

Níveis séricos de 25-hidroxivitamina D₃ e sua associação com parâmetros clínicos e laboratoriais em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico

Thiago Sotero Fragoso¹, Andrea Tavares Dantas², Claudia Diniz Lopes Marques³,
Laurindo Ferreira da Rocha Junior⁴, José Humberto de Lima Melo⁵,
Aline Jurema Gesteira Costa⁶, Angela Luzia Branco Pinto Duarte⁷

RESUMO

Introdução: O papel imunorregulatório da vitamina D tem sido alvo de um crescente número de estudos em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES). **Objetivos:** Determinar os níveis séricos de 25-hidroxivitamina D₃ [25(OH)D] em pacientes com LES e verificar a associação da insuficiência/deficiência de 25(OH)D com parâmetros clínicos e laboratoriais. **Métodos:** Estudo de corte transversal, prospectivo, realizado no ambulatório de LES do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. Foram incluídos 78 pacientes portadores de LES e 64 voluntários (grupo de comparação) pareados por gênero e idade. **Resultados:** Constatou-se insuficiência/deficiência de 25(OH)D em 45 (57,7%) pacientes com LES e em 25 (39%) indivíduos do grupo de comparação. Os níveis séricos médios de 25(OH)D foram 29,3 ng/mL (6,1–55,2 ng/mL) nos pacientes com LES e 33,12 ng/mL (15,9–63,8 ng/mL) no grupo de comparação; essa diferença é considerada estatisticamente significativa (P = 0,041). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de idade dos dois grupos. Não houve associação estatisticamente significativa entre insuficiência/deficiência de 25(OH)D e tempo de diagnóstico, atividade de doença (SLEDAI ≥ 6), fadiga, uso de corticosteroides e de antimaláricos e anti-DNA. **Conclusões:** Foi constatada alta prevalência de insuficiência/deficiência de 25(OH)D nos pacientes com LES (57,7%), com diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo de comparação. Não evidenciamos associação de insuficiência/deficiência de vitamina D com as variáveis clínicas e laboratoriais estudadas. Os autores enfatizam a importância da determinação dos níveis séricos de 25(OH)D em todos os pacientes com LES, independente de onde residam e do tempo de diagnóstico da doença.

Palavras-chave: vitamina D, doenças autoimunes, lúpus eritematoso sistêmico.

© 2012 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

INTRODUÇÃO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) constitui uma das doenças autoimunes reumatológicas mais frequentes na população. Tem como uma das principais características a presença de múltiplos

autoanticorpos, e são alvos possíveis dessa doença os mais diversos órgãos e sistemas. O LES acomete principalmente mulheres em idade fértil, na proporção 8–12:1. Apresenta altos índices de morbidade, e até mesmo o desfecho fatal de alguns pacientes é uma possível consequência.^{1,2}

Recebido em 23/05/2011. Aprovado, após revisão, em 02/11/2011. Os autores declaram a inexistência de conflito de interesses. Suporte Financeiro: Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) (APQ-0367- 4.01/08). Comitê de Ética: 1313-08.

Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – HC/UFPE.

1. Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Pernambuco – UFPE; Coordenador do Ambulatório de Pesquisa Clínica do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas – HC/UFPE

2. Mestre em Ciências da Saúde pela UFPE; Coordenadora do Ambulatório de Esclerose Sistêmica/Miopatias do Serviço de Reumatologia da UFPE

3. Doutora; Tutora da Faculdade Pernambucana de Saúde – FPS

4. Biólogo; Mestre em Medicina Tropical pela UFPE

5. Reumatologista; Mestrando em Inovação Terapêutica pela UFPE

6. Graduada em Medicina pela FPS

7. Doutora em Reumatologia pela Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP; Professora Titular de Reumatologia da UFPE

Correspondência para: Thiago Sotero Fragoso. Av. Professor Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária. CEP: 50670-420. Recife, PE, Brasil.

E-mail: thiagofragoso@uol.com.br

Embora os fatores que contribuem para a patogenia da doença não estejam completamente esclarecidos, sabe-se que mecanismos genéticos, fatores ambientais, hormonais e imunológicos estão implicados.² Dentre os fatores ambientais, a vitamina D vem sendo alvo de um número crescente de estudos nos últimos anos, demonstrando seu papel na autoimunidade.³⁻⁶

A vitamina D é um hormônio esteroide cujas principais funções consistem na regulação da homeostase do cálcio, na formação e na reabsorção óssea, por meio de sua interação com as paratireoides, os rins e os intestinos.³ Sua principal fonte é representada pela formação endógena nos tecidos cutâneos após exposição à radiação ultravioleta B (UVB), e exerce seu efeito biológico por meio do seu receptor (RVD), que é amplamente distribuído no organismo, inclusive em células do sistema imune.³ A vasta distribuição e expressão do RVD na maioria das células imunes, incluindo monócitos, macrófagos, células dendríticas, células *natural killer* e linfócitos T e B, além das ações na proliferação e na diferenciação celular, tornam a vitamina D uma candidata potencial na regulação do sistema imunológico.⁷

Pacientes com LES apresentam múltiplos fatores de risco para deficiência de vitamina D. A fotossensibilidade característica da doença determina menor exposição do indivíduo ao sol e recomendação quanto ao uso de protetor solar que bloqueie a radiação UVB, diminuindo a produção cutânea de vitamina D. O uso crônico de corticosteroides, fármaco de uso frequente no tratamento de pacientes com LES, altera seu metabolismo. Além disso, o comprometimento renal grave, que pode ocorrer em pacientes com nefrite lúpica, pode alterar a etapa de hidroxilação da vitamina D.⁸

Estudos têm relacionado insuficiência/deficiência de vitamina D com várias doenças autoimunes, incluindo *diabetes mellitus* insulino-dependente,⁹ esclerose múltipla,¹⁰ doença inflamatória intestinal⁴ e LES.^{4,5,11,12} Diante dessas associações, sugere-se que a insuficiência/deficiência de vitamina D seja um fator extrínseco capaz de modificar a prevalência de doenças autoimunes como o LES⁵ e ainda interferir em sua gravidade.^{11,12}

Estudos realizados no Brasil nas cidades de Recife¹³ e São Paulo¹⁴ em indivíduos normais demonstraram alta prevalência de insuficiência/deficiência de vitamina D. Diante desse contexto, o presente estudo teve por objetivo determinar os níveis séricos de 25-hidroxivitamina D₃ [25(OH)D] em pacientes com LES atendidos no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE), e verificar a associação de insuficiência/deficiência de 25(OH)D com parâmetros clínicos e laboratoriais.

PACIENTES E MÉTODOS

Foi realizado estudo de corte transversal, prospectivo, desenvolvido no período de abril de 2009 a março de 2010, no ambulatório de Lúpus Eritematoso Sistêmico do Serviço de Reumatologia do HC/UFPE. A amostra foi obtida por conveniência. Foram incluídos 78 pacientes portadores de LES que apresentavam quatro ou mais dos critérios de classificação do *American College of Rheumatology* (ACR)¹⁵ e 64 voluntários, que formaram o grupo de comparação, pareados por gênero e idade, não portadores de LES. Foram excluídos do estudo todos os indivíduos com diagnóstico de outras doenças autoimunes.

Para registro das informações, foi elaborado e utilizado um Protocolo de Coleta de Dados, que foi preenchido pelo pesquisador responsável. As respostas foram adquiridas diretamente com o paciente e em seu prontuário. Os pacientes foram avaliados clinicamente e, em seguida, amostras de sangue (5 mL) foram coletadas e centrifugadas. Os soros foram separados e estocados a -20 °C até a realização dos exames laboratoriais. Os níveis séricos de 25(OH)D foram determinados por meio do método de quimioluminescência (Elecys 2010, Roche®).¹⁶ Definiu-se como níveis séricos normais de 25(OH)D valores ≥ 30 ng/mL,¹⁷ e insuficiente/deficiente quando < 30 ng/mL. O anti-DNA foi analisado por meio do método de imunofluorescência em Crithidia.¹⁸

Foi avaliada a associação de insuficiência/deficiência de 25(OH)D com as seguintes variáveis: tempo de diagnóstico, fadiga por meio da escala visual analógica (EVA),¹⁹ atividade de doença pelo SLEDAI,²⁰ uso de corticosteroides e cloroquina, e anti-DNA.

Para análise dos dados foram obtidas distribuições absolutas e percentuais das variáveis na escala nominal, e para as variáveis numéricas, as medidas de estatística descritiva média, desvio-padrão, valores mínimo e máximo. Para testar a associação individual entre as variáveis independentes e a insuficiência/deficiência da 25(OH)D realizou-se análise univariada utilizando o teste qui-quadrado de Pearson. A comparação das médias de idade e dos níveis de 25(OH)D entre os grupos foi feita por meio do teste *t* de Student para amostras independentes, com intervalo de confiança de 95%.

Os dados foram digitados em planilha Excel, e o *software* estatístico utilizado para a obtenção dos cálculos estatísticos foi o SPSS, versão 17.0. O nível de significância utilizado nas decisões dos testes estatísticos foi de 5,0%.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob parecer número 1313-08, em 05/12/2008,

conforme determina a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde e a Declaração de Helsinque VI, promulgada em Edimburgo, Escócia, em outubro de 2000.

RESULTADOS

Foi constatada insuficiência/deficiência de 25(OH)D em 45 (57,7%) pacientes com LES e em 25 (39%) indivíduos no grupo de comparação. A Tabela 1 descreve as variáveis clínicas, epidemiológicas e laboratoriais encontradas na amostra de pacientes.

Os níveis séricos médios de 25(OH)D foram 29,3 ng/mL (6,1–55,2 ng/mL) nos pacientes com LES e 33,12 ng/mL (15,9–63,8 ng/mL) no grupo de comparação. Essa diferença foi considerada estatisticamente significativa. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de idade dos dois grupos (Tabela 2).

Não houve associação estatisticamente significativa entre insuficiência/deficiência de 25(OH)D e tempo de diagnóstico, fadiga, atividade de doença (SLEDAI \geq 6), anti-DNA, uso de corticosteroides e de antimaláricos (Tabela 3).

Tabela 1

Descrição das variáveis clínicas, epidemiológicas e laboratoriais no grupo LES

Variáveis	n = 78	%
Gênero		
Feminino	76	97,4
Masculino	2	2,6
Tempo de diagnóstico		
Até 36 meses	22	28,2
> 36 meses	56	71,8
Presença de fadiga	52	66,7
SLEDAI \geq 6	20	25,6
Anti-DNA positivo	19	24,4
Uso de antimalárico	32	41,0
Uso de corticosteroides	61	78,2
Dose de corticosteroide		
< 7,5 mg/dia	35	44,9
7,5 a 30 mg/dia	38	48,7
> 30 mg/dia	5	6,4
Níveis de vitamina D		
< 30 ng/mL	45	57,7
\geq 30 ng/mL	33	42,3

Tabela 2

Comparação entre as médias de idade (anos) e dos níveis de 25(OH)D (ng/mL) entre os grupos LES e de comparação

Variáveis	Grupos				P*
	LES (n = 78)		Comparação (n = 64)		
	Média	DP	Média	DP	
Idade	36,9	\pm 10,672	38,13	\pm 9,704	0,625
Níveis de 25(OH)D	29,3	\pm 10,284	33,12	\pm 10,350	0,041

*Teste *t* de Student para amostras independentes. IC = 95%.

Tabela 3

Associação entre insuficiência/deficiência de 25(OH)D e as variáveis gênero, tempo de diagnóstico, fadiga, SLEDAI, anti-DNA, uso de corticosteroides e de cloroquina

Variáveis	Níveis de 25(OH)D				Total (n = 78)	P
	< 30 ng/mL		\geq 30 ng/mL			
	n	%	n	%		
Gênero						0,343**
Feminino	45	59,2	31	40,8	76	
Masculino	0	0,0	2	100,0	2	
Tempo de diagnóstico						0,357*
Até 36 meses	15	68,2	7	31,8	22	
> 36 meses	30	53,6	26	46,4	56	
Fadiga						0,808*
Sim	29	55,8	23	44,2	52	
Não	16	61,5	10	38,5	26	
SLEDAI \geq 6*						0,971*
Sim	12	60,0	8	40,0	20	
Não	29	36,9	22	43,1	51	
Anti-DNA						0,435*
Positivo	9	47,4	10	52,6	19	
Negativo	36	61,0	23	39,0	59	
Uso de corticosteroide						0,701*
Sim	34	55,7	27	44,3	61	
Não	11	64,7	6	35,3	17	
Uso de cloroquina						0,986*
Sim	19	59,4	13	40,6	32	
Não	26	56,5	20	43,5	46	

*Qui-quadrado de Pearson; **Teste exato de Fisher.

* Em sete pacientes não foi possível calcular o SLEDAI devido à falta de informações laboratoriais.

DISCUSSÃO

A vitamina D é um nutriente essencial para diversos órgãos e tecidos e está envolvida em múltiplos processos biológicos além do metabolismo ósseo. Nos últimos anos, os diversos “papéis” da vitamina D têm merecido destaque. Recente metanálise sugere que poderia haver diminuição na taxa de mortalidade em indivíduos que realizassem sua suplementação.²¹ Além de sua importância sobre a saúde geral do indivíduo, a vitamina D tem múltiplas ações imunorregulatórias, podendo inclusive estar implicada na etiopatogenia de doenças autoimunes.²²

Embora presente em diversos alimentos, sua principal fonte ainda é representada pela formação endógena nos tecidos cutâneos após exposição à radiação UVB.²³ Dependendo da latitude, do horário e da idade do indivíduo, cerca de 20 minutos de exposição solar podem produzir até 20.000 unidades de vitamina D, quantidade suficiente para suprir as necessidades de um adulto durante aproximadamente 25 dias e equivalente ao adquirido em 200 copos de leite.²⁴ No entanto, cada vez mais os hábitos da “vida moderna” nos conduzem a evitar a síntese endógena de vitamina D.

Recife (PE, Brasil), local em que foi realizada a investigação, tem clima tropical, quente e úmido, com média anual de temperatura de 25,2 °C. O município está localizado na latitude 8° 04' 03" Sul e longitude 34° 55' 00" Oeste, com altos índices de insolação durante todo o ano.²⁵ Os pacientes do grupo LES, bem como os do grupo de comparação, foram provenientes de Recife e de outras cidades de Pernambuco, onde há áreas com índices ainda maiores de insolação e temperaturas médias anuais superiores.

Apesar da localização geográfica e das características climáticas, foram encontrados níveis séricos inadequados de 25(OH)D (< 30 ng/mL) em 57,7% dos pacientes com LES e em 39% no grupo de comparação. Quando da comparação dos níveis séricos médios, estes foram mais baixos no grupo com LES (29,3 ng/mL) que no de comparação (33,12 ng/mL), diferença considerada estatisticamente significativa.

A alta prevalência de insuficiência/deficiência de vitamina D encontrada neste estudo (região de alta insolação) é semelhante à de outros, que demonstraram níveis inadequados de 25(OH)D entre 50%–75% dos pacientes portadores de LES, tanto em locais de baixa^{6,8,26} como de alta insolação.²⁷ Acreditamos que a alta prevalência de insuficiência/deficiência de vitamina D encontrada em nossos pacientes com LES seja justificada como decorrente das recomendações do uso de filtro solar e, principalmente, de evitar a exposição ao sol.

Embora 78,2% dos pacientes com LES utilizassem corticosteroides, não foi verificada associação entre sua utilização

e insuficiência/deficiência de vitamina D. No entanto, deve ser considerada a existência de viés de informação, devido à impossibilidade de aferir a regularidade do uso e a dose cumulativa de corticosteroides.

A cloroquina pode inibir a etapa de 1 α -hidroxilação da 25(OH)D, causando decréscimo nos níveis do seu metabólito mais ativo, todavia sem ocasionar alterações nos níveis da 25(OH)D.²⁸ Não encontramos associação de insuficiência/deficiência de vitamina D com uso de cloroquina, aspecto também observado por Huisman *et al.*;²³ entretanto, esses autores demonstraram níveis séricos diminuídos de 1,25 dihidroxivitamina D (1,25(OH)₂D). No presente estudo não foram aferidos os níveis de 1,25(OH)₂D, não sendo possível realizar conclusões a respeito.

Em relação à atividade de doença, parece haver controvérsia sobre a influência dos níveis séricos de 25(OH)D nos pacientes lúpicos. Não foi verificada associação com atividade de doença, em concordância com outros estudos,^{8,27,29} embora tenham utilizado variados pontos de cortes do SLEDAI. Recentemente, Borba *et al.*,¹¹ bem como Amital *et al.*,¹² descreveram associação de níveis séricos 25(OH)D com atividade de doença. Considerando as funções imunorregulatórias da vitamina D já descritas na literatura, a expectativa seria de que pacientes com LES e baixos níveis séricos de 25(OH)D tivessem doença mais grave e mais frequentemente ativa. Entretanto, os dados existentes na literatura são discordantes. Isso pode ser decorrente de aspectos como metodologias empregadas, desenho dos estudos, características dos pacientes e variedade dos pontos de corte do SLEDAI e da 25(OH)D. Além disso, não é conhecido um ponto de corte a partir do qual a 25(OH)D interfira na atividade de doença. Desse modo, ainda são necessários mais estudos e com populações maiores, a fim de definir o real papel da vitamina D na atividade de doença de pacientes com LES e a partir de que níveis séricos de 25(OH)D haveria influência sobre a atividade de doença.

A deficiência de vitamina D tem sido identificada como causa de fraqueza muscular e mialgia em pacientes idosos,^{30,31} e a associação de baixos níveis séricos de 25(OH)D com fadiga em pacientes com LES tem sido relatada.⁸ Embora a fadiga estivesse presente em 66,6% dos pacientes com LES, não constatamos associação com insuficiência/deficiência de 25(OH)D. Neste estudo não foi testada a associação entre fadiga em pacientes com LES e atividade de doença, uso de fármacos e comorbidades. Esses fatores poderiam justificar a prevalência de fadiga observada nos pacientes com LES deste estudo.

Não verificamos associação entre insuficiência/deficiência de vitamina D e tempo de diagnóstico da doença. Foram observados níveis séricos de 25(OH)D < 30 ng/mL em 15 (68,2%)

pacientes com LES há menos de três anos. Essa observação sugere que nos primeiros anos de diagnóstico pode ocorrer insuficiência/deficiência de vitamina D. Assim, seria importante a recomendação da dosagem da 25(OH)D quando do diagnóstico de LES, uma vez que também tem sido encontrada alta prevalência de insuficiência/deficiência de vitamina D em indivíduos previamente saudáveis,^{31,32} assim como nos primeiros anos de doença.

A associação entre insuficiência/deficiência de vitamina D e anti-DNA em pacientes com LES é controversa. No presente estudo não foi observada associação, em concordância com os achados de Toloza *et al.*,⁶ contrariando os resultados de Carvalho *et al.*,³³ que verificaram associação de níveis séricos de 25(OH)D com presença de anti-DNA. Ainda são necessários mais estudos com o objetivo de testar a associação do perfil de autoanticorpos com os níveis séricos de 25(OH)D.

A insuficiência/deficiência de vitamina D parece não ser uma exclusividade dos pacientes portadores de LES, apesar de terem, em geral, níveis séricos médios mais baixos que a população saudável, conforme demonstrado neste estudo. Níveis inadequados de vitamina D ocorrem também em crianças saudáveis, adultos jovens, idosos e pacientes hospitalizados.¹⁷ Essa relação também foi verificada em recente metanálise³¹ com indivíduos caucasianos saudáveis.

No presente estudo, a porcentagem de insuficiência/deficiência de vitamina D no grupo de comparação, 39% (25/64), foi semelhante à de estudos europeus, que demonstraram prevalência de 40%–80%, descritos em recente revisão.³² Provavelmente essa alta prevalência verificada nos indivíduos saudáveis é consequência de atividades da “vida moderna”, que nos fazem evitar a exposição solar e, conseqüentemente, a síntese de vitamina D.

Este estudo teve como principais limitações a impossibilidade de avaliar a dose cumulativa nos pacientes que faziam ou fizeram uso de corticosteroides e a regularidade de utilização de fotoprotetores. Não foi estudada a influência da raça, por esta ser uma variável de difícil definição em nossa população. Outras dificuldades foram na comparação dos nossos resultados com o de outros estudos existentes, pois confrontamos dados de regiões com diferentes níveis de insolação. Além disso, outros aspectos como metodologias, desenho dos estudos, características dos pacientes e variedade dos pontos de corte do SLEDAI dificultaram comparações.

Concluimos, com base em nossos resultados, que 57,7% dos pacientes com LES têm baixos níveis séricos de 25(OH)D, os quais foram significativamente menores que no grupo de comparação. Não se observou associação de insuficiência/deficiência de vitamina D com tempo de diagnóstico, atividade da

doença, fadiga, anti-DNA, bem como uso de corticosteroides e cloroquina.

Sendo assim, levando em consideração os múltiplos “papeis” da vitamina D, enfatizamos a importância da determinação dos níveis séricos da 25(OH)D em todos os pacientes com LES, independente de onde residam e do tempo de diagnóstico da doença.

REFERENCES

REFERÊNCIAS

- Petri M. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2002; 16(5):847–58.
- Petri M. Systemic Lupus Erythematosus. In: Imboden J, Hellman D, Stone S. *Current Diagnosis & Treatment – Rheumatology*. 2. ed. Lange Medical Books, 2004.
- Arnsón Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis* 2007; 66(9):1137–42.
- Cantorna MT. Vitamin D and autoimmunity: is vitamin D status an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence? *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 223(3):230–3.
- Cantorna MT, Mahon B. Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. *Exp Bio Med (Maywood)* 2004; 229(11):1136–42.
- Toloza SMA, Cole DE, Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Vitamin D insufficiency in a large female SLE cohort. *Lupus* 2010; 19(1):13–19.
- Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev* 2005; 26(5):662–87.
- Ruiz-Irastorza G, Egurbide MV, Olivares N, Martínez-Berriotxo A, Aguirre C. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus: prevalence, predictors and clinical consequences. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47(6):920–3.
- EURODIAB study group. Vitamin D supplement in early childhood and risk for type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999; 42(1):51–4.
- Munger KL, Zhang SM, O’Reilly E, Hernán MA, Olek MJ, Willett WC *et al.* Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 62(1):60–5.
- 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(3):427–33.
- Amital H, Szekanez Z, Szücs G, Dankó K, Nagy E, Csépany T *et al.* Serum concentrations of 25-OH vitamin D in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) are inversely related to disease activity: is it time to routinely supplement patients with SLE with vitamin D? *Ann Rheum Dis* 2010; 69(6):1155–7.
- Bandeira F, Griz L, Dreyer P, Eufrazino C, Bandeira C, Freese E. Vitamin D deficiency: A global perspective. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2006; 50(4):640–6.
- Saraiva GL, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araújo LM, Vieira JG, Maeda SS *et al.* Prevalence of vitamin D deficiency, insufficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly inpatients and living in the community of the city of São Paulo, Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2007; 51(3):437–42.

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(11):1271–7.
16. Leino A, Turpeinen U, Koskinen P. Automated Measurement of 25-OH vitamin D₃ on the Roche Modular E170 analyzer. *Clin Chem* 2008; 54(12):2059–62.
17. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357(3):266–81.
18. Aarden LA, de Groot ER, Feltkamp TE. Immunology of DNA III. Crithidia luciliae, a simple substrate for the determination of anti-dsDNA with the immunofluorescence technique. *Ann N Y Acad Sci* 1975; 254:505–15.
19. Verdon F, Burnand B, Stubi CL, Bonard C, Graff M, Michaud A *et al.* Iron supplementation for unexplained fatigue in non-anemic women: double blind randomized placebo controlled trial. *BMJ* 2003; 326(7399):1124.
20. Hawker G, Gabriel S, Bombardier C, Goldsmith C, Caron D, Gladman D. A reliability study of SLEDAI: a disease activity index for systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1993; 20(4):657–60.
21. Autier P, Gandini S. Vitamin D supplementation and total mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2007; 167(16):1730–7.
22. Maruotti N, Cantatore FP. Vitamin D and the immune system. *J Rheumatol* 2010; 37(3):491–5.
23. Huisman AM, White KP, Algra A, Harth M, Vieth R, Jacobs JW *et al.* Vitamin D levels in women with systemic lupus erythematosus and fibromyalgia. *J Rheumatol* 2001; 28(11):2535–9.
24. Cannell JJ, Hollis BW. Use of vitamin D in clinical practice. *Altern Med Rev* 2008; 13(1):6–20.
25. Prefeitura da Cidade do Recife. A cidade do Recife. Available from: www.recife.pe.gov.br/pr/secplanejamento/infocrec. [Accessed in March 13, 2011].
26. Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2006; 5(2):114–7.
27. Thudi A, Yin S, Wandstrat AE, Li QZ, Olsen NJ. Vitamin D levels and disease status in Texas patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci* 2008; 335(2):99–104.
28. Barnes TC, Bucknall RC. Vitamin D deficiency in a patient with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(3):393–4.
29. Janssen HC, Samson MM, Verhaar HJ. Vitamin D deficiency, muscle function, and falls in elderly people. *Am J Clin Nutr* 2002; 75(4):611–5.
30. Venning G. Recent developments in vitamin D deficiency and muscle weakness among elderly people. *BMJ* 2005; 330(7490):524–6.
31. Hagenau T, Vest R, Gissel TN, Poulsen CS, Erlandsen M, Mosekilde L *et al.* Global vitamin D levels in relation to age, gender, skin pigmentation and latitude: an ecologic meta-regression analysis. *Osteoporos Int* 2009; 20(1):133–40.
32. Lips P. Worldwide status of vitamin D nutrition. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121(1–2):297–300.
33. Carvalho JF, Blank M, Kiss E, Tarr T, Amital H, Shoenfeld Y. Anti-vitamin D, vitamin D in SLE: preliminary results. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1109:550–7.