

RUI MANUEL ANDRADE MAIA TAVARES MOREIRA

***NOVOS E ANTIGOS ANÁLOGOS DA VITAMINA D
COMO TERAPÊUTICA RENOPROTECTORA***

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

MARÇO | 2011

Índice

Lista de Figuras	4
Lista de Abreviaturas	4
Resumo	5
Abstract	7
I Introdução	9
II Objectivos e Metodologia da Revisão	10
III Vitamina D: Aspectos Fisiológicos e Fisiopatológicos Gerais	11
1. Síntese e regulação dos níveis circulantes	11
2. Défice de vitamina D e doença renal crónica	13
3. Novas funções da vitamina D	16
IV Mecanismos de Renoprotecção da Vitamina D e seus Análogos	19
1. Efeito anti-fibrótico	21
2. Efeitos sobre o sistema renina-angiotensina	22
3. Outros efeitos anti-proteinúricos	24
4. Efeito anti-inflamatório	25
5. Efeito imunomodulador	26
V Nefropatia Diabética e Vitamina D	28
VI Vitamina D e Cardioprotecção	31
VII Suplementação com Vitamina D	34
VIII Conclusões	36
IX Referencias.....	38

Lista de Figuras

Figura 1. Síntese e regulação da vitamina D

Figura 2. Défice de vitamina D na população em geral e na Doença Renal Crónica

Figura 3. Mecanismos de Renoprotecção da vitamina D e seus análogos

Figura 4. Potenciais efeitos benéficos da Vitamina D a nível do rim.

Figura 5. Acção da vitamina D sobre desenvolvimento de nefropatia diabética

Figura 6. Vias *major* do desenvolvimento de doença cardiovascular na DRC com o défice de vitamina D

Lista de Abreviaturas

α -SMA - Actina α do músculo liso

ARA - Antagonistas dos receptores da angiotensina II do tipo I

DBP - Proteína de ligação à vitamina D

DRC - Doença renal crónica

FGF23 - Factor de crescimento de fibroblastos 23

IECA - Inibidores da enzima de conversão da angiotensina

MCP-1 - *Monocyte chemoattractant protein 1*

MEC - Matriz extracelular

NF- κ B - Factor nuclear κ B

PTH - Hormona para-tiroideia

SRA - Sistema renina-angiotensina

TGF- β - Factor de transformação de crescimento

Resumo

Introdução. À vitamina D têm sido atribuídas desde há várias décadas funções na manutenção da homeostasia mineral. Mais recentemente, com a descoberta de receptores da vitamina D em diversos tecidos, novas funções são apontadas à vitamina D, nomeadamente a nível da protecção renal. Dada a relação existente entre o défice acentuado de vitamina D na população com doença renal crónica e uma maior morbilidade e mortalidade, estes novos dados abrem assim renovadas perspectivas para um melhor tratamento não apenas da doença renal crónica como também de outras patologias renais ainda sem tratamento terapêutico adequado.

Objectivos. Com este trabalho pretende-se rever os conhecimentos actuais que suportam estas novas funções da vitamina D, analisando os seus mecanismos e avaliando a sua aplicabilidade na prática clínica. Pretende-se fazer o ponto da situação sobre esta temática, focando novos aspectos e possíveis implicações clínicas.

Desenvolvimento. Os estudos em modelos experimentais disponíveis até ao momento demonstram a capacidade dos análogos da vitamina D em conferir protecção contra vários elementos-chave do estabelecimento e progressão da doença renal crónica, nomeadamente a fibrose intersticial, a inflamação, a glomerulosclerose e a proteinúria. Isto acontece essencialmente pela modulação do sistema renina-angiotensina e pela via do factor nuclear κ B. Além desta renoprotecção evidenciada, estão também demonstrados efeitos benéficos a nível da protecção cardiovascular, a maior causa de mortalidade no contexto de doença renal crónica.

Conclusões. A partir destes dados, é possível atribuir vantagens evidentes no uso terapêutico dos análogos da vitamina D na doença renal crónica, apresentando-se assim como potencial terapêutica adjuvante ao bloqueio do sistema renina-angiotensina actualmente preconizado nestes casos. No entanto, o facto destes dados se basearem sobretudo em estudos em modelos experimentais expõe a necessidade de mais estudos, nomeadamente ensaios clínicos que avaliem de forma concreta a aplicabilidade na prática clínica do seu uso, podendo assim levar a uma revisão das recomendações actuais para a suplementação com vitamina D na doença renal crónica, as quais se encontram claramente subvalorizadas.

Palavras-chave: Vitamina D, análogos da vitamina D, doença renal crónica, renoprotecção, cardioprotecção

Abstract

Introduction. Vitamin D has been given a function in mineral homeostasis for several decades. Recently, with the finding of vitamin D receptors among different tissues, new functions have been assigned to vitamin D, especially as a renal protector. Due to the known relationship between the severe vitamin D deficiency within the chronic kidney disease population and increased morbidity and mortality, these new data set renewed perspectives on a better treatment not only for chronic kidney disease but also for other renal pathologies without an effective therapeutical treatment.

Objectives. The purpose of this paper is to review the data that support these new functions of vitamin D, analyse its mechanisms and determine its applicability on the clinical practice. This review intends to set the state of play on this theme, focusing new aspects and possible clinical implications.

Development. The available experimental studies up to the moment, demonstrate the capacity of vitamin D analogs to protect against several hallmarks of chronic kidney disease settlement and progression, such as interstitial fibrosis, inflammation, glomerulosclerosis and proteinuria. This happens mostly due to the modulation of the renin-angiotensin system and the nuclear factor κ B pathway. Besides these renoprotective effects, benefits on cardiovascular protection, the most important mortality cause in chronic kidney disease, have also been demonstrated.

Conclusions. From these data, it is possible to assign solid therapeutical advantages to vitamin D analogs in chronic kidney disease, being a potencial adjuvant therapy to the renin-

angiotensin system blockage used nowadays. However, as these data was based only on experimental studies, more studies are required, specifically clinical trials that evaluate its clinical applicability, and possibly leading to a review on the current vitamin D supplementation recommendations in chronic kidney disease, which they are clearly underestimated.

Keywords: Vitamin D, vitamin D analogs, chronic kidney disease, renoprotection, cardioprotection

I | Introdução

Desde há várias décadas tem sido apontada unicamente à vitamina D uma função na manutenção da homeostasia do cálcio e fósforo, sendo prática comum o seu uso terapêutico com esse intuito no contexto da doença renal crónica. Mais recentemente, com a descoberta da existência de proteínas de ligação da vitamina D em mais de 30 tecidos diferentes, assim como da enzima envolvida na síntese de vitamina D, a 1α -hidroxilase, também em vários tecidos, novas funções lhe vêm sendo apontadas.

Tendo em conta que na doença renal crónica existe um défice de vitamina D mais acentuado do que na população em geral, e que este défice se encontra associado a uma maior morbidade e mortalidade, a potencial função renoprotectora da vitamina D motiva um interesse acrescido dentro destas novas funções que se encontram sob estudo.

No seguimento deste raciocínio, vários estudos têm descrito diversas funções da vitamina D sobre as vias de formação e desenvolvimento da lesão renal, demonstrando desta forma acções anti-fibróticas, acções sobre o sistema renina-angiotensina e outras acções anti-proteinúricas, acções anti-inflamatórias e acções imunomoduladoras, descrevendo os mecanismos de renoprotecção inerentes a estas acções.

Sendo actualmente a nefropatia diabética a forma mais comum de doença renal crónica, a aplicação destes novos conhecimentos a esta patologia específica tem também vindo a ser alvo de intenso estudo, estando cada vez mais bem esclarecidas as vias pelas quais a vitamina D actua na protecção contra o desenvolvimento desta patologia.

Sabe-se também agora que a vitamina D apresenta acção a nível cardiovascular. Tendo em conta que a maior causa de morte nos doentes com doença renal crónica é cardiovascular, vários estudos têm incidido sobre a eventual cardioprotecção que a vitamina D parece conferir neste contexto.

II | Objectivos e Metodologia da Revisão

Com este trabalho pretende-se fazer uma revisão dos conhecimentos e evidências actuais sobre esta temática, fazendo assim o ponto da situação no que concerne à acção renoprotectora da vitamina D, assim como da função cardioprotectora concomitante, de modo a estabelecer se esta se pode tornar uma terapêutica alternativa ou adjuvante às já utilizadas na prevenção do estabelecimento e progressão da doença renal crónica, avaliando a necessidade de suplementação com vitamina D desta população e revendo as recomendações actuais para o seu uso terapêutico actual.

A revisão baseia-se numa pesquisa realizada na base “Pubmed”, utilizando as seguintes palavras-chave e combinações:

- 1- (vitamin D[Title/Abstract] AND (renoprotective[Title/Abstract] OR renoprotection[Title/Abstract]);
- 2- (vitamin D[Title/Abstract] AND (cardioprotective[Title/Abstract] OR cardioprotection[Title/Abstract]);

Foram assim obtidos 29 (procura 1) e 15 (procura 2) artigos. A análise destes obrigou depois a uma ramificação da consulta, tendo sido analisados e consultados outros trabalhos aí citados, segundo a nossa própria percepção de relevância/actualidade para o tema em questão.

III | Vitamina D: Aspectos Fisiológicos e Fisiopatológicos Gerais

1. Síntese e regulação dos níveis circulantes

A síntese de vitamina D activa necessita de um substrato para ocorrer. Este substrato pode ter essencialmente duas fontes: a maioria tem origem a nível da pele, onde a partir do 7-dihidrocolesterol é formada a vitamina D₃ após exposição solar à radiação UVB; a outra forma de obtermos vitamina D é através da absorção intestinal, embora a sua influência a nível da quantidade de vitamina D circulante total seja substancialmente menor.

Após este primeiro passo, a vitamina D₃ é então convertida na sua forma activa - 1,25 dihidroxivitamina D₃ (1,25(OH)₂-vitamina D₃) – através de dois processos de hidroxilação: primeiro no fígado, pela acção da 25-hidroxilase, onde é convertida em 25-hidroxivitamina D₃ (25(OH)-vitamina D₃) ou Calcidiol; e depois no rim onde o Calcidiol é convertido em vitamina D activa (1,25(OH)₂-vitamina D₃) ou Calcitriol, pela acção da 1 α -hidroxilase (Doorenbos *et al*, 2009).

Descobertas recentes demonstraram a existência de 1 α -hidroxilase em vários outros tecidos que não o rim, tal como na pele, músculo liso vascular, pâncreas, coração e sistema. Apesar de apresentarem também capacidade de sintetizar vitamina D activa, esta é maioritariamente utilizada localmente, não contribuindo assim de forma significativa para os valores circulantes de vitamina D (Heaney, 2008). Ao longo destes diferentes passos a vitamina D₃ é transportada no plasma pela proteína de ligação à vitamina D (DBP) (Nykjaer *et al*, 1999).

A regulação dos níveis séricos de vitamina D envolve vários mecanismos de inibição directa e *feedback* negativo. Estes processos vão incidir sobre ambas as enzimas de

hidroxilação envolvidas no processo de síntese da vitamina D, a 25-hidroxilase e a 1 α -hidroxilase.

No caso da regulação a nível hepático, o mecanismo de inibição directa é conseguido pela enzima 24-hidroxilase, que inibe assim a acção da 25-hidroxilase levando à formação de ácido calcitróico, o qual será depois excretado pelo rim (Doorenbos *et al*, 2009).

Já a nível renal, a inibição sobre a 1 α -hidroxilase dá-se por um mecanismo de *feedback* negativo, que pode ser desencadeado tanto pela própria vitamina D activa (Turunen *et al*, 2007) como pela estimulação da produção do factor de crescimento de fibroblastos 23 (FGF23) nos osteócitos, o qual resulta numa diminuição na síntese renal de 1 α -hidroxilase (Liu *et al*, 2006).

A 1 α -hidroxilase vai ter grande importância na regulação dos níveis séricos de vitamina D, uma vez que a sua acção é controlada não só por estes mecanismos de *feedback* negativo, mas também por várias hormonas indutoras, sendo a hormona para-tiroideia (PTH) a mais relevante, assim como a Calcitonina (Zhong *et al*, 2009) (Figura 1).

A necessidade de exposição solar para a síntese de vitamina D faz com que os seus níveis estejam naturalmente relacionados com o tempo de exposição solar, com a sazonalidade, com a localização geográfica e com a etnia, sendo que na raça negra estamos perante níveis mais baixos de hormona circulante (Christakos *et al*, 1996; Carlberg *et al*, 2009; Ginde *et al*, 2009).

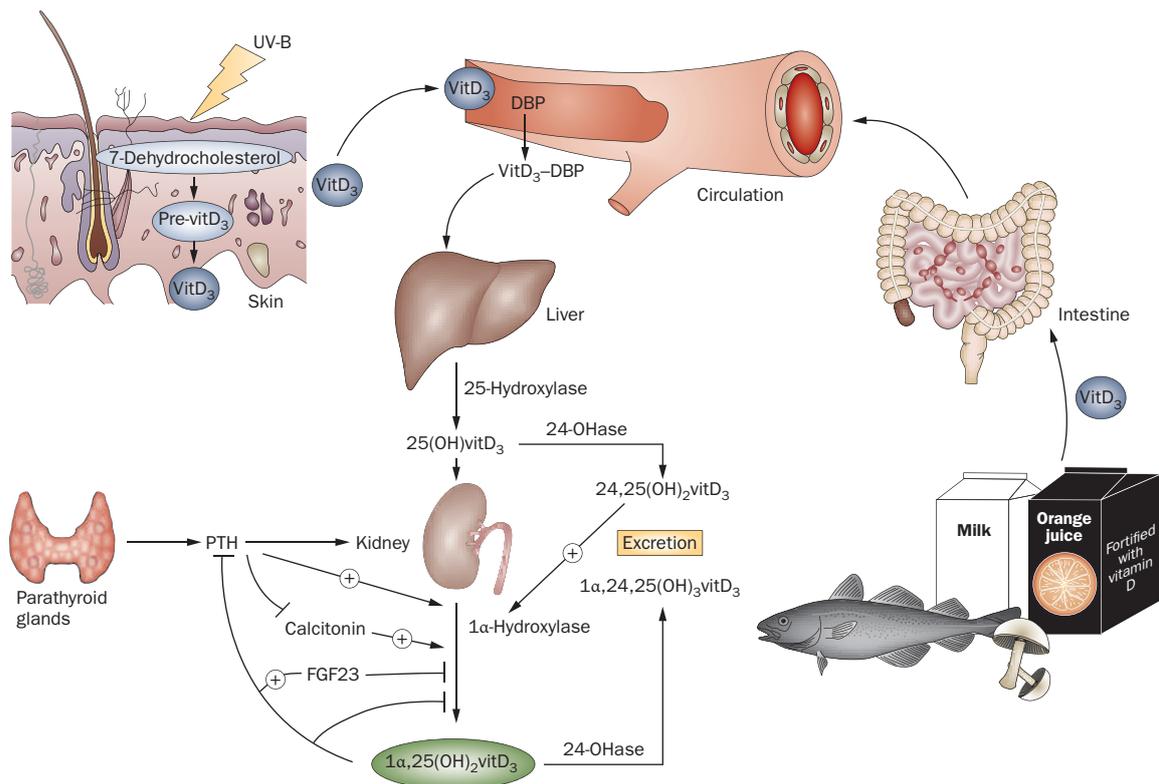


Figura 1. Síntese e regulação da vitamina D.

Retirado de Deeb *et al* (2007).

2. Défice de vitamina D e doença renal crónica

O primeiro produto da hidroxilação da vitamina D a nível do fígado, a 25-hidroxivitamina D₃ ou Calcidiol, é geralmente o seu metabolito mais abundante, sendo por isso o parâmetro mais usado como indicador dos níveis de vitamina D.

A definição de défice de vitamina D é algo ainda controverso. Apesar de algumas discrepâncias entre autores, a maioria define o défice de vitamina D como níveis séricos de Calcidiol a partir de 20 ng/ml (Bischoff-Ferrari *et al*, 2006).

Doentes com Doença Renal Crónica (DRC), apresentam geralmente défices de vitamina D mais acentuados que a população em geral (Gonzalez *et al*, 2004). Além disso, está também comprovada a relação positiva existente entre o estágio da DRC e a prevalência deste défice (Levin *et al*, 2007) (Figura 2).

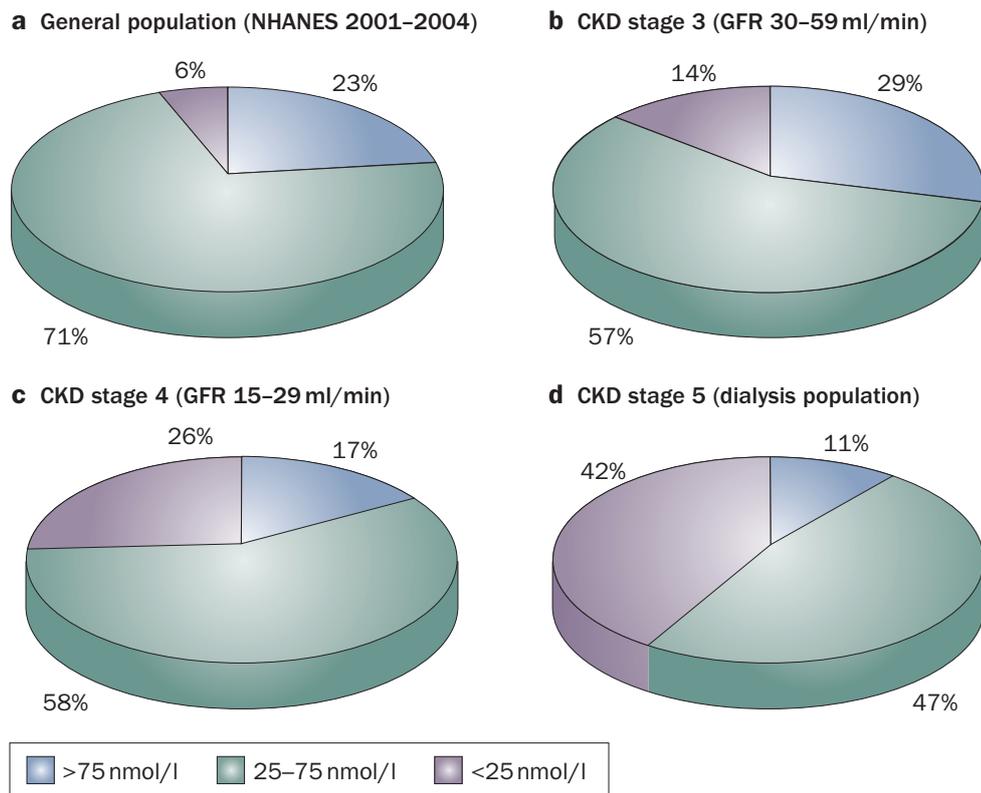


Figura 2. Défice de vitamina D na população em geral e na Doença Renal Crónica.

Retirado de Doorenbos *et al* (2009).

Nos doentes com DRC, está também já bem demonstrada a correlação inversa entre os níveis séricos de vitamina D quer com a taxa de filtração renal quer com a mortalidade (Ravani *et al*, 2009). De forma semelhante, foi também demonstrada a relação inversa entre

os níveis circulantes de vitamina D e a precocidade da mortalidade em doentes com DRC sob hemodiálise (Wolf *et al*, 2007).

Além disso, o défice de vitamina D nos doentes com DRC foi também associado com uma maior incidência de factores de risco para a progressão da afecção renal, tais como albuminúria, resistência à insulina, inflamação, hipertensão arterial, dislipidémia e disfunção endotelial (Agarwal, 2009).

As *Guidelines* da *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* recomendam actualmente a suplementação com vitamina D para doentes com DRC em estágio 3 e 4, a partir de níveis séricos de Calcidiol de 30 ng/ml, sendo o objectivo desta suplementação a redução do risco de fractura óssea (*CKD Outcomes Quality Initiative Clinical Practice Guidelines*, 2011).

Existem actualmente várias teorias que explicam este défice de vitamina D na população com DRC, sendo o principal factor implicado a baixa actividade da 1α -hidroxilase (Andress, 2006). A acção desta começa a diminuir logo em estágios iniciais da DRC, sendo que a progressão da doença leva à acumulação de fosfato, o que, por sua vez, vai inibir a acção da 1α -hidroxilase.

Após a filtração glomerular, a recaptção de Calcidiol é um processo mediado pela megalina (Nykjaer *et al*, 1999). Apesar de não estar demonstrado que na doença renal haja uma menor expressão da megalina a nível do rim, um estudo recente sugere que a exposição crónica à albumina leva a uma menor expressão da megalina a nível das células epiteliais do túbulo contornado proximal, onde este processo se desenvolve (Yuan *et al*, 2007). Além disso, está também demonstrada a menor expressão de RNA mensageiro da megalina renal em modelos experimentais *in vivo* de síndrome nefrótico (Tan *et al*, 2006).

Além destas causas, também a perda urinária de DBP associada à proteinúria (Matsui *et al*, 2009), que resulta numa menor absorção renal de vitamina D, e o compromisso da

produção endógena de vitamina D a nível da pele (Jacob *et al*, 1984), estarão envolvidos na génese deste défice.

A suportar estes dados existem já vários estudos que demonstram a correlação entre os níveis séricos de vitamina D e diferentes parâmetros envolvidos quer na génese quer na progressão da afecção renal (Agarwal *et al*, 2009). Em particular, foi realizado um estudo em 174 doentes com diferentes doenças renais, avaliando os níveis dos metabolitos da vitamina D, marcadores da inflamação e expressão de vários genes. Neste trabalho os autores demonstraram uma correlação inversa entre os níveis séricos de calcitriol quer com a *monocyte chemoattractant protein 1* (MCP-1) urinária quer com a infiltração renal de macrófagos. Ficou também demonstrado um aumento significativo da MCP-1 urinária e renal, infiltração macrofagocitária e expressão da 1α -hidroxilase a nível dos macrófagos e do epitélio renal em doentes que apresentavam inflamação renal aguda e níveis séricos baixos de calcitriol. Além disso, níveis séricos mais elevados de calcidiol relacionavam-se com menor grau de inflamação (Zehnder *et al*, 2008).

3. Novas funções da vitamina D

A actividade da vitamina D é mediada pelos receptores para a vitamina D (VDRs), receptores esses geralmente localizados a nível do núcleo celular.

A função clássica apontada à vitamina D prende-se com o metabolismo ósseo, ao regular a homeostase do Cálcio e do Fósforo, sendo até há cerca de uma década a única função conhecida desta hormona, algo que vem sendo contrariado por diversos estudos que apontam a existência de VDRs a nível de mais de 30 tipos de tecido diferentes (Kumar *et al*, 1994).

Além disso, a distribuição de 1α -hidroxilase por vários tecidos que não o renal, sugere que a vitamina D sintetizada nesses locais, ao ligar-se aos VDRs existentes localmente, ajuda a regular a proliferação e diferenciação celular, a inflamação, a resposta imune e o sistema endócrino (Jones, 2007).

Dentro desta variedade de funções não relacionadas com o metabolismo ósseo, são de realçar a regulação do sistema renina-angiotensina (SRA) (Li *et al*, 2004) e da via do factor nuclear κ B (NF- κ B) (Sun *et al*, 2006). O SRA vai influenciar essencialmente os sistemas cardiovascular e renal (Ruster *et al*, 2006) enquanto o NF- κ B estará envolvido na regulação de processos inflamatórios (Bonizzi *et al*, 2004), tendo ambos, portanto, interesse acrescido quando enquadrados numa situação de DRC.

O decréscimo nos níveis de Calcitriol coincide com o aumento dos níveis de PTH, sendo o hiperparatiroidismo secundário um problema bastante relevante nos doentes renais crónicos em fase avançada. As suas maiores consequências são pois a perda de massa óssea e a ocorrência de fracturas, devido ao estímulo à reabsorção óssea por parte da PTH. Outra complicação frequente prende-se com a doença cardiovascular, embora as bases moleculares deste processo não estejam ainda devidamente esclarecidas.

O tratamento para o hiperparatiroidismo secundário passa pelo uso de Calcitriol e dos análogos da vitamina D, de modo a inibir a acção da PTH. Dentro desses análogos, temos o Doxercalciferol (1α -hidroxivitamina D_2), o Paricalcitol (1,25-dihidroxi-19-norvitamina D_2) e o 22-Oxacalcitriol (1,25-dihidroxi-22-oxavitamina D_3), sendo que quando em comparação com o Calcitriol estes apresentam menos efeitos calcémicos.

Mais recentemente, vários estudos clínicos evidenciaram a existência de efeitos terapêuticos da vitamina D e dos seus análogos em doentes com DRC para além do controlo do hiperparatiroidismo e do metabolismo do Cálcio e do Fósforo, estando já demonstrados efeitos benéficos quer em doentes sob hemodiálise (Kovesdy *et al*, 2008) quer em doentes não

hemodialisados (Shoben *et al*, 2008). Estes estudos demonstraram benefício a nível da sobrevida dos doentes, sendo este benefício independente da supressão da PTH.

Um estudo retrospectivo nos Estados Unidos, comparando doentes renais crónicos hemodialisados sob terapêutica com vitamina D (ou seus análogos) e doentes renais crónicos hemodialisados sem terapêutica com vitamina D, demonstrou um acréscimo de 20% na sobrevida aos 2 anos no primeiro grupo (Teng *et al*, 2005).

Estudos semelhantes, comparando o benefício na sobrevida com a terapêutica com vitamina D ou com análogos desta, revelaram maior benefício no uso dos análogos, mais concretamente do Paricalcitol e do Doxercalciferol (Teng *et al*, 2003; Tentori *et al*, 2006). Estes estudos revelaram também que este acréscimo na sobrevida era independente dos valores séricos de Cálcio, Fósforo e PTH, o que evidencia que esse mecanismo protector não se limitava ao efeito sob a PTH e o metabolismo mineral, estando esse mecanismo sob intenso estudo actualmente.

Uma vez que a vitamina D apresenta larga actividade pleiotrópica, o mais provável é que este benefício seja fruto da sua acção sobre diversos alvos, tais como o rim, coração, sistema vascular, sistema imune e metabolismo glucídico.

IV | Mecanismos de Renoprotecção da Vitamina D e seus Análogos

Recentemente, têm sido apontadas várias acções da vitamina D a nível renal, em virtude da expressão a larga escala de VDRs neste órgão, sendo que os mecanismos pelos quais a vitamina D actua estão directamente implicados no desenvolvimento e progressão da lesão renal na DRC. A proteinúria, glomerulosclerose e fibrose intersticial são componentes chave da doença renal, sendo as duas principais vias que promovem estas lesões e a progressão da doença, a via do SRA e a via NF- κ B (Figura 3).

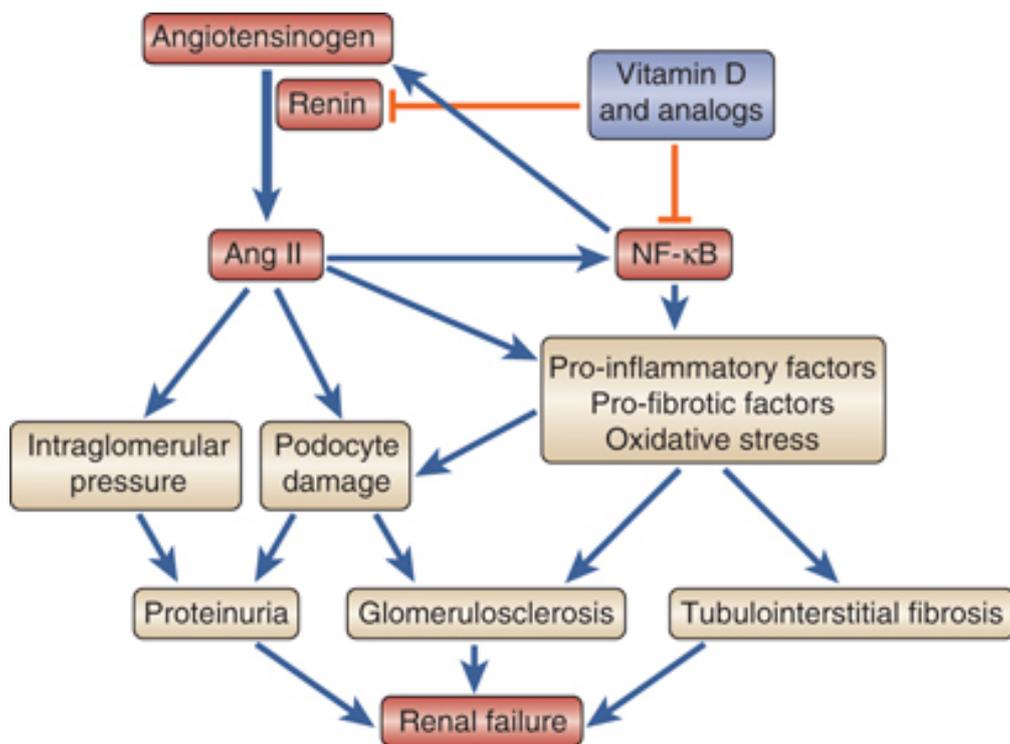


Figura 3. Mecanismos de renoprotecção da vitamina D e seus análogos.

Retirado de Li (2010).

A activação do SRA, além de várias acções sistémicas, tem a nível renal vários efeitos que contribuem para a progressão da lesão renal, tal como o aumento da pressão capilar glomerular, a indução de citocinas pró-fibróticas e pró-inflamatórias assim como de factores de crescimento, a promoção da infiltração de células imunes, a estimulação de proliferação e hipertrofia celular, síntese de matriz extra-celular (MEC) excessiva e lesão dos podócitos. A via NF- κ B vai também promover a inflamação e fibrose presentes na doença renal (Li, 2010) (Figura 4).

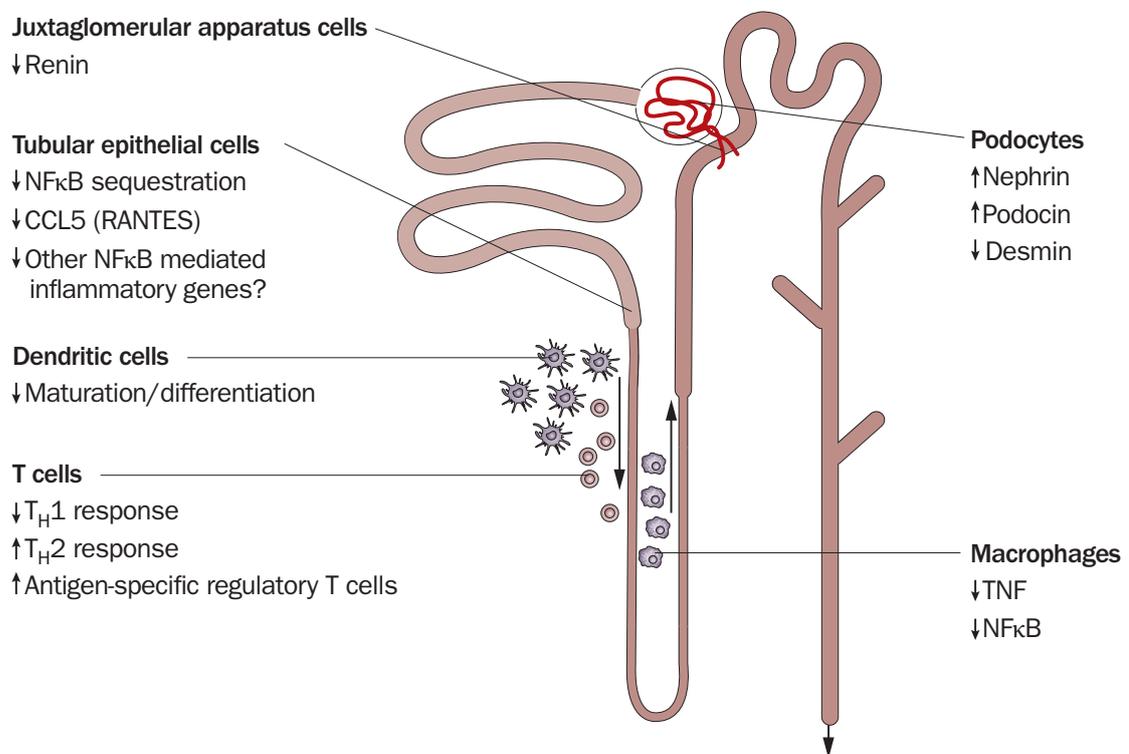


Figura 4. Potenciais efeitos benéficos da Vitamina D a nível do rim.

Retirado de Doorenbos *et al* (2009).

Assim sendo, os efeitos benéficos que têm sido apontados à vitamina D prendem-se essencialmente com o efeito anti-fibrótico, com o efeito sobre o sistema renina-angiotensina

(SRA) e outros efeitos anti-proteinúricos, assim como com o efeito anti-inflamatório da vitamina D. Além destes, tem sido também descrito um efeito imunomodulador que também pode estar envolvido nestes mecanismos renoprotectores. A presença de VDRs em diferentes células a nível renal faz com que estes potenciais efeitos benéficos se evidenciem, portanto, a diferentes níveis (Doorenbos *et al*, 2009).

1. Efeito anti-fibrótico

Em doentes que entram em falência renal, a existência de fibrose intersticial é uma constante, independentemente da causa subjacente. A característica mais proeminente da fibrose intersticial é a acumulação de MEC no espaço intersticial, estando fortemente correlacionada com a deterioração da função renal. Estudos recentes vêm demonstrando uma acção inibitória deste processo fibrótico por parte da vitamina D.

Estudos experimentais em modelos animais de fibrose intersticial induzida por obstrução ureteral unilateral, demonstraram uma atenuação bastante marcada da fibrose quando sob tratamento com Paricalcitol (Tan *et al*, 2006). Isto devia-se à supressão da indução das proteínas da MEC, incluindo a fibronectina e colagénio dos tipos I e III, e da actina α do músculo liso (α -SMA), o marcador da transição de epitélio para mesênquima. Além disso, a via pró-fibrótica do factor de transformação de crescimento β (TGF- β) também se encontrava suprimida. Por sua vez, o grupo de controlo constituído por ratos alterados geneticamente de modo a não expressarem VDRs desenvolveu fibrose intersticial severa (Tan *et al*, 2006).

De forma semelhante, estudos em modelos animais de glomerulonefrite induzida por anticorpos anti-thy-1.1, demonstraram que o tratamento com 22-oxacalcitriol também

condicionou uma redução do colagénio dos tipos I e IV e da α -SMA (Makibayashi *et al*, 2001).

2. Efeitos sobre o sistema renina-angiotensina

Os efeitos anti-proteinúricos da vitamina D podem ser explicados desde logo pela sua acção a nível do SRA. Aliás, a relação entre a vitamina D e o SRA está desde logo evidenciada pelos estudos animais que demonstram que o défice de vitamina D estimula a expressão da renina, enquanto a sua síntese se encontra reduzida quando administrado Calcitriol (Li *et al*, 2002).

Vários estudos clínicos retrospectivos confirmaram a acção anti-proteinúrica da vitamina D e dos seus análogos. Assim, foi constatada uma maior prevalência de albuminúria em pacientes com défice de vitamina D (de Boer *et al*, 2007).

Este efeito anti-proteinúrico foi também identificado em pacientes sob terapêutica com bloqueadores do SRA, o que evidencia um efeito aditivo ou sinérgico por parte dos análogos da vitamina D (Agarwal *et al*, 2005).

Num outro estudo ficou também verificado que o uso de análogos da vitamina D apresentava essa redução significativa da albuminúria, independentemente dos seus efeitos hemodinâmicos ou supressivos da PTH (Alborzi *et al*, 2008).

Foi já demonstrada em vários estudos a ligação da vitamina D à região promotora do gene da renina, o que leva à inibição da expressão do RNA mensageiro da renina a nível renal (Li *et al*, 2002; Yuan *et al*, 2007).

Em estudos animais, usando ratos alterados geneticamente de modo a não expressarem VDRs, a inibição da transcrição da renina por parte da vitamina D revelou-se diminuída, observando-se uma activação do SRA resultante da hiperreninémia e, conseqüentemente, em

lesão renal (Li *et al*, 2002; Zhang *et al*, 2008), sendo que a administração de Calcitriol e de análogos da vitamina D mostrou uma inibição da expressão da renina (Qiao *et al*, 2005).

Além disso, estes estudos demonstraram também o desenvolvimento de um estado de hipertensão, provavelmente como consequência da activação do SRA, o que poderá levar à conclusão que a vitamina D apresentará também actividade anti-hipertensora, algo que continua a ser matéria muito controversa (Pilz *et al*, 2009).

Dentre esses estudos, o uso de vitamina D em culturas de células justaglomerulares demonstrou uma redução na expressão de renina na ordem dos 90% (Li *et al*, 2002). Este facto poderá ser explicado pelo bloqueio do elemento do gene promotor da renina sensível ao ciclo da adenina-monofosfato (Yuan *et al*, 2007).

Num outro estudo, neste caso em adipócitos, verificou-se que o Calcitriol diminui a expressão do gene que codifica o receptor da angiotensina II do tipo I (Morris *et al*, 2005). No entanto, se o mesmo acontece em células de tecido renal continua por esclarecer.

Estudos recentes em modelos de insuficiência renal semelhante à observada em estágios avançados de DRC a partir de nefrectomias subtotais, demonstraram que a administração de Paricalcitol suprimia a activação do SRA a nível do rim, atenuando deste modo e de forma significativa a lesão glomerular e tubulointersticial, assim como reduzindo a proteinúria e a hipertensão arterial, sugerindo assim que o bloqueio do SRA previne a deterioração da função renal (Freundlich *et al*, 2008).

Estudos em modelos semelhantes demonstraram também outros efeitos renoprotectores dos análogos da vitamina D. Baseando-se este modelo no facto de haver lesão glomerular e tubulointersticial progressiva, hipertensão glomerular e proteinúria, o facto de estes estudos demonstrarem que a administração de Calcitriol reduzia a glomerulosclerose e a albuminúria e prevenia a lesão dos podócitos, constituiu mais uma evidência dos efeitos benéficos da vitamina D (Schwarz *et al*, 1998; Kuhlmann *et al*, 2004).

Nos doentes com DRC, a terapêutica de primeira linha com vista à renoprotecção tem sido essencialmente à base do bloqueio do SRA com inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECAs) e com antagonistas dos receptores da angiotensina II do tipo I (ARAs). Em ambos os casos se observa, apesar dos efeitos benéficos, um aumento reactivo da renina e da aldosterona (van Veldhuisen *et al*, 1998; de Borst *et al*, 2003). Sabendo que tanto a renina como a aldosterona têm efeitos pró-fibróticos (Nguyen *et al*, 2002,; Kramer *et al*, 2007), o efeito benéfico da administração de qualquer um dos grupos de fármacos pode ser limitado.

Estudos mais recentes, usando o modelo de insuficiência renal com base em nefrectomias subtotais, já demonstraram uma melhoria da eficácia do tratamento com bloqueadores do SRA quando em associação com análogos da vitamina D, em comparação com o uso isolado de Paricalcitol. Neste estudo, observou-se uma redução da glomerulosclerose e uma supressão da expressão de TGF- β e da MCP-1. Contudo, este estudo não avaliava o estado do SRA a nível do rim (Mizobuchi *et al*, 2007).

O facto da inflamação renal desempenhar um importante papel na resistência ao bloqueio do SRA (Remuzzi *et al*, 1999; Kramer *et al*, 2003), faz com que as propriedades anti-inflamatórias da vitamina D possam também ter um papel nesta melhoria da eficácia quando sob uma terapêutica em associação.

3. Outros efeitos anti-proteinúricos

Além dos efeitos sobre o SRA, outras evidências apontam para um efeito anti-proteinúrico da vitamina D que não se encontre relacionado com essa via de acção.

Estudos experimentais em modelos de síndrome nefrótico induzido pela puromicina demonstraram claramente os efeitos anti-proteinúricos do tratamento quer com Calcitriol quer com o seu análogo 22-oxacalcitriol (Matsui *et al*, 2009; Xiao *et al*, 2009). O tratamento com

Calcitriol ou o seu análogo levou a uma restauração parcial da expressão glomerular da nefrina, uma proteína estrutural do *slit diaphragm* que está inversamente correlacionada com a proteinúria. A nível dos podócitos, essa indução da expressão da nefrina deve-se provavelmente à ligação de VDRs activados a elementos sensíveis à vitamina D no gene da nefrina (Yamauchi *et al*, 2006). Além disso, o tratamento com vitamina D levou também à restauração da expressão de podocina, uma molécula associada ao *slit diaphragm*, e diminuiu a expressão da desmina, um marcador da lesão podocitária (Matsui *et al*, 2009).

Assim sendo, a acção protectora directa da vitamina D sobre os podócitos parece ser a causa deste efeito anti-proteinúrico adicional.

Actualmente estão a ser desenvolvidos diversos estudos de modo a avaliar estes efeitos anti-proteinúricos dos análogos da vitamina D em humanos, assim como do benefício decorrente da associação da vitamina D ao bloqueio do SRA, o tratamento de eleição para combater a proteinúria (Lambers Heerspink *et al*, 2009).

4. Efeito anti-inflamatório

As propriedades anti-inflamatórias da vitamina D sobre a via NF- κ B já foram demonstradas em diversos estudos (Panichi *et al*, 2001; Zhang *et al*, 2007; Tan *et al*, 2008). Este facto toma especial interesse uma vez que se encontra comprovada a relação inversa entre os níveis de Calcitriol e a inflamação renal em diferentes afecções renais (Zehnder *et al*, 2008,).

Assim, o uso de Paricalcitol em modelos animais de fibrose tubulointersticial induzida por obstrução ureteral unilateral revelou uma diminuição da inflamação a nível renal através do bloqueio desta via (Tan *et al*, 2008).

Um estudo usando culturas de células epiteliais do túbulo contornado proximal demonstrou que o tratamento com Paricalcitol origina a formação de um complexo formado por VDRs e o componente p65 do NFκB (Tan *et al*, 2008). A formação deste complexo, evita assim a ligação do NFκB a regiões promotoras de genes envolvidos no processo inflamatório, resultando, em consequência disso, numa menor activação de genes envolvidos no processo inflamatório como o CCL5.

Resultados semelhantes foram obtidos em estudos com culturas de células mesangiais, verificando-se uma inibição da acção do gene CCL2, também envolvido no processo inflamatório (Zhang *et al*, 2007).

Num outro estudo, ficou demonstrado que a nível dos macrófagos a actividade do NFκB também foi inibida pelo uso de vitamina D, o que resultou numa menor produção de factor de necrose tumoral (Cohen-Lahav *et al*, 2007).

5. Efeito imunomodulador

Apesar de já serem reconhecidos à vitamina D efeitos imunomoduladores desde há cerca de 25 anos, só agora se começam a compreender os seus mecanismos e a importância dos seus efeitos no contexto da DRC (Adams *et al*, 2008). Desde logo, o facto de estudos animais em que estes eram manipulados geneticamente de modo a não expressarem VDRs ou 1α-hidroxilase demonstrarem uma sensibilidade acrescida ao desenvolvimento de doenças autoimunes, tais como doença inflamatória intestinal ou diabetes mellitus tipo 1 após exposição a factores predisponentes, vem reforçar a relação entre a vitamina D e o sistema autoimune (Agarwal, 2009).

A metabolização da vitamina D ocorre essencialmente a nível renal e hepático. No entanto, algumas células do sistema imune podem também desempenhar essa função. A

demonstração da capacidade dos linfócitos T em converter Calcidiol em Calcitriol é prova disso mesmo (Sigmundsottir *et al*, 2007). Além disso, a expressão de enzimas necessárias a essa conversão em macrófagos e células dendríticas suporta essa teoria. (van Etten *et al*, 2005) O efeito resultante da acção da vitamina D sobre os linfócitos T é o bloqueio da produção de citocinas, como o interferão γ , pelas células Th1 e a promoção de respostas Th2 (Mora *et al*, 2008).

A vitamina D já demonstrou também ter um efeito inibitório na maturação e diferenciação de células dendríticas em estudos *in vitro*, o que condiciona uma menor proliferação de linfócitos T e produção de interferão γ (Penna *et al*, 2000).

A comprovar estas teorias sobre o efeito imunomodelador da vitamina D, estudos pré-clínicos em animais já demonstraram uma maior taxa de sobrevivência após transplante renal quando sob tratamento com vitamina D (Redaelli *et al*, 2002).

Em indivíduos com DRC, de causa não-autoimune ou que não necessitem de transplante renal, a vitamina D também apresenta efeitos imunomoduladores benéficos. A comprová-lo, um estudo recente demonstrou a importância das células dendríticas na progressão da glomerulonefrite após lesão glomerular (Heymann *et al*, 2009).

V | Nefropatia Diabética e Vitamina D

Sendo a Diabetes Mellitus a principal causa de DRC, torna-se bastante pertinente a aplicação destes novos conhecimentos a esta patologia específica.

Está já amplamente descrito o papel da hiperglicémia como factor determinante no desenvolvimento de nefropatia diabética. Para esse efeito, a glicose activa ambas as vias fisiopatológicas que levam ao desenvolvimento e progresso da lesão renal, a via do SRA e a via inflamatória do NF- κ B, ambas já descritas anteriormente (Figura 5). Assim sendo, a hiperglicémia e a deficiência em vitamina D parecem ser potentes activadores dos componentes intra-renais do SRA. Estudos anteriores demonstraram já que na Diabetes os níveis intersticiais intrarenais de angiotensina II podem chegar a ser 1000 vezes superiores aos valores normais (Carey *et al*, 2003).

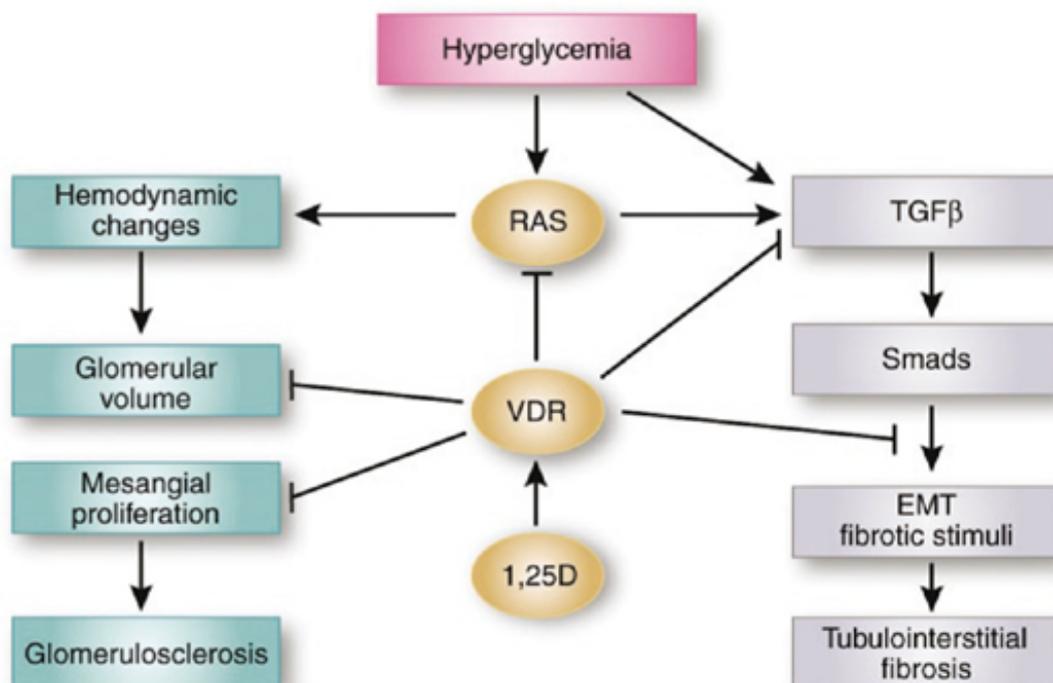


Figura 5. Acção da vitamina D sobre desenvolvimento de nefropatia diabética.

Retirado de Klaus (2008)

Um estudo experimental recente, usando um modelo animal de nefropatia diabética induzida pela Estreptozotocina, demonstrou o papel renoprotector da vitamina D nesta patologia. Isto foi conseguido pela comparação dos resultados obtidos com a administração de Paricalcitol em dois grupos de animais: um alterado geneticamente de modo a não expressar VDRs e outro sem qualquer manipulação genética, apresentando ambos níveis semelhantes de hiperglicémia. Ficou assim demonstrado que o grupo alterado geneticamente desenvolvia albuminúria mais severa e de forma mais precoce, assim como uma lesão mais extensa quer da barreira de filtração glomerular quer dos podócitos. Ficou também demonstrado, que o grupo alterado geneticamente apresentava maior grau de glomerulosclerose, com maior produção de MEC. O mecanismo subjacente a esta diferença nos resultados obtidos prendia-se com o facto de haver uma maior activação do SRA a nível renal no grupo alterado geneticamente, resultando assim numa maior produção de renina e angiotensina (Zhang *et al*, 2008).

Nesse mesmo estudo, ficou também demonstrado o efeito benéfico acrescido da associação Paricalcitol-Losartan quando comparado com o uso isolado de ambos os fármacos. A associação dos dois fármacos demonstrou assim uma completa prevenção da albuminúria, restauração estrutural da barreira de filtração glomerular e glomerulosclerose reduzida. Ficou também evidenciada a supressão das proteínas da MEC e das citocinas pró-inflamatórias e pró-fibróticas. O pressuposto molecular que sustenta este efeito sinérgico prende-se com o bloqueio do aumento compensatório da renina e a acumulação de angiotensina II a nível do rim. A associação Doxercalciferol-Losartan foi também estudada, apresentando resultados sobreponíveis com estes (Zhang *et al*, 2008).

Sendo que a terapêutica de primeira linha para a nefropatia diabética se baseia não apenas nos ARAs, mas também nos IECAs e nos inibidores da renina, um outro estudo demonstrou efeito sinérgico semelhante ao já descrito para os ARAs quando em associação

com análogos da vitamina D para estes outros grupos de fármacos. Ficou assim demonstrado o bloqueio do aumento compensatório da renina, o que aumenta de forma bastante marcada a eficácia destes fármacos no controlo da nefropatia diabética (Zhang *et al*, 2008).

A albuminúria está já amplamente descrita como factor de risco *major* para a nefropatia diabética e o primeiro passo para a evolução para proteinúria e falência renal. Assim sendo, a diminuição da albuminúria é um grande alvo na terapêutica da nefropatia diabética. Como já descrito anteriormente, estudos demonstram uma redução significativa da albuminúria em pacientes sob terapêutica com vitamina D (Alborzi *et al*, 2008).

VI | Vitamina D e Cardioprotecção

Além dos efeitos já descritos a nível renal por parte da vitamina D, torna-se também motivo de interesse acrescido o efeito cardioprotector da vitamina D, uma vez que a doença cardiovascular coexistente é a principal causa de morte na população com DRC (Mehrotra *et al*, 2009).

Estudos retrospectivos já demonstraram a associação entre o défice de vitamina D e uma maior morbilidade (Wang *et al*, 2008) e mortalidade (Dobnig *et al*, 2008) cardiovascular.

Níveis séricos baixos de vitamina D estão fortemente associados a um maior risco de desenvolver aterosclerose coronária nos doentes renais crónicos, quando comparados com indivíduos com função renal normal (de Boer *et al*, 2009).

Além disso, a activação do SRA decorrente do défice em vitamina D está comprovadamente implicada no desenvolvimento de hipertensão arterial (Connell *et al*, 2008). A comprovar este facto estão os estudos em modelos experimentais que demonstraram o desenvolvimento de hipertensão arterial e hipertrofia do miocárdio em animais alterados geneticamente de modo a não expressarem VDRs e 1α -hidroxilase, sendo que estes desapareciam com o bloqueio do SRA (Simpson *et al*, 2007; Zhou *et al*, 2008).

Uma vez que a angiotensina II sintetizada a nível renal vai actuar a nível do sistema cardiovascular pelos seus efeitos na pressão sanguínea, na musculatura lisa vascular e nos miócitos cardíacos (Artaza *et al*, 2009), acredita-se que a acção da vitamina D na regulação do SRA pode reduzir de forma significativa a mortalidade prematura na DRC associada à doença cardiovascular (Mehrotra *et al*, 2009), mas mais estudos são necessários para o confirmar de forma cabal.

A própria PTH, que se encontra aumentada na presença de um défice de vitamina D, está também associada com o desenvolvimento de hipertensão arterial (Fitzpatrick *et al*, 2008).

Apesar destas evidências que apontam um efeito da vitamina D sobre a hipertensão arterial, existe ainda alguma controvérsia em relação a esta temática, uma vez que estudos prospectivos que avaliavam a acção da vitamina D sobre a hipertensão no tratamento a curto-prazo (1 mês) através da administração de Paricalcitol, não demonstraram qualquer efeito sobre a mesma (Alborzi *et al*, 2008). Noutros estudos, ficou também estabelecida a relação entre os níveis de vitamina D e outros factores de risco cardiovascular, tais como a resistência à insulina, a diabetes e a dislipidémia (Martins *et al*, 2007). Estas associações podem, pelo menos em parte, explicar a maior incidência em doentes renais crónicos de morbilidade e mortalidade de causa cardiovascular.

À vitamina D tem também sido apontadas funções sobre a parede vascular, uma vez que as células endoteliais e as células musculares lisas vasculares apresentam tanto VDRs como 1α -hidroxilase (Kumar *et al*, 1994). No seguimento desta hipótese, estudos anteriores demonstraram já uma diminuição da adesão endotelial com a administração de Calcitriol (Talmor *et al*, 2008).

Uma questão que causa ainda alguma controvérsia prende-se com o facto de apesar dos estudos que demonstram benefícios na sobrevida dos pacientes com DRC sob terapêutica com vitamina D, esta ter sido apontada como causa de calcificação vascular noutros estudos (Mizobuchi *et al*, 2007). Na tentativa de esclarecer esta polémica, um estudo mais recente veio demonstrar que o uso de análogos da vitamina D em doses terapêuticas para a correcção do hiperparatiroidismo secundário presente na DRC apresentava um efeito protector contra a calcificação vascular, enquanto doses superiores estimulavam o aparecimento dessa mesma calcificação vascular. Em doses terapêuticas verificou-se então uma redução na acumulação

de cálcio vascular associada a uma expressão reduzida de factores de transcrição específicos para os osteoblastos e de uma proteína alvo destes, a osteocalcina. No entanto, ficou também demonstrada a existência de uma curva dose-resposta bifásica, pois para doses superiores não só não se verificava esta redução, como uma estimulação destes ficou demonstrada (Mathew *et al*, 2008) (Figura 6).

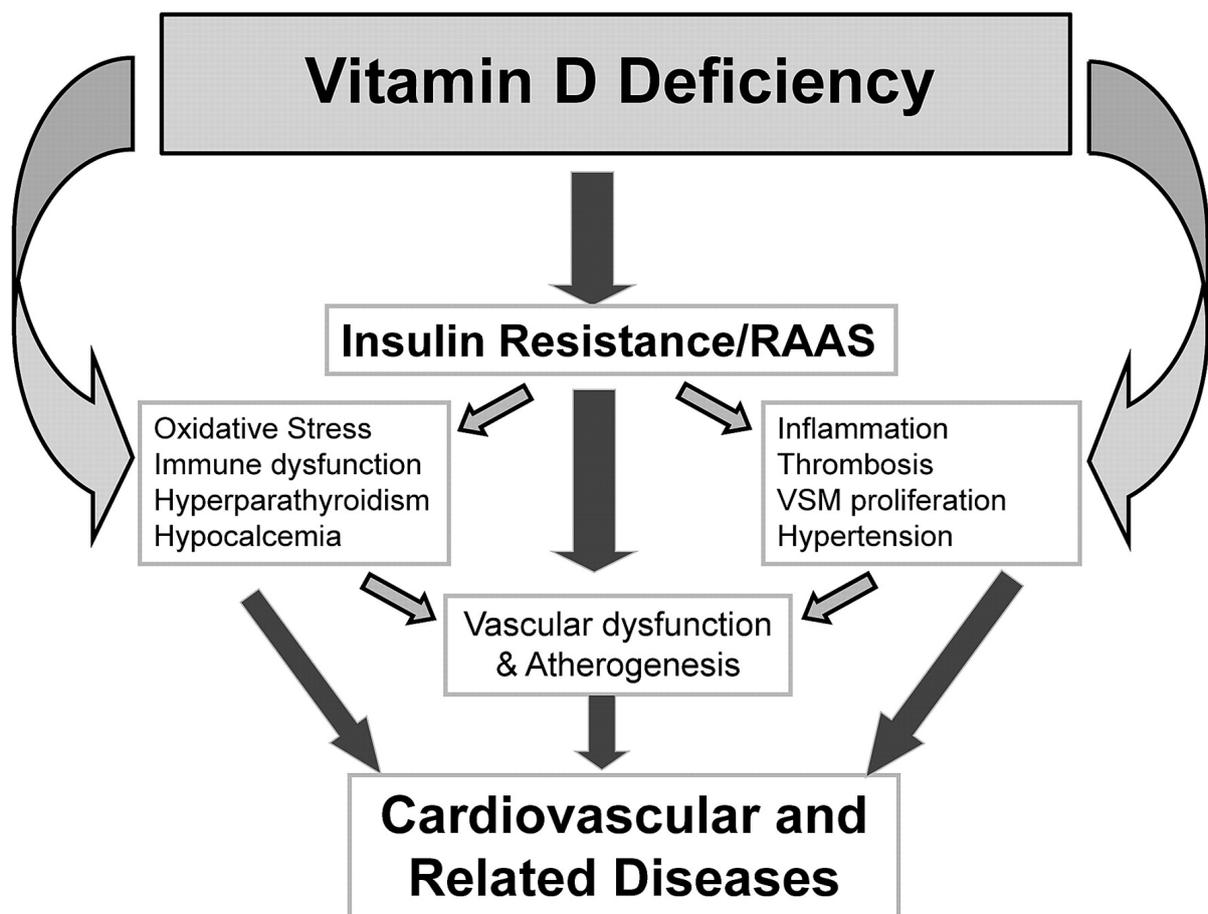


Figura 6. Vias *major* do desenvolvimento de doença cardiovascular na DRC com o défice de vitamina D.

Retirado de Williams *et al* (2009).

VII | Suplementação com Vitamina D

Uma vez que a obtenção de vitamina D através da alimentação é bastante limitada e a exposição solar requer cada vez mais precauções, a necessidade de suplementação oral com vitamina D perante um défice desta hormona torna-se quase universal. Aliás, a suplementação nas crianças encontra-se preconizada, não havendo, no entanto, qualquer recomendação para a suplementação no adulto saudável.

Na DRC, sendo uma subpopulação ainda mais susceptível a este défice, a recomendação para a suplementação com vitamina D encontra-se bastante subestimada, até porque tem apenas como objectivo até ao momento a manutenção da homeostasia do metabolismo mineral, estando assim apenas preconizado o seu início a partir de níveis séricos de Calcidiol de 30 ng/ml e apenas para doentes com DRC em estágio 3 e 4 (*CKD Outcomes Quality Initiative Clinical Practice Guidelines*, 2011).

Perante as novas funções da vitamina D, existem já evidências que sugerem a necessidade de suplementação com Calcidiol no início da doença, com posterior adição de suplemento de Calcitriol a partir do estágio 3 (Jones, 2007,).

Estudos recentes estimam que as necessidades diárias de suplementação podem chegar às 4000 UI para a população em geral, sendo necessárias naturalmente doses superiores para indivíduos com DRC (Jones, 2007; Holick, 2007). Estima-se que por cada 100 UI administradas, se verifica uma elevação de 1 ng/mL nos níveis séricos de Calcidiol (Heaney, 2008), sendo que a administração diária, semanal ou mensal apresenta resultados semelhantes na manutenção de níveis adequados (Ish-Shalom *et al*, 2008).

O risco de toxicidade não parece ser significativo, uma vez que se acredita serem necessários níveis séricos de Calcidiol na ordem dos 150 ng/mL para haver um risco acrescido de hipercalcémia (Jones, 2008).

Existem já dados que apontam no sentido de um efeito benéfico da suplementação com vitamina; no entanto, estudos que demonstram uma melhoria da sobrevida na população em geral são ainda meta-análises de pequenos grupos randomizados, sendo assim necessários estudos mais alargados (Autier *et al*, 2007).

VIII | Conclusões

Apesar de já bem demonstrado por dados epidemiológicos a existência de um défice de vitamina D na população em geral, sendo este ainda mais acentuado na DRC e estando associado a uma maior morbilidade e mortalidade, só agora se começam a perceber os mecanismos pelos quais isso acontece, algo que acontece na sequência da descoberta da presença de VDRs e 1α -hidroxilase a nível de diferentes tecidos.

Deste modo, além dos efeitos clássicos atribuídos à vitamina D, conhecem-se agora os seus efeitos protectores sobre a fibrose intersticial, a glomerulosclerose, a inflamação e a proteinúria, elementos-chave no desenvolvimento da DRC, através essencialmente da sua acção sobre o SRA e a via do NF- κ B.

Uma vez que o bloqueio do SRA é actualmente a base do tratamento na DRC, os análogos da vitamina D mostram assim potencial para se tornarem uma terapêutica adjuvante desta, podendo contrariar o aumento reactivo da renina que esta terapêutica acarreta. A terapêutica com análogos da vitamina D pode ter especial interesse também em pacientes nos quais o bloqueio do SRA se encontra contra-indicado, tal como em casos de hipotensão ou hipercaliémia.

Estes dados assumem especial interesse na medida em que foram obtidos a partir de estudos em modelos experimentais diferentes, o que lhes confere desde logo uma credibilidade acentuada. Outro factor que reforça esta credibilidade está relacionado com o facto de estes efeitos benéficos terem sido demonstrados independentemente dos valores de PTH ou de glicemia existentes, o que demonstra o potencial terapêutico dos análogos da vitamina D.

As acções imunomoduladoras da vitamina D continuam sobre intensa investigação, sendo que os seus efeitos sobre os macrófagos, linfócitos T e células dendríticas já

demonstrados, abrem excelentes perspectivas. Com este conjunto de dados já obtidos, justifica-se então a investigação do uso dos análogos da vitamina D no tratamento de doenças inflamatórias, como a nefrite auto-imune e na indução de melhor tolerância em doentes submetidos a transplante renal.

Além dos efeitos renoprotectores, os análogos da vitamina D têm também demonstrado capacidade de conferir protecção cardiovascular, facto de certo modo expectável devido à grande sobreposição de factores de risco para ambas as situações. Assim sendo, a protecção contra a HTA, a adesão endotelial e a calcificação vascular adquirem especial interesse, uma vez que a mortalidade na DRC é sobretudo de origem cardiovascular.

Apesar de todos estes dados encorajadores obtidos a partir de estudos em modelos experimentais, mais estudos são necessários, nomeadamente ensaios clínicos que possibilitem verificar o potencial terapêutico dos análogos da vitamina D na prática clínica. Apesar de já haver recomendações para a suplementação com vitamina D na DRC, estas encontram-se bastante subvalorizadas. À luz destes novos conhecimentos estas recomendações podem vir a ser reformuladas, algo que poderá ter lugar a curto prazo uma vez que tais estudos já se encontram em curso, sendo expectáveis novos dados sobre a matéria em breve.

IX | Referências

- Adams JS, Hewison M (2008) Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 4:80-90
- Agarwal R (2009) Vitamin D, proteinuria, Diabetic Nephropathy and Progression of CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 4:1523-1528
- Agarwal R, Acharya M, Tian J, Hippensteel RL, Melnick JZ, Qiu P, Williams L, Battle D (2005) Antiproteinuric effect of oral paricalcitol in chronic kidney disease. *Kidney Int* 68:2823-2828
- Alborzi P, Patel NA, Peterson C, Bills JE, Bekele DM, Buanye Z, Light RP, Agarwal R (2008) Paricalcitol reduces albuminuria and inflammation in chronic kidney disease: a randomized double-blind pilot trial. *Hypertension* 52:249-255
- Andress DL (2006) Vitamin D in chronic kidney disease: a systemic role for selective vitamin D receptor activation. *Kidney Int* 69:33-43
- Artaza JN, Mehrotra R, Norris KC (2009) Vitamin D and the cardiovascular system. *Clin J Am Soc Nephrol* 4:1515-1522
- Autier P, Gandini S (2007) Vitamin D supplementation and total mortality: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 167:1730-1737
- Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B (2006) Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 84:18-28
- Bonizzi G, Karin M (2004) The two NF-kappaB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends immunol* 25:280-288
- Carey RM, Siragy HM (2003) The intrarenal renin-angiotensin system and diabetic nephropathy. *Trends Endocrinol Metab* 14:274-281

- Carlberg C, Seuter S (2009) A genomic perspective on vitamin D signaling. *Anticancer res* 29: 3485-3493
- Christakos S, Raval-Pandya M, Wernyj RP, Yang W (1996) Genomic mechanisms involved in the pleiotropic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Biochem J* 316(Pt2):361-371
- Cohen-Lahav M, Douvdevani A, Chaimovitz C, Shany S (2007) The anti-inflammatory activity of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in macrophages. *J Steroid Biochem Mol Biol* 103:558-562
- Connell JM, Mackenzie SM, Freel EM, Fraser R, Davies E (2008) A lifetime of aldosterone excess: long-term consequences of altered regulation of aldosterone production for cardiovascular function. *Endocr Rev* 29:133-154
- de Boer IH, Ioannou GN, Kestenbaum B, Brunzell JD, Weiss NS (2007) 25-hydroxyvitamin D levels and albuminuria in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Am J Kidney* 50:69-77
- de Boer IH, Kestenbaum B, Shoben AB, Michos ED, Sarnak MJ, Siscovick DS (2009) 25-hydroxyvitamin D levels inversely associate with risk for developing coronary artery calcification. *J Am Soc Nephrol* 20:1805-1812
- de Borst MH, Navis G, de Bóer RA, Huitema S, Vls LM, van Gilst WH, van Goor H (2003) Specific MAP-kinase blockade protects against renal damage in homozygous TGR(mRen2)²⁷ rats. *Lab Invest* 83:1761-1770
- Deeb KK, Trump DL, Johnson CS (2007) Vitamin D signalling pathways in câncer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Câncer* 7:684-700
- Dobnig H, Pilz S, Scharnagi H, Renner W, Seelhorst U, Wellnitz B, Kinkedel J, Boehm BO, Weihrauch G, Maerz W (2008) Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med* 168:1340-1349

- Doorenbos CRC, van den Born J, Navis G, de Borst MH (2009) Possible renoprotection by vitamin D in chronic renal disease: beyond mineral metabolism. *Nature Reviews Nephrology* 5:691-700
- Fitzpatrick LA, Bilezikian JP, Silverberg SJ (2008) Parathyroid hormone and the cardiovascular system. *Curr Osteoporos Rep* 6:77-83
- Freundlich M, Quiroz Y, Zhang Z, Zhang Y, Bravo Y, Weisinger JR, Li YC, Rodriguez-Iturbe B (2008) Suppression of renin-angiotensin gene expression in the kidney by paricalcitol. *Kidney Int* 74:1394-1402
- Ginde AA, Liu MC, Camargo CA (2009) Demographic differences and trends of vitamin D insufficiency in the US population, 1988-2004. *Arch Intern Med* 169:626-632
- Gonzalez EA, Sachdeva A, Oliver DA, Martin K (2004) Vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease. A single center observational study. *Am j Nephrol* 24:503-510
- Heaney RP (2008) Vitamin D in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 3(5):1535-1541
- Heymann F, Meyer-Schwesinger C, Hamilton-Williams EE, Hammerich L, Panzer U, Kaden S, Quaggin SE, Floege J, Grone HJ, Kurtis C (2009) Kidney dendritic cell activation is required for progression of renal disease in a mouse model of glomerular injury. *J Clin Invest* 119:1286-1297
- Holick MF (2007) Vitamin D deficiency. *N Eng J Med* 357:266-281
- Ish-Shalom S, Segal E, Salganik T, Raz B, Bromberg IL, Vieth R (2008) Comparison of daily, weekly, and monthly vitamin D3 in ethanol dosing protocols for two months in elderly hip fracture patients. *J Clin Endocrinol Metab* 93:3430-3435
- Jacob AI, Sallman A, Santiz Z, Hollis BW (1984) Defective photoproduction of cholecalciferol in normal and uremic humans. *J Nutr* 114:1313-1319

- Jones G (2007) Expanding role of vitamin D in chronic kidney disease: importance of blood 25-OH-D levels and extra-renal 1 α -hydroxylase in the classical and non-classical actions of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *Seminars in Dialysis* 20(4):316-324
- Jones G (2008) Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr* 88:582S-586S
- Kidney Disease Outcomes Quality Initiative Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease (online), http://www.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines_bone/Guide7.htm
- Klaus G (2008) Renoprotection with vitamin D: Specific for diabetic nephropathy? Commentary. *Kidney Int* 73:141-143
- Kovesdy CP, Kalantar-Zadeh K (2008) Vitamin D receptor activation and survival in chronic kidney disease. *Kidney Int* 73:1255-1363
- Kramer AB, Laverman GD, van Goor H, Navis G (2003) Inter-individual differences in anti-proteinuric response to ACEi in established adriamycin nephrotic rats are predicted by pretreatment renal damage. *J pathol* 201:160-167
- Kramer AB, van der Meulen EF, van Goor H, Navis G (2007) Effect of combining ACE inhibition with aldosterone blockade on proteinuria and renal damage in experimental nephrosis. *Kidney Int* 71:417-424
- Kuhlmann A, Haas CS, Gross ML, Reulbach U, Holzinger M, Schwarz U, Ritz E, Amann K (2004) 1,25-dihydroxyvitamin D₃ decreases podocyte loss and podocyte hypertrophy in the subtotal nephrectomized rat. *Am J Physiol Renal Physiol* 286: F526-F533
- Kumar R, Schaefer J, grande JP, Roche PC (1994) Immunolocalization of calcitriol receptor, 24-hydroxylase cytochrome P-450, and calbindin D28k in human kidney. *Am J Physiol* 266:F477-F485
- Lambers Heerspink HJ, Agarwal R, Coyne DW, Parving HH, Ritz E, Remuzzi G, Audhya P, Amdahl MJ, Andress DL, de Zeeuw D (2009) The selective vitamin D receptor

- activator for albuminuria lowering (VITAL) study: study design and baseline characteristics. *Am J Nephrol* 30:280-286
- Levin A, Bakris GL, Molitch M, Smulders M, Tian J, Williams LA, Andress DL (2007) Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney int* 71:31-38
- Li YC (2010) Renoprotective effects of vitamin D analogs. *Kidney Int* 78:134-139
- Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP (2002) 1,25-dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest* 110:229-238
- Li YC, Qiao G, Uskokovic M, Xiang W, Zheng W, Kong J (2004) Vitamin D: a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure. *J steroid Biochem Mol Biol* 89-90: 387-392
- Liu S, Tang W, Zhou J, Stubbs JR, Luo Q, Pi M, Quarles LD (2006) Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D. *J Am Soc Nephrol* 17:1305-1315
- Makibayashi K, Tatematsu M, Hirata M, Fukushima N, Kusano K, Ohashi S, Abe H, Kuze K, Fukatsu A, Kita T, Doi T (2001) A vitamin D analog ameliorates glomerular injury on rat glomerulonephritis. *Am J Pathol* 1733-1741
- Martins D, Wolf M, Pan D, Zadshir A, Tareen N, Thadhani R, Felsenfeld A, Levine B, Mehrotra R, Norris K (2007) Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 167:1159-1165
- Mathew S, Lund RJ, Chaudhary LR, Geurs T, Hruska KA (2008) Vitamin D receptor activators can protect against vascular calcification. *J Am Soc Nephrol* 19:1509-1519

- Matsui I, Hamano T, Tomida K, Inoue K, Takabatake Y, Nagasawa Y, Kawada N, Ito T, Kawachi H, Rakugi H, Imai E, Isaka Y (2009) Active vitamin D and its analogue, 22-oxacalcitriol, ameliorate puromycin aminonucleoside-induced nephrosis in rats. *Nephrol Dial Transplant* 24:2354-2361
- Mehrotra R, Kermah D, Salusky I, Wolf M, Thadhani R, Chiu YW, Martins D, Adler S, Norris K (2009) Chronic kidney disease, hypovitaminosis D, and mortality in the United States. *Kidney Int* 76(9):931-933
- Mizobuchi M, Finch JL, Martin DR, Slatopolsky E (2007) Differential effects of vitamin D receptor activators on vascular calcification in uremic rats. *Kidney Int* 72:709-715
- Mizobuchi M, Morrissey J, Finch JL, Martin DR, Liapis H, Akizawa T, Slatopolsky E (2007) Combination therapy with an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a vitamin D analog suppresses the progression of renal insufficiency in uremic rats. *J Am Soc Nephrol* 18:1796-1806
- Mora JR, Iwata M, von Andrian UH (2008) Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol* 8:685-698
- Morris KL, Zemel MB (2005) 1,25-dihydroxyvitamin D₃ modulation of adipocyte glucocorticoid function. *Obes Res* 13:670-677
- Nguyen G, Delarue F, Burcklé C, Bouzahir L, Giller T, Sraer JD (2002) Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. *J Clin Invest* 109:1417-1427
- Nykjaer A, Dragun D, Walther D, Vorum H, Jacobsen C, Herz J, Meisen F, Christensen EI, Willnow TE (1999) An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D₃. *Cell* 96:507-515

- Panichi V, Migliori M, Taccola D, Fillippi C, De Nisco L, Giovannini L, Palla R, Tetta C, Camussi G (2001) Effects of 1,25(OH)₂D₃ in experimental mesangial proliferative nephritis in rats. *Kidney Int* 60:87-95
- Penna G, Adorini L (2000) 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *J Immunol* 164:2405-2411
- Pilz S, Tomaschitz A, Ritz E, Pieber TR (2009) Vitamin D status and arterial hypertension: a systematic review. *Nat Rev Cardiol* 6:621-630
- Qiao G, Kong J, Uskokovic M, Li YC (2005) Analogs of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ as novel inhibitors of renin biosynthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 96:59-66
- Ravani P, Malberti F, Tripepi G, Pecchini P, Cutrupi S, Pizzini P, Mallamaci F, Zoccali C (2009) Vitamin D levels and patient outcome in chronic kidney disease. *Kidney Int* 75:88-95
- Redaelli CA, Wagner M, Gunter-Duwe D, Tian YH, Stahel PF, Mazzucchelli L, Schmid RA, Schilling MK (2002) 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ shows strong and additive immunomodulatory effects with cyclosporine A in rat renal transplants. *Kidney Int* 61:288-296
- Remuzzi G, Zoja C, Gagliardini E, Corna D, Abbate M, Benigni A (1999) Combining an antiproteinuric approach with mycophenolate mofetil fully suppresses progressive nephropathy of experimental animals. *J Am Soc Nephrol* 10:1542-1549
- Ruster C, Wolf G (2006) Renin-angiotensin-aldosterone system and progression of renal disease. *J Am Soc Nephrol* 17:2985-2991
- Schwarz U, Amann K, Orth SR, Simonaviciene A, Wessels S, Ritz E (1998) Effect of 1,25 (OH)₂ vitamin D₃ on glomerulosclerosis in subtotal nephrectomized rats. *Kidney Int* 53:1696-1705

- Shoben AB, Rudser KD, de Boer IH, Young B, Kestenbaum B (2008) Association of oral calcitriol with improved survival in nondialyzed CKD. *J Am Soc Nephrol* 19:1613-1619
- Sigmundsottir H, Pan J, Debes GF, Alt C, Habtezion A, Soler D, Butcher EC (2007) DCs metabolize sunlight-induced vitamin D3 to 'program' T cell attraction to the epidermal chemokine CCL27. *Nat Immunol* 8:285-293
- Simpson RU, Hershey SH, Nibbelink KA (2007) Characterization of heart size and blood pressure in the vitamin D receptor knockout mouse. *J Steroid Biochem Mol Biol* 103:521-524
- Sun J, Kong J, Duan Y, Szeto FL, Lião A, Madara JL, Li YC (2006) Increased NF- κ B activity in fibroblasts lacking the vitamin D receptor. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291:E315-E322
- Talmor Y, Golan E, Benchetrit S, Bernheim J, Klein O, Green J, Rashid G (2008) Calcitriol blunts the deleterious impact of advanced glycation end products on endothelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 294:1059-1064
- Tan X, Li Y, Liu Y (2006) Paricalcitol attenuates renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 17:3382-3393
- Tan X, Wen X, Liu Y (2008) Paricalcitol inhibits renal inflammation by promoting vitamin D receptor-mediated sequestration of NF- κ B signaling. *J Am Soc Nephrol* 19:1741-1752
- Teng M, Wolf M, Lowrie E, Ofsthun N, Lazarus JM, Thadhani R (2003) Survival of patients undergoing hemodialysis with paricalcitol or calcitriol therapy. *N Engl J Med* 349:446-456

- Teng M, Wolf M, Ofsthun MN, Lazarus JM, Hernán MA, Camargo CA Jr, Thadhani R (2005) Activated injectable vitamin D and hemodialysis survival: a historical cohort study. *J Am Soc Nephrol* 16:1115-1125
- Tentori F, Hunt WC, Stidley CA, Rohrscheib MR, Bedrick EJ, Meyer KB, Johnson HK, Zager, PG (2006) Mortality risk among hemodialysis patients receiving different vitamin D analogs. *Kidney Int* 70:1858-1865
- Turunen MM, Dunlop TW, Carlberg C, Vaisanen S (2007) Selective use of multiple vitamin D response elements underlies the 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃-mediated negative regulation of the human CYP27B1 gene. *Nucleic Acids Res* 35:2734-2747
- van Etten E, Mathieu C (2005) immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃: Basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol* 97:93-101
- van Veldhuisen DJ, Genth-Zotz S, Brouwer J, Boomsa F, Netzer T, Man In'T Veld AJ, Pinto YM, Lie KI, Crijns HJGM (1998) High- versus low-dose ACE inhibition in chronic heart failure: a double-blind, placebo-controlled study of imidapril. *J Am Coll Cardiol* 32:1811-1818
- Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, Benjamin EJ, D'Agostino RB, Wolf M, Vasan RS (2008) Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 117:503-511
- Williams S, Malatesta K, Norris K (2009) Vitamin D and chronic kidney disease. *Ethn Dis* 19(4 Suppl 5):S5-88- 11
- Wolf M, Shah A, Gutierrez O, Ankers E, Monroy, M, Tamez H, Steele D, Chang Y, Camargo CA Jr, Tonelli M, Thadhani R (2007) Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int* 72:1004-1013
- Xiao H, Shi W, Liu S, Wang W, Zhang B, Zhang Y, Xu L, Liang X, Liang Y (2009) 1,25-dihydroxyvitamin D₃ prevents puromycin aminonucleoside-induced apoptosis of

- glomerular podocytes by activating the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-signaling pathway. *Am J Nephrol* 30: 34-43
- Yamauchi K, Takano Y, Kasai A, hayakawa k, Hiramatsu N, Enomoto N, Yao J, Kitamura M (2006) Screening and identification of substances that regulate nephrin gene expression using engineered reporter podocytes. *Kidney Int* 70:892-900
- Yuan W, Pan W, Kong J, Zheng W, Szeto FL, Wong, KE, Cohen R, Klopot A, Zhang Z, Li YC (2007) 1,25-dihydroxyvitamin D₃ supresses renin gene transcription by blocking the activity of the cyclic AMP response element in the renin gene promoter. *J Biol Chem* 282:29821-29830
- Zehnder D, Quinkler M, Eardley KS, Bland R, Lepenies J, Hughes SV, Raymond NT, Howie AJ, Cockwell P, Stewart PM, Hewison M (2008) Reduction of the vitamin D hormonal system in kidney disease is associated with increased renal inflammation, *Kidney Int* 74:1343-1353
- Zhang Z, Sun L, Wang Y, Ning G, Minto AW, Kong J, Quigg RJ, Li YC (2008) Renoprotective role of the vitamin D receptor in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 73:163-171
- Zhang Z, Yuan W, Sun L, Szeto FL, Wong KE, Li X, Kong J, Li YC (2007) 1,25-dihydroxyvitamin D₃ targeting of NF-kappaB supresses high glucose-induced MCP-1 expression in mesangial cells. *Kidney Int* 72:193-201
- Zhong Y, Armbrecht HJ, Christakos S (2009) Calcitonin, a regulator of the 25-hydroxyvitamin D₃ 1alpha-hydroxylase gene. *J Biol Chem* 284:11059-11069
- Zhou C, Lu F, Cao K, Xu D, Goltzman D, Miao D (2008) Calcium-independent and 1,25(OH)₂D₃-dependent regulation of the renin-angiotensin system in 1 α -hydroxylase knockout mice. *Kidney Int* 74:170-179