensão em homens com concentrações de 25(OH)D <15 ng/mL foi de 6,13 em comparação com concentrações >30ng/mL. Nas mulheres, o risco relativo para as mesmas concentrações foi de 2,67. No entanto, o risco foi atenuado ao fim de 8 anos de follow-up.

Em 2008, Forman et al (39) realizou um estudo caso-controlo aninhado dentro do Nurses' Health Survey da hipertensão incidental e concentração de 25(OH)D. Os sujeitos foram emparelhados por diversas variáveis. A média de concentração de 25(OH)D foi menor naqueles com hipertensão incidental (25,6 ng/mL) do que nos restantes (27,3 ng/mL). Comparando o quartil mais baixo com o mais alto tem o *odd ratio* ajustado de 1,66.

Os estudos intervencionais avaliando a eficácia da suplementação da vitamina D, vitamina D e cálcio, ou exposição a luz ultravioleta no tratamento ou diminuição da incidência de hipertensão, tiveram resultados diferentes. Vários estudos reportaram uma redução na pressão arterial, enquanto outros falharam em demonstrar efeito significativo.

Num estudo randomizado duplamente cego com vitamina D (800IU/d) e cálcio (1200mg/d) vs só cálcio, em mulheres com idade superior a 70 anos, o grupo com vitamina D demonstrou uma redução significativa na pressão arterial sistólica (5).

Num estudo com terapia ultravioleta B, em que os níveis de 25(OH)D aumentaram 162%, a pressão sistólica e diastólica reduziram 6 mmHg, enquanto nenhuma alteração foi registada nos controlos com terapia ultravioleta A (5).

No estudo Women's Health Initiative em que participaram 36282 mulheres, com vitamina D (400 IU/d) e carbonato de cálcio (1000mg/d) ou placebo, a vitamina D não mostrou efeito na hipertensão incidental auto-reportada ou na redução da pressão arterial ao fim de 7 anos de *follow-up*. Existem no entanto, vários problemas metodológicos, nomeadamente a dose ser

inadequada, assim como o estudo não ter sido desenhado para avaliar a hipertensão como *outcome* primário.

Síndrome metabólico, hiperlipidémia e obesidade

Factores de risco cardiovascular como a hiperlipidémia, obesidade e diabetes normalmente aglomeram-se nos mesmos indivíduos para além do que seria esperado pelas probabilidades. Esta conjugação de factores é referida como síndrome metabólico. A partir de dados do estudo NHANES III, níveis baixos de 25(OH)D estavam associados com a prevalência de factores metabólicos, incluindo hipertensão, diabetes, hipertrigliceridémia, obesidade e síndrome metabólico, com ajuste para idade, sexo e raça (40).

Num estudo não controlado por Pérez-Castrillón et al (41), atorvastatina usada como prevenção secundária, em doentes com síndromes coronários agudos, não só diminuiu os níveis de colesterol mas também aumentou significativamente os níveis de vitamina D ao fim de 12 meses. Esta relação pode ser em parte devido à via metabólica partilhada pelo colesterol e produção de vitamina D, através da via do 7-dehidrocolesterol.

Indivíduos obesos têm maior risco de desenvolver hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes e subsequentemente mortalidade por eventos cardiovasculares. Também têm maior probabilidade de ter défice de vitamina D. As células adiposas sequestram vitamina D (vitamina esteróide, solúvel em gordura), fazendo com que as reservas fiquem menos disponíveis para a activação biológica (42). Para além disso, indivíduos obesos podem ser menos activos ao ar livre ou podem ter hábitos de vestuário que limitam a produção de vitamina D pela acção da luz solar na pele (33). Fica então a dúvida se o défice de vitamina D precede o desenvolvimento da obesidade.

Vimaleswaran et al (43) realizou uma randomização mendeliana bidirecional em que demonstrou uma relação causal unidirecional, indicando que a obesidade leva a uma diminuição dos níveis de vitamina D e não ao contrário. Nesta investigação incluíram 21 estudos de coorte, com 42024 doentes. Analisaram 12 polimorfismos nucleótidos únicos (SNP) relacionados com o índice de massa corporal e 4 SNPs relacionados com a vitamina D. Ficou demonstrado que cada unidade de aumento no índice de massa corporal estava associado com 1,15% de diminuição nos níveis de 25(OH)D, após ajustamentos nas variáveis de confundimento. Os autores concluíram que a obesidade é um factor de risco para défice de vitamina D, representando um terço dos casos de défice de vitamina D. Por outro lado, os níveis de 25(OH)D determinados geneticamente não estavam significativamente relacionados com o índice de massa corporal.

Num estudo da Insulin Resistance Atherosclerosis Family Study de hispânicos e negros adultos, confirmou que níveis mais altos de 25(OH)D estavam inversamente associados com o índice de massa corporal e medidas de adiposidade visceral e subcutânea (44). No entanto, os níveis basais de 25(OH)D não estavam significativamente associados com alterações nestes marcadores de adiposidade ao fim de 5 anos.

Num ensaio clínico da Women's Health Initiative, mulheres randomizadas com cálcio e vitamina D₃, tiveram menor aumento de peso comparado com as mulheres com placebo (45).

Numa análise com múltiplas variáveis, foi calculado uma diminuição de 0,74 nmol/L de vitamina D por cada 1 kg/m² de aumento no índice de massa corporal, e uma diminuição de 0,29 nmol/L por cada centímetro de aumento no perímetro da cintura (46).

O défice de vitamina D é mais prevalente em doentes obesos mórbidos, que sofrem de síndrome metabólico do que comparados com aqueles sem critérios de síndrome metabólico. Adicionalmente, os níveis de colesterol HDL eram mais baixos e o níveis de triglicédeos mais altos no grupo com défice de vitamina D (47).

Alguns estudos observacionais indicam uma associação entre défice de vitamina D e menores níveis de HDL e níveis mais elevados de triglicéridos (48).

Um estudo prospectivo demonstrou uma associação entre os níveis de vitamina D baixos e a hipercolesterolemia (49). No entanto os resultados são inconsistentes e podem ser alvo de confundimento devido à ligação da vitamina D com a obesidade, como referido anteriormente.

A maioria dos estudos onde foi avaliada a suplementação com vitamina D no perfil lipídico revelou ser inconsistente, em que não existiu efeito significativo relativamente ao placebo (50).

É então difícil analisar separadamente os diversos factores de risco (síndrome metabólica, obesidade e hiperlipidémia) no contexto de défice de vitamina D e são necessários mais estudos clínicos randomizados para analisar cada um pormenorizadamente.

Diabetes

Os mecanismos possíveis para a influência da vitamina D na homeostasia da glucose e insulina já foram abordados anteriormente. Assim sendo, é um facto que o défice de vitamina D tem sido associado à diabetes mellitus.

Num estudo caso controlo aninhado foi demonstrada uma associação entre os níveis de 25(OH)D3 e a incidência de diabetes mellitus com *odds* relativas entre o quartil mais alto e o mais baixo de 0,28 nos homens e 1,14 nas mulheres, após ajuste para variáveis de confundimento (51).

Noutro estudo observacional a ingestão de vitamina D e cálcio correlacionava-se inversamente com diabetes tipo 2 (52).

Numa meta análise por Mitri et al (53) foi demonstrado que consumos superiores a 500 UI diminuíaam o risco de diabetes tipo 2 em 13%, comparado com consumos de menos de 200 UI por dia. Níveis de 25(OH)D superiores a 25 ng/ml estavam associados com um risco 43% inferior de desenvolver diabetes, comparados com níveis inferiores a 14 ng/ml.

Dados de estudos intervencionais usando suplementação com vitamina D, como alvo do controlo glicémico, são reduzidos. Foi demonstrado um aumento na função de células beta durante 16 semanas de colecalciferol 2000 UI/dia, num ensaio randomizado com 92 adultos em risco para diabetes (54). Num ensaio duplamente cego, foram investigados os efeitos de colecalciferol 4000 UI/dia na resistência à insulina em 81 mulheres, sem serem medicadas para diabetes mellitus tipo 2, onde foram demonstradas melhorias na sensibilidade à insulina e diminuição da insulina em jejum, no entanto só foram demonstrados efeitos ao fim de 6 meses de tratamento e quando foram atingidos níveis superiores a 80 nmol/L (5).

Mais dados ficarão disponíveis após o estudo “Effects of Vitamin D Supplementation With and Without Exercise on Metabolic and Physical Consequences of Vitamin D Deficiency in the Elderly” (NCT01145703).

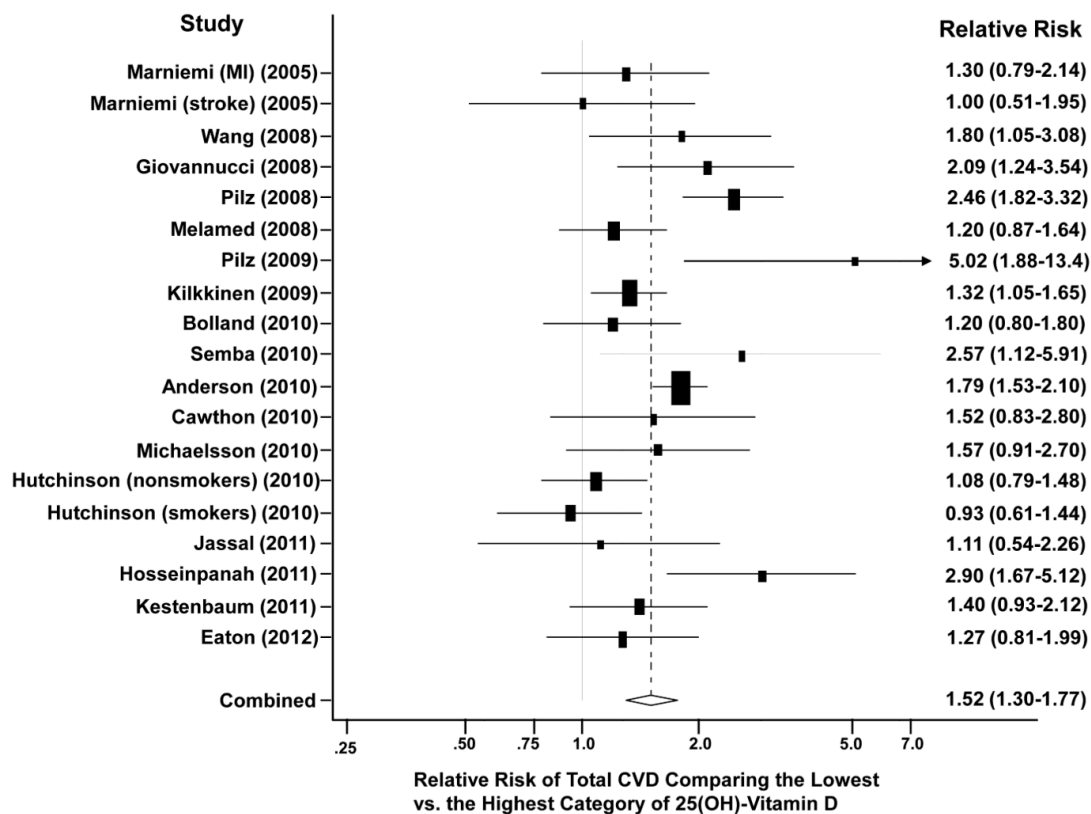
Challoumas et al (55), em 2015, reuniu os pontos chave de ensaios clínicos randomizados, revisões sistemáticas e meta-análises em que avaliavam os efeitos da monoterapia de vitamina D, nos diferentes parâmetros do sistema cardiovascular.

Parâmetros	Estudos considerados	Resumo das ideias chave
Pressão arterial	Scragg et al (1995) Nagpal et al (2009) Witham et al (2010) Guessous et al (2011) Witham et al (2013) Witham et al (2013)	Não existe evidência significativa que suporte os efeitos da vitamina D em monoterapia na pressão arterial, positivos ou negativos. Apesar de terem sido reportados efeitos benéficos na população diabética, a maioria da literatura não reportou associação nos subgrupos populacionais, incluindo, mas não limitado à população feminina com déficit de vitamina D do Sul Asiático e a doentes idosos com hipertensão sistólica isolada.
Lípidos	Heikkinen et al (1997) Jorde et al (2010) Wang et al (2012) Chai et al (2013) Challoumas (2013)	Em contraste com a associação positiva da vitamina D no perfil lipídico reportado nos estudos observacionais, implicando propriedades protectoras de níveis mais elevados de 25(OH)D, estudos randomizados não demonstraram isso. A suplementação não parece ter benefícios nos lípidos séricos, enquanto uma meta-análise encontrou possíveis efeitos adversos.
Metabolismo da glucose	Pittas et al (2007) Von Hurst et al (2010) Mitri et al (2011)	Os dados existentes são inconclusivos, com estudos a reportar resultados controversos. Apesar dos resultados do ensaio clínico do cálcio e vitamina D na diabetes mellitus suportar uma melhoria na função das células beta-pancreáticas com a monoterapia com vitamina D, não existe evidência convincente nos benefícios no metabolismo da glucose.

Tabela 2 – Ideias chave dos estudos com monoterapia com vitamina D. Adaptada de Challoumas et al (55).

Estudos de vitamina D e doença cardiovascular

Wang et al (10) realizou uma meta análise com 19 estudos individuais a reportarem dados de 25(OH)D por categorias e 10 estudos também a reportarem os dados de 25(OH)D em níveis absolutos [Fig. 11]. Baseado nos dados disponíveis para eventos cardiovasculares específicos, os riscos relativos foram, 1,42 para mortalidade por doença cardiovascular, 1,38 para doença coronária, 1,64 para acidente vascular cerebral, comparando a categoria de 25(OH)D mais baixa com a mais alta. Numa análise estratificada para avaliar potenciais fontes de heterogeneidade entre estudos, a associação inversa entre 25(OH)D e risco cardiovascular foi consistente, independentemente da idade, número de casos, métodos de quantificação de 25(OH)D, exclusão de doença cardiovascular de base e controlo para factores de confundimento nos estudos individuais. As associações pareceram fortes em estudos com *follow-up* inferior a 10 anos e atenuaram-se quando o tempo de *follow-up* foi mais longo.



Test of Between-Study Heterogeneity: Q-test, $P=0.0003$; I^2 , 1.6 (1.2-2.1); I square, 61 (35-76).

Figura 11 – Meta análise de 19 estudos independentes. Riscos relativos ajustados e com intervalo de confiança de 95% de total de eventos cardiovasculares (enfarte do miocárdio, acidente vascular cerebral e mortalidade cardiovascular) foram estimados comparados a categoria mais baixa, versus a mais alta da concentração de 25(OH)D. Os quadrados significam o risco relativo em cada estudo. O tamanho dos quadrados é proporcional à precisão do risco relativo. A linha horizontal representa o intervalo de confiança de 95%. O risco relativo “pooled” e o intervalo de confiança estão indicados pelo diamante. (10)

Wang et al (10) realizou um teste de relação linear nos níveis de 25(OH)D desde 20 até 140 nmol/L. O risco cardiovascular aumentou monotonamente com a diminuição da concentração de 25(OH)-vitamina D abaixo dos 60 nmol/L, com um risco relativo de 1,03 por 25nmol/L de decréscimo no 25(OH)D. Acima de 60 nmol/L, não existiu claro aumento ou diminuição do risco cardiovascular. Quando a análise se restringiu aos estudos que excluía participantes com doença cardiovascular de base e melhor controlo das variáveis de confundimento, o risco relativo para doença cardiovascular por 25nmol/L de decréscimo na 25(OH)D foi de 1,07 [Fig. 12].

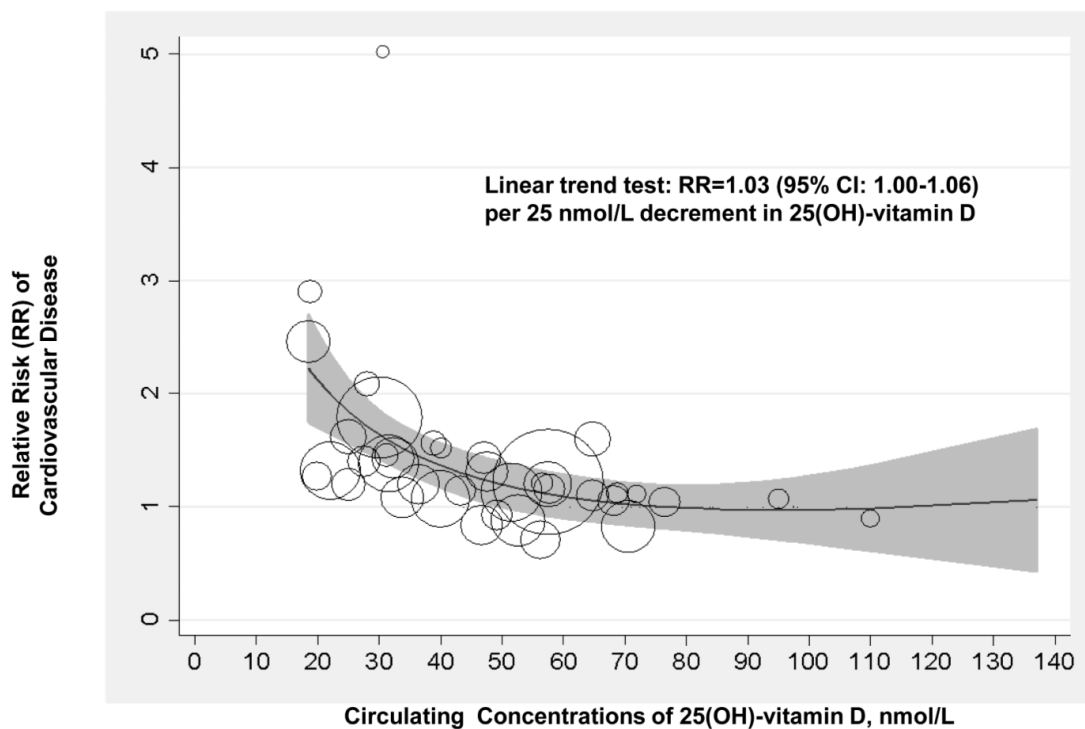


Figura 12 – Associação da dose-resposta entre a 25(OH)D circulante e o risco de doença cardiovascular em 16 estudos prospectivos. A análise foi realizada usando uma regressão fraccional polinomial. Os círculos indicam o risco relativo em cada estudo. O tamanho dos círculos é proporcional à precisão do risco relativo. (10)

Nesta meta análise (10), que foi baseada em dados de estudos observacionais, o resultado está sujeito ao enviesamento dos estudos. No entanto existiu ajuste para potenciais factores de confundimento, nomeadamente a idade, IMC e actividade física, não podendo ser excluídos factores de confundimento residuais.

Pérez-López (47) realizou uma revisão dos estudos que relacionam a vitamina D com a doença cardiovascular e condições relacionadas.

Pérez-López (47) cita Wang et al (56) num estudo em que o risco cardiovascular e os níveis de 25(OH)D foram estudados em indivíduos sem doença cardiovascular prévia do Framingham Offspring Study. No geral, 28% dos indivíduos tinham níveis de vitamina D inferiores a 15ng/ml e 9% tinham níveis inferiores a 10 ng/mL. Apenas 10% dos participantes tinham níveis acima de 30 ng/mL, que são considerados óptimos para o metabolismo ósseo. Durante o *follow-up* médio de 5,4 anos, 120 participantes desenvolveram o primeiro evento cardiovascular incluindo doença coronária fatal e não fatal, 28 participantes sofreram um evento cerebrovascular fatal ou não fatal, tais como acidente vascular cerebral não hemorrágico, 19 participantes foram diagnosticados com insuficiência cardíaca e 8 tiveram episódios de claudicação. Os indivíduos com 25(OH)D inferior a 15 ng/mL tiveram maior incidência de eventos cardiovasculares, comparados com aqueles com níveis superiores a 15 ng/mL. Este efeito foi evidente nos participantes com hipertensão, mas não naqueles sem hipertensão. As pessoas com baixos níveis de vitamina D e hipertensão arterial tinham o dobro do risco de sofrer de um evento cardiovascular, comparado com pessoas com pressão arterial e níveis de vitamina D normais [Fig. 13]. O défice de vitamina D não estava correlacionado com problemas cardiovasculares em pessoas sem hipertensão arterial. No entanto, alguns problemas foram levantados em relação à população de estudo, os presumíveis normais ou até elevados níveis de vitamina D endógena e o possível efeito

negativo vascular dos suplementos de vitamina D e cálcio, quando os níveis basais já eram altos antes do tratamento.

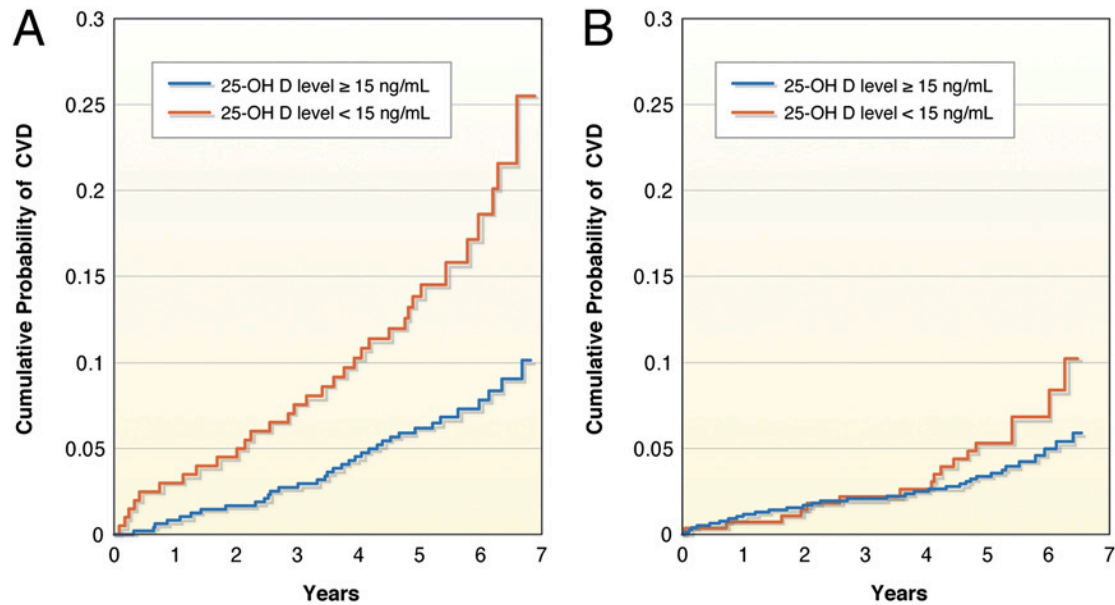


Figura 13 – Curvas de probabilidade cumulativa do primeiro evento cardiovascular em participantes com hipertensão (A) e sem hipertensão (B) (56).

Pérez-López (47) cita Melamed et al (57) que analisou dados de 4839 participantes do estudo NHANES, para examinar uma possível relação entre 25(OH)D e doença arterial periférica definida pelo índice tornozelo-braço $<0,9$. Este índice mede o fluxo sanguíneo para o membro inferior. Os níveis de 25(OH)D foram divididos em quartis, e do mais baixo para o mais alto, a prevalência de doença arterial periférica foi de 8,1% , 5,4%, 4,9% e 3,7%. Apesar dos ajustes para a idade, sexo, raça e problemas de saúde co-existent, manteve-se uma prevalência 64% maior no grupo com os níveis mais baixos de vitamina D, em comparação com o mais alto. Por cada diminuição de 10 ng/mL, o risco de doença arterial periférica aumentava 29%. Apesar de parecer que os níveis baixos de 25(OH)D estão associados com maior prevalência de doença arterial periférica, o desenho deste estudo transversal não permite uma interpretação causal relacional ou que a vitamina D por si só tenha um efeito protetor no sistema circulatório, mas que possivelmente os níveis mais altos de vitamina D

estejam relacionados com outras práticas saudáveis, tais como uma dieta saudável e actividade física.

Pérez-López (47) cita Dobnig et al (58), um estudo coorte prospectivo com 3258 indivíduos marcados para angiografia coronária, em que os níveis de 25(OH)D e 1,25(OH)2D foram classificados por quartis e relacionados com mortalidade cardiovascular e mortalidade total, durante um *follow-up* de 7,7 anos. Os doentes nos 2 quartis mais baixos tiveram uma maior mortalidade global (RR=2,08 e RR=1,53) e cardiovascular (RR=2,22 e RR=1,82) comparados com doentes nos quartis mais elevados [Fig. 14].

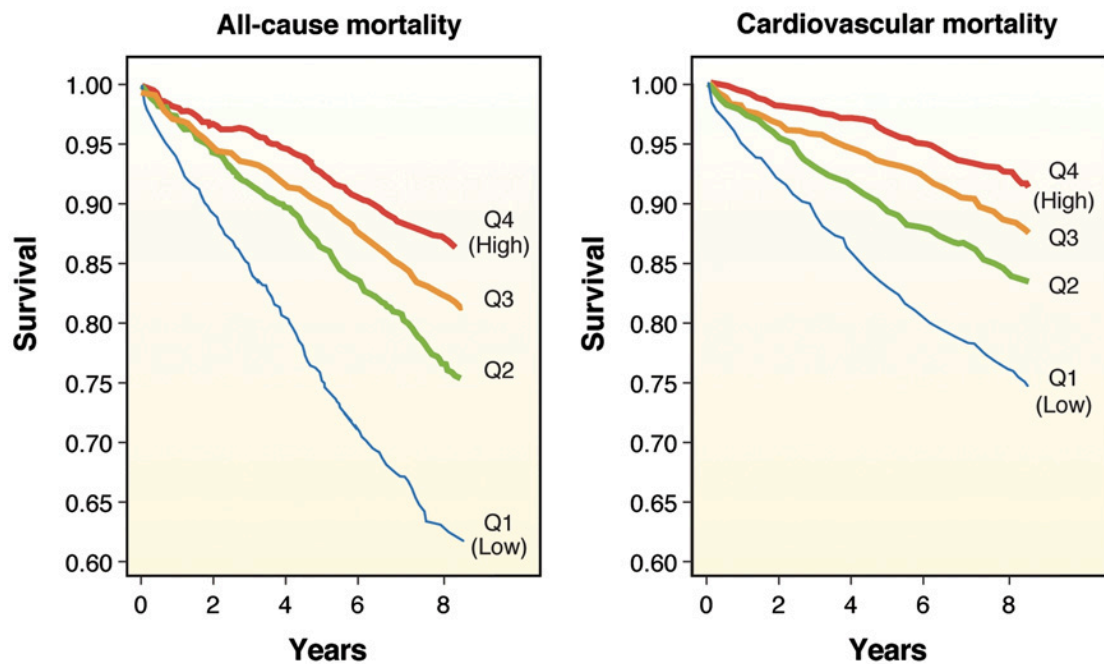


Figura 14 – Mortalidade de todas as causas e mortalidade cardiovascular dos diferentes quartis de 25-hidroxivitamina D (58).

A associação dos níveis de 25(OH)D e morte súbita também foram estudados no mesmo coorte, durante um *follow-up* de 7,7 anos. Após ajustamento para factores de risco de confundimento, os riscos relativos para morte devido a insuficiência cardíaca e morte súbita foram 2,84 e 5,05, respectivamente, comparando doentes com níveis de 25(OH)D <10 ng/mL e >30ng/mL (59). Na mesma população referida para angiografia coronária foi reportada a

influência dos níveis de vitamina D em acidentes vascular fatais isquêmicos e hemorrágicos ocorridos durante um follow-up de 7,75 anos. O risco relativo para acidentes vasculares cerebrais não fatais, em comparação com fatais, foi de 0,58 para 25(OH)D e 0,62 para 1,25(OH)2D nos níveis mais elevados (60). Parece que níveis de vitamina D mais baixos são marcadores independentes, predictivos de acidente vascular cerebral fatal.

A associação de níveis baixos de 25(OH)D com mortalidade total [Fig. 15], por cancro e cardiovascular foram reportados no terceiro NHANES. Durante 9,7 anos, existiram 1806 mortes, incluindo 777 por doença cardiovascular. Após ajustamento para factores de confundimento, indivíduos com 25(OH)D no quartil mais baixo <17,8 ng/mL estava associado com um aumento de 26% na mortalidade total e um risco populacional de 3,1%, enquanto a mortalidade cardiovascular tinha um risco aumentado mas não estatisticamente significativo (61).

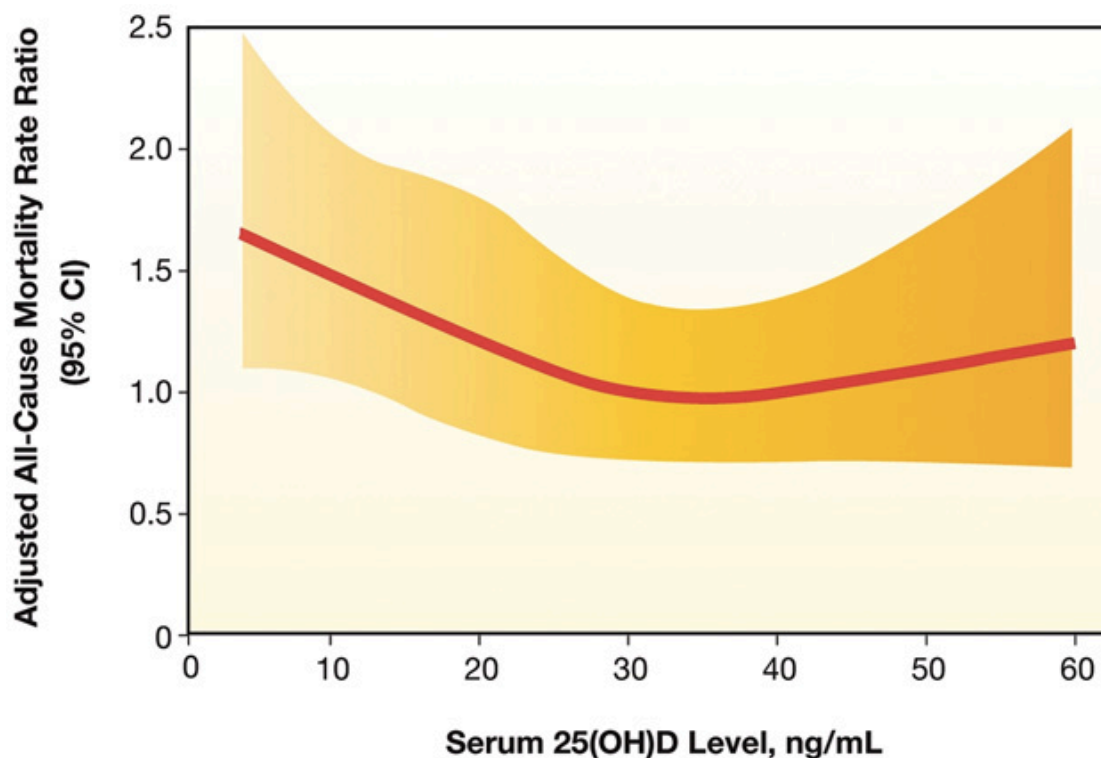


Figura 15 – Associação dos níveis de 25-hidrovitamina D e mortalidade de todas as causas em participantes do Third National Health and Nutrition Examination Survey (61)

Num estudo caso-controlo indiano citado por Pérez-López (47), foram medidos os níveis de 25(OH)D em 143 doentes com evidência angiográfica de doença coronária ou doentes com enfarte agudo do miocárdio e 70 controlos. Em 59,4% dos casos e 22,1% dos controlos os níveis de 25(OH)D estavam acima de 89 ng/mL. Os resultados foram submetidos a regressão logística multivariável considerando os factores de confundimento, sendo que os riscos relativos ajustados relacionando níveis elevados de 25(OH)D e doença cardíaca isquémica foram de 3,18.

Numa população ambulatória de doentes com doença coronária estável, os doentes com níveis de vitamina D inferiores a 20 ng/ml tinham uma incidência 50% superior de ter eventos cardiovasculares do que os doentes que tinham níveis superiores a 20 ng/mL. Mesmo depois de ajustamento para factores sociodemográficos, comportamentos não saudáveis e comorbilidades manteve-se uma incidência 30% superior. No entanto, após ajustamento para os níveis de hormona da paratiróide, a associação deixou de ser significativa. Existe a possibilidade que a correcção dos níveis de vitamina D pode reduzir o risco de doença cardiovascular ao prevenir a elevação da hormona da paratiróide (62).

Numa análise com mais de 27000 doentes do Intermountain Healthcare System, a prevalência de défice de vitamina D (<30 ng/ml) foi superior a 60% e esse défice de vitamina D estava associado com um aumento significativo da prevalência de diabetes mellitus tipo 2, hipertensão e dislipidémia. Para além disso, estava também associado com doença coronária, enfarte do miocárdio, insuficiência cardíaca e acidente vascular cerebral, assim como mortalidade [Fig. 16] (63).

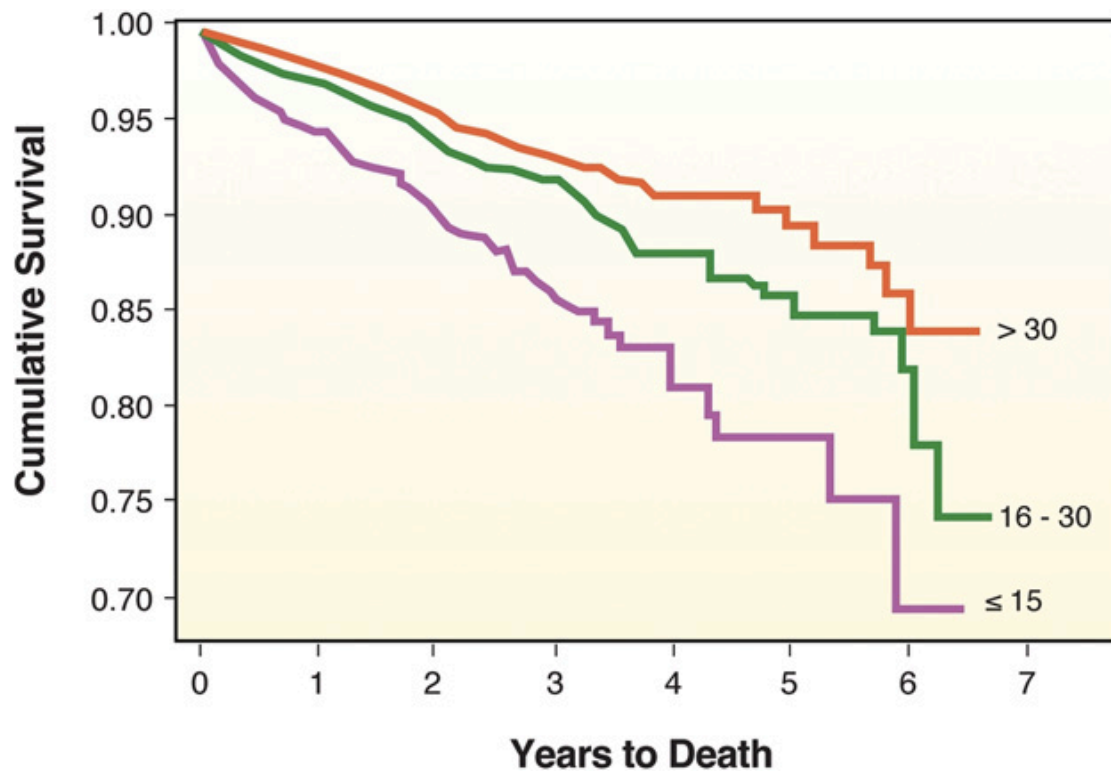


Figura 16 - Curvas de sobrevivência, de acordo com o nível base de vitamina D no estudo Intermountain (61)

Numa meta-análise de J.Parker et al (9), todos os estudos, excepto 3, mostraram que níveis altos de vitamina D estavam associados com a redução da prevalência de doença cardiovascular, com risco relativo de 0,67 [Fig. 17].

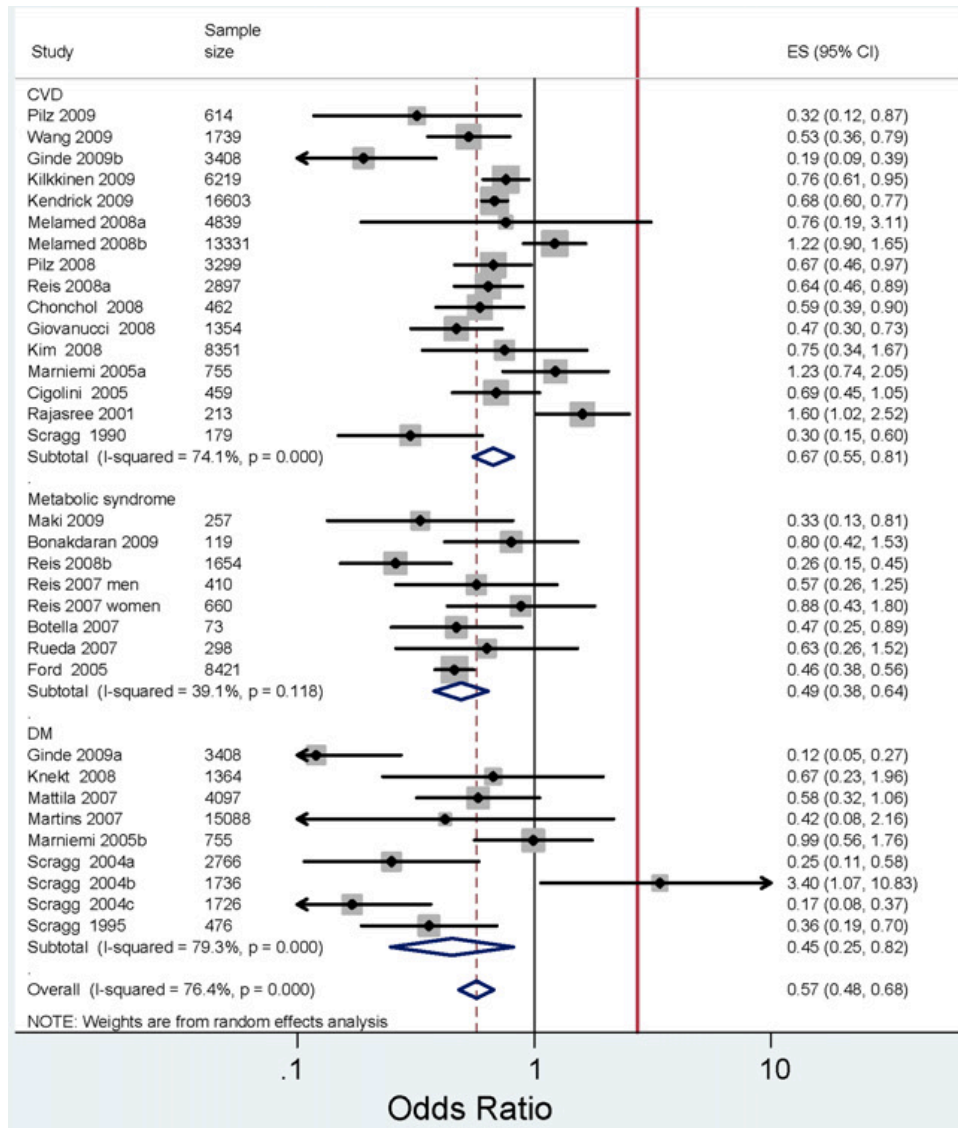


Figura 17 – Riscos relativos dos níveis de vitamina D e risco de doença cardiometabólica por outcomes (doença cardiovascular, diabetes mellitus e síndrome metabólico) (9)

Estudos controlo randomizados com suplementação de vitamina D

Challoumas et al (55) diz que o Women's Health Initiative é o estudo controlo randomizado mais importante sobre este assunto, com grande impacto clínico. O objectivo principal do estudo era investigar se suplementação combinada de cálcio e vitamina D, tinha efeitos no risco de fracturas de mulheres pós-menopáusicas. O estudo mostrou que não reduzia as fracturas, apesar de uma pequena mas significativa melhoria na densidade óssea da anca.

Subsequentemente, Bolland et al (64) reanalisou os dados do WHI em relação ao risco cardiovascular, mais especificamente a incidência de 4 eventos cardiovasculares: enfarte do miocárdio, revascularização coronária, morte por doença coronária e acidente vascular cerebral.

Um dos maiores problemas deste estudo era o facto de ser permitido aos participantes tomar suplementos por si próprios, independentemente do grupo a que pertenciam. Inicialmente até um terço dos participantes dos dois grupos tomavam vitamina D adicional de pelo menos 400UI/dia e/ou cálcio de pelo menos 500mg/dia, e no fim do estudo aproximadamente 70% tomavam suplementos de cálcio adicionais. Depois de reanalisar os dados, Bolland et al removeram todos os participantes a tomar suplementos de cálcio adicionais e analisaram-nos separadamente, baseado no facto do estudo Auckland Calcium Study, mostrar uma tendência para maiores eventos cardiovasculares com suplementos de cálcio em mulheres pós-menopáusicas. Os participantes a tomar vitamina D adicional em monoterapia, eram apenas 3%, não tendo sido realizadas acções adicionais por Bolland et al. (64)

Resumidamente, dados de mulheres pós-menopáusicas sem tomarem suplementos adicionais revelaram riscos relativos estatisticamente ligeiramente significativos com a suplementação de cálcio e vitamina D para enfarte do miocárdio, e para os *end-points* de enfarte de

miocárdio e revascularização coronária e enfarte miocárdio clínico ou acidente vascular cerebral (64).

Em contraste, em participantes que tomaram suplementos adicionais de cálcio não houve diferenças estatisticamente significativas entre o grupo com suplemento de cálcio e vitamina D e o grupo placebo (64).

Hsia et al (65) analisou os dados do estudo WHI, em que estavam envolvidas 36282 mulheres saudáveis pós-menopáusicas, com idades entre os 50 e 79 anos, atribuídas com 1000 mg de cálcio e 400 UI/dia de vitamina D ou placebo e foram seguidas durante 7 anos. Não foram encontradas diferenças significativas entre o grupo de tratamento e o grupo placebo no que toca a incidência de eventos coronários ou cerebrovasculares. No entanto, Mandarino et al (6) diz que as doses usadas foram baixas e que o déficit de vitamina D não era um dos critérios de inclusão no estudo.

Autier e Gandini (66) analisaram 18 estudos controlo randomizados independentes com mais de 57000 participantes (com mais de 4700 mortes durante o follow-up de 5,7 anos). Apesar de existir variabilidade considerável entre os estudos, assim como nas doses de vitamina D administradas (desde 300 UI até 2000 UI/dia), o risco relativo para mortalidade, foi reduzido 7% no grupo com terapêutica com vitamina D [Fig. 18].

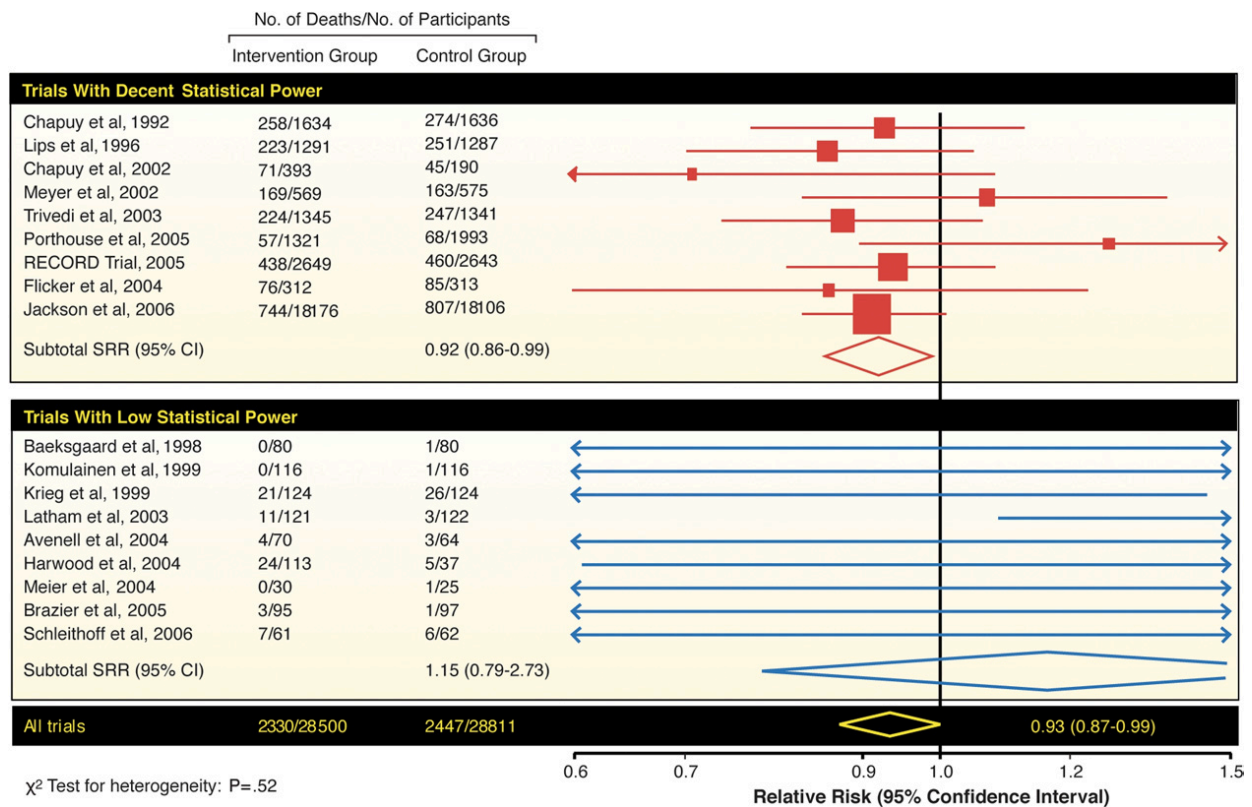


Figura 18 – Resultados de meta-análise de mortalidade de todas as causas em 18 estudos controlo randomizados com vitamina D (66).

Outra meta-análise com 8 estudos randomizados, demonstrou uma ligeira, mas não estatisticamente significativa, redução de 10% no risco de doença cardiovascular com suplementação com vitamina D, em doses moderadas a altas (aproximadamente 1000 UI/dia) (67).

Numa meta-análise que incluía 31155 doentes de 51 estudos controlo randomizados com amostras e duração mais pequenas, mostrou que a suplementação com vitamina D não teve efeito na mortalidade ou incidência de enfarte de miocárdio ou acidente vascular cerebral (32). No entanto, existe grande heterogeneidade de dados, devido a grandes diferenças de doses e condições clínicas nos estudos, não se podendo por isso ter muita confiança na interpretação dos resultados.

Num estudo por Vacek et al (68), os participantes foram separados pelo nível de vitamina D em 2 grupos, um grupo de 3234 doentes com níveis superiores a 30 ng/ml e outro com 7665 doentes com níveis inferiores a 30 ng/ml. A sobrevivência foi calculada usando o intervalo entre a recolha da amostra e a data da morte ou fim do estudo. A suplementação com vitamina D melhorou a sobrevida de uma maneira geral, mas apenas significativamente no grupo com défice de vitamina D. O uso de vitamina D foi mais comum no grupo com défices (31,6%) em relação aos doentes com níveis normais (21.3%) [Fig. 19 e 20]

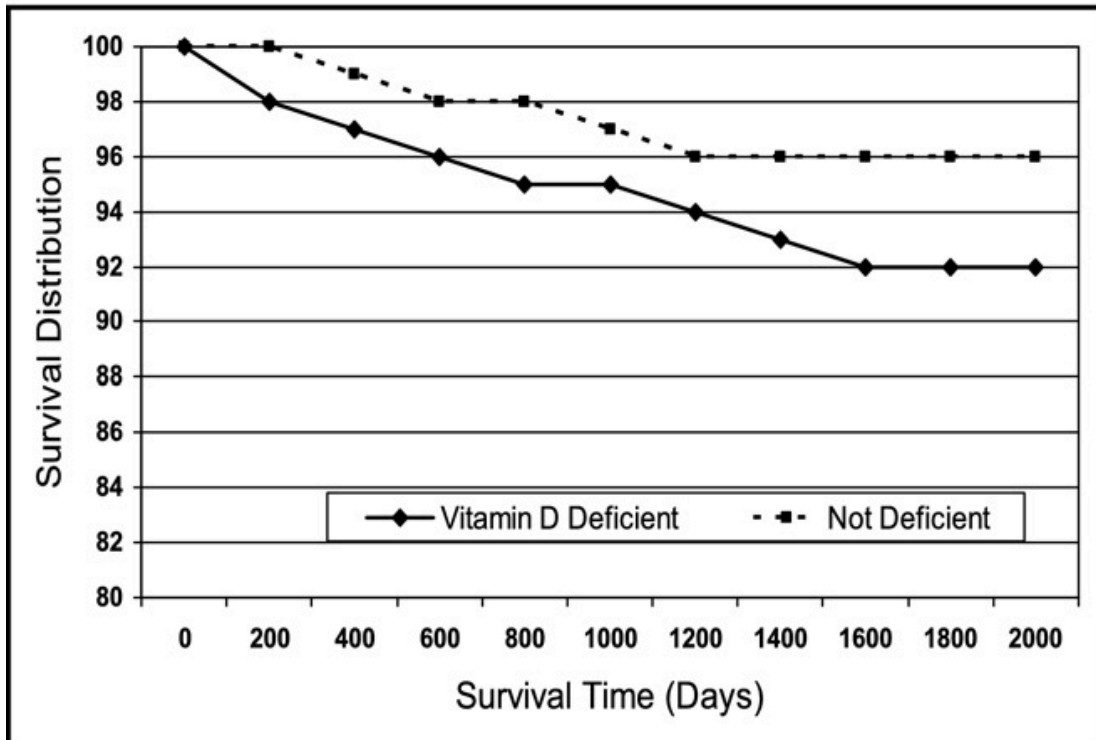


Figura 19 - Sobrevivência dos participantes com níveis superiores a 30 ng/ml versus níveis inferiores (68)

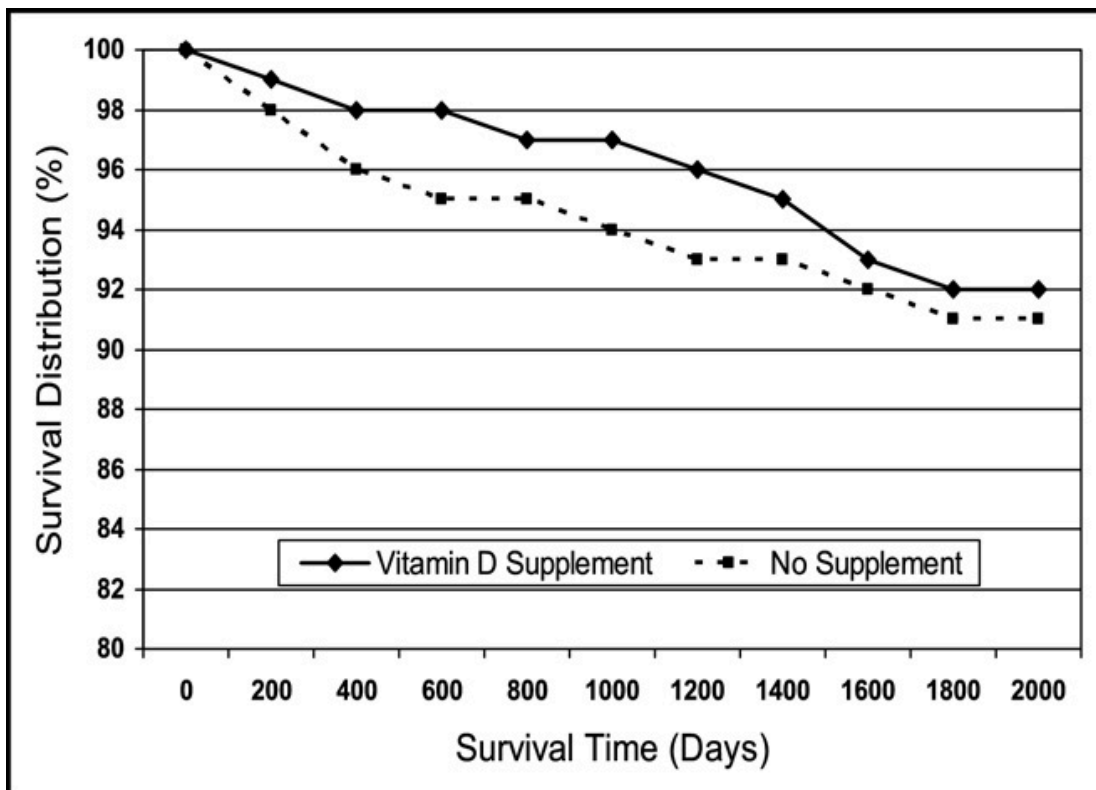


Figura 20 - Sobrevivência estratificada pela suplementação de vitamina D nos participantes com déficit de vitamina D (68)

Toxicidade potencial da vitamina D

No entanto, é também necessário analisar o outro lado da moeda, ou seja, se existe possibilidade de uma possível sobre-suplementação e quais os níveis prejudiciais.

A administração de altas doses de vitamina D em modelos animais induz calcificações vasculares e de tecidos moles (69). No entanto, estes efeitos tóxicos da vitamina D nos animais em estudo, apenas ocorreu quando aplicadas doses supra-fisiológicas, induzindo uma marcada hipercalcémia e hiperfosfatémia, até níveis não aceitáveis em humanos. Portanto, as interpretações de efeitos pró-calcificantes de vitamina D exógena, em modelos animais, devem ter em conta as doses de vitamina D activa aplicada em humanos e os efeitos in vivo relativamente ao metabolismo cálcio-fósforo (7).

St-Arnaud et al (70) examinaram ratos knock-out para vitamina D-24-hidroxilase que exibiam um profundo distúrbio na capacidade para catabolizar calcitriol exógeno, levando a hipercalcémia e aumento da letalidade perinatal. A aplicação de calcitriol exógeno nestes ratos knock-out homocigóticos, resultou numa calcificação intersticial renal. No entanto, o fenótipo cardiovascular não foi examinado neste modelo. Alguns modelos animais são caracterizados por sobre-activação endógena do sistema de vitamina D. Factor de crescimento de fibroblastos 23 e o seu co-receptor Klotho, parecem estar envolvidos. A deleção do gene do factor de crescimento de fibroblastos 23 e a ausência do gene do Klotho, levam a fenótipos animais semelhantes caracterizados por atraso de crescimento, envelhecimento precoce, atrofia muscular e dérmica, reduzida esperança de vida e do ponto de vista cardiovascular calcificação vascular e dos tecidos moles (71,72). Estes modelos são caracterizados por altos níveis de calcitriol. No entanto, a hiperfosfatémia e hipercalcémia são características dominantes destes modelos animais e podem contribuir para o fenótipo calcificante, em vez do alto nível de calcitriol por si só (7).

Tradicionalmente, alterações do metabolismo do cálcio são os maiores problemas da sobredosagem de vitamina D. Para além da hipercalcémia evidente, existe também sobrecarga de cálcio subclínica, que leva a hipercalciúria e potencialmente doença renal litiásica (7). Uma meta-análise recente confirmou a existência de distúrbios do metabolismo do cálcio, em vários tratamentos com vitamina D (73). A vitamina D também aumenta a absorção de fosfato em até 80% (74) e o tratamento com vitamina D activa podem estar associados com aumento dos níveis de fosfato sérico (7). As acções deletérias do fosfato são sinérgicas com as do cálcio, e elevações conjuntas podem levar a alterações fenotípicas das células musculares lisas vasculares em células osteogénicas/condrogénicas, que promovem a calcificação vascular, incluindo a estimulação de diferenciação osteogénica/condrogénica, libertação de vesículas, apoptose, perda de inibidores de calcificação e degradação de matriz extracelular (75). No estudo de coorte de Framingham, níveis de fosfato séricos normais-altos estão associados com o desenvolvimento de calcificação arterial em homens jovens e são preditores independentes de eventos cardiovasculares (7). Diversos modelos animais com diferentes ratos knock-out para FGF -/-, VDR -/- e NaPiIIa -/- levam a pensar que a toxicidade da vitamina D deve-se, na verdade, a distúrbios do metabolismo do fosfato (7). É necessário então ter atenção aos níveis de fosfato, fosfatúria e factor de crescimento dos fibroblastos 23, de maneira a evitar a toxicidade pela vitamina D.

Intoxicações por vitamina D são extremamente raras, mas podem ser causadas tanto inadvertidamente como intencionalmente. Doses superiores a 50000 UI por dia, aumentam o nível de 25-hidroxivitamina D para mais de 150 ng/ml (374 nmol/L) e estão associados a hipercalcémia e hiperfosfatémia (74). Doses de 10000 UI de vitamina D3, por dia até 5 meses, não causam toxicidade (74).

Estudos futuros

São necessários estudos controlo randomizados, com grande qualidade, para investigar a relação entre a doença cardiovascular e a vitamina D.

O estudo “Vitamin D and Omega-3 Trial (VITAL)” (NCT01169259) é um estudo clínico randomizado com 25874 homens e mulheres dos Estados Unidos da América, submetidos a suplementação com vitamina D3 (2000 UI) ou ácidos gordos ómega 3 (1 grama) para averiguar se reduzem o risco de desenvolver cancro, doença cardíaca e acidente vascular cerebral, em pessoas sem história prévia dessas doenças. O estudo está a decorrer.

O estudo “Role of Vitamin D in Secondary Prevention of Cardiovascular Events” (NCT01018849) pretende determinar se a suplementação com vitamina D, ajuda a prevenir a recorrência de eventos cardiovasculares, tais como enfarte do miocárdio ou acidente vascular cerebral. O estudo adicionará 150000 UI de vitamina D3 oral a cada 2 meses ao regime de medicação habitual do participante, a fim de prevenir eventos cardiovasculares futuros.

O estudo “The Vitamin D Assessment Trial” (ACTRN12611000402943) está a avaliar os efeitos de 100000UI de colecalciferol/mês na doença cardiovascular de 5100 homens e mulheres entre os 50 e 84 anos.

O estudo “Finnish Vitamin D Trial (FIND)” (NCT01463813) pretende avaliar os efeitos de 1600 UI de colecalciferol/dia, 3200 UI colecalciferol/dia ou placebo na doença cardiovascular de 2500 homens e mulheres com mais de 60 anos. O estudo está a decorrer.

O estudo “Vitamin D and Mortality in Heart Failure (EVITA)” (NCT01326650) pretende investigar se suplementação com vitamina D, reduz a mortalidade e aumenta a sobrevivência livre de eventos, em doentes com insuficiência cardíaca congestiva em fase terminal. O estudo está a decorrer.

Recomendações para a prática clínica

De acordo com as guidelines de 2011 da Endocrine Society (76) é possível resumir aqui as suas recomendações.

Procedimentos diagnósticos:

- É recomendado rastreio de défice de vitamina D, em indivíduos em risco de deficiência. Não é recomendado rastreio populacional para o défice de vitamina D em indivíduos que não estão em risco.
- É recomendado usar o nível sérico de 25-hidroxivitamina D, medido por um método fiável, para avaliar o status de vitamina D nos doentes que estão em risco de deficiência de vitamina D. Défice de vitamina D é definido como 25(OH)D abaixo de 20 ng/ml (50nmol/L), e insuficiência de vitamina D em níveis entre 21-29 ng/ml (52,5-72,5 nmol/L). Não é recomendado o uso de medição da 1,25-dihidroxivitamina D para este fim, sendo apenas usado para monitorização de determinadas doenças, tais como distúrbios adquiridos da vitamina D e do metabolismo do fosfato.

Recomendações para ingestão dietética de vitamina D para doentes em risco:

- É sugerido que crianças com idades entre 0-1 ano necessitem de pelo menos 400 UI/d (UI=25ng) de vitamina D e crianças com idade superior a 1 ano necessitem de pelo menos 600 UI/D para maximizar a saúde óssea.
- É sugerido que adultos entre 19-70 anos necessitem de pelo menos 600 UI/d de vitamina D, para maximizar a saúde óssea e função muscular.

- É sugerido que adultos acima dos 70 anos, necessitem de pelo menos 800 UI/d de vitamina D.
- É sugerido que mulheres grávidas ou a amamentar necessitem de pelo menos 600 UI/d de vitamina D.
- É sugerido que crianças e adultos obesos ou em medicação anticonvulsivante, glicocorticóides, antifúngicos e medicação para a SIDA seja dada pelo menos 2 ou 3 vezes mais vitamina D, do que a necessária para o seu grupo etário.
- De momento, não se sabe se estas doses são suficientes para provocar todos os benefícios potenciais extra-esqueleto. No entanto, para aumentar os níveis de 25(OH)D consistentemente acima de 30 ng/ml, pode ser necessário pelo menos 1000UI/d de vitamina D (em crianças), 1500-2000 UI/d (em adultos e grávidas/a amamentar).

Estratégias de tratamento e prevenção

- É sugerido o uso de vitamina D2 ou D3 para o tratamento e prevenção do défice de vitamina D.
- Para crianças até 1 ano que são deficientes em vitamina D, é sugerido o tratamento com 2000 UI/d de vitamina D2 ou D3, ou com 50000 UI semanalmente, durante 6 semanas, até atingir um nível superior a 30 ng/ml, seguida de uma terapêutica de manutenção de 400-1000 UI/d.
- Para crianças entre 1-18 anos que são deficientes em vitamina D, é sugerido tratamento com 2000 UI/d de vitamina D2 ou D3, ou com 50000 UI semanalmente com vitamina D2, durante pelo menos 6 semanas, até atingir um nível superior a 30 ng/ml, seguida de uma terapêutica de manutenção de 600-1000 UI/d.

- Para todos os adultos deficientes em vitamina D, é sugerido tratamento com 50000 UI de vitamina D2 ou D3 semanalmente durante 8 semanas, ou o seu equivalente de 6000 UI/d até atingir um nível superior a 30 ng/ml, seguida de uma terapêutica de manutenção de 1500-2000 UI/d.
- Em doentes obesos, síndrome de mal-absorção e sob medicação que afecta o metabolismo da vitamina D, é sugerida uma dose maior (2 a 3 vezes, pelo menos 6000-10000 UI/d) para manter níveis superiores a 30 ng/ml, seguido de uma dose de manutenção de 3000-6000 UI/d.
- Em doentes com produção extra-renal de 1,25(OH)₂D, é sugerida monitorização seriada de 25(OH)D e cálcio, durante o tratamento com vitamina D, para prevenir hipercalcémia.
- Para doentes com hiperparatiroidismo e défice de vitamina D, é sugerido tratamento com vitamina D, como necessário e os níveis de cálcio devem ser monitorizados.

Relativamente à doença cardiovascular:

- Não é recomendada a prescrição de suplementação com vitamina D para além das doses diárias recomendadas, com fins de prevenção de doença ou morte cardiovascular ou melhoria da qualidade de vida.

Conclusão

A hipótese da influência da vitamina D na doença cardiovascular através de um efeito estabilizador da sinalização celular, parece ser plausível, devido à actuação da vitamina D no seu receptor VDR, o qual está presente também em tecidos do sistema cardiovascular.

Esta estabilização da sinalização celular deve-se à via do Ca^{2+} e redox, assim como à actividade do Nrf2 e Klotho, os quais são reconhecidos reguladores celulares.

A vitamina D regula a expressão do factor de transcrição Nrf2, logo, controla indirectamente a expressão de vários antioxidantes, enzimas detoxificantes e componentes da sinalização celular. O Klotho é um gene anti-envelhecimento e neste caso tem um papel importante na disfunção endotelial. Por mecanismos de feedback negativo, o Klotho é também responsável pela síntese de vitamina D e o Nrf2 influencia a expressão do receptor VDR e do RXR.

A vitamina D regula os mecanismos epigenéticos que mantêm a actividade transcricional dos genes que operam na rede regulatória referida anteriormente.

Os efeitos teóricos da vitamina D, abrangem vários campos com influência na doença cardiovascular, tais como função endotelial, actividade inflamatória, coagulação e fibrinólise, metabolismo da glucose, secreção e sensibilidade à insulina, hormona da paratiróide e metabolismo lipídico.

Relativamente aos estudos da influência da vitamina D na pressão arterial, não se podem tirar conclusões finais, devido à heterogeneidade dos resultados. Tanto em estudos transversais, de corte ou intervencionais não foi possível chegar a conclusões definitivas, possivelmente devido a problemas de amostras, o *outcome* primário não ser a pressão arterial, doses insuficientes ou não ser só avaliada a suplementação com vitamina D.

Ficou demonstrado que a obesidade, leva a uma diminuição dos níveis de vitamina D. Assim sendo, a obesidade é um factor de confundimento para os níveis reais de vitamina D e a sua influência na doença cardiovascular. No entanto, a maioria dos estudos não demonstrou efeito

significativo da suplementação com vitamina D no perfil lipídico, apesar de existir uma associação positiva da vitamina D em estudos observacionais.

Relativamente ao metabolismo da glucose, parece existir uma associação inversa entre os níveis de vitamina D e a incidência da diabetes mellitus, em estudos caso-controlo aninhado e observacionais, assim como numa meta-análise. No entanto, os estudos intervencionais nesta área são escassos e inconclusivos.

Em relação às meta-análises de estudos que relacionam a vitamina D e doença cardiovascular foi possível concluir que existe uma relação linear inversa, entre os níveis de vitamina D e o risco relativo de doença cardiovascular até ao nível de 60 nmol/L. Foi também possível concluir que nos indivíduos com hipertensão, existe o dobro do risco cumulativo de primeiro evento cardiovascular, naqueles que têm níveis de 25(OH)D inferiores a 15 ng/mL, comparativamente aos que não têm hipertensão e têm níveis superiores a 15 ng/mL.

Relativamente aos estudos do risco de doença arterial periférica apesar de uma diminuição de 10 ng/mL equivaler um aumento de 29% de doença arterial periférica, não foi possível concluir uma relação causal ou um efeito protector da vitamina D no sistema circulatório devido ao desenho do estudo transversal.

Num estudo coorte prospectivo, com indivíduos marcados para angiografia coronária, foi possível concluir que níveis de vitamina D mais baixos são marcadores independentes, predictivos de acidente vascular cerebral fatal.

A mortalidade cardiovascular nos doentes com níveis mais baixos de vitamina D é maior em alguns estudos, no entanto, noutros estudos, não é estatisticamente significativa, sendo que não é possível chegar a conclusões definitivas.

O maior e mais importante estudo de suplementação de vitamina D (Women's Health Initiative) foi analisado extensamente para a doença cardiovascular, no entanto o seu *outcome* primário não era a doença cardiovascular e a suplementação utilizada não era vitamina D em

monoterapia. Para além disso, os participantes do estudo podiam tomar suplementos, independentemente do grupo a que pertenciam, as doses utilizadas podiam ser subterapêuticas, e o défice de vitamina D não era um dos critérios de inclusão do estudo. Nas várias análises feitas não ficaram demonstradas diferenças significativas entre o grupo de tratamento e o placebo, em relação aos eventos coronários e cerebrovasculares.

Numa outra meta-análise, com 18 estudos controlo randomizados, com diferentes doses de vitamina D entre estudos, chegou-se a um risco relativo de mortalidade reduzido em 7%, no grupo com terapêutica com vitamina D.

Em meta-análises mais pequenas, não ficaram provadas alterações estatisticamente significativas na redução da doença cardiovascular.

No entanto, num estudo em que os participantes foram separados em doentes com défice de vitamina D e doentes sem défice de vitamina D (*cut-off* de 30 ng/mL), a vitamina D melhorou a sobrevivência de maneira geral, mas apenas significativamente no grupo com défice de vitamina D, dando assim uma esperança ao uso de suplementação em doentes com défice de vitamina D.

Relativamente à toxicidade potencial da vitamina D, pode ocorrer quando doses suprafisiológicas são aplicadas. Doses superiores a 50000 UI/d, aumentam o nível de 25(OH)D para mais de 150 ng/mL e estão associados a hipercalcémia e hiperfosfatémia, no entanto, doses até 10000 UI/d até 5 meses não causam toxicidade.

Pode-se então concluir que a investigação relativa à doença cardiovascular e vitamina D está numa fase em que apesar da evidência fisiopatológica e de alguns estudos observacionais apontarem para uma eventual relação, entre o défice de vitamina D e piores *outcomes* de doença cardiovascular, é ainda necessário a existência de evidência científica com grandes estudos controlo randomizados, bem desenhados e com *outcome* primário a doença cardiovascular.

Actualmente estão a decorrer diversos estudos nesta área e são esperados resultados entre 2017 e 2020. Até serem possíveis novas conclusões, não existem dados científicos suficientes que aconselhem a suplementação com vitamina D, tendo como objectivo a prevenção ou terapêutica da doença cardiovascular. No entanto, as recomendações para a prática clínica, com objectivo a saúde óssea devem ser seguidas e espera-se que os níveis de 25(OH)D alvo, sejam também benéficos para a saúde cardiovascular.

Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Doutora Lélita Santos um obrigado especial por ter aceite o meu convite para a orientação desta Tese de Mestrado e pela sua disponibilidade e apoio imprescindível na realização de todo o trabalho.

À minha família, por me ter proporcionado a oportunidade de estudar na Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e pelo seu apoio incansável ao longo destes anos em prol de excelentes resultados académicos.

Aos meus amigos, pela motivação e companheirismo demonstrado ao longo destes anos.

Referências

1. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Clinical Cardiology : New Frontiers Global Burden of Cardiovascular Diseases. *Circulation*. 2001;(C).
2. Jones DS, Podolsky SH, Greene JA. The Burden of Disease and the Changing Task of Medicine. 2012;2333–8.
3. Kottke TE, Giles WH, Capewell S. Explaining the Decrease in U.S. Deaths from Coronary Disease, 1980–2000. 2007;2388–98.
4. Layden J, Carnes BA, Ph D, Brody J, Hayflick L, Ph D, et al. A Potential Decline in Life Expectancy in the United States in the 21st Century. 2005.
5. Gardner DG, Chen S, Glenn DJ, Ni W. Vitamin D and the Cardiovascular System System in Vascular Cells. Third Edit. *Vitamin D*. Elsevier; 2011. 541-563 p.
6. Mandarino NR, Monteiro C, Victor J, Salgado L, Lages JS, Filho NS. Is Vitamin D Deficiency a New Risk Factor for Cardiovascular Disease ? *Open Cardiovasc Med J*. 2015;2:40–9.
7. Brandenburg VM, Vervloet MG, Marx N. The role of vitamin D in cardiovascular disease: From present evidence to future perspectives. *Atherosclerosis*. Elsevier Ltd; 2012;225(2):253–63.
8. Norman PE, Powell JT. *Vitamin D and Cardiovascular Disease*. 2014;379–94.
9. Parker J, Hashmi O, Dutton D, Mavrodaris A, Stranges S, Kandala N-B, et al. Levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: Systematic review and meta-analysis. *Maturitas*. 2010;65(3):225–36.

10. Wang L, Song Y, Manson JE, Pilz S, März W, Michaëlsson K, et al. Circulating Levels of 25Hydroxy-Vitamin D and Risk of Cardiovascular Disease: A Meta-Analysis of Prospective Studies. 2013;5(6):819–29.
11. Ford JA, MacLennan GS, Avenell A, Bolland M, Grey A, Witham M. Cardiovascular disease and vitamin D supplementation: Trial analysis, systematic review, and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2014;100(3):746–55.
12. Berridge MJ. Vitamin D: a custodian of cell signalling stability in health and disease. *Biochem Soc Trans*. 2015 Jun 1;43(3):349–58.
13. Berridge MJ. Vitamin D cell signalling in health and disease. *Biochem Biophys Res Commun*. Elsevier Ltd; 2015;460(1):53–71.
14. Larriba MJ, González-sancho JM, Bonilla F, Muñoz A, Investigaciones I De, Alberto B. Interaction of vitamin D with membrane-based signaling pathways Article type : Received on : Accepted on : Frontiers website link : Citation : Interaction of vitamin D with membrane-based signaling pathways Instituto de Investigaciones Biomédicas " Albert. 2014;
15. Lavie CJ, Lee JH, Milani R V. Vitamin D and Cardiovascular Disease Will It Live Up to its Hype ? *JAC*. Elsevier Inc.; 2011;58(15):1547–56.
16. Barboza GD De, Guizzardi S, Talamoni NT De. Molecular aspects of intestinal calcium absorption. 2015;21(23):7142–54.
17. Hayes JD, Dinkova-Kostova AT. The Nrf2 regulatory network provides an interface between redox and intermediary metabolism. *Trends Biochem Sci*. Elsevier; 2016 Jan 9;39(4):199–218.

18. Bobilev I, Novik V, Levi I, Shpilberg O, Levy J, Sharoni Y, et al. The Nrf2 transcription factor is a positive regulator of myeloid differentiation of acute myeloid leukemia cells. 2011;3:317–29.
19. Niture SK, Jaiswal AK. Nrf2 Protein Up-regulates Antiapoptotic Protein Bcl-2 and Prevents Cellular Apoptosis * □. 2012;287(13):9873–86.
20. Wang Y, Sun Z. Current Understanding of Klotho. 2009;
21. Borges ACR, Feres T, Vianna LM, Paiva TB. Effect of Cholecalciferol Treatment on the Relaxant Responses of Spontaneously Hypertensive Rat Arteries to Acetylcholine. 1999;
22. Squarzanti DF, Cisari C, Molinari C. Survival Pathways. 2016;99(April 2014):1367–74.
23. Andrukhova O, Slavic S, Zeitz U, Riesen SC, Heppelmann MS, Ambrisko TD, et al. Vitamin D Is a Regulator of Endothelial Nitric Oxide Synthase and Arterial Stiffness in Mice. 2016;28(January 2014):53–64.
24. Carvalho LSF, Sposito AC. Vitamin D for the prevention of cardiovascular disease: Are we ready for that? Atherosclerosis. Elsevier Ltd; 2015;241(2):729–40.
25. Talmor Y, Bernheim J, Klein O, Green J, Rashid G. Calcitriol blunts pro-atherosclerotic parameters through NFκB and p38 in vitro. Eur J Clin Invest. Blackwell Publishing Ltd; 2008 Aug 1;38(8):548–54.
26. Ohsawa M, Koyama T, Yamamoto K, Hirosawa S, Kamei S, Kamiyama R. 1α,25-dihydroxyvitamin D₃ and Its potent synthetic analogs downregulate tissue factor and upregulate thrombomodulin expression in monocytic cells, counteracting the effects of tumor necrosis factor and oxidized LDL. 2000;2867–73.

27. Chen Y, Kong J, Sun T, Li G, Szeto FL, Liu W, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ suppresses inflammation-induced expression of plasminogen activator inhibitor-1 by blocking nuclear factor-κB activation. 2012;507(2):241–7.
28. Ding C, Gao D, Wilding J, Trayhurn P, Bing C. Horizons in Nutritional Science Vitamin D signalling in adipose tissue. 2012;2:1915–23.
29. Okamoto Y, Norman AW, Seino Y, K CNM. An Insulinotropic Effect of Vitamin D Analog with Increasing Intracellular Ca²⁺ Concentration in Pancreatic β-Cells through Nongenomic. 2016;140(10):24–6.
30. M ASM, Youssef MM, Megahed HS, Salem SM, Salah EM, Wafay H, et al. Association of Serum 25- Hydroxyvitamin D with dyslipidaemia in Egyptian School. 2012;6(10):541–9.
31. Breslow JL, Kaufman HW. Epidemiology and Prevention Vitamin D May Not Improve Lipid Levels A Serial Clinical Laboratory Data Study. 2012;
32. Elamin MB, Elnour NOA, Elamin KB, Fatourech MM, Alkatib AA, Almandoz JP, et al. Vitamin D and Cardiovascular Outcomes : A Systematic Review and Meta-Analysis. 2016;96(July 2011):1931–42.
33. Aggarwal N, Reis JP, Michos ED. Vitamin D Deficiency and Its Implications on Cardiovascular Disease. Curr Cardiovasc Risk Rep. 2010;4(1):68–75.
34. Yuan W, Pan W, Kong J, Zheng W, Szeto FL, Wong KE, et al. 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ Suppresses Renin Gene Transcription by Blocking the Activity of the Cyclic AMP Response Element in the Renin Gene Promoter *. 2007;282(41):29821–30.

35. Scragg R, Sowers M, Bell C. Serum 25-hydroxyvitamin D, Ethnicity, and Blood Pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Hypertens* . 2007 Jul 1;20 (7):713–9.
36. Judd SE, Nanes MS, Ziegler TR, Wilson PWF, 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 1 – 3. 2008;(3):136–41.
37. Snijder MB, Lips P, Seidell JC, Visser M, Deeg DJH, Dekker JM, et al. Vitamin D status and parathyroid hormone levels in relation to blood pressure : a population-based study in older men and women. 2007;25.
38. Forman JP, Giovannucci E, Holmes MD, Bischoff-ferrari HA, Tworoger SS, Willett WC, et al. Vitamin D and Risk of Hypertension Plasma 25-Hydroxyvitamin D Levels and Risk of Incident Hypertension. 2007;
39. Forman JP, Curhan GC, Taylor EN. Plasma 25-Hydroxyvitamin D Levels and Risk of Incident Hypertension Among Young Women. 2008;25:828–33.
40. Martins D, Wolf M, Pan D, Zadshir A, Tareen N, Thadhani R, et al. Prevalence of Cardiovascular Risk Factors and the Serum Levels of 25-Hydroxyvitamin D in the United States. 2007;167:1159–65.
41. Pérez-Castrillón JL, Manteca LA, Vega G, Montes P, Luis P, Luis D De, et al. Vitamin D Levels and Lipid Response to Atorvastatin. 2010;2010:4–7.
42. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. 2000;690–4.

43. Vimalleswaran KS, Berry DJ, Lu C, Tikkanen E, Pilz S, Hiraki LT, et al. Causal Relationship between Obesity and Vitamin D Status : Bi-Directional Mendelian Randomization Analysis of Multiple Cohorts. 2013;10(2).
44. Young KA, Engelman CD, Langefeld CD, Hairston KG, Haffner SM, Bryer-Ash M, et al. Association of Plasma Vitamin D Levels with Adiposity in Hispanic and African Americans. *J Clin Endocrinol Metab.* The Endocrine Society; 2009 Sep 23;94(9):3306–13.
45. Caan B, Neuhouser M, Aragaki A, Al E. Calcium plus vitamin d supplementation and the risk of postmenopausal weight gain. *Arch Intern Med.* 2007 May 14;167(9):893–902.
46. McGill A-T, Stewart JM, Lithander FE, Strik CM, Poppitt SD. Relationships of low serum vitamin D(3)with anthropometry and markers of the metabolic syndrome and diabetes in overweight and obesity. *Nutr J. BioMed Central;* 2008 Jan 28;7:4.
47. Pérez-López FR. Vitamin D metabolism and cardiovascular risk factors in postmenopausal women. *Maturitas.* 2009;62(3):248–62.
48. Jorde R, Grimnes G. Vitamin D and health: The need for more randomized controlled trials. *J Steroid Biochem Mol Biol.* Elsevier Ltd; 2015;148:269–74.
49. Skaaby T, Husemoen LLN, Pisinger C, Jørgensen T, Thuesen BH, Fenger M, et al. Vitamin D Status and Changes in Cardiovascular Risk Factors: A Prospective Study of a General Population. *Cardiology.* 2012;123(1):62–70.
50. Kienreich K, Tomaschitz A, Verheyen N, Pieber T, Gaksch M, Grübler M, et al. Vitamin D and Cardiovascular Disease. *Nutrients.* 2013;5(8):3005–21.

51. Knekt P, Laaksonen M, Mattila C, Ha T. Serum Vitamin D and Subsequent Occurrence of Type 2 Diabetes. 2008;666–71.
52. G.Pittas A, Lau J, Hu F, Dawson-Hughes B. The Role of Vitamin D and Calcium in type 2 diabetes. A systematic Review and meta-analysis. 2007;92(59).
53. Mitri J, Muraru, Pittas A. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. 2014;65(9):1005–15.
54. Mitri J, Dawson-Hughes B, Hu FB, Pittas AG. Effects of vitamin D and calcium supplementation on pancreatic β cell function, insulin sensitivity, and glycemia in adults at high risk of diabetes: the Calcium and Vitamin D for Diabetes Mellitus (CaDDM) randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr. American Society for Nutrition*; 2011 Aug 29;94(2):486–94.
55. Challoumas D, Stavrou A, Pericleous A, Dimitrakakis G. Effects of combined vitamin D – Calcium supplements on the cardiovascular system: Should we be cautious? *Atherosclerosis. Elsevier Ltd*; 2015;238(2):388–98.
56. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, et al. Vitamin D Deficiency and Risk of Cardiovascular Disease. 2008;
57. Melamed ML, Muntner P, Michos ED, Uribarri J, Weber C, Sharma J, et al. Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels and the Prevalence of Results from NHANES 2001 to 2004. 2008;
58. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, al et. INdependent association of low serum 25-hydroxyvitamin d and 1,25-dihydroxyvitamin d levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med. 2008 Jun 23;168(12):1340–9.*

59. Pilz S, Ma W, Wellnitz B, Seelhorst U, Fahrleitner-pammer A, Dimai HP, et al. Association of Vitamin D Deficiency with Heart Failure and Sudden Cardiac Death in a Large Cross-Sectional Study of Patients Referred for Coronary Angiography. 2008;25(October):3927–35.
60. Pilz S, Dobnig H, Fischer JE, Wellnitz B, Seelhorst U, Boehm BO, et al. Low Vitamin D Levels Predict Stroke in Patients Referred to Coronary Angiography. 2008;
61. Melamed ML, Michos ED, Post W, Astor B. 25-hydroxyl Vitamin D Levels and the Risk of Mortality in the General Population. Arch Intern Med. 2008 Aug 11;168(15):1629–37.
62. Welles CC, Whooley M a., Karumanchi SA, Hod T, Thadhani R, Berg AH, et al. Vitamin D deficiency and cardiovascular events in patients with coronary heart disease: Data from the heart and soul study. Am J Epidemiol. 2014;179(11):1279–87.
63. Anderson JL, May HT, Horne BD, Bair TL, Hall NL, Carlquist JF, et al. Relation of Vitamin D Deficiency to Cardiovascular Risk Factors , Disease Status , and Incident Events in a General Healthcare Population. AJC. Elsevier Inc.; 2010;106(7):963–8.
64. Bolland MJ, Grey A, Avenell A, Gamble GD, Reid IR. Calcium supplements with or without vitamin D and risk of cardiovascular events : reanalysis of the Women ' s Health Initiative limited access dataset and meta-analysis. 2011;
65. Hsia J, Heiss G, Ren H, Allison M, Dolan NC, Heckbert SR, et al. Calcium / Vitamin D Supplementation and Cardiovascular Events. 2007;(4).
66. Autier P, Gandini S. Vitamin d supplementation and total mortality: A meta-analysis of randomized controlled trials. Arch Intern Med. 2007 Sep 10;167(16):1730–7.

67. Wang L, Manson JE, Song Y, Sesso HD. Systematic Review: Vitamin D and Calcium Supplementation in Prevention of Cardiovascular Events. *Ann Intern Med.* 2010 Mar 2;152(5):315–23.
68. Vacek JL, Vanga SR, Good M, Lai SM, Lakkireddy D, Howard P a. Vitamin D deficiency and supplementation and relation to cardiovascular health. *Am J Cardiol.* Elsevier Inc.; 2012;109(3):359–63.
69. Price PA, Faus SA, Williamson MK. Warfarin-induced artery calcification is accelerated by growth and vitamin D. 2000;317–28.
70. Arabian A, Travers R, Barletta F, Raval-pandya M, Chapin K, Depovere JOS, et al. Deficient Mineralization of Intramembranous Bone in Vitamin D-24-Hydroxylase-Ablated Mice Is Due to Elevated 1, 25-Dihydroxyvitamin D and Not to the Absence of 24, 25-Dihydroxyvitamin D *. 2016;141(7):2658–66.
71. Ohnishi M, Nakatani T, Lanske B, Razzaque MS. Reversal of mineral ion homeostasis and soft-tissue calcification of klotho knockout mice by deletion of vitamin D 1 α -hydroxylase. *Kidney Int.* 2009 Jun 18;75(11):1166–72.
72. Stubbs JR, Liu S, Tang W, Zhou J, Wang Y, Yao X, et al. Role of Hyperphosphatemia and 1, 25- Dihydroxyvitamin D in Vascular Calcification and Mortality in Fibroblastic Growth Factor 23 Null Mice. 2007;2116–24.
73. Bjelakovic G, Li G, Nikolova D, Whitfield K, Wetterslev J, Rg S, et al. Vitamin D supplementation for prevention of mortality in adults (Review) Vitamin D supplementation for prevention of mortality in adults. 2014;(1).
74. Holick MF. Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med.* Massachusetts Medical Society; 2007 Jul 19;357(3):266–81.

75. Lau WL, Pai A, Moe SM, Giachelli CM. Direct Effects of Phosphate on Vascular Cell Function. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2011 Mar;18(2):105–12.
76. 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. 2016;25(July 2011):1911–30.