

Associação de hipovitaminose D com Lúpus Eritematoso Sistêmico e inflamação

Association of hypovitaminosis D with Systemic Lupus Erythematosus and inflammation

Autores

Viviane Angelina de Souza¹

Marcus Gomes Bastos¹

Natália Maria da Silva Fernandes^{1,2}

Henrique Novais Mansur³

Nádia Rezende Barbosa Raposo¹

Daniele Maria Knupp de Souza⁴

Luiz Carlos Ferreira de Andrade¹

¹ Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

² Universidade de Leiden.
³ Universidade Salgado de Oliveira (UNIVERSO).

⁴ Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG).

Data de submissão: 16/08/2013.

Data de aprovação: 27/03/2014.

Correspondência para:

Viviane Angelina de Souza.
Universidade Federal de Juiz de Fora.
Rua Padre Café, nº 472/801, São Mateus. Juiz de Fora, MG, Brasil.
CEP: 36016-450.
E-mail: vivi.reumato@gmail.com
Fundação IMEPEN (Instituto Mineiro de Estudos e Pesquisas em Nefrologia).

DOI: 10.5935/0101-2800.20140062

RESUMO

Introdução: Atualmente, é descrita elevada prevalência de hipovitaminose D no Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), a qual se associa a algumas manifestações clínicas e maior atividade inflamatória. **Objetivo:** Avaliar a associação entre insuficiência de vitamina D com LES e marcadores inflamatórios. **Métodos:** Estudo transversal, tendo sido avaliados 45 pacientes com LES e 24 controles sem a doença. Níveis de 25-hidroxitamina D [25(OH)D] menores que 30 ng/mL foram considerados insuficientes. A atividade da doença foi avaliada pelo *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (SLEDAI). Foram avaliados, ainda, proteína C reativa ultrasensível (PCRus) e interleucina-6 (IL-6) para verificação do status inflamatório. Para avaliação do envolvimento renal, foram realizadas análise de elementos anormais e sedimentoscopia urinárias (EAS), hematúria e piúria quantitativas, proteinúria e depuração de creatinina em urina de 24 horas e anti-DNA de dupla hélice sérico. **Resultados:** A prevalência de insuficiência de 25(OH)D foi de 55% nos pacientes lúpicos e 8% nos participantes controles ($p = 0,001$). A mediana da 25(OH)D foi menor nos pacientes do que no grupo controle. Os pacientes com insuficiência de 25(OH)D apresentaram níveis mais elevados de IL-6 e maior prevalência de hematúria ao EAS. Não houve correlação entre vitamina D, nefrite lúpica e SLEDAI. **Conclusão:** Em nosso estudo, a insuficiência de vitamina D foi mais prevalente em pacientes com LES e se associou com níveis mais elevados de IL-6 e presença de hematúria.

Palavras-chave: inflamação; lúpus eritematoso sistêmico; nefrite lúpica; vitamina D.

ABSTRACT

Introduction: Nowadays it is described a high prevalence of hypovitaminosis D in Systemic Lupus Erythematosus (SLE), which is associated with some clinical manifestations and increased inflammatory activity. **Objective:** To evaluate the association between vitamin D insufficiency with SLE and inflammatory markers. **Methods:** Cross-sectional study, in which have been evaluated 45 SLE patients and 24 controls without the disease. Levels of 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] less than 30 ng/mL were considered inadequate. Disease activity was assessed by the Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI). High sensitivity C reactive protein (hsCRP) and interleukin-6 (IL-6) were evaluated for verification of the inflammatory status. For assessment of renal involvement, analysis of abnormal elements and urinary sediment (AES), quantitative hematuria and pyuria, proteinuria and creatinine clearance in 24-hour urine and serum anti-double stranded DNA were performed. **Results:** The prevalence of 25(OH)D insufficiency was 55% in SLE patients and 8% in the controls participants ($p = 0.001$). The median of 25(OH)D was lower in patients than in controls. Patients with insufficient 25(OH)D had higher levels of IL-6 and higher prevalence of hematuria in the AES. There was no correlation between vitamin D and SLEDAI or lupus nephritis. **Conclusion:** In our study, vitamin D deficiency was more prevalent in patients with SLE and was associated with higher levels of IL-6 and hematuria.

Keywords: inflammation; lupus nephritis; lupus erythematosus, systemic; vitamin D.

INTRODUÇÃO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica, multissistêmica, que acomete principalmente mulheres jovens em idade reprodutiva, em uma proporção de nove mulheres para cada homem.¹ A prevalência varia de 20 a 150 casos/100.000 indivíduos.² Sua etiologia ainda é obscura, e parece haver a interação de fatores genéticos, hormonais, ambientais e imunológicos para o desenvolvimento da doença.³

O envolvimento renal ainda constitui-se num dos principais determinantes da morbimortalidade de pacientes com LES. Manifesta-se clinicamente em 50% a 70% dos casos, mas 100% deles têm doença renal à microscopia eletrônica (ME). Em geral, as manifestações renais surgem nos primeiros dois a cinco anos da doença.⁴

A deficiência de vitamina D, reconhecida atualmente como epidêmica, pode ser um fator ambiental responsável pelo desencadeamento do LES.⁵ A função clássica da vitamina D é a regulação da homeostase óssea;⁶ entretanto, há evidências de que ela apresenta efeitos pluripotentes em vários órgãos e sistemas, destacando-se, neste contexto, seu papel sobre o sistema imunológico.⁷ Em relação ao sistema imune, a vitamina D potencializa a imunidade inata e suprime a imunidade adaptativa; afeta indiretamente a polarização dos linfócitos T, promovendo um desvio da resposta imune no sentido de tolerância.⁸ Seu papel sobre as células B consiste em inibir a secreção de anticorpos e a produção de autoanticorpos.⁹

Vários estudos demonstram elevada prevalência de hipovitaminose D em doenças autoimunes, entre elas, o LES.¹⁰⁻¹³ Além disso, no LES, é descrita a associação entre deficiência de 25(OH)D e ocorrência de nefrite, assim como associação com gravidade da doença.¹⁴

No Brasil, ainda são poucos os estudos abordando o tema LES e vitamina D. O presente estudo teve como objetivo avaliar a associação entre insuficiência de vitamina D, LES e inflamação.

MÉTODOS

AMOSTRA

O estudo foi do tipo transversal. Foi realizada revisão de prontuários médicos dos pacientes com LES do ambulatório de Reumatologia do Centro de Atenção à Saúde do Hospital Universitário da

Universidade Federal de Juiz de Fora (CAS/HU-UFJF). Identificaram-se 126 pacientes elegíveis, os quais foram convidados a participar do estudo. Destes, 45 pacientes concordaram em participar e foram incluídos no estudo. Estabeleceu-se um grupo controle constituído por 24 indivíduos saudáveis (sem quaisquer patologias detectáveis aos exames clínico e laboratorial), pareados por sexo e idade e residentes na mesma localização geográfica, estudantes dos cursos de Medicina da UFJF e de Enfermagem da Universidade Estácio de Sá, de Juiz de Fora.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos no estudo pacientes com o diagnóstico de LES (segundo os critérios da *American College of Rheumatology* (ACR), propostos em 1982 e revisados em 1997,^{15,16} que tinham mais de 18 anos e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

CRITÉRIOS DE NÃO INCLUSÃO

Gravidez e/ou presença de doenças sistêmicas que levam a comprometimento renal, como *diabetes mellitus*, vasculites, doenças infecciosas agudas, hepatites virais B e C e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) foram considerados critérios de não inclusão no estudo.

METODOLOGIA

Os dados foram coletados de maio de 2010 a março de 2011. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da UFJF. Os pacientes e controles que concordaram em participar do estudo responderam um questionário estruturado abordando as seguintes variáveis clínicas: sexo, idade, raça (avaliada por autorrelato), exposição ao sol (em horas/semana), estação do ano em que foi realizada a avaliação, uso de protetor solar e tabagismo.

Os pacientes que estavam em uso de cálcio e vitamina D foram submetidos a um período de *wash-out* de seis semanas (equivalente a três vezes a meia vida da droga) antes da inclusão no estudo.

ATIVIDADE DA DOENÇA E INFLAMAÇÃO

A atividade da doença foi avaliada pelo *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (SLEDAI). O status inflamatório foi avaliado pelas análises séricas da PCRus (pela técnica de turbidimetria) e IL-6 (por meio de imunoensaio enzimático competitivo - ELISA).

NEFRITE LÚPICA

A definição de nefrite lúpica obedeceu aos critérios do ACR.¹⁶ Caso o paciente tivesse sido submetido à biópsia renal, foi respeitada a classificação de glomerulonefrite lúpica da OMS proposta em 1989 e revisada em 2004.¹⁷ Para avaliação laboratorial do envolvimento renal, foram realizados EAS, hematúria e piúria quantitativas, proteinúria e depuração de creatinina em urina de 24 horas, além do anti-DNA nativo sérico.

VITAMINA D

A determinação da 25(OH)D total sérica foi realizada pelo método de cromatografia líquida de alta performance (HPLC), utilizando-se sistema da Shimadzu (Tóquio, Japão). Os níveis de 25(OH)D foram considerados suficientes se ≥ 30 ng/mL, insuficientes se entre 15 e 29 ng/mL e deficientes se < 15 ng/mL.⁷

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A amostra do estudo foi estabelecida por conveniência. A normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e a estatística descritiva foi realizada por meio da verificação da média ou mediana para as variáveis contínuas. A frequência absoluta e relativa foi utilizada para as variáveis categóricas. Quanto às diferenças entre os grupos de pacientes e controles, estas foram avaliadas pelos testes não paramétricos de Mann-Whitney quando as variáveis foram ordinais ou intervalares e qui-quadrado quando as variáveis foram nominais. A correlação entre a 25(OH)D e as variáveis utilizadas para avaliar nefrite, atividade da doença e inflamação estudadas foi calculada pelo coeficiente de correlação de Pearson.

A comparação entre os subgrupos de pacientes com insuficiência e suficiência de vitamina D e o grupo controle foi realizada pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Foi considerado significativo $p < 0,05$. Analisaram-se os dados por meio do programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) Inc, Chicago, IL, EUA, versão 19.0.

RESULTADOS

As características clínicas basais dos grupos de pacientes e controles, assim como os dados laboratoriais estão expostas nas Tabelas 1 e 2.

A mediana dos níveis séricos da 25(OH)D foi menor nos pacientes com LES (29,48 ng/mL, variação de 20,83-44,23 ng/mL) do que nos participantes controles (37,68 ng/mL, variação de 22,91-44,07 ng/mL) ($p = 0,001$). A prevalência de insuficiência de 25(OH)D foi maior no grupo de pacientes com LES (55%) do que no grupo controle (8%) ($p = 0,001$).

Vinte pacientes (44,4%) foram classificados como apresentando nefrite lúpica, de acordo com os critérios do ACR. Destes, 8 (44%) foram submetidos à biópsia renal, predominando a classe IV da OMS em 5 casos (62,5%). No subgrupo de pacientes com nefrite, a média de idade foi de $34,9 \pm 7,3$ (22-50 anos), a média do SLEDAI foi de 10 (0-24), apresentaram níveis de IL-6 variando de 0,9-13,5, com mediana de 5,0 pg/mL e PCRus entre 0,5-36,2, mediana 4,8 mg/L. A creatinina sérica apresentou média de 0,8 (0,5-2,6) mg/dL e a média da depuração da creatinina foi de 43,9 (35,6-220) mL/min/1,73 m². Com relação à proteinúria, a mesma variou entre 112 a 4000, com mediana de 946 mg/24 horas. Seus níveis de vitamina D variaram entre 20,8-44,2 com mediana de 29,5 ng/mL. Não houve diferença entre os níveis de vitamina D entre pacientes com LES e nefrite *vs.* LES sem nefrite.

Comparando os pacientes lúpicos (amostra total) com os controles, estes apresentaram prevalência significativamente superior de proteinúria avaliada pela fita de imersão comparados aos controles [16 (35,6%) e 1 (4,0%), $p = 0,012$]. A mediana da proteinúria de 24 horas no grupo de pacientes lúpicos foi estatisticamente superior à encontrada nos controles [234 (1-4.000) mg/24 horas e 105,5 (47,5-189,5) mg/24 horas, $p = 0,003$]. Não houve diferença estatisticamente significativa da creatinina sérica [0,7 (0,5-2,6) mg/dL e 0,7 (0,5-1,0) mg/dL, $p = 0,182$] e da depuração da creatinina [101,1 (34-220) mL/min/1,73 m² e 107,6 (60-232,7) mL/min/1,73 m², ($p = 0,258$)] entre os grupos doente e controle.

Os pacientes com insuficiência de vitamina D apresentaram maior prevalência de hematúria ao EAS comparados aos pacientes com suficiência e controles [10 (40,0%), 3 (15,0%) e 3 (12,5%), ($p = 0,043$)], respectivamente.

Com relação à atividade da doença avaliada pelo SLEDAI, 64,4% ($n = 29$) dos pacientes apresentavam doença ativa (SLEDAI ≥ 6). A mediana do SLEDAI foi de 10 (0-24) (Tabela 2).

TABELA 1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, DEMOGRÁFICAS E LABORATORIAIS DOS GRUPOS

	Pacientes (n = 45)	Controles (n = 24)	p valor
Idade (anos)	35,3 (20-52)	26 (18-53)	NS
Sexo			NS
Masculino	1 (2,2%)	1 (4,0%)	
Feminino	44 (97,8%)	24 (96,0%)	
Raça			< 0,0001
Branca	21 (46,7%)	22 (88,0%)	
Não Branca	24 (53,3%)	3 (12,0%)	
Estação do ano			NS
Outono	20 (44,44%)	0 (0,0%)	
Inverno	7 (15,56%)	10 (40,0%)	
Primavera	5 (11,11%)	14 (56,0%)	
Verão			
Exposição ao sol (horas/semana)			0,002
< 1	16 (35,5%)	2 (8,0%)	
1 a 2	12 (26,7%)	2 (8,0%)	
3 a 4	6 (13,3%)	4 (16,0%)	
4 a 5	1 (2,2%)	5 (20,0%)	
> 5	10 (22,2%)	12 (48,0%)	
Uso de protetor solar			NS
Não	7 (15,66%)	9 (36,0%)	
Sim	38 (84,44%)	16 (64,0%)	
Número de aplicações			NS
0	7 (15,6%)	9 (36,0%)	
1	22 (48,9%)	9 (36,0%)	
2	8 (17,8%)	5 (20,0%)	
> 2	8 (17,8%)	2 (8,0%)	
Tabagismo			0,048
Não	38 (84,4%)	24 (96,0%)	
Sim	7 (15,6%)	1 (4,0%)	
VHS 1ª hora (mm)	36 (2-173)	15 (3-42)	< 0,0001
PCRus (mg/L)	4,9 (0,4-67,9)	2,5 (0,1-11,3)	0,002
C3 (mg/dL)	156,9 (80,8-301,7)	NA	NA
C4 (mg/dL)	25,8 (10,2-67,0)	NA	NA
IL-6 (pg/mL)	3,81 (0,898-52,049)	1,38 (0,820-6,934)	< 0,0001
Cálcio Total (mg/dL)	9,6 (8,1-11,3)	10,4 (8,5-11,1)	0,015
Fósforo (mg/dL)	3,9 (2,4-5,3)	3,8 (2,8-4,8)	NS
PTH intacto (pg/mL)	44,9 (6,5-545,9)	35,4 (19,0-80,7)	NS
25(OH)D (ng/mL)	29,48 (20,83-44,23)	37,68 (22,91-44,07)	< 0,0001
Depuração de creatinina (mL/min/1,73 m ²)	101,1 (34-220)	107,6 (60-232,7)	NS
Proteinúria (mg/24 horas)	234 (1-4.000)	105,5 (47,5-189,5)	0,003
Presença de Hematuria	13 (28,9%)	3 (12,5%)	NS

Dados expressos em mediana (mínimo e máximo) ou n (%); NA: Não aplicável; NS: Não significativo.

TABELA 2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS BASAIS DOS PACIENTES

Pacientes (n = 45)	
Tempo de duração (meses)	72 (3-264)
SLEDAI	10 (0-24)
SLEDAI	29 (64,4%)
Atividade (≥ 6)	
Uso de corticoide	42 (93,3%)
Dose de corticoide (mg de prednisona)	20 (0-60)
Cálcio/vitamina D	8 (12,0%)
Antimaláricos	34 (75,55%)
Difosfato de cloroquina 250 mg/dia	22 (48,9%)
Hidroxicloroquina 400 mg/dia	12 (26,7%)
Imunossupressores	25 (55,55%)
Azatioprina	17 (37,8%)
Micofenolato Mofetil	1 (2,2%)
Ciclofosfamida	3 (6,7%)
Metilprednisolona + ciclofosfamida	1 (2,2%)
Rituximabe	1 (2,2%)
Metilprednisolona	1 (2,2%)
Metotrexate	2 (4,4%)

Análise descritiva: mediana (mínimo-máximo) para as variáveis contínuas e n (%) para as variáveis categóricas.

Os níveis de IL-6 foram superiores no grupo com insuficiência de vitamina D [4,464 pg/mL (1,021-52,049)], comparado ao grupo com suficiência [3,292 pg/mL (0,898-10,447)], e ao grupo controle [1,386 pg/mL (0,820-6,934)] ($p < 0,0001$) (Figura 1). Com relação aos níveis de PCRus, não foram observadas diferenças.

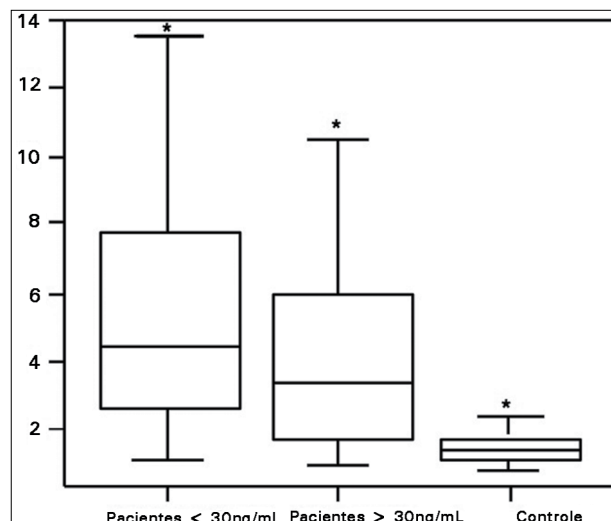
A análise bivariada mostrou fraca evidência de correlação inversa entre vitamina D e IL-6 ($r = -0,276$; $p = 0,066$). Não se observou correlação entre vitamina D e as outras variáveis utilizadas para avaliação de atividade da doença e nefrite lúpica.

DISCUSSÃO

Neste estudo, observamos maior prevalência de insuficiência de vitamina D em pacientes com LES, assim como associação desta com níveis mais elevados de IL-6.

Atualmente, é descrita elevada prevalência mundial de hipovitaminose D no LES, em diversas localizações geográficas.^{18,19} Dados da população brasileira, em geral, também refletem os baixos níveis de vitamina D, mesmo em indivíduos saudáveis.^{20,21} Os resultados do presente estudo, realizado na cidade de Juiz de Fora, localizada a uma latitude de

Figura 1. Insuficiência de vitamina D e IL-6 no LES - Box-plots da variável IL-6 (pg/mL) para os pacientes com insuficiência [4,464 pg/mL (1,021- 52,049)] e suficiência de vitamina D [3,292 pg/mL (0,898-10,447)]; e controles [1,386 pg/mL (0,820- 6,934)] ($p < 0,0001$). Teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$.



21°45" ao sul, demonstrou elevada prevalência de insuficiência de vitamina D em pacientes portadores de LES comparados aos controles, em concordância com os resultados de Fragozo *et al.*,¹⁰ que observaram insuficiência de vitamina D em 57,7% de 78 pacientes portadores de LES em estudo realizado em Pernambuco. Outros três estudos brasileiros também reforçam os nossos achados.¹¹⁻¹³

Nosso estudo não observou correlação entre vitamina D e as variáveis utilizadas para avaliar nefrite lúpica. Observamos maior prevalência de hematúria nos pacientes com insuficiência de vitamina D quando comparados aos grupos com suficiência dessa vitamina e controles. Os pacientes avaliados apresentaram-se com doença renal controlada na maioria dos casos, o que pode ter influenciado a análise dos resultados. A nefrite lúpica constitui-se numa das principais causas de morbimortalidade no LES e a associação entre hipovitaminose D e nefrite lúpica foi avaliada em estudos clínicos, como o de Kamen *et al.*,²² que evidenciaram associação entre deficiência de vitamina D e nefrite. Avaliando uma população de LES juvenil, Robinson *et al.*,²³ observaram associação inversa entre níveis de 25(OH)D e relação proteína/creatinina, além de níveis mais baixos de vitamina D em pacientes com proteinúria.

A despeito de haver estudos mostrando correlação entre vitamina D e marcadores de atividade renal, nossos resultados não os corroboram. Em um estudo iraniano que avaliou pacientes com LES, aqueles com os níveis

de 25(OH)D menores que 5 ng/mL apresentaram títulos mais elevados de anti-DNA nativo.²⁴ Uma associação inversa entre 25(OH)D e os níveis de anti-DNA nativo ($r = -0,13$; $p = 0,02$) e anti-C1q ($r = -0,14$; $p = 0,02$) também foi observada em estudo recente de Mok *et al.*²⁵

Estudo recente publicado por Petri *et al.*¹⁴ evidenciou melhora significativa da relação proteína/creatinina após suplementação com vitamina D em pacientes com níveis insuficientes de 25(OH)D.

O LES é, por definição, uma doença inflamatória autoimune, e é descrito *status* inflamatório exacerbado nesses pacientes. No presente estudo, foi observado aumento significativo de PCRus e de IL-6 nos pacientes quando comparados aos controles. Analisando especificamente a relação entre a 25(OH)D e IL-6, essa citocina apresentou níveis significativamente superiores nos pacientes com insuficiência de vitamina D, quando comparados aos pacientes com suficiência e grupo controle. Foi observada fraca evidência de associação inversa entre vitamina D e essa citocina nos pacientes avaliados ($r = -0,276$; $p = 0,066$). Conforme já mencionado previamente, tais resultados podem refletir o baixo índice de atividade da doença dos pacientes avaliados, nos quais houve predomínio de atividade leve.

Concordando com nossos achados, Amezcua-Guerra *et al.*²⁶ evidenciaram associação positiva entre SLEDAI e VHS/PCR no LES; associação também encontrada por Chun *et al.*²⁷ Entretanto, Firooz *et al.*²⁸ não demonstraram associação desses marcadores inflamatórios com atividade da doença. A IL-6 é uma citocina que exerce influência sobre a regulação do sistema imune e inflamação, atuando na diferenciação de linfócitos B e T.²⁹ No LES, ocorre aumento dos níveis de várias citocinas inflamatórias, como IL-6, IL-1 e TNF-alfa,^{27,30,31} o que reforça nossos resultados.

O nosso estudo apresenta limitações. Primeiramente, por se tratar de avaliação de natureza transversal, não podemos sugerir causalidade entre as associações encontradas e a ocorrência de hipovitaminose D no LES. O número de pacientes avaliados ($n = 45$) também pode ter influenciado os resultados, assim como o fato de os pacientes apresentarem baixos índices de atividade da doença. Uma análise posterior, incluindo um maior número de pacientes incidentes e com doença mais grave, poderia nos proporcionar resultados mais robustos no que diz respeito à associação entre insuficiência de vitamina D, nefrite lúpica, atividade da doença e inflamação.

CONCLUSÃO

Nas pacientes lúpicas estudadas, a insuficiência de vitamina D foi prevalente e se associou com níveis mais elevados de IL-6 e com presença de hematúria. Não foi observada correlação significativa entre os níveis de vitamina D, nefrite lúpica e SLEDAI. Entretanto, mais estudos clínicos randomizados são necessários para avaliar a influência da vitamina D no LES, bem como estabelecer os níveis de vitamina D necessários para demonstrarmos seus efeitos imunomoduladores nesses pacientes.

REFERÊNCIAS

1. Lanna CCD, Ferreira GA, Telles RW. Lúpus Eritematoso Sistêmico. In: Carvalho MAP, Lanna CCD, Bertolo MB, eds. Reumatologia, diagnóstico e tratamento. 3rd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p.364-85.
2. Pons-Estel GJ, Alarcón GS, Scofield L, Reinlib L, Cooper GS. Understanding the epidemiology and progression of systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 2010;39:257-68. PMID: 19136143 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semarthrit.2008.10.007>
3. Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2011;365:2110-21. PMID: 22129255 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra1100359>
4. Huong DL, Papo T, Beaufils H, Wechsler B, Blétry O, Baumelou A, et al. Renal involvement in systemic lupus erythematosus. A study of 180 patients from a single center. *Medicine (Baltimore)* 1999;78:148-66. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/00005792-199905000-00002>
5. Kamen D, Aranow C. Vitamin D in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2008;20:532-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/BOR.0b013e32830a991b>
6. Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis* 2007;66:1137-42. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/ard.2007.069831>
7. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-81. PMID: 17634462 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra070553>
8. Adorini L, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008;4:404-12. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ncprheum0855>
9. Cutolo M, Pizzorni C, Sulli A. Vitamin D endocrine system involvement in autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmun Rev* 2011;11:84-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2011.08.003>
10. Fragoso TS, Dantas AT, Marques CDL, Rocha Junior LF, Melo JHL, Costa AJG, et al. Níveis séricos de 25-hidroxivitamina D3 e sua associação com parâmetros clínicos e laboratoriais em pacientes com lupus eritematoso sistêmico. *Rev Bras Reumatol* 2012;52:60-5.
11. Borba VZ, Vieira JG, Kasamatsu T, Radominski SC, Sato EI, Lazaretti-Castro M. Vitamin D deficiency in patients with active systemic lupus erythematosus. *Osteoporos Int* 2009;20:427-33. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-008-0676-1>
12. Souto M, Coelho A, Guo C, Mendonça L, Argolo S, Papi J, et al. Vitamin D insufficiency in Brazilian patients with SLE: prevalence, associated factors, and relationship with activity. *Lupus* 2011;20:1019-26. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0961203311401457>
13. Monticelo OA, Brenol JC, Chies JA, Longo MG, Rucatti GG, Scalco R, et al. The role of BsmI and FokI vitamin D receptor gene polymorphisms and serum 25-hydroxyvitamin D in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2012;21:43-52. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0961203311421798>

14. Petri M, Bello KJ, Fang H, Magder LS. Vitamin D in systemic lupus erythematosus: modest association with disease activity and the urine protein-to-creatinine ratio. *Arthritis Rheum* 2013;65:1865-71. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/art.37953>
15. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982;25:1271-7. PMID: 7138600 DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/art.1780251101>
16. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;40:1725. PMID: 9324032 DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/art.1780400928>
17. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:241-50. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/01.ASN.0000108969.21691.5D>
18. Lee C, Ramsey-Goldman R. Osteoporosis in systemic lupus erythematosus mechanisms. *Rheum Dis Clin North Am* 2005;31:363-85. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rdc.2005.01.004>
19. Kim HA, Sung JM, Jeon JY, Yoon JM, Suh CH. Vitamin D may not be a good marker of disease activity in Korean patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 2011;31:1189-94. PMID: 20352222 DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00296-010-1442-1>
20. Peters BS, dos Santos LC, Fisberg M, Wood RJ, Martini LA. Prevalence of vitamin D insufficiency in Brazilian adolescents. *Ann Nutr Metab* 2009;54:15-21. PMID: 19194104 DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000199454>
21. Premaor MO, Paludo P, Manica D, Paludo AP, Rossatto ER, Scalco R, et al. Hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in resident physicians of a general hospital in southern Brazil. *J Endocrinol Invest* 2008;31:991-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF03345637>
22. Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2006;5:114-7. PMID: 16431339 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2005.05.009>
23. Robinson AB, Thierry-Palmer M, Gibson KL, Rabinovich CE. Disease activity, proteinuria, and vitamin D status in children with systemic lupus erythematosus and juvenile dermatomyositis. *J Pediatr* 2012;160:297-302. PMID: 21924736 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2011.08.011>
24. Bonakdar ZS, Jahanshahifar L, Jahanshahifar F, Gholamrezaei A. Vitamin D deficiency and its association with disease activity in new cases of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2011;20:1155-60. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0961203311405703>
25. Mok CC, Birmingham DJ, Ho LY, Hebert LA, Song H, Rovin BH. Vitamin D deficiency as marker for disease activity and damage in systemic lupus erythematosus: a comparison with anti-dsDNA and anti-C1q. *Lupus* 2012;21:36-42. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0961203311422094>
26. Amezcua-Guerra LM, Springall R, Arrieta-Alvarado AA, Rodriguez V, Rivera-Martinez E, Castillo-Martinez D, et al. C-reactive protein and complement components but not other acute-phase reactants discriminate between clinical subsets and organ damage in systemic lupus erythematosus. *Clin Lab* 2011;57:607-13.
27. Chun HY, Chung JW, Kim HA, Yun JM, Jeon JY, Ye YM, et al. Cytokine IL-6 and IL-10 as biomarkers in systemic lupus erythematosus. *J Clin Immunol* 2007;27:461-6. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10875-007-9104-0>
28. Firooz N, Albert DA, Wallace DJ, Ishimori M, Berel D, Weisman MH. High-sensitivity C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2011;20:588-97. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0961203310393378>
29. Tackey E, Lipsky PE, Illei GG. Rationale for interleukin-6 blockade in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2004;13:339-43. DOI: <http://dx.doi.org/10.1191/0961203304lu1023oa>
30. Aoki S, Honma M, Kariya Y, Nakamichi Y, Ninomiya T, Takahashi N, et al. Function of OPG as a traffic regulator for RANKL is crucial for controlled osteoclastogenesis. *J Bone Miner Res* 2010;25:1907-21. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.89>
31. Davas EM, Tsirogianni A, Kappou I, Karamitsos D, Economidou I, Dantis PC. Serum IL-6, TNFalpha, p55 srTNFalpha, p75srTNFalpha, srIL-2alpha levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 1999;18:17-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s100670050045>