

A Segurança da Vitamina D₃ em Adultos com Esclerose Múltipla

Samantha M Kimball, Melanie R Ursell, Paul O'Connor, and Reinhold Vieth

Tradução livre do artigo "Safety of vitamin D₃ in adults with multiple sclerosis"; American Journal of Clinical Nutrition - September 2007 vol. 86 no. 3 645-651; American Society for Clinical Nutrition. Traduzido por: Sofia Rodrigues Nunes, para o Portal da Família.

Fonte: <http://www.ajcn.org/content/86/3/645.abstract> Consultado em: 16/06/2012.

RESUMO

Ponto de Partida: A Vitamina D₃ pode ter um potencial terapêutico em várias doenças, incluindo a esclerose múltipla. Para uma eficácia terapêutica podem ser necessárias doses elevadas de Vitamina D₃; até o momento a tolerabilidade — para o presente contexto, a tolerabilidade fica definida como a concentração de soro de 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] que não causar hipercalemia — mantém-se mal caracterizada

Objetivo: O objetivo do estudo foi caracterizar a resposta calcêmica a concentrações específicas de soro de 25-hidroxivitamina D [25(OH)D].

Modelo: Num protocolo de 28 semanas, foram dados a 12 doentes em fase ativa de Esclerose Múltipla 1200mg Ca/d elementar, juntamente com doses progressivamente mais elevadas de Vitamina D₃: de 700 a 7000µg/semana (de 28 000 a 280 000 UI/semana).

Resultados: Concentrações médias do soro de 25(OH)D (\pm DS) foram inicialmente 78 ± 35 nmol/L e aumentaram para 386 ± 157 nmol/L ($P < 0.001$). As concentrações de soro de cálcio e o rácio urinário de cálcio para creatinina nem aumentou os valores médios nem excedeu os valores de referência em nenhum dos participantes (2.1-2.6 nmol/L e <1.0 , respetivamente). De acordo com as medidas estatísticas repetidas de Bonferroni, as enzimas do fígado, soro de creatinina, eletrólitos, soro de proteína e o hormônio da paratireoide não sofreram alterações; no entanto, de acordo com o teste *t* pareado, o hormônio da paratireoide desceu significativamente. A progressão da doença e a sua atividade não foram afetadas, mas o número de lesões realçadas por gadolínio, por paciente (avaliadas por tomografia magnética), diminuíram da média inicial de 1.75 para 0.83 ($P = 0.03$), no final do estudo.

Conclusões: As concentrações de soro 25(OH)D, aumentaram duas vezes mais na faixa fisiológica nestes pacientes sem que tenha sido suscitada hipercalemia ou hipercaleiúria. Os dados suportam a viabilidade de doses farmacológicas de Vitamina D₃ para investigação clínica; fornecem também evidência objetiva de que a ingestão além do limite superior atual é segura por larga margem.

INTRODUÇÃO

A segurança da Vitamina D continua controversa, principalmente no Reino Unido, onde o nível de orientação – limite de segurança publicamente declarado – é extraordinariamente conservador: 25 µg/d (1000 UI/d)¹². No Canadá e nos Estados Unidos, o limite máximo de ingestão (LM) de Vitamina D é de 50 µg/d (2000 UI/d)³. Estes valores foram obtidos através da determinação de uma ingestão determinada pelo ajustamento por baixo da divisão do Nível-de-Efeitos-Adversos-Não-Observáveis (NEANO) por um fator de incerteza (FI)⁴. Provas resultantes de estudos realizados desde que o LM foi definido sugerem que este é muito baixo. Ingestões de 100 µg/d (4000 UI/d)⁵ e 250 µg/d (10 000 UI/d)⁶ provaram-se seguras. Na verdade, estudos de prevenção de fraturas sugerem que a concentração desejada de soro 25-hidroxitamina D [25(OH)D] exceda 75nmol/L⁷⁸⁹. Para obter e manter estas concentrações ao longo do ano, muitos adultos requerem ingestões >20-25 µg/d (800-1000 UI/d)¹⁰¹¹.

Há muito interesse em torno do papel da Vitamina D₃, tanto na saúde como na doença. A lógica do tratamento por Vitamina D₃ na Esclerose Múltipla (EM) é que os metabólitos desta vitamina funcionam como moduladores parácrinos imunitários¹², diminuindo a proliferação de linfócitos pró-inflamatórios T e a produção de citocinas, sendo que ambos contribuem para a patogénese de EM¹³¹⁴¹⁵. No modelo de EM nos camundongos, a encefalomielite alérgica experimental (EAE), o tratamento com 1,25-dihidroxitamina D₃ [1,25(OH)2D₃] (a forma ativa

Referências

- ¹ Food Standards Agency. Níveis superiores seguros para vitaminas e minerais. Londres, Reino Unido: UK Foods Standards Agency, 2003.
- ² Vieth R. "Critique of the considerations for establishing the tolerable upper intake level for vitamin D: critical need for revision upwards." *J Nutr*, 2006; 136: 1117-22
- ³ Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Doses dietéticas de referência: cálcio, fósforo, magnésio, Vitamina D e fluoreto. Washington, DC: National Academy Press, 1997.
- ⁴ Recomendações nutricionais. Washington, DC: National Academy Press, 1989.
- ⁵ Vieth R, Cole DE, Hawker GA, Trang HM, Rubin LA. "Wintertime vitamin D insufficiency is common in young Canadian women, and their vitamin D intake does not prevent it". *Eur J Clin Nutr*, 2001; 55: 1091–7.
- ⁶ Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. "Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol". *Am J Clin Nutr*, 2003; 77: 204–10.
- ⁷ Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. "Estimates of optimal vitamin D status". *Osteoporos Int*, 2005; 16: 713–6.
- ⁸ Vieth R, Cole DE. "Teriparatide, osteoporosis, calcium, and vitamin D". *N Engl J Med*, 2005; 353: 634–5.
- ⁹ Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Willett WC, et al. "Effect of vitamin D on falls: a meta-analysis". *JAMA*, 2004; 291: 1999–2006.
- ¹⁰ Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. "Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes". *Am J Clin Nutr*, 2006; 84: 18–28.
- ¹¹ Heaney RP. "The vitamin D requirement in health and disease". *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2005; 97: 13–9.
- ¹² May E, Asadullah K, Zugel U. "Immunoregulation through 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its analogs". *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2004; 3: 377–93.
- ¹³ Takeuchi A, Reddy GS, Kobayashi T, Okano T, Park J, Sharma S. "Nuclear factor of activated T cells (NFAT) as a molecular target for 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃-mediated effects". *J Immunol*, 1998; 160: 209–18.
- ¹⁴ Alroy I, Towers TL, Freedman LP. "Transcriptional repression of the interleukin-2 gene by vitamin D₃: direct inhibition of NFATp/AP-1 complex formation by a nuclear hormone receptor". *Mol Cell Biol*, 1995; 15: 5789–99.
- ¹⁵ Cantorna MT, Woodward WD, Hayes CE, Deluca HF. "1,25-dihydroxyvitamin D₃ is a positive regulator for the two anti-encephalitogenic cytokines TGF-beta 1 and IL-4". *J Immunol*, 1998; 160: 5314–9.

de Vitamina D) preveniu a EAE em camundongos assintomáticos e diminuiu a gravidade da doença em camundongos com EAE ativa¹⁶¹⁷¹⁸. Em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva, o tratamento com Vitamina D₃ (50 µg/d ou 2000UI/d) afetou os perfis de citoquinas¹⁹ em níveis que seria desejável nos pacientes com EM. As flutuações sazonais de lesões realçadas por gadolínio, determinadas por ressonâncias magnéticas (RM) tendem a ser menores quando os níveis do soro de 25(OH)D são maiores²⁰²¹. Juntos, os dados sugerem que a Vitamina D₃ tem um papel ativo na regulação da atividade clínica da doença.

O uso terapêutico de doses farmacológicas de Vitamina D₃ na EM, ou em qualquer outra doença, requer estudos de tolerabilidade; mas continuam em falta²²²³²⁴. Como tal, realizamos uma fase I do ensaio para caracterizar a tolerabilidade às concentrações do soro de 25(OH)D, a quando da administração de doses farmacológicas de Vitamina D₃ a doentes com EM.

O propósito primário deste estudo era mostrar a tolerabilidade a altas concentrações de soro de 25(OH)D, para eficácia futura de estudos de Vitamina D no tratamento de EM. A toxicidade conhecida da Vitamina D diz respeito apenas ao metabolismo de cálcio. Enquanto grupo, os doentes de EM não têm uma anormalidade primária no osso nem homeostase mineral.

SUJEITOS E MÉTODOS

Sujeitos

Entre Dezembro de 2003 e Janeiro de 2005 inscrevemos 12 pacientes com EM definida clinicamente como recorrente-remissiva (RR) ou EM secundária progressiva (SP) determinada segundo os critérios de McDonald et al²⁵. Todos os sujeitos eram pacientes da *MS Clinic* no Hospital de St Michael's (Toronto, Canadá). O critério de inclusão incluía valores da *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) entre 0 e 7 e lesões realçadas por gadolínio encontradas no cérebro através de RM ≥ 1 . Os pacientes foram autorizados a continuar usando 1 de 4 destas drogas modificadoras da doença, caso já estivessem a fazer essa terapia: Avonex; Biogen Idec, Cambridge, MA; Rebif; Serono, Rockland, MA; Betaseron; Berlex, Montville, NJ; or Copaxone; Teva, North Wales, PA. Critérios para exclusão incluíam história de pedras ou disfunção renais,

¹⁶ Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF. "1,25-Dihydroxyvitamin D₃ reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis". *Proc Natl Acad Sci, U S A* 1996; 93: 7861-4.

¹⁷ Lemire JM, Archer DC. "1,25-dihydroxyvitamin D₃ prevents the in vivo induction of murine experimental autoimmune encephalomyelitis". *J Clin Invest*, 1991; 87: 1103-7.

¹⁸ Branisteanu DD, Waer M, Sobis H, Marcelis S, Vandeputte M, Bouillon R. "Prevention of murine experimental allergic encephalomyelitis: cooperative effects of cyclosporine and 1 alpha, 25-(OH)2D₃". *J Neuroimmunol*, 1995; 61: 151-60.

¹⁹ Schleithoff SS, Zittermann A, Tenderich G, Berthold HK, Stehle P, Koerfer R. "Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial". *Am J Clin Nutr*, 2006; 83: 754-9.

²⁰ Auer DP, Schumann EM, Kumpfel T, Gossel C, Trenkwalder C. "Seasonal fluctuations of gadolinium-enhancing magnetic resonance imaging lesions in multiple sclerosis". *Ann Neurol*, 2000; 47: 276-7.

²¹ Embry AF, Snowdon LR, Vieth R. "Vitamin D and seasonal fluctuations of gadolinium-enhancing magnetic resonance imaging lesions in multiple sclerosis". *Ann Neurol*, 2000; 48: 271-2.

²² Grimes DS. "Are statins analogues of vitamin D?". *Lancet*, 2006; 368: 83-6.

²³ Munro I. "Derivation of tolerable upper intake levels of nutrients". *Am J Clin Nutr*, 2001; 74: 865-7.

²⁴ Vieth R, Kimball S. "Vitamin D in congestive heart failure". *Am J Clin Nutr*, 2006; 83: 731-2.

²⁵ McDonald WI, Compston A, Edan G, et al. "Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis". *Ann Neurol*, 2001; 50: 121-7.

doença cardíaca ou doença granulomatosa (incluindo sarcoidose, tuberculose, silicose, crônicas ou ativo infecções fúngicas, ou linfoma).

Autorização escrita foi obtida de cada sujeito. Esse estudo foi aprovado pelo St Michael's Hospital Research Ethics Board.

Medidas Resultantes

Depois de constatada a presença, através de RM, de lesões realçadas por gadolínio, os pacientes com exames positivos foram submetidos a um exame neurológico básico com contagem da EDSS (medida da incapacidade causada pela EM em que 8 sistemas funcionais são pontuados) e do índice de deambulação [o (ID) é uma caminhada de cerca de 7,5m ao longo da qual é medida a incapacidade causada pela EM]]. Rastreamos 24 pacientes, para identificar 12 com a doença ativa. Todos estes testes, incluindo a RM, foram repetidos a quando da finalização do ensaio.

Foram feitas análises bioquímicas séricas na triagem e a cada visita para: cálcio, 25(OH)D, hormônio da paratireoide (PTH) e função renal (creatinina). Como complemento aos testes de segurança foram regularmente medidos os eletrólitos e a função das enzimas do fígado [ie, amilase, alanina transaminase (ALT), aspartato transaminase (APT) e fosfatase alcalina (FAL)]. Para cada teste de urina, uma amostra aleatória de urina foi obtida na noite anterior e outra na manhã de cada visita. As proporções de cálcio à creatinina (Ca:Cr) foram calculadas com base nas concentrações molares de cálcio e creatinina. A média de cada par de rácios é apresentada na secção de Resultados.

PTH foi medido utilizando o analisador Immulite 2000 (DPC, Los Angeles, CA). Um kit de radioimunoensaios foi utilizados para medir as concentrações do soro de 25(OH)D (DiaSorin, Stillwater, MN). Outros soros e análises de urina bioquímica foram medidos no analisador Synchron LX-20 (Beckman, Fullerton, CA), no laboratório clínico do Hospital de St Michael's.

A toxicidade da Vitamina D₃ manifesta-se por hipercalcemia ou hipercalcúria e pode ser detectada monitorando a urina e as concentrações de soro de cálcio. Para o presente estudo, a toxicidade de Vitamina D₃ foi definida como sendo a presença de hipercalcemia; ie, soro total de cálcio > 2.75 mmol/L, em uma ocasião, concentração molar urinária de Ca:Cr > 1.0 em mais que uma ocasião. Exames de RM nuclear foram quantificados através da utilização de ferramentas incorporadas no *software* MAGICWEB MRI (Siemens Medical Solutions, Malvern, PA).

Intervenções

A suplementação de Vitamina D₃ começou em 700µg/semana (28 000 UI/semana) e subiu para 7000µg/semana (280 000 UI/semana), de acordo com o horário da Tabela 1.

<u>Tabela 1</u>				
Visita Estudo (no 1º dia da semana)	Etapa do Estudo	Suplementação		
		Vitamina D ₃		Cálcio (mg/d)
		µg/semana	UI/semana	
1	1-2 semanas	0	0	1200
2	3-4 semanas	700	28 000	1200
3	5-10 semanas	1400	56 000	1200
4	11-16 semanas	2800	112 000	1200

5	17-22 semanas	5600	224 000	1200
6	23-28 semanas	7000	280 000	1200
7 (Suplementação com Vitamina D ₃ e Cálcio foi descontinuada ao fim de 28 semanas)	≈3 meses depois	–	–	–

A Vitamina D₃ foi dada uma vez por semana, oralmente, numa dose de etanol, misturada com uma bebida^{26,27}. Aos participantes foi dado um suplemento de 1200mg de Cálcio/d em pó para ser tomado oralmente ao longo do estudo.

A suplementação com Vitamina D₃ foi iniciada depois de 2 semanas a fazer o Cálcio sozinho. A primeira dose, 700µg/semana, foi dada apenas durante 2 semanas para descartar qualquer possível hipersensibilidade à Vitamina D₃; todas as subsequentes doses foram administradas ao longo de 6 semanas antes da dose ser aumentada.

Materiais

A graduação-US Pharmacopoeia (USP) de Vitamina D₃ (colecalfiferol) foi comprada em forma cristalina na Sigma (St. Louis) e dissolvida em uma graduação-USP de etanol. Os espectros de absorção ultravioleta obtidos num espectrofotómetro de arranjo de diodos (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA) foram, como descrito anteriormente²⁸, utilizados para a medição da concentração molar de Vitamina D₃ (que foi feita usando um coeficiente de extinção de 18 300 UA mol⁻¹ L⁻¹). O controle de qualidade de cada lote de Vitamina D₃ foi feito antes da administração e novamente no final do estudo. As doses de Vitamina D₃, para serem tomadas uma vez por semana, foram preparadas com uma concentração de 700µg/mL (28 000 UI/mL). Em doses mais elevadas, os participantes tomaram doses múltiplas-milimétricas de 700µg/mL de Vitamina D₃ (por exemplo, os participantes tomaram doses de 4ml de 700µg/mL de Vitamina D₃ 1 vez por semana). A absorvidade ultravioleta a 265nm, foi de 31.7UA/cm comprimento do caminho. Foi fornecido fosfato de cálcio em pó para os sujeitos misturarem com a comida ou bebida; isto significava 1200mg de Cálcio elementar/d.

Análise Estatística

Para análise estatística e apresentação gráfica do resultado foi utilizado o *software* SPSS (versão 12.0; SPSS Inc, Chicago, IL). Estatísticas descritivas, testes *t* pareados e comparações classificadas por Wilcoxon (Wilcoxon's sign-rank) foram utilizadas para analisar os resultados. Para repetir medições [por exemplo, o soro de 25(OH)D na linha de base e comparado com as visitas 1-7], testes *t* pareados foram usados em conjunção com testes de significância ajustados Holm-Bonferroni. São dados valores da média ±DP.

RESULTADOS

²⁶ Vieth R, Chan P-CR, MacFarlane GD. "Efficacy and safety of vitamin D3 intake exceeding the lowest observed adverse effect level". Am J Clin Nutr, 2001; 73: 288-94.

²⁷ Vieth R, Kimball S, Hu A, Walfish PG. "Randomized comparison of the effects of the vitamin D3 adequate intake versus 100 mcg (4000 IU) per day on biochemical responses and the wellbeing of patients". Nutr J, 2004; 3: 8.

²⁸ Trang H, Cole DE, Rubin LA, Pierratos A, Siu S, Vieth R. "Evidence that vitamin D3 increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D2". Am J Clin Nutr, 1998; 68: 854-48.

As características demográficas dos pacientes no início deste estudo são as mostradas na Tabela 2²⁹:

	Homens (n = 5)	Mulheres (n = 7)	Global (n = 12)
Média de Idade (y)	38.0 ± 6.0 ($\bar{x} \pm DS$)	39.3 ± 10.2	38.8 ± 8.4
Média EDSS	4.3 ± 2.7	39.3 ± 10.2	4.0 ± 2.3
EMR (n)	4	3	7
EMSP (n)	1	4	5
DMD (n)	2	3	5

As concentrações médias de soro 25(OH)D, de cálcio, de HPT e de creatinina, bem como a urina Ca:Cr, de início do estudo e de final, são apresentadas na Tabela 3:

	Sujeitos	Soro 25(OH)D	Soro de Cálcio	Urina Ca:Cr	HPT	Creatinina
	n	nmol/L	mmol/L		pmol/L	mmol/L
Início	12	78.2 ± 35.3 ^{a, 31}	2.36 ± 0.09 ^a	0.42 ± 0.31 ^a	2.75 ± 1.54 ^a	69.08 ± 22.75 ^a
Fim do estudo	12	385.5 ± 157.0 ^b	2.23 ± 0.43 ^a	0.47 ± 0.28 ^a	1.81 ± 1.15 ^a	70.42 ± 15.23 ^a
Valores de Referência ³²		<250	2.1–2.6	<1.0	1.3–5.4	50–110

Testes *t* pareados, feitos em cada ponto de acompanhamento, indicam que não houve mudança significativa nas concentrações de cálcio, tendo como base os valores das mesmas pré-tratamento de 28 semanas de doses crescentes de Vitamina D₃. Nenhum dos pacientes desenvolveu hipercalcemia. As concentrações de soro de cálcio permaneceram dentro do intervalo de referência (2.1–2.6 mmol/L). De igual modo, também não houve alteração significativa na urina Ca:Cr. A urina Ca:Cr não ultrapassou 1.0 para nenhum dos participantes durante o esquema de escalonamento de dose (Figura 1).

Figura 1

Concentrações de soro de cálcio e urina Ca:Cr, em resposta à suplementação oral com Vitamina D₃. As caixas representam o intervalo de 50% do centro da população da amostra; as pontas, os valores mais altos e mais baixos; a linha grossa, a média dos valores. ○, discrepantes. As medições de Cálcio representam as concentrações do mesmo, duas semanas depois de iniciada a suplementação somente com Cálcio (1200 mg/d). A suplementação com Vitamina D₃ foi tomada 6 semanas em cada dose, depois da primeira; esta, a primeira, a 700µg/semana (28 000 UI/semana), foi tomada pelos participantes do estudo apenas durante 2 semanas. Não foram observados efeitos estatisticamente

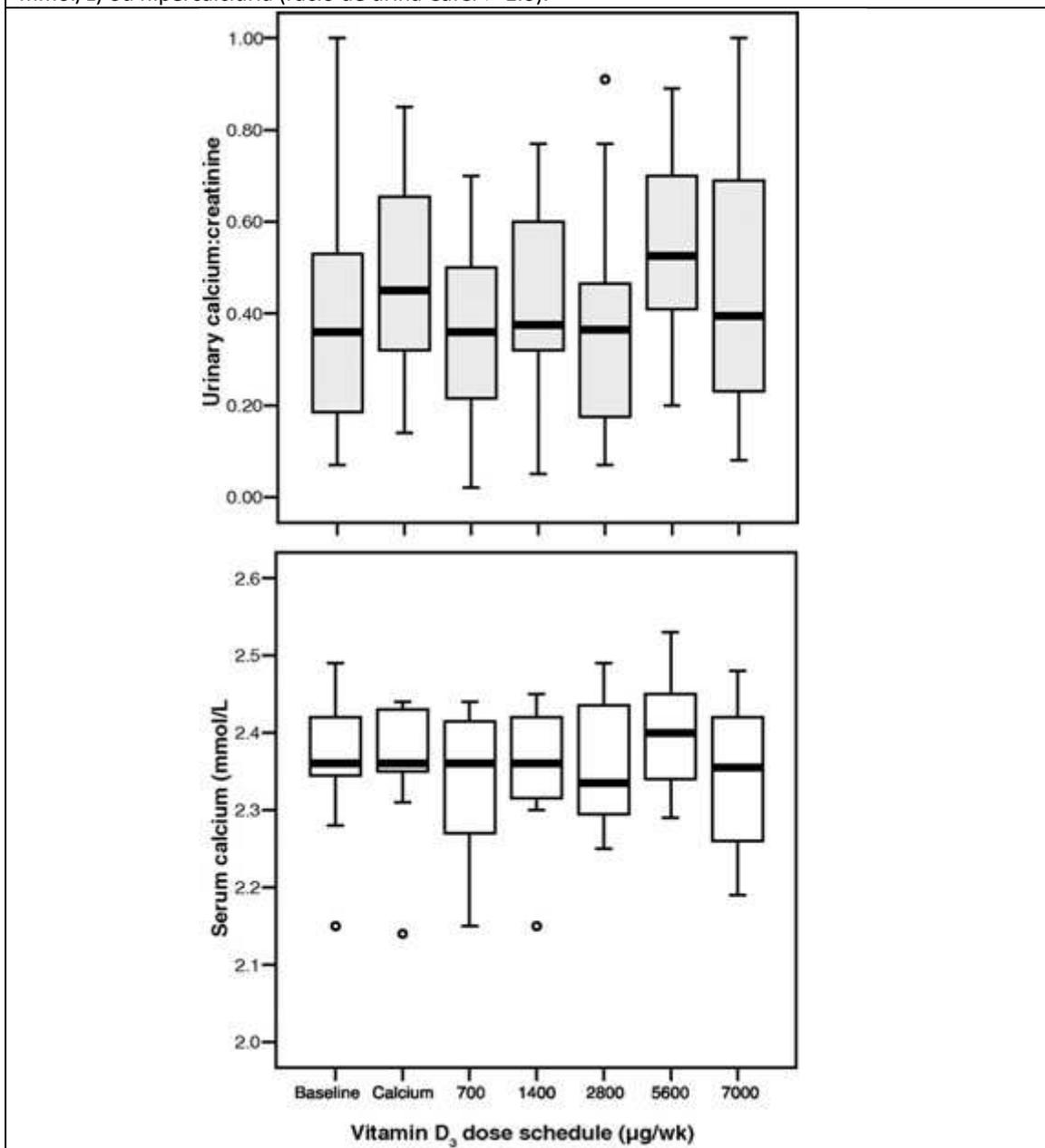
²⁹ Expanded Disability Status Scale (EDSS); Esclerose Múltipla Remissiva (EMR); Esclerose Múltipla Secundária Progressiva (EMSP); Droga Modificadora da Doença (DMD)

³⁰ 25(OH)D, 25-hidroxivitamina D; HPT, hormônio da paratireoide. Os valores em uma coluna com letras sobrescritos diferentes são significativamente diferentes, $P < 0.001$ (testes *t* pareados com correções ajustadas Holm-Bonferroni).

³¹ $\bar{x} \pm DP$ (todos esses valores)

³² A distribuição normal, conforme obtida no laboratório clínico do Hospital St Michael's (Toronto, Canada).

significantes entre os pontos de tempo. Não houve ocorrência de hipercalcemia (soro de cálcio > 2.6 mmol/L) ou hipercalcúria (rácio de urina Ca:Cr > 1.0).

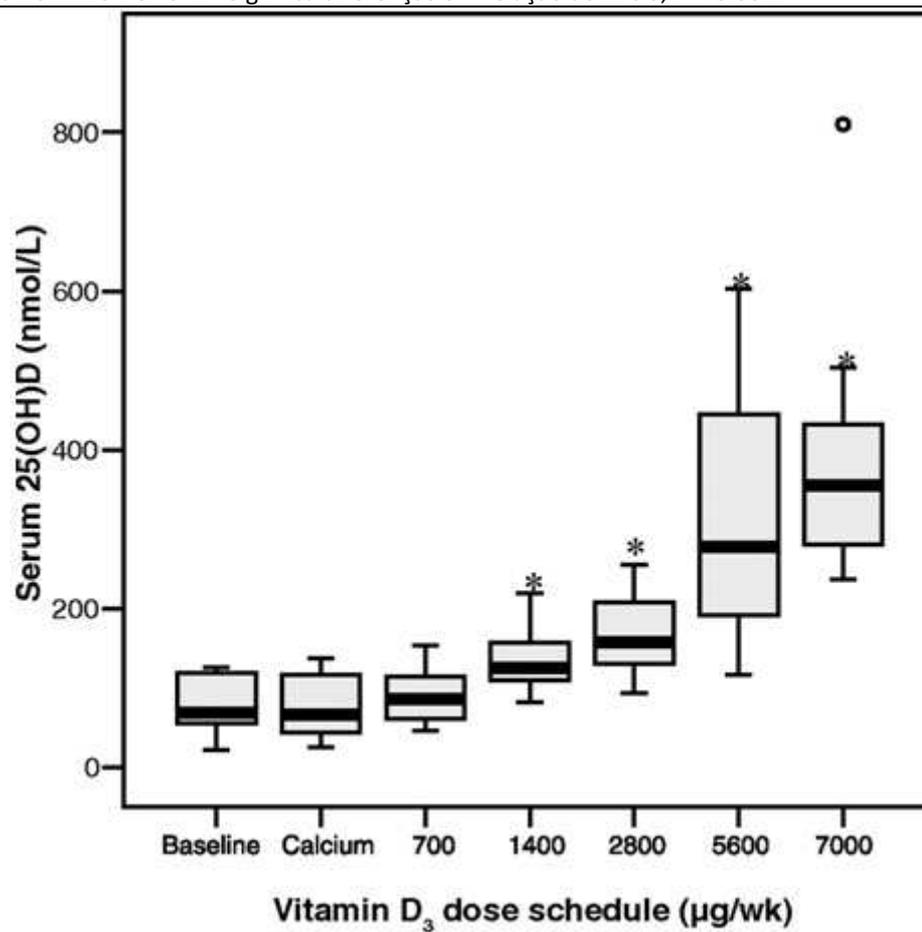


Em um paciente, a urina Ca:Cr atingiu 1.0 em 2 ocasiões separadas, no início e no final do estudo. Em ambas as instâncias, o paciente voltou uma semana depois para repetir as medições de urina Ca:Cr; de ambas as vezes, o elevado rácio já não existia. As concentrações de soro de 25(OH)D aumentaram consideravelmente a partir dos valores da linha de base médias de 78.2 ± 35.3 nmol/L para 385.5 ± 157.0 nmol/L, no final do ensaio ($P < 0.001$) (Figura 2).

Figura 2

Concentrações do soro de 25-hidroxivitamina D [25(OH)D], correspondendo à suplementação oral com Vitamina D₃. As caixas representam o intervalo de 50% do centro da população da amostra; as pontas, os valores mais altos e mais baixos; a linha grossa, a média dos valores. ○, discrepantes. As medições de Cálcio representam as concentrações de 25(OH)D, duas semanas depois de iniciada a suplementação somente com Cálcio (1200 mg/d). A suplementação com Vitamina D₃ foi tomada 6 semanas em cada dose, depois da primeira; esta, a primeira, a 700µg/semana (28 000 UI/semana), foi tomada pelos participantes do estudo apenas durante 2 semanas. A cada visita durante o estudo, as concentrações

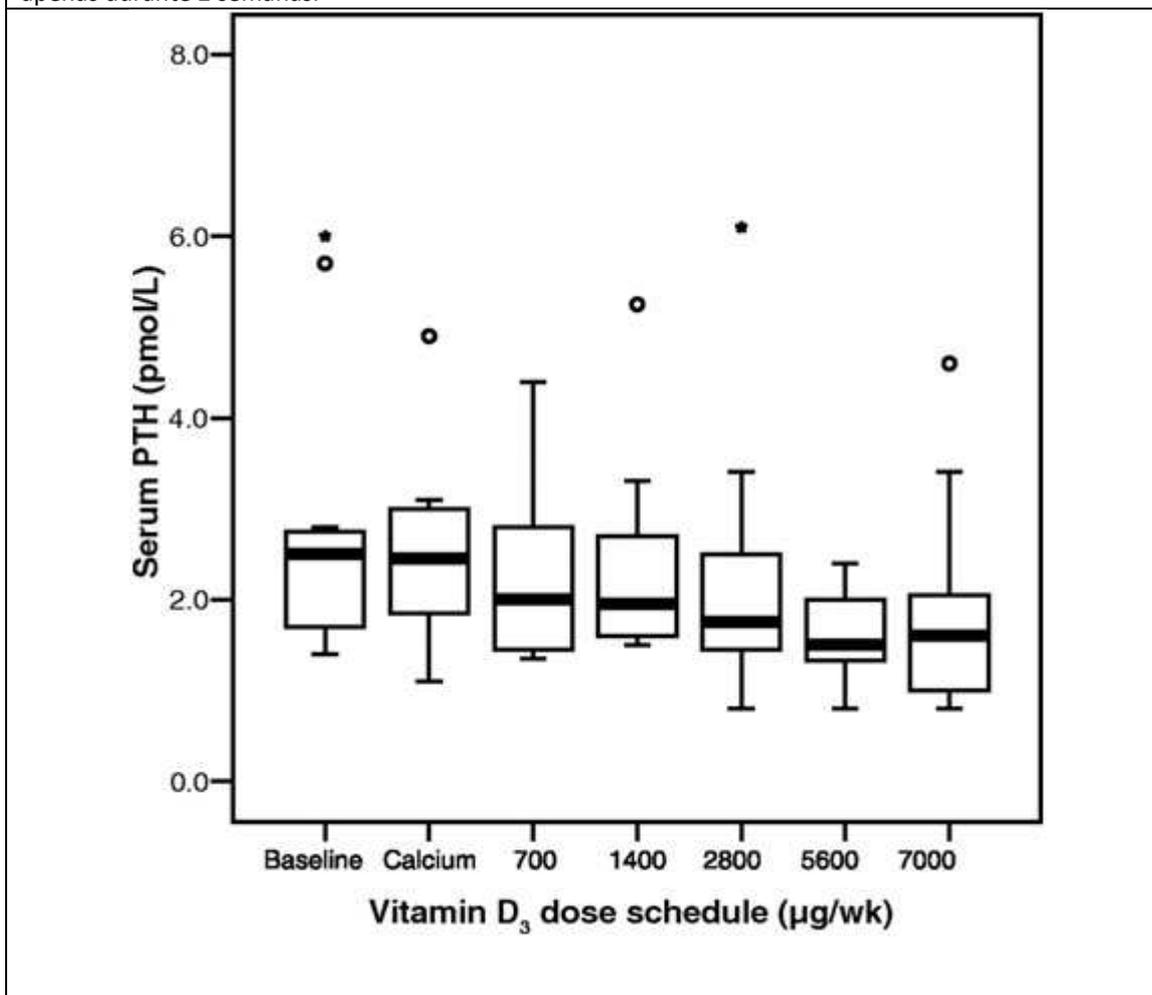
de 25(OH)D eram comparadas com as do início da amostra, utilizando testes t pareados com correções ajustadas Holm-Bonferroni. *Significa diferenças em relação ao início, $P < 0.001$.



Concentrações de PTH no fim do ensaio eram mais baixas que no início, mas a diferença não foi estatisticamente significativa, de acordo com o método estatístico apropriado para comparações *post hoc* entre medidas repetidas (Figura 3).

Figura 3

Resposta das concentrações de hormônio da paratireoide (PTH) às doses orais de Vitamina D₃. As caixas representam o intervalo de 50% do centro da população da amostra; as pontas, os valores mais altos e mais baixos; a linha grossa, a média dos valores. ○, discrepantes. As medições de Cálcio representam as concentrações de HPT duas semanas depois de iniciada a suplementação somente com Cálcio (1200 mg/d). A suplementação com Vitamina D₃ foi tomada 6 semanas em cada dose, depois da primeira; esta, a primeira, a 700µg/semana (28 000 UI/semana), foi tomada pelos participantes do estudo apenas durante 2 semanas.



Conforme esperado, os valores iniciais e finais de PTH foram significativamente diferentes, de acordo com os testes *t* pareados ($P = 0.02$). As concentrações de soro de creatinina, um reflexo das funções renais, mantiveram-se estáveis e dentro da média ao longo de todo o estudo e em todos os participantes.

Proteínas séricas, eletrólitos, ureia e função das enzimas do fígado também foram medidas. Todos os valores se mantiveram dentro dos valores médios clínicos de referência e não houve diferenças significativas entre os valores comparativos dos testes *t* pareados entre os valores iniciais e os valores depois da última dose de Vitamina D₃ (7000 µg/semana ou 280 000 UI/semana).

Não foram observados efeitos clínicos adversos em nenhum dos pacientes ao longo das 28 semanas do estudo. RM do cérebro, com e sem contraste de gadolínio, foram feitas a cada paciente no início e fim do estudo para assegurar que as doses de Vitamina D₃, juntamente com o Cálcio, não resultavam num agravamento da doença na forma de novas ou no alargamento de lesões realçadas por gadolínio. Na base, cada RM mostrou ≥ 1 lesões realçadas por gadolínio como critério de inclusão (média: 1; alcance: 1-6). A média, em cada MR, do número de lesões realçadas por gadolínio, novas ou alargadas, manteve-se inalterada depois da terapia de 28 semanas (média: 1; alcance: 0-2). Em 4 pacientes que de início apresentavam lesões realçadas por gadolínio, estas desapareceram completamente no final do estudo. Os restantes 8 pacientes tinham lesões realçadas por gadolínio, mas o número de lesões por paciente diminuiu. A média de lesões realçadas por gadolínio no final do estudo nos 12 pacientes era menor (0.83 ± 0.72) que no início do estudo (1.75 ± 1.42) ($P = 0.03$, Teste de Postos Sinalizados de Wilcoxon).

As recaídas foram monitoradas até 12 meses antes da inscrição, durante as 28 semanas do estudo e até os 4 meses seguintes ao final do estudo. 8 pacientes tiveram um total de 11 recaídas antes do início do ensaio. 9 durante as 28 semanas do estudo; 4 dessas 9 foram num único paciente. As recaídas foram tratadas como o neurologista achou conveniente. Em um caso, foi utilizada pulsoterapia esteroide. 7 participantes não tiveram qualquer recaída durante o estudo ou no acompanhamento (num total de 10 meses). Não houve diferença estatística relevante entre taxas de recaídas anualizadas no início e no fim do estudo.

A progressão da doença foi feita através de medições de EDSS e AI, na base e no fim do estudo. A EDSS manteve-se inalterada em 4 pacientes. Não houve alterações significativas seja tanto na EDSS como na AI.

DISCUSSÃO

O presente protocolo foi desenhado para testar a tolerabilidade das concentrações específicas 25(OH)D atingidas – e não os efeitos a longo prazo das doses de Vitamina D₃ usadas. Apesar da Vitamina D por si só ser eliminada da circulação em 2 ou 3 dias, os seus efeitos na concentração de soro de 25(OH)D apresenta uma semi-vida que é da ordem de 2 meses, o que torna a realização completa de um platô na concentração de 25(OH)D impraticável para um estudo desta natureza³³³⁴.

Preocupações sobre a segurança de Vitamina D e Cálcio foram levantadas recentemente, porque o estudo da *Women's Health Initiative* mostrou uma maior taxa de risco em 17% para cálculos renais, em mulheres que aleatoriamente receberam Cálcio e Vitamina D, quando comparadas com as que receberam placebos³⁵. A dose de Vitamina D usada nesse estudo foi de 10µg/d (400 UI/d), que é demasiado pequena para produzir uma alteração convincente no soro de 25(OH)D. Mais, a ingestão média inicial de Cálcio no estudo foi de 1100mg/d, sobre o qual adicionaram 1200mg/d de Cálcio. No estudo da *Women's Health Initiative* o aumento do risco de pedras nos rins foi atribuído à ingestão de cálcio perto de 2500 mg/d e não à Vitamina

³³ Vieth R. "Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety". *Am J Clin Nutr*, 1999; 69: 842–56.

³⁴ Vieth R. "The pharmacology of vitamin D, including fortification strategies". In: Feldman D, Glorieux F, Pike JW, eds. *Vitamin D*. New York, NY: Elsevier, 2005:995–1015.

³⁵ Wactawski-Wende J, Kotchen JM, Anderson GL, et al. "Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of colorectal cancer". *N Engl J Med* 2006; 354: 684–96.

D. Na verdade, com ingestão de valores de Cálcio mais baixos, Cálcio e Vitamina D são associados com um menor risco de formação de pedra nos rins³⁶.

As concentrações circulantes 25(OH)D que têm manifestado toxicidade de forma convincente, como hipercalcemia, e aumentado o cálcio urinário, ultrapassam 700 nmol/L³⁷³⁸³⁹. Para os doentes no presente estudo com EM e nenhum distúrbio subjacente do metabolismo ósseo ou mineral, as concentrações de soro de 25(OH)D foram em média de 386 nmol/L e não houve qualquer sinal prejudicial do metabolismo do cálcio. Apesar de ser bem sabido que a Vitamina D aumenta a absorção intestinal de Cálcio, esse efeito está sujeito a regulação fisiológica⁴⁰. Concentrações de 25(OH)D acima de 80nmol/L não têm qualquer efeito adicional sobre a absorção intestinal do Cálcio⁴¹. Em adultos, o balanço de Cálcio é essencialmente neutro; portanto, a excreção de Cálcio urinário aproxima da absorção de Cálcio líquido a partir do intestino. Os valores constantes de cálcio urinário mostrados na Figura 1 são consistentes com os descobertos por Heaney e outros⁴²: A absorção de cálcio atinge um patamar quando a concentração de 25(OH)D ultrapassa as 80nmol/L.

Tem sido tomado como axioma há já algum tempo que a suplementação com vitamina D₃ pode beneficiar pacientes com EM e, potencialmente, uma variedade de doenças autoimunes⁴³. Goldberg e outros⁴⁴ trataram 10 pacientes de EM com 125µg/d (5000 UI/d) de Vitamina D₃ sob a forma de óleo de fígado de bacalhau. Encontraram uma diminuição significativa no número de recaídas. Outros avaliaram os efeitos de 25µg/d (1000 UI/d) de Vitamina D₃ sobre os perfis de citocinas em pacientes com EM e encontraram concentrações mais elevadas de fator de crescimento anti-inflamatórias do tumor β1 com menores concentrações de interleucina-2 inflamatória⁴⁵. O uso de 2.5µg/d do hormônio calcitriol [1,25(OH)₂D] durante 48 semanas produziu um resultado semelhante ao encontrado por Goldberg et al – uma diminuição de 27% na taxa de recaídas, durante o período do estudo⁴⁶. Uma limitação chave no desenho de todos estes estudos é que as doses de Vitamina D₃ foram escolhidas arbitrariamente. A razão para o uso da vitamina D₃ é o de aumentar a concentração de 25(OH)D, que serve como substrato para a produção extrarenal e autócrina da 1,25(OH)₂D,

³⁶ Curhan GC, Willett WC, Knight EL, Stampfer MJ. "Dietary factors and the risk of incident kidney stones in younger women: Nurses' Health Study II". Arch Intern Med 2004; 164: 885–91.

³⁷ Rizzoli R, Stoermann C, Ammann P, Bonjour JP. "Hypercalcemia and hyperosteolysis in vitamin D intoxication: effects of clodronate therapy". Bone 1994; 15: 193–8.

³⁸ Pettifor JM, Bikle DD, Cavaleros M, Zachen D, Kamdar MC, Ross FP. "Serum levels of free 1,25-dihydroxyvitamin D in vitamin D toxicity". Ann Intern Med 1995; 122: 511–3.

³⁹ Vieth R, Pinto T, Reen BS, Wong MM. "Vitamin D poisoning by table sugar". Lancet 2002; 359: 672.

⁴⁰ Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A. "Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D". J Am Coll Nutr 2003; 22: 142–6.

⁴¹ Heaney RP. "The vitamin D requirement in health and disease". J Steroid Biochem Mol Biol 2005; 97: 13–9.

⁴² Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A. "Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D". J Am Coll Nutr 2003; 22: 142–6.

⁴³ Cantorna MT, Mahon BD. "Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence". Exp Biol Med (Maywood) 2004; 229: 1136–42.

⁴⁴ Goldberg P, Fleming MC, Picard EH. "Multiple sclerosis: decreased relapse rate through dietary supplementation with calcium, magnesium and vitamin D". Med Hypotheses 1986; 21: 193–200.

⁴⁵ Mahon BD, Gordon SA, Cruz J, Cosman F, Cantorna MT. "Cytokine profile in patients with multiple sclerosis following vitamin D supplementation". J Neuroimmunol 2003; 134: 128–32.

⁴⁶ Wingerchuk DM, Lesaux J, Rice GP, Kremenchutzky M, Ebers GC. "A pilot study of oral calcitriol (1,25-dihydroxyvitamin D₃) for relapsing-remitting multiple sclerosis". J Neurol Neurosurg Psychiatry 2005; 76: 1294–6.

sem afetar o plasma 1,25(OH)₂D concentração. Na verdade, um ensaio clínico prévio⁴⁷ e estudos em ratos⁴⁸, ambos feitos pelo nosso grupo, chegaram à conclusão que a suplementação com Vitamina D tende a baixar a concentração do soro 1,25(OH)₂D. No presente estudo não medimos 1,25(OH)₂D, porque o foco estava nos parâmetros clínicos de tolerabilidade.

Como ensaio de Fase I, este estudo não foi desenhado para detectar alterações nos resultados clínicos nos pacientes. Foi sim para comprovar apenas a comprovação de que a tolerabilidade do consumo elevado de vitamina D₃ não é relevante para pacientes com EM. Os testes clínicos dos sujeitos no presente estudo não encontraram nenhum aumento estatisticamente significativo na taxa de reincidência anual, pontuação, deficiência ou índice ambulatorial. Também estabeleceu, através de RM, que o consumo elevado de vitamina D₃ não conduz a um aumento de lesões realçadas por gadolínio. Na realidade, o número total de lesões por paciente diminuiu significativamente desde o início até ao final do ensaio. No contexto da EM, a exigência de uma lesão ativa no início do estudo para inclusão no mesmo poderia explicar, em parte, a redução no número de lesões realçadas por gadolínio na RM e a falta de agravamento da taxa de recidivas (que não foi um critério de inclusão). A regressão para a média, por causa de os critérios de inclusão, poderia ser responsável pela mudança desejável clínica durante o estudo. Não seria natural que a EDSS mudasse ao longo de um estudo de curta duração, como este; o ruído é a melhor explicação para todas as alterações (quer agravamento ou melhoria) na EDSS que foram vistas.

A nossa razão para estudar doses mais elevadas de vitamina D₃ é o de melhorar a produção parácrina de 1,25(OH)₂D. Os mecanismos pelos quais 25(OH)D poderia afetar o cérebro e a função imune têm sido demonstrados em estudos laboratoriais. A 25-hidroxitamina e D-1- α -hidroxilase foram encontradas no fluido cerebrospinal⁴⁹. A atividade extrarenal 1-hidroxilase- α segue uma cinética de primeira ordem da reação in vivo, de modo que um maior fornecimento de substrato deve aumentar a produção de 1,25(OH)₂D⁵⁰. O receptor Vitamina D (RVD) foi encontrado no sistema nervoso central^{51,52}. A 1,25(OH)₂D estimula a produção de neurotrofinas⁵³ e suprime a neurotoxicidade⁵⁴. Logo, um fornecimento adequado de substrato para a produção parácrina e a utilização da 1,25(OH)₂D no sistema nervoso central, pode melhorar a regulação imune de uma doença autoimune, tal como a EM.

⁴⁷ Vieth R, Kimball S, Hu A, Walfish PG. "Randomized comparison of the effects of the vitamin D3 adequate intake versus 100 mcg (4000 IU) per day on biochemical responses and the wellbeing of patients". *Nutr J* 2004; 3: 8.

⁴⁸ Vieth R, Milojevic S, Peltekova V. "Improved cholecalciferol nutrition in rats is noncalcemic, suppresses parathyroid hormone and increases responsiveness to 1, 25-dihydroxycholecalciferol". *J Nutr* 2000; 130: 578–84.

⁴⁹ Balabanova S, Richter HP, Antoniadis G, et al. "25-Hydroxyvitamin D, 24, 25-dihydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D in human cerebrospinal fluid". *Klin Wochenschr* 1984; 62: 1086–90.

⁵⁰ Vieth R, McCarten K, Norwich KH. "Role of 25-hydroxyvitamin D3 dose in determining rat 1,25-dihydroxyvitamin D3 production". *Am J Physiol* 1990; 258: E780–9.

⁵¹ Zehnder D, Bland R, Williams MC, et al. "Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin D(3)-1 α -hydroxylase". *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 888–94.

⁵² Eyles DW, Smith S, Kinobe R, Hewison M, McGrath JJ. "Distribution of the vitamin D receptor and 1 α -hydroxylase in human brain". *J Chem Neuroanat* 2005; 29: 21–30.

⁵³ Riaz S, Malcangio M, Miller M, Tomlinson DR. "A vitamin D(3) derivative (CB1093) induces nerve growth factor and prevents neurotrophic deficits in streptozotocin-diabetic rats". *Diabetologia* 1999; 42: 1308–13.

⁵⁴ Kalueff AV, Eremin KO, Tuohimaa P. "Mechanisms of neuroprotective action of vitamin d(3)". *Biochemistry (Mosc)* 2004; 69: 738–41.

As presentes descobertas devem facilitar as investigações de outros com altas doses de vitamina D₃. Além disso, os dados atuais justificam uma revisão da UL ou o nível de orientação para a vitamina D⁵⁵. Não há prova de que os adultos com EM são diferentes dos adultos saudáveis, no que diz respeito à sua tolerância de vitamina D; sua doença é devido a uma resposta inflamatória. Os níveis de concentração de soro de 25(OH)D representam as contribuições de síntese cutânea e a ingestão de fontes alimentares de vitamina D. Com 15 minutos de exposição de corpo inteiro ao meio-dia durante o Verão, adultos de raça branca podem produzir vitamina D equivalente a um consumo de 250 µg (10 000 UI)⁵⁶. Uma publicação recente não apresentou provas de toxicidade resultante da ingestão de tais tomas,⁵⁷ nem foi determinada a concentração de soro 25(OH)D que é tóxica, embora se acredite ser a partir de 250 nmol/L. Por conseguinte, é razoável esperar que a ingestão oral de vitamina D₃, que produz concentrações de soro de 25(OH)D, tais como os obtidos com a exposição ao sol, não irá causar hipercalcemia ou hipercalciúria. Isso é o que mostramos nesta pequena população de pacientes, cuja concentração de 25(OH)D no início do estudo já foi relativamente alta. O nosso objetivo não foi determinar a segurança a longo prazo das doses de vitamina D₃, por si só, mas para avaliar a segurança resultante das concentrações do soro de 25(OH)D. Um tratamento mais prolongado com 7000µg/semana (280 000 UI/semana) irá produzir concentrações mais elevadas de 25(OH)D do que foram observadas aqui. Se aplicarmos a estimativa de Heany et al⁵⁸ que um aumento na toma de 1 -µg/d aumenta o soro de 25(OH)D em 0,7nmol/L, em seguida, o aumento médio final de 25(OH)D observado aqui, isto é 308nmol/L, representa um platô na concentração de 25(OH)D equivalente ao que resulta a partir da ingestão de Vitamina D₃ a longo prazo de 440µg/d (17 600 UI/d).

Em resumo, demonstramos que as concentrações de soro de 25(OH)D, num alcance de 400 nmol/L, podem ser alcançadas sem causar hipercalcemia ou hipercalciúria, e não causam efeitos clínicos ou paraclínicos adversos. Estes resultados são animadores para ensaios clínicos em EM a uma escala maior e em outras condições médicas, que possam responder à vitamina D. O uso generalizado de suplementos de vitamina D [25 µg (1.000 UI)/d] tem sido aconselhado como uma maneira simples de melhorar muitos aspetos da saúde pública^{59,60}. Uma vez que, no Reino Unido, o nível de orientação para a vitamina D permanece em 25 µg/d (1000 UI/d), o público britânico pode não ser capaz de se beneficiar do aconselhamento. O presente estudo fornece uma confirmação objetiva de que a recente proposta Hathcock et al é apropriada, ou seja: a UL de 250 µg/d (10 000 UI/d) para a ingestão de vitamina D pode ser justificada⁶¹.

⁵⁵ Vieth R. "Critique of the considerations for establishing the tolerable upper intake level for vitamin D: critical need for revision upwards". J Nutr 2006; 136: 1117–22.

⁵⁶ Vieth R. "The pharmacology of vitamin D, including fortification strategies". In: Feldman D, Glorieux F, Pike JW, eds. Vitamin D. New York, NY: Elsevier, 2005:995–1015.

⁵⁷ Hathcock JN, Shao A, Vieth R, Heaney R. "A risk assessment for vitamin D". Am J Clin Nutr 2007; 85: 6–18.

⁵⁸ Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. "Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol". Am J Clin Nutr 2003; 77: 204–10.

⁵⁹ Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. "Estimates of optimal vitamin D status". Osteoporos Int 2005; 16: 713–6.

⁶⁰ Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. "Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes". Am J Clin Nutr 2006; 84: 18–28.

⁶¹ Hathcock JN, Shao A, Vieth R, Heaney R. "A risk assessment for vitamin D". Am J Clin Nutr 2007; 85: 6–18.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Jodie Burton pela assistência na edição do manuscrito.

Responsabilidades dos autores foram as seguintes

- MU: investigador principal;
- PO: bolsista;
- RV, SK, e MU: fiadores;
- PO, MU, e RV: desenvolveram o protocolo, o garantiram o financiamento inicial, e implementaram o estudo;
- MU e SK : recrutaram pacientes e geriram o julgamento;
- SK e RV: análise estatística;
- SK e RV: escreveram a versão original do manuscrito;
- e todos os autores: revisão e contribuições ao manuscrito.

Nenhum dos autores teve um conflito pessoal ou financeiro de interesses.