

Vitamina D e Diabetes Mellitus Tipo I: Efeito dos Polimorfismos de Genes Envolvidos no Metabolismo e Acção da Vitamina D

N. M. Oliveira, M. C. Lemos

Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã.

Resumo

Introdução: Vários estudos epidemiológicos e experimentais sugerem que a vitamina D tem um efeito protector contra o desenvolvimento da diabetes mellitus tipo I (DMI), através da modulação da resposta do sistema imunitário. A existência de polimorfismos de genes envolvidos no metabolismo e acção da vitamina D poderá conferir diferenças inter-individuais na actividade biológica da vitamina D.

Objectivo: Determinar o efeito dos polimorfismos de genes envolvidos no metabolismo e acção da vitamina D, sobre a susceptibilidade para a DMI.

Métodos: Procedeu-se à análise dos estudos publicados, até à data, sobre a associação da DMI com polimorfismos de genes envolvidos no metabolismo e acção da vitamina D.

Resultados: Foram encontradas associações entre o risco de DMI e polimorfismos dos genes que codificam o receptor da vitamina D, a proteína de ligação da vitamina D e as enzimas 25-hidroxivitamina D3-1- α -hidroxilase e vitamina D-25-hidroxilase. Porém, os resultados dos estudos de associação diferem em função da população e região geográfica estudada.

Conclusões: A maioria dos estudos publicados sugere uma contribuição de polimorfismos de genes envolvidos no metabolismo e acção da vitamina D, para a susceptibilidade da DMI. No entanto, alguns resultados contraditórios poderão traduzir a influência de diferentes características genéticas populacionais e diferentes exposições ambientais.

Abstract

Introduction: Several Epidemiological and experimental studies have suggested that vitamin D may have a protective effect against the development of type I diabetes mellitus (T1DM), through a mechanism of modulation of the immune response. Polymorphisms in genes that are involved in the metabolism and action of vitamin D may confer inter-individual differences in the biological activity of vitamin D.

Aims: To determine the effect of polymorphisms in genes involved in the metabolism and action of vitamin D on the susceptibility to T1DM.

Methods: We analysed all the published studies concerning the association of T1DM with polymorphisms in genes involved in the metabolism and action of vitamin D.

Results: Associations with T1DM have been reported for polymorphisms in the genes encoding the vitamin D receptor, the vitamin D binding protein and the enzymes 25-hydroxyvitamin D3-1- α -hydroxylase and vitamin D-25-hydroxylase. However, the results of the association studies differ according to the population and geographical region.

Conclusions: The majority of published studies suggest a contribution of polymorphisms in genes involved in the metabolism and action of vitamin D, to the susceptibility to T1DM. However, conflicting reported data may indicate an influence of different genetic characteristics of the populations and different environmental exposures.

INTRODUÇÃO

A diabetes mellitus tipo I (DMI) é uma doença crónica auto-imune caracterizada pela destruição selectiva das células beta pancreáticas por células T CD4+ e CD8+ e macrófagos, e pela infiltração celular dos ilhéus pancreáticos. A DMI representa cerca de 10% de todos os casos de diabetes ⁽¹⁾. Até ao momento, ainda não foram identificados métodos eficazes para prevenir o desenvolvimento desta patologia, no entanto, vários factores ambientais e genéticos têm sido investigados como potenciais responsáveis pelo despoletar da resposta imune. Um dos factores ambientais que tem sido recentemente alvo de investigação é a deficiência de vitamina D.

Em modelos animais de DMI, a deficiência de vitamina D *in utero* e no início da vida foi considerada um factor de risco para o desenvolvimento da DMI ^(2,3). Em alguns estudos em humanos, foram encontrados níveis séricos baixos de vitamina D na altura do diagnóstico da doença ^(4,5).

A administração de 1,25-dihidroxivitamina D [1,25-(OH)₂D₃] (forma activa da vitamina D) e seus análogos estruturais, em modelos animais de DMI, previne o desenvolvimento da doença, sobretudo através da modulação do sistema imunitário ^(6,7). A identificação de receptores para a 1,25-(OH)₂D₃ em células do sistema imunitário é evidência a favor de um papel imunoregulador da vitamina D. Vários estudos epidemiológicos têm demonstrado uma associação inversa entre a ingestão de suplementos de vitamina D durante a gravidez ou na infância e a incidência de DMI e o aparecimento de auto-anticorpos ⁽⁸⁻¹⁰⁾.

As observações, em vários países, de uma variação sazonal da incidência da DMI, de uma relação sazonal entre a data de nascimento e o desenvolvimento da doença, e de um gradiente de latitude na incidência da DMI, sugerem uma relação inversa entre a luz solar e a doença ⁽¹¹⁾.

Correspondência:

Prof. Doutor Manuel C. Lemos
Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade da Beira Interior
6200-506 Covilhã
Tel.: +351 275329002/3
Fax: +351 275329099
E-mail: mclemos@fcsaude.ubi.pt

Dado que o efeito da vitamina D no organismo depende da acção de várias enzimas, proteínas transportadoras e receptores celulares, a variabilidade genética destes intervenientes poderá também influenciar o grau de exposição celular à forma activa da vitamina D.

Este trabalho foi realizado com o objectivo de rever os factores genéticos envolvidos no metabolismo e acção da vitamina D e as suas implicações para o risco de desenvolvimento da diabetes mellitus tipo 1.

ESTUDOS GENÉTICOS DA DMI

A DMI é uma doença de origem multifactorial para a qual contribuem factores de natureza ambientais e factores de susceptibilidade genética. A importância da contribuição dos factores genéticos é demonstrada pela observação de uma taxa de concordância da doença, entre gémeos monozigóticos, de cerca de 30 a 50% ⁽¹²⁾.

Os genes do complexo *major* de histocompatibilidade (MHC, *Major Histocompatibility Complex*), particularmente o Sistema Humano de Antígenos Leucocitários (HLA, *Human Leukocyte Antigens*) de classe II, foram identificados como os mais importantes factores genéticos na determinação do risco de desenvolvimento de diabetes tipo 1 ^(11,13), sendo responsáveis por cerca de 40-50% do total da componente hereditária da diabetes tipo 1 ⁽¹¹⁾. Vários outros genes, como o gene da insulina, *PTPN22*, *CTLA4* e *CD25*, também foram implicados na etiopatogenia da DMI ^(11,11). No entanto, estes genes não são suficientes nem necessários para provocar a doença ⁽¹³⁾.

Dado que os resultados dos estudos epidemiológicos e experimentais parecem sugerir uma associação entre a vitamina D e a DMI, vários autores têm estudado a contribuição de polimorfismos de genes envolvidos no metabolismo e acção da vitamina D, para o risco de desenvolvimento da DMI e de outras doenças auto-imunes tais como a esclerose múltipla, doença intestinal inflamatória, artrite reumatóide e doença auto-imune da tiróide. Os principais alvos destes estudos têm sido os genes codificadores do receptor da vitamina D (VDR), das enzimas envolvidas no seu metabolismo e da proteína de ligação da vitamina D (DBP) ⁽¹⁴⁾.

POLIFORMISMO DO RECEPTOR DA VITAMINA D

Tendo em consideração que a vitamina D exerce os seus efeitos através da ligação com o seu receptor específico, a proteína nuclear VDR (*vitamin D receptor*), o gene *VDR* tornou-se um dos possíveis candidatos a estar implicado no risco de DMI ⁽¹⁵⁾.

O gene *VDR* encontra-se no cromossoma 12q12-q14 e foram já descritos diversos polimorfismos para este gene. Quatro polimorfismos de nucleótido único (SNP's, *Single Nucleotide Polymorphisms*) foram alvo de maior investigação e serão aqui abordados: FokI (rs735810), que ocorre no primeiro codão de iniciação do éxon 2, alterando a sequência de nucleótidos, que resulta numa proteína mais curta em 3 aminoácidos considerada mais activa (alelo "F"); BsmI (rs1544410) e Apal (rs7975232) ambos localizados no intrão

8 e TaqI (rs731236), SNP silencioso no éxon 9 e cujos efeitos funcionais são desconhecidos ⁽¹³⁾.

Estas variações alélicas no gene *VDR* e a sua possível relação com a DMI têm sido alvos de estudo em diferentes populações (Quadro I).

McDermott *et al* ⁽¹⁶⁾ foram os primeiros a descrever uma associação entre DMI e polimorfismo do *VDR*, em 1997, num estudo que envolveu 93 famílias Indianas com DMI. Foi então concluído que o alelo "b" do polimorfismo BsmI era preferencialmente transmitido à descendência com DMI.

Desde então, diversos estudos de associação genética têm sido realizados também com resultados positivos. No entanto, vários estudos têm revelado resultados contraditórios: Num grande estudo envolvendo 774 casos e 599 controlos, Shimada *et al* ⁽⁴⁰⁾ demonstraram que o genótipo "BB" do polimorfismo BsmI está associado à DMI. Neste estudo, também foi possível encontrar uma associação entre valores elevados de interferão-gama (IFN- γ) e o mesmo genótipo, o que estaria de acordo com a hipótese "Th1" da patogenia da DMI. Por outro lado, Yokota *et al* ⁽²³⁾, também no Japão, concluíram que apesar de não ser estatisticamente significativo, a frequência do alelo "F" do polimorfismo FokI era superior nos pacientes diabéticos. Neste trabalho também foi comparado o polimorfismo do *VDR* com a idade de início da DMI, sendo que o genótipo "ff" foi associado a um início mais precoce da patologia. Skrabic *et al* ⁽²⁸⁾, no ano de 2003, verificaram a existência de uma associação entre o genótipo "tt" do polimorfismo TaqI e a DMI em indivíduos croatas, o que contraria o que Fassbender *et al* ⁽²⁴⁾ já haviam demonstrado no ano anterior na Alemanha, ao concluírem que o genótipo "TT" estaria associado à DMI em indivíduos deste país. Outros estudos realizados em populações de países como Taiwan ⁽¹⁸⁾, Holanda ⁽²²⁾, Espanha ^(31,34), Itália ⁽³⁵⁾, Chile ⁽³⁷⁾, Uruguai ⁽³⁸⁾ ou Brasil ⁽⁴²⁾, também demonstraram associações entre os polimorfismos FokI, BsmI, Apal e TaqI e a DMI.

Em contraste, outros estudos não encontraram evidência de tais associações. Nesenjev *et al* ⁽²⁹⁾, conduziram uma investigação que incluiu 3763 famílias com DMI de diferentes países, tendo sido investigados 98 SNP's onde estavam incluídos o FokI, TaqI, BsmI e Apal. Os resultados foram negativos para todos os SNP's, não se tendo verificado qualquer associação entre estes e a DMI. Resultados semelhantes foram encontrados no Brasil ⁽¹⁷⁾, Roménia ⁽²¹⁾, Japão ⁽²³⁾, Hungria ⁽²⁵⁾, Finlândia ⁽²⁶⁾, Chile ^(30,41), Itália ⁽³²⁾, Croácia ⁽³⁹⁾ e Portugal ⁽¹⁵⁾.

Em 2005, Guo *et al* ⁽¹³⁾ elaboraram uma meta análise que incluiu 19 estudos de associação entre o gene *VDR* e a DMI. Apenas os polimorfismos FokI, BsmI, Apal e TaqI foram avaliados. Segundo os autores, não foi encontrada evidência de associação entre os referidos polimorfismos e a DMI. A excepção verificou-se com o FokI, onde foi encontrada uma pequena associação.

As aparentes discrepâncias entre estes estudos podem ser o resultado do efeito de diferenças étnicas relacionadas com a distribuição dos polimorfismos do *VDR* nessas populações, assim como das interações com outros factores genéticos e ambientais envolvidos na patogenia da DMI ⁽¹⁵⁾. Assim, e apesar da inconsistência dos resultados relativamente aos

Quadro I - Estudos de associação entre polimorfismos do gene VDR e diabetes mellitus tipo I.

Referência	País	Tipo de estudo	Amostra	Polimorfismo estudado	Alelo ou genótipo de risco*
Mcdermott et al 1997 ⁽¹⁶⁾	India	transmissão familiar	93 famílias	Bsml Apal Taql	b A# T#
Hauache et al 1998 ⁽¹⁷⁾	Brasil	caso - controlo	78 casos e 94 controlos	Bsml	(-)
Chang et al 2000 ⁽¹⁸⁾	Taiwan	caso - controlo	157 casos e 248 controlos	Bsml Apal Taql	B (-) (-)
Pani et al 2000 ⁽¹⁹⁾	Alemanha	transmissão familiar	152 famílias	Bsml Apal Taql Fokl	B# A# t# (-)
Ban et al 2001 ⁽²⁰⁾	Japão	caso-controlo	110 casos e 250 controlos	Fokl	F e FF
Guja et al 2002 ⁽²¹⁾	Roménia	transmissão familiar	204 famílias	Apal Taql Fokl	(-) (-) (-)
Koeleman et al 2002 ⁽²²⁾	Holanda	transmissão familiar	206 famílias	Fokl	F
Yokota et al 2002 ⁽²³⁾	Japão	caso - controlo	108 casos e 120 controlos	Apal Taql Fokl	(-) (-) (-)
Fassbender et al 2002 ⁽²⁴⁾	Alemanha	caso - controlo	75 casos e 57 controlos	Bsml Taql Fokl	(-) TT (-)
Gyoffy et al 2002 ⁽²⁵⁾	Hungria	caso - controlo	107 casos e 103 controlos	Bsml Apal Fokl	(-) (-) (-)
Turpeinen et al 2003 ⁽²⁶⁾	Finlândia	caso - controlo	1064 casos e 2837 controlos	Bsml Apal Fokl	(-) (-) (-)
Motohashi et al 2003 ⁽²⁷⁾	Japão	caso - controlo	203 casos e 222 controlos	Bsml	B
Skrabic et al 2003 ⁽²⁸⁾	Croácia	caso - controlo	134 casos e 132 controlos	Bsml Apal Taql	B# A# t#
Nesenjev et al 2004 ⁽²⁹⁾	Reino Unido, EUA, Finlândia, Noruega, Roménia	transmissão familiar	3763 famílias	Bsml Apal Taql Fokl	(-) (-) (-) (-)
Angel et al 2004 ⁽³⁰⁾	Chile	transmissão familiar	59 famílias	Bsml Apal Taql	(-) (-) (-)
Audi et al 2004 ⁽³¹⁾	Espanha	caso - controlo	242 casos e 390 controlos	Bsml Fokl	(-) F
Bianco et al 2004 ⁽³²⁾	Itália	caso - controlo	31 casos e 36 controlos	Bsml Apal Taql	(-) (-) (-)
Zemunik et al 2005 ⁽³³⁾	Croácia	caso - controlo	134 casos e 232 controlos	Fokl	ff
San-Pedro et al 2005 ⁽³⁴⁾	Espanha	caso - controlo	71 casos e 88 controlos	Bsml Apal Taql Fokl	B# A# t# f#
Capoluongo et al 2006 ⁽³⁵⁾	Itália	caso - controlo	246 casos e 246 controlos	Bsml Fokl	(-) ff
Xiao et al 2006 ⁽³⁶⁾	Japão	caso - controlo	54 casos e 82 controlos	Bsml Apal Taql	B (-) (-)
Garcia et al 2007 ⁽³⁷⁾	Chile	caso - controlo	216 casos e 203 controlos	Bsml Apal Taql	B# A# T#
Mimbacas et al 2007 ⁽³⁸⁾	Uruguai	transmissão familiar	45 famílias	Bsml Taql Fokl	(-) (-) F
Boraska et al 2008 ⁽³⁹⁾	Croácia	transmissão familiar	160 famílias	Bsml Apal Fokl	(-) (-) (-)
Shimada et al 2008 ⁽⁴⁰⁾	Japão	caso - controlo	774 casos e 599 controlos	Bsml	BB
López et al 2008 ⁽⁴¹⁾	Chile	caso - controlo	151 casos e 182 controlos	Fokl	(-)
Lemos et al 2008 ⁽¹⁵⁾	Portugal	caso - controlo	207 casos e 249 controlos	Bsml Apal Taql Fokl	(-) (-) (-) (-)
Mory et al 2009 ⁽⁴²⁾	Brasil	caso - controlo	189 casos e 194 controlos	Bsml Fokl	BB (-)

* Designação com base na presença (letra maiúscula) ou ausência (letra minúscula) do local de restrição para cada uma das enzimas Bsml, Apal, Taql e Fokl;

Risco conferido por combinação dos polimorfismos na forma de haplótipo;

(-) Ausência de associação entre a DMI e o polimorfismo estudado.

Quadro II - Estudos de associação entre os polimorfismos -1260 e +2838 do gene *CYP27B1* e a diabetes *mellitus* tipo I.

Referência	País	Tipo de estudo	Amostra	Polimorfismo estudado	Alelo ou genótipo de risco*
Pani <i>et al</i> 2002 ⁽⁴⁵⁾	Alemanha	transmissão familiar	209 famílias	<i>CYP27B1</i> +2838	(-)
Lopez <i>et al</i> 2004 ⁽⁴⁷⁾	Alemanha	transmissão familiar	187 famílias	<i>CYP27B1</i> -1260 <i>CYP27B1</i> +2838	C T#
Lopez <i>et al</i> 2004 ⁽⁴⁴⁾	Alemanha	caso-controlo	252 casos e 320 controlos	<i>CYP27B1</i> -1260 <i>CYP27B1</i> +2838	C e CC (-)
Bailey <i>et al</i> 2007 ⁽⁴⁶⁾	Grã-Bretanha, Irl. Norte, Finlândia, EUA, Noruega, Roménia	transmissão familiar	2774 famílias	<i>CYP27B1</i> -1260 <i>CYP27B1</i> +2838	C T
	Grã-Bretanha	caso-controlo	7854 casos e 8758 controlos	<i>CYP27B1</i> -1260 <i>CYP27B1</i> +2838	C T

* Designação com base no nucleótido polimórfico;

Risco conferido por combinação dos polimorfismos na forma de haplótipo;

(-) Ausência de associação entre a DMI e o polimorfismo estudado.

polimorfismos FokI, BsmI, Apal e TaqI, tal não significa que o gene VDR, como mediador da acção da vitamina D, não possa estar envolvido na patogenia da DMI, até porque já foram identificados mais de 200 SNP's nesse mesmo gene ⁽¹³⁾. Por outro lado, estudos recentes em modelos animais de DMI (ratinhos NOD, *non-obese diabetic*) demonstraram que a eliminação do receptor VDR não aumenta a susceptibilidade para a doença ⁽⁴³⁾.

POLIFORMISMO DAS ENZIMAS METABOLIZADORAS DA VITAMINA D

A *CYP27B1* (25-hidroxivitamina D3-1- α -hidroxilase) é uma enzima que cataliza a conversão da 25-(OH)D3 para a 1,25-(OH)2D3, a forma mais activa da vitamina D. Esta é uma enzima chave na determinação da taxa de produção de 1,25-(OH)2D3 ⁽⁴⁴⁾ e é expressa no rim, assim como em tecidos extra-renais como o pâncreas, as glândulas supra-renais ou mesmo em macrófagos ⁽⁴⁵⁾, o que sugere uma função parácrina e autócrina, para além do reconhecido papel endócrino. O gene *CYP27B1* está localizado no cromossoma 12q13.1-13.3 e os polimorfismos -1260C>A (rs10877012, localizado na região promotora) e +2838C>T (rs4646536, localizado no intrão 6) ⁽⁴⁶⁾ têm sido alvos da maioria das investigações. Este gene, e sobretudo o polimorfismo da sua região promotora, parece ser um gene candidato para a susceptibilidade genética da DMI (Quadro II).

Todos os estudos publicados sobre a associação entre o polimorfismo *CYP27B1* -1260C>A e a DMI demonstraram evidência de tal associação ^(44,46,47). Segundo estes, o alelo "C" ^(44,46,47), assim como o genótipo "CC" conferem uma maior susceptibilidade para a doença ⁽⁴⁴⁾. O haplótipo "CT" (-1260/+2838) também foi referenciado, conferindo também uma maior susceptibilidade ⁽⁴⁷⁾. Não foi encontrada evidência de associação entre o polimorfismo *CYP27B1* +2838C>T e a DMI em vários estudos realizados ^(44,45,47). No entanto, num estudo recente, Bailey *et al* ⁽⁴⁶⁾ encontraram pela primeira vez esta associação, num estudo que envolveu pacientes de vários países da Europa. O alelo "T" foi associado a um maior risco de desenvolvimento de DMI.

A *CYP24A1* (25-hidroxivitamina D-24-hidroxilase), é a enzima responsável pelo primeiro passo de um conjunto de

reações que levam à desactivação da 1,25-(OH)2D3. O gene *CYP24A1* está localizado no cromossoma 20q13.2-q13.3. Um total de 16 SNP's deste gene foram investigados por Bailey *et al*, não tendo sido encontrada qualquer associação com a DMI ⁽⁴⁶⁾.

A *CYP2R1* (vitamina D 25-hidroxilase) é a enzima responsável por catalizar a formação de 25-(OH)D no fígado e o seu gene está localizado no cromossoma 11p15.2. Ramos-Lopez *et al* ⁽⁴⁸⁾, conduziram uma investigação sobre dois polimorfismos deste gene, rs12794714 e rs10741657, respectivamente. Apenas este último demonstrou uma associação com a DMI. Segundo os autores, o alelo "G" foi encontrado com maior frequência nos pacientes diabéticos, sendo que os genótipos "GG" e "GA" estavam associados a níveis plasmáticos menores de 25-(OH)D3.

Num outro estudo, foram investigados os níveis plasmáticos de 25-(OH)D3 e de 1,25-(OH)2D3, assim como a expressão de RNAm (ácido ribonucleico mensageiro) dos genes *CYP2R1*, *CYP27B1* e *CYP24* em indivíduos diabéticos ⁽⁴⁹⁾. Os resultados foram também analisados em função do polimorfismo *CYP27B1* -1260C>A. De acordo com os resultados, foi encontrada uma redução dos níveis plasmáticos de 25-(OH)D3 e de 1,25-(OH)2D3, assim como da expressão de RNAm do gene *CYP27B1*, nos indivíduos diabéticos quando comparados com o grupo controlo. Nestes indivíduos, o genótipo "CC" do polimorfismo *CYP27B1* -1260C>A estava associado a menores quantidades de RNAm do gene *CYP27B1*, em comparação com os controlos ⁽⁴⁹⁾.

Assim, o gene *CYP27B1*, sobretudo o alelo "C" ou genótipo "CC" do seu polimorfismo -1260C>A, poderá contribuir para a patogénese da DMI através da modulação do seu RNAm ⁽⁴⁹⁾. A presença deste polimorfismo na região promotora do gene que codifica esta enzima chave na activação da vitamina D, pode afectar a expressão desta e consequentemente afectar negativamente a quantidade local de 1,25-(OH)2D3, aumentando a susceptibilidade à DMI ^(46,47).

POLIFORMISMO DA PROTEÍNA DE LIGAÇÃO DA VITAMINA D

A proteína de ligação da vitamina D (DBP, *vitamin D binding protein*) é a principal transportadora da vitamina D e dos

Quadro III - Estudos de associação entre os polimorfismos *Haelll*, *Styl* e repetição (TAAA)*n* do gene *DBP* e a diabetes *mellitus* tipo I.

Referência	País	Tipo de estudo	Amostra	Polimorfismo estudado	Alelo ou genótipo de risco*
Pani <i>et al</i> 1999 ⁽⁵³⁾	Alemanha	transmissão familiar	152 famílias	<i>Haelll</i> <i>Styl</i> Repetição (TAAA) <i>n</i>	(-) (-) (-)
Klupa <i>et al</i> 1999 ⁽⁵²⁾	EUA	caso-controlo	181 casos e 163 controlos	<i>Styl</i> <i>Haelll</i>	(-) (-)
Ongagna <i>et al</i> 2001 ⁽⁵⁰⁾	França	caso-controlo	43 casos e 52 controlos	<i>Styl</i> <i>Haelll</i>	(-) Glu e Glu/Glu
Ongagna <i>et al</i> 2005 ⁽⁵¹⁾	França	caso-controlo	110 casos e 68 controlos	<i>Styl</i> <i>Haelll</i>	(-) Glu e Glu/Glu

* Designação com base no aminoácido polimórfico;

(-) Ausência de associação entre a DMI e o polimorfismo estudado.

seus metabolitos no plasma⁽⁵⁰⁾, sendo fundamental para a sua endocitose celular. Os níveis plasmáticos de 1,25-(OH)2D3 estão relacionados com os níveis de DBP. Sabe-se que esta é uma proteína altamente polimórfica, com mais de 120 variações genéticas identificadas, sendo codificada por um gene localizado no cromossoma 4q12-q13⁽⁵¹⁾. O gene *DBP* contém três polimorfismos que têm sido alvos da maioria dos estudos: o polimorfismo (TAAA)*n* (sequência repetitiva localizada no intrão 8)⁽⁵¹⁾; o polimorfismo *Haelll* (rs7041), localizado no exão 11 e que condiciona a substituição de um aminoácido aspartato pelo glutamato; e o polimorfismo *Styl* (rs4588), localizado no exão 11 e que condiciona a substituição de um aminoácido treonina pela lisina⁽⁵²⁾. Estas variantes no gene *DBP* podem ser responsáveis por diferenças na afinidade pela 1,25-(OH)2D3⁽⁵¹⁾.

Os estudos de associação para este gene estão representados no Quadro III. Foi encontrada evidência de associação entre o polimorfismo *Haelll* do gene *DBP* e a DMI, por Ongagna *et al*⁽⁵⁰⁾. De acordo com os resultados, 64% dos pacientes diabéticos possuía o alelo “Glu”, contra apenas 25% nos controlos. A mesma associação foi verificada num estudo posterior, onde o alelo “Glu” assim como o genótipo “Glu/Glu” estavam significativamente aumentados em pacientes diabéticos. Além disso, foi também identificada uma relação directa entre este alelo e um marcador de autoimunidade, o auto-anticorpo IA2⁽⁵¹⁾. Em contraste, outras investigações não encontraram qualquer associação entre os polimorfismos (TAAA)*n*⁽⁵³⁾, *Haelll*^(52,53) ou *Styl*⁽⁵¹⁻⁵³⁾ do gene *DBP* e uma maior susceptibilidade para o desenvolvimento de DMI.

Dado que a DBP é a principal transportadora da vitamina D e é fundamental para a sua endocitose, é possível que os polimorfismos da DBP possam conferir diferenças na biodisponibilidade da vitamina D e contribuir para a susceptibilidade para a DMI⁽⁵¹⁾.

EFEITO IMUNOMODELADOR DA VITAMINA D – MECANISMO DE ACÇÃO

A detecção de receptores da vitamina D em praticamente todas as células do sistema imunitário e em especial nas células apresentadoras de antígenos (macrófagos, células dendríticas e linfócitos B), assim como em células T CD4+ e

CD8+, levou à investigação do potencial papel da vitamina D como agente imunomodulador, particularmente na prevenção de doenças auto-imunes, tanto em humanos como em modelos animais de autoimunidade^(54,55). Para além deste facto, as células do sistema imunitário e em particular os macrófagos activados e as células dendríticas são capazes de sintetizar e secretar vitamina D3, pois possuem a enzima 1 α -hidroxilase⁽⁵⁵⁾. No entanto, apesar desta enzima ser idêntica à forma renal, a sua regulação parece estar sob um controlo diferente, mediada por sinais imunes como o IFN- γ ⁽⁵⁴⁾ e não pela PTH⁽⁵⁶⁾.

Alguns estudos em animais, sobre o efeito da vitamina D no sistema imunitário e inflamatório, sugerem que esta pode modular a patogénese da DMI^(2,6). As suas acções imunomoduladoras e anti-inflamatórias poderão reduzir a reacção inflamatória nos ilhéus pancreáticos e diminuir a insulinite característica da DMI⁽⁵⁶⁾.

O efeito imunomodulador mais estudado da vitamina D recai sobre uma célula apresentadora de antígenos, a célula dendrítica⁽⁵⁷⁾. A 1,25-(OH)2D3 tem a capacidade de inibir a produção de interleucina-12 (IL-12), uma citocina secretada por estas células, crítica para o desenvolvimento de células Th1; assim como a capacidade de inibir a maturação e diferenciação de células dendríticas, cruciais na indução da resposta imune mediada por células T. Também foi demonstrado que o tratamento com 1,25-(OH)2D3 suprime a expressão das moléculas co-estimuladoras CD40, CD80 e CD82, assim como do complexo *major* de histocompatibilidade (MHC) classe II à superfície; diminui a produção de IL-12 e aumenta a produção de IL-10^(54,57,58). Todos estes efeitos contribuem para a indução de células dendríticas com propriedades tolerogénicas⁽⁵⁸⁾. Uma vez que as células dendríticas formam a ligação entre a resposta imunitária inata e adaptativa, o efeito da 1,25-(OH)2D3 nas células dendríticas possui inevitavelmente um extenso impacto no comportamento das células T. É sobretudo através desta via indirecta que a vitamina D modula a função das células T CD4+⁽⁵⁷⁾.

A vitamina D também possui efeitos directos sobre as células T e B. Os agonistas do VDR inibem selectivamente o desenvolvimento de células Th1, assim como de citocinas secretadas por estas, nomeadamente a IL2 e IFN- γ ^(54,58). Estas citocinas são conhecidas por activar macrófagos e células T citotóxicas, responsáveis pela destruição dos ilhéus pan-

creáticos observada na DM1⁽⁵⁶⁾. Também foi demonstrada a sua capacidade de estimular o desenvolvimento de células Th2 através de um efeito directo em células naive CD4+^(54,58). A 1,25-(OH)2D3 possui um forte efeito directo na resposta mediada por linfócitos B, incluindo a indução de apoptose e a inibição de proliferação, geração de células B de memória, diferenciação em plasmócitos e produção de imunoglobulinas, uma vez que estas células também possuem o VDR e a capacidade para sintetizar vitamina D⁽⁵⁸⁾.

O tratamento com agonistas do VDR inibe a produção de IL-17 pelas células T, uma citocina pró-inflamatória que é produzida por células T patogénicas em vários modelos de autoimunidade para órgãos específicos⁽⁵⁸⁾.

Assim, pode-se concluir que os efeitos da vitamina D no sistema imunitário são múltiplos, mas todos levam à geração de tolerância e anergia, em vez de activação imunitária⁽⁵⁵⁾.

CONCLUSÃO

A diabetes *mellitus* tipo I é uma doença multifactorial, para a qual contribuem factores ambientais e factores de predisposição genética. A autoimunidade é um mecanismo importante na fisiopatologia desta doença e estão identificados alguns genes envolvidos na resposta imunológica, que modificam a susceptibilidade para este tipo de diabetes.

Vários estudos epidemiológicos e experimentais sugerem que a vitamina D poderá ter um efeito protector contra o desenvolvimento da DM1, através da sua acção imunomoduladora. A melhor compreensão do efeito da vitamina D sobre a autoimunidade poderá ajudar na definição de novas estratégias preventivas. No entanto, o efeito final da vitamina D depende de vários intervenientes no metabolismo e acção da vitamina D. A variabilidade inter-individual destes intervenientes, mediada por polimorfismos genéticos, poderá condicionar diferenças na biodisponibilidade da vitamina D e influenciar a susceptibilidade para esta e para outras doenças auto-imunes.

Até ao momento, já foram descritas associações entre o risco de DM1 e polimorfismos dos genes que codificam o receptor da vitamina D, a proteína de ligação da vitamina D e as enzimas 25-hidroxivitamina D3-1- α -hidroxilase e vitamina D-25-hidroxilase. Porém, os resultados dos estudos de associação diferem em função da população e região geográfica estudada, o que poderá traduzir a influência de diferentes características genéticas populacionais e diferentes exposições ambientais.

Os resultados da investigação nesta área poderão contribuir para uma melhor compreensão do papel da vitamina D na etiopatogenia da DM1, para a identificação dos factores de susceptibilidade genética para a DM1 e para a definição de novas estratégias terapêuticas ou preventivas, com base no conhecimento dos genótipos de risco.

BIBLIOGRAFIA

1. Gillespie KM. Type I diabetes: pathogenesis and prevention. *CMAJ*. 2006; 175: 165-70.

2. Zella JB, McCary LC, DeLuca HF. Oral administration of 1,25-dihydroxyvitamin D3 completely protects NOD mice from insulin-dependent diabetes mellitus. *Arch Biochem Biophys*. 2003; 417: 77-80.
3. Giulietti A, Gysemans C, Stoffels K, Van Etten E, Decallonne B, Overbergh L, et al. Vitamin D deficiency in early life accelerates type I diabetes in non-obese diabetic mice. *Diabetologia*. 2004; 47: 451-62.
4. Littorin B, Blom P, Scholin A, Arnqvist HJ, Blohmé G, Bolinder J, et al. Lower levels of plasma 25-hydroxyvitamin D among young adults at diagnosis of autoimmune type I diabetes compared with control subjects: Results from the nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS). *Diabetologia*. 2006; 49: 2847-52.
5. Pozzilli P, Manfrini S, Crino A, Picardi A, Leomanni C, Cherubini V, et al. Low levels of 25-hydroxyvitamin D3 e 1,25 dihydroxyvitamin D3 in patients with newly diagnosed type I diabetes. *Horm Metab Res*. 2005; 37: 680-3.
6. Gregori S, Giarratana N, Smiroldo S, Uskokovic M, Adorini L. A 1,25-dihydroxyvitamin D3 analog enhances regulatory T-cells and arrests autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes*. 2002; 51: 1367-74.
7. Mathieu C, Waer M, Laureys J, Rutgeerts O, Bouillon R. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D3. *Diabetologia*. 1994; 37: 552-8.
8. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. Vitamin D supplement in early childhood and risk for type I diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1999; 42: 51-4.
9. Brekke HK, Ludvigsson J. Vitamin D supplementation and diabetes-related autoimmunity in the ABIS study. *Pediatr Diabetes*. 2007; 8: 11-4.
10. Zipitis CS, Akobeng AK. Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type I diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child*. 2008; 93: 512-7.
11. Zipris D. Epidemiology of type I diabetes and what animal models teach us about the role of viruses in disease mechanisms. *Clin Immunol*. 2009; 131: 11-23.
12. Adegate E, Schattner S, Dunn E. An Update on the Etiology and Epidemiology of Diabetes Mellitus. *Ann N Y Acad Sci*. 2006; 1084: 1-29.
13. Guo SW, Magnuson VL, Schiller JJ, Wang X, Wu Y, Ghosh S. Meta-analysis of vitamin D receptor polymorphisms and type I diabetes: a HuGE review of genetic association studies. *Am J Epidemiol*. 2006; 164: 711-24.
14. Cantorna MT, Mahon BD. Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. *Exp Biol Med*. 2004; 229: 1136-42.
15. Lemos MC, Fagulha A, Coutinho E, Gomes L, Bastos M, Barros L, et al. Lack of association of vitamin D receptor gene polymorphisms with susceptibility to type I diabetes mellitus in the Portuguese population. *Hum Immunol*. 2008; 69: 134-8.
16. McDermott MF, Ramachandran A, Ogunkolade BW, Aganna E, Curtis D, Boucher BJ, et al. Allelic variation in the vitamin D receptor influences susceptibility to IDDM in Indian Asians. *Diabetologia*. 1997; 40: 971-5.
17. Hauache OM, Lazaretti-Castro M, Andreoni S, Gimeno SG, Brandão C, Ramalho AC, et al. Vitamin D receptor gene polymorphism: correlation with bone mineral density in a Brazilian population with insulin dependent diabetes mellitus. *Osteoporos Int*. 1998; 8: 204-10.
18. Chang TJ, Lei HH, Yeh JI, Chiu KC, Lee KC, Chen MC, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms influence susceptibility

- ty to type I diabetes mellitus in the Taiwanese population. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000; 52: 575–80.
19. Pani MA, Knapp M, Donner H, Braun J, Baur MP, Usadel KH, et al. Vitamin D receptor allele combinations influence genetic susceptibility to type I diabetes in Germans. *Diabetes*. 2000; 49: 504–7.
 20. Ban Y, Taniyama M, Yanagawa T, Yamada S, Maruyama T, Kasuga A, et al. Vitamin D receptor initiation codon polymorphism influences genetic susceptibility to type I diabetes mellitus in the Japanese population. *BMC Med Genet*. 2001; 2: 7.
 21. Guja C, Marshall S, Welsh K, Merriman M, Smith A, Todd JA, et al. The study of CTLA-4 and vitamin D receptor polymorphisms in the Romanian type I diabetes population. *J Cell Mol Med*. 2002; 6: 75–81.
 22. Koeleman BP, Valdigem G, Eerligh P, Giphart MJ, Roep BO. Seasonality of birth in patients with type I diabetes. *Lancet*. 2002; 359: 1246–7.
 23. Yokota I, Satomura S, Kitamura S, Taki Y, Naito E, Ito M, et al. Association between vitamin D receptor genotype and age of onset in juvenile Japanese patients with type I diabetes. *Diabetes Care*. 2002; 25: 1244.
 24. Fassbender WJ, Goertz B, Weismuller K, Steinhauer B, Stracke H, Auch D, et al. VDR gene polymorphisms are overrepresented in German patients with type I diabetes compared to healthy controls without effect on biochemical parameters of bone metabolism. *Horm Metab Res*. 2002; 34: 330–7.
 25. Gyorffy B, Vasarhelyi B, Krikovszky D, Madácsy L, Tordai A, Tulassay T, et al. Gender specific association of vitamin D receptor polymorphism combinations with type I diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*. 2002; 147: 803–8.
 26. Turpeinen H, Hermann R, Vaara S, Laine AP, Simell O, Knip M, et al. Vitamin D receptor polymorphisms: no association with type I diabetes in the Finnish population. *Eur J Endocrinol*. 2003; 149: 591–6.
 27. Motohashi Y, Yamada S, Yanagawa T, Maruyama T, Suzuki R, Niino M, et al. Vitamin D receptor gene polymorphism affects onset pattern of type I diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 3137–40.
 28. Skrabac V, Zemunik T, Situm M, Terzic J. Vitamin D receptor polymorphism and susceptibility to type I diabetes in the Dalmatian population. *Diabetes Res Clin Pract*. 2003; 59: 31–5.
 29. Nejentsev S, Cooper JD, Godfrey L, Howson JM, Rance H, Nutland S, et al. Analysis of the vitamin D receptor gene sequence variants in type I diabetes. *Diabetes*. 2004; 53: 2709–12.
 30. Angel B, Santos JL, Carrasco E, Albala C, Pérez-Bravo F. Vitamin D receptor polymorphism and susceptibility to type I diabetes in Chilean subjects: a case-parent study. *Eur J Epidemiol*. 2004; 19: 1085–7.
 31. Audi L, Marti G, Esteban C, Oyarzabal M, Chueca M, Gussinyé M, et al. VDR gene polymorphism at exon 2 start codon (Fok I) may have influenced type I diabetes mellitus susceptibility in two Spanish populations. *Diabet Med*. 2004; 21: 393–4.
 32. Bianco MG, Minicucci L, Calevo MG, Lorini R. Vitamin D receptor polymorphisms: are they really associated with type I diabetes? *Eur J Endocrinol*. 2004; 151: 641–2.
 33. Zemunik T, Skrabac V, Boraska V, Diklic D, Terzic IM, Capkun V, et al. Fok I polymorphism, vitamin D receptor, and interleukin-1 receptor haplotypes are associated with type I diabetes in the Dalmatian population. *J Mol Diagn*. 2005; 7: 600–4.
 34. San-Pedro JI, Bilbao JR, Perez de Nanclares G, Vitoria JC, Martul P, Castaño L. Heterogeneity of vitamin D receptor gene association with celiac disease and type I diabetes mellitus. *Autoimmunity*. 2005; 38: 439–44.
 35. Capoluongo E, Pitocco D, Concolino P, Santonocito C, Di Stasio E, d'Onofrio G, et al. Slight association between type I diabetes and "ff" VDR FokI genotype in patients from the Italian Lazio Region. Lack of association with diabetes complications. *Clin Biochem*. 2006; 39: 888–92.
 36. Xiao XH, Liu ZL, Wang H, Sun Q, Li WH, Yang GH, et al. Effects of vitamin D receptor gene polymorphisms on susceptibility to type I diabetes mellitus. *Chin Med Sci J*. 2006; 21: 95–8.
 37. Garcia D, Angel B, Carrasco E, Albala C, Santos JL, Pérez-Bravo F. VDR polymorphisms influence the immune response in type I diabetic children from Santiago, Chile. *Diabetes Res Clin Pract*. 2007; 77: 134–40.
 38. Mimbacas A, Trujillo J, Javiel G, Cardoso H. Prevalence of vitamin D receptor gene polymorphisms in a Uruguayan population and its relation to type I diabetes. *Genet Mol Res*. 2007; 6: 534–42.
 39. Boraska V, Skrabac V, Zeggini E, Groves CJ, Buljubasic M, Peruzovic M, et al. Family-based analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms and type I diabetes in the population of South Croatia. *J Hum Genet*. 2008; 53: 210–4.
 40. Shimada A, Kanazawa Y, Motohashi Y, Yamada S, Maruyama T, Ikegami H, et al. Evidence for association between vitamin D receptor BsmI polymorphism and type I diabetes in Japanese. *J Autoimmun*. 2008; 30: 207–11.
 41. López T, García D, Angel B, Carrasco E, Codner E, Ugarte F, et al. Association between Fok I vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism and plasmatic concentrations of transforming growth factor-beta1 and interferon gamma in type I diabetes mellitus. *Med Clin (Barc)*. 2008; 130: 81–4.
 42. Mory D, Rocco E, Miranda W, Kasamatsu T, Crispim F, Dib SA. Prevalence of vitamin D receptor gene polymorphisms FokI and BsmI in Brazilian individuals with type I diabetes and their relation to β -cell autoimmunity and to remaining β -cell function. *Hum Immunol*. 2009; 70: 447–51.
 43. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer H, et al. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor-null mice. *Endocrine Rev*. 2008; 29: 726–76.
 44. Lopez ER, Zwermann O, Segni M, Meyer G, Reincke M, Seissler J, et al. A promoter polymorphism of the CYP27B1 gene is associated with Addison's disease, Hashimoto's thyroiditis, Graves' disease and type I diabetes mellitus in Germans. *Eur J Endocrinol*. 2004; 151: 193–7.
 45. Pani MA, Regulla K, Segni M, Krause M, Hofmann S, Hufner M, et al. Vitamin D 1 α -hydroxylase (CYP1 α) polymorphism in Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis and type I diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*. 2002; 146: 777–81.
 46. Bailey R, Cooper J, Zeitels L, Smyth D, Yang JH, Walker NM, et al. Association of the vitamin D metabolism gene CYP27B1 with type I diabetes. *Diabetes*. 2007; 56: 2616–21.
 47. Lopez ER, Regulla K, Pani MA, Krause M, Usadel KH, Badenhop K. CYP27B1 polymorphisms variants are associated with type I diabetes mellitus in Germans. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2004; 90: 155–7.
 48. Ramos-Lopez E, Brück P, Jansen T, Herwig J, Badenhop K. CYP2R1 (vitamin D 25-hydroxylase) gene is associated with susceptibility to type I diabetes and vitamin D levels in Germans. *Diabetes Metab Res Rev*. 2007; 23: 631–6.
 49. Ramos-Lopez E, Brück P, Jansen T, Pfeilschifter JM, Radeke HH, Badenhop K. CYP2R1-, CYP27B1- and CYP24-mRNA expression in German type I diabetes patients. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007; 103: 807–10.
 50. Ongagna JC, Kaltenbacher MC, Sapin R, Pinget M, Belcourt A.

- The HLA-DQB alleles and amino acid variants of the vitamin D binding protein in diabetic patients in Alsace. *Clin Biochem.* 2001; 34: 59-63.
51. Ongagna JC, Pinget M, Belcourt A. Vitamin D-binding protein gene polymorphism association with IA-2 autoantibodies in type I diabetes. *Clin Biochem.* 2005; 38: 415-9.
52. Klupa T, Malecki M, Hanna L, Sieradzka J, Frey J, Warram JH, et al. Amino acid variants of the vitamin D-binding protein and risk of diabetes in white Americans of European origin. *Eur J Endocrinol.* 1999; 141: 490-3.
53. Pani MA, Donner H, Herwig J, Usadel KH, Badenhoop K. Vitamin D binding protein alleles and susceptibility for type I diabetes in Germans. *Autoimmunity.* 1999; 31: 67-72.
54. Mathieu C, Adorini L. The coming of age of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) analogs as immunomodulatory agents. *Trends Mol Med.* 2002; 8: 174-9.
55. Mathieu C, Badenhoop K. Vitamin D and type I diabetes mellitus: state of the art. *Trends Endocrinol Metab.* 2005; 16: 261-6.
56. Danescu LG, Levy S, Levy J. Vitamin D and diabetes mellitus. *Endocrine.* 2009; 35: 11-7.
57. Baeke F, van Etten E, Gysemans C, Overbergh L, Mathieu C. Vitamin D signaling in immune-mediated disorders: Evolving insights and therapeutic opportunities. *Mol Aspects Med.* 2008; 29: 376-87.
58. Adorini L, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2008; 4: 404-12.

