

Neuroproteção mediada pela vitamina D

Neuroprotection mediated by vitamin D

Rosane de Souza Santos***

Lucia Marques Vianna***

Resumo

O objetivo do presente estudo foi apresentar os principais tópicos discutidos na literatura quanto à ação da vitamina D sobre o acidente vascular encefálico. São revisados aspectos referentes ao comportamento dessa vitamina sobre os fatores determinantes do acidente vascular encefálico, pois muitas evidências sugerem um efeito neuroprotetor devido à presença de receptores para vitamina D em múltiplas regiões do cérebro. Os resultados da literatura dos últimos 10 anos foram tabelados com as características de cada trabalho. A 1,25 di-hidroxitamina D3 foi escolhida como forma de suplementação dos ensaios analisados. Nenhum estudo em humanos procurou avaliar sua atuação na prevenção da isquemia cerebral, bem como não foi relatado qualquer trabalho envolvendo o modelo experimental de acidente vascular encefálico espontâneo. Apesar dos resultados apontarem para um papel neuroprotetor da vitamina D, os achados ainda são muito incipientes e discordantes quanto aos mecanismos de ação que estariam envolvidos nesse evento. Portanto, verifica-se a importância do desenvolvimento de novas investigações sobre a vitamina D como agente terapêutico nessa patologia.

Unitermos: acidente vascular encefálico; vitamina D; neuroproteção.

Abstract

The aim of the present study was to show the most important topics discussed in the literature about the action of vitamin D and stroke. Aspects related to this vitamin on stroke factors are reviewed, as many evidences suggest a neuroprotector effect due to the presence of vitamin D receptors in several areas of the brain. The results of the literature in the last 10 years were listed in a table with the characteristics of each article. 1,25 dihydroxyvitamin D3 was chosen as the form of supplementation of analyzed works. No study in humans investigated its action on cerebral ischemic prevention and no work that had involved the experimental model of spontaneous stroke was reported. In spite of the results showing a neuroprotector role of vitamin D, the findings are still very slight and in disagreement with mechanisms involved in this event. Therefore, the necessity is observed to develop new researches on vitamin D as a therapeutic agent of this pathology.

Keywords: stroke; vitamin D; neuroprotection.

* Laboratório de Investigação em Nutrição e Doenças Crônico-Degenerativas, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

* Programa de pós-graduação stricto-sensu – Mestrado em Neurologia, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

Endereço para correspondência:

Prof.^a Dr.^a Lucia Marques Vianna, UNIRIO, Rua Xavier Sigaud, 290 - Térreo, Urca, 22290-180 – Rio de Janeiro RJ, Tel: (21) 2542-4779, E-mail: lindcd@ig.com.br

Introdução

O acidente vascular encefálico (AVE) afeta mais pessoas do que qualquer outra doença neurológica, com aproximadamente 500 mil novos casos por ano¹⁵, sendo atualmente considerado a causa mais freqüente de morte em homens e mulheres acima de 69 anos no Brasil⁴ e responsável por mais óbitos que a doença coronariana nos últimos 40 anos¹⁴.

O risco de recorrência de AVE situa-se entre 15% e 30% em cinco anos e um novo episódio de doença cerebrovascular geralmente tem maior gravidade para o paciente, o que acarreta em significativo ônus para o sistema de saúde, uma vez que as complicações após o AVE (incapacidade motora e cognitiva) representam importantes implicações sócio-econômicas¹⁷. A Organização Mundial da Saúde define como acidente vascular encefálico, o rápido desenvolvimento de sinais/sintomas focais e às vezes globais da perda de função cerebral, com sintomas durando mais de 24 horas ou liderando morte sem causa aparente, a não ser aquela de origem vascular, mas essa definição exclui o ataque isquêmico transitório, que é definido como sintomas neurológicos focais que duram menos de 24 horas²⁸.

O AVE é uma doença multifatorial, na qual muitos determinantes têm sido descritos. Esses determinantes ou fatores de risco podem ser divididos em fatores modificáveis e não modificáveis. Idade e sexo são exemplos de dois fatores bem conhecidos para o AVE, porém não modificáveis, em contraste, a redução da exposição por fatores modificáveis, tais como, fumo, atividade física e dieta, podem liderar menor ocorrência de AVE na população. Brown³ considera que o risco aumentado para o desenvolvimento do AVE está relacionado com a síndrome metabólica, compreendendo obesidade abdominal, níveis de triacilglicerol aumentados, baixo nível de HDL, hipertensão arterial e metabolismo alterado da glicose.

Dessa forma, uma série de manobras que visam a modulação dos fatores determinantes do AVE têm sido propostas, incluindo aquelas que utilizam vitaminas, como o uso da vitamina D em doses farmacológicas. As ações genômicas e não genômicas da vitamina D combinadas produzem uma multiplicidade de respostas em várias células alvo². Esta vitamina regula não somente a homeostase do cálcio, mas também, respostas imunes, reprodução, desenvolvimento das glândulas mamárias e crescimento de cabelo¹². A 1,25 di-hidroxivitamina D3 (1,25-(OH)2D3) constitui o seu

maior metabólito ativo e suas ações são mediadas por receptores de vitamina D (VDR), cuja presença foi originalmente encontrada em órgãos alvos clássicos da ação dessa vitamina, como aqueles envolvidos na homeostase mineral, entretanto, a detecção desses receptores em uma gama de órgãos não clássicos da ação de vitamina D tem apontado para uma série de ações biológicas desse vitâmero, incluindo imunomodulação, controle de outros sistemas hormonais, indução de diferenciação celular e inibição de fatores de crescimento².

No que tange ao uso da vitamina D no AVE, este parece estar em suas ações fisiológicas. Os mecanismos de ação ainda não são totalmente esclarecidos, mas a vitamina D, por atuar como um regulador negativo da expressão de renina *in vivo*, exerceria um papel importante na regulação da hipertensão arterial, que constitui o principal fator de risco para o AVE¹¹. Além disso, evidências sugerem uma atividade neuroprotetora da 1, 25-(OH)2D3 tanto em culturas celulares, como *in vivo*, em modelos animais para o AVE^{1,13,27}.

A identificação de receptores VDR em múltiplas regiões do cérebro, também tem indicado que a vitamina D pode regular processos mediados por cálcio no cérebro, com isso, esse metabólito seria importante na modulação da morte neuronal, em que a homeostase de cálcio é reconhecida por atuar como um fator importante¹. Assim, o objetivo desse trabalho foi apresentar os principais aspectos que focalizam a ação da vitamina D em evento isquêmico cerebral.

Metodologia

Para realização deste trabalho foi feita uma revisão sistemática da literatura por meio da pesquisa em base de dados *PubMed*, *MedLine*, *LILACS* e *Cochrane* nos últimos 10 anos, utilizando como palavras-chave: *stroke*, *cholecalciferol*, *cerebrovascular disease*, tendo como amostragem ensaios randomizados, de revisão sobre o tema, clínicos, experimentais, estudos longitudinais ou transversais na língua portuguesa ou inglesa. Aos ensaios clínicos randomizados foi aplicada a escala de Jadad⁹ para critério de exclusão. Os resultados foram apresentados em percentual e tabulados.

Resultados

A literatura investigada constitui-se de 16 artigos, mas destes, 37,5% não atingiram a escala de Jadad⁹ na sua pontuação mínima de 03 pontos, sendo observado que nem sempre houve o procedimento de ensaio duplo-cego.

Os trabalhos que utilizaram modelos animais corresponderam a 50% do total dos ensaios, sendo que destes, apenas um (20%) investigou o efeito da vitamina D em modelos sem alterações do sistema nervoso e sem hipovitaminose D. Nas demais pesquisas experimentais, a indução de infarto cerebral por ligação da ACM foi apresentada em um único trabalho (20%), enquanto que 40% se utilizaram da fototrombose para a lesão isquêmica cerebral.

Todos os modelos experimentais utilizaram como tratamento a vitamina D sob a forma de 1,25-(OH)2D3 e a infusão intraperitoneal foi a forma de administração prevalente (80%).

Dos trabalhos em humanos, todos foram caracterizados por pacientes pós-AVE hemiplégicos e procuraram investigar o *status* de vitamina D com o risco de fratura em tais grupos. Os estudos transversais corresponderam a 60% sendo que apenas um ensaio clínico foi realizado, revelando que o tratamento com vitamina D reduzia a perda de densidade mineral óssea (DMO) no lado hemiplégico.

Discussão

Conforme sugerem os estudos analisados, a vitamina D pode desempenhar importantes ações na patogênese do AVE. Quanto ao seu mecanismo de ação, os estudos enfocam diferentes papéis da vitamina D no sistema nervoso. Losem-Heinrichs *et al*¹³ e Brewer *et al*¹¹ ressaltam que a vitamina D reduz os canais de cálcio voltagem-sensível tipo L e assim, pode modular a homeostase de cálcio que atua em vários eventos excitatórios e necróticos no sistema nervoso^{22,27}.

Losem-Heinrichs *et al*¹³ também discutem o efeito da vitamina D sobre a óxido nítrico sintetase, cuja ativação pode causar prejuízos durante o processo de isquemia-reperusão^{7,26}. Ainda sobre os efeitos deletérios do estresse oxidativo, Wang *et al*²⁷ associam a formação de óxido nítrico, o qual medeia uma variedade de funções biológicas, incluindo vasodilatação, neurotransmissão e citotoxicidade à diminuição dos fatores neurotróficos derivados da glia (GDNF) no infarto cerebral da isquemia induzida^{7,26}. Por isso, a suplementação de vitamina D teria um efeito protetor

Tabela 1 – Vitamina D e o risco de AVE.

Referência	Tipo de Estudo	Amostragem	Metodologia	Resultados	Conclusão
Oermann E <i>et al</i> , 2004 ¹⁶ .	Experimental.	Wistar adultos.	Indução de fototrombose cortical. Administração de 1,25-(OH)D3 I.P.: 4µg/kg no tempo 12h, 1, 2 e 5 dias após a lesão.	A 1,25-(OH)2D3 regula de forma transitória a imunorreatividade da heme oxigenase 1 gliar e reduz a imunorreatividade ácido-protéica fibrilária da glia em regiões remotas do córtex afetado por injúria secundária.	A 1,25-(OH)2D3 contribui para uma citoproteção local que atinge as células da glia.
Losen-Heinrichs E <i>et al</i> , 2004 ¹³ .	Experimental.	Wistar.	Indução de fototrombose. Administração de 1µg/Kg de 1,25-(OH)2D3 ou 7µg/kg de 17β-estradiol ou ambos combinados, 1 hora pós-lesão.	O tratamento com os esteróides isolados em grupos lesionados não alterou significativamente a proteína-32 choque de calor, mas o tratamento combinado de 1,25-(OH)2D3 + 17β-estradiol resultou em significativa redução da imunorreatividade da proteína-32 choque de calor da glia.	Ambos os esteróides atuam conjuntamente e possui uma atividade neuroprotetora pela redução da proteína-32 choque de calor da glia.

(continua)

(Tabela 1. continuação)

Referência	Tipo de Estudo	Amostragem	Metodologia	Resultados	Conclusão
Li YC <i>et al</i> , 2002 ¹¹ .	Experimental.	Camundongos com deficiência em vitamina D e camundongos normais.	I.P. de 1,25-(OH)2D3 a 30 pml nos animais normais.	Deficientes em vitamina D tiveram níveis de mRNA para renina e angiotensina II plasmática mais elevados. Expressão de angiotensinogênio do rim igual do controle. Pressão diastólica e sistólica mais altas (> 20 mmHg), hipertrofia cardíaca e consumo de água e urina 2x maior no grupo deficiente. Animais normais tratados com 1,25(OH)2D3 por 2 dias (2 doses de 30 pml) reduziram a expressão de renina em 35% e após 5 doses em 1 dia, redução de 50%. Expressão renal de calbindina-D9K aumentada com 1,25(OH)2D.	A vitamina D como regulador negativo do sistema renina-angiotensina e mantém o equilíbrio hidroeletrólítico e de pressão arterial.
Sato Y <i>et al</i> , 2004 ¹⁹ .	Coorte.	Pacientes pós-AVE.	Índice de metabolismo ósseo, densidade mineral e ocorrência de fraturas em pacientes pós-AVE e deficientes em 25-(OH)D3 (≤ 25 nmol/L) e pacientes com nível sérico de 26-50 nmol/L ou acima de 51 nmol/L.	45,7 por 1000 pacientes-ano tiveram fratura de quadril no grupo abaixo de 25 nmol/L, comparado com nenhuma fratura no grupo acima de 51 nmol/L. Força muscular do quadril no lado não hemiplégico, consumo de vitamina D e exposição ao sol foram significativamente menores no grupo deficiente do que no controle. A concentração de cálcio e PTH* foi significativamente maior no grupo deficiente que no grupo >51 nmol/L. DMO** em ambos os lados menor no grupo deficiente ($p < 0,0001$).	Pacientes com 25-(OH)D3 ≤ 12 nmol/L tiveram risco aumentado de fratura de quadril.
Brewer LD <i>et al</i> , 2001 ¹ .	Experimental.	Fetos de Fisher 344 e Sprague-Dawley.	Tratamento com 1,25(OH)2D3 em culturas do hipocampo e submetidas ao insulto excitatório com glutamato.	Neuroproteção contra insultos excitatórios com concentrações baixas de 1,25-(OH)2D3 (1-100nM), enquanto doses supra-fisiológicas não demonstraram tal propriedade.	Ação neuroprotetora da 1,25-(OH)2D3 em baixas concentrações pela regulação da expressão dos canais de cálcio sensível-voltagem tipo L.

(continua)

(Tabela 1. continuação)

Referência	Tipo de Estudo	Amostragem	Metodologia	Resultados	Conclusão
Wang Y <i>et al</i> , 2000 ²⁷ .	Experimental.	Machos Sprague – Dawley foram utilizados para o estudo.	Indução de infarto pela ligação da ACM***. Posteriormente tratados com 1,25-(OH)2D3 I.P. por: 4 dias, começando 3 dias antes da ligação (D3x4); por 8 dias começando 7 dias antes da ligação da ACM*** (D3x8). Análise de cálcio e GDNF**** como tratamento de 8 dias.	Não houve diferença de volume de infarto entre o controle o grupo D3x4. O pré-tratamento de 8 dias (D3x8) reduziu o volume (p=0.007) e a extensão (p=0.014) do infarto na isquemia cerebral. O uso de vitamina D por 8 dias aumentou a concentração endógena de GDNF**** no córtex cerebral (p<0.05). Os níveis de cálcio sanguíneo foram significativamente maiores (p<0.01) no grupo tratado com vitamina D3 por 8 dias do que no controle.	A 1,25-(OH)2D3 reduz a isquemia cerebral induzida e regula a concentração de GDNF**** no córtex.
Kuno H, 1998 ¹⁰ .	Epidemiológico.	Pacientes hemiplégicos após AVE privados de exposição solar.	Status de 25-(OH)D3 e 1,25-(OH)2D3. Densidade mineral por escore Z.	Níveis de 25-(OH)D3 e 1,25-(OH)2D3 significativamente menor nos pacientes sem exposição solar (p,0.001). escore Z para osteopenia menor que o controle e mais baixo ainda no lado hemiplégico. Correlação do escore Z com o nível de 25-(OH)D3.	Hipovitaminose D diminui densidade mineral no tanto no lado hemiplégico como no lado intacto.
Fujimatsu Y, 1998 ⁵ .	Epidemiológico.	Pacientes pós-AVE hemiplégicos.	escore Z da densidade mineral óssea e determinada a concentração sérica de PTH*, osteocalcina e 25-(OH)D3	escore Z foi menor no lado hemiplégico e as concentrações de PTH*, osteocalcina maiores que no controle. Nível sérico de 25-(OH)D3 reduzido nos pacientes e correlacionado negativamente com o escore Z no lado hemiplégico.	A remodelação do esqueleto está acelerada nos pacientes hemiplégicos e a deficiência de vitamina D estimula o <i>turnover</i> do esqueleto, atuando como causa da osteopenia observada.
Sato Y <i>et al</i> , 1997 ²¹ .	Clínico.	Pacientes pós-AVE hemiplégicos.	Tratamento com dose oral diária de 1,0 µg/l (1α(OH)D3) por 6 meses. Avaliados: densidade mineral óssea, índice do metacarpo e cálcio sérico.	A DMO** no lado hemiplégico foi mais reduzida no grupo placebo (p=0.0021). A diferença de DMO** entre o lado hemiplégico e o lado intacto diminuiu significativamente no grupo tratado, enquanto essa diferença aumentou no placebo. Melhora do IM***** no grupo tratado.	O tratamento reduziu o risco de fratura de quadril e pode prevenir a redução da DMO** e IM***** no lado hemiplégico pós-AVE. Também melhora esses índices no lado intacto.
Sato Y <i>et al</i> , 1996 ²⁰ .	Epidemiológico.	Pacientes pós-AVE hemiplégicos internados e com alta hospitalar.	Níveis séricos de 25-(OH)D3 e 1,25-(OH)2D3 e DMO** avaliados.	O nível sérico de 25-(OH)D3 e 1,25-(OH)2D3 foi menor em ambos os grupos do que no grupo controle.	DMO** significativamente reduzida no lado hemiplégico em pacientes pós-AVE e deficiência de vitamina D causa osteopenia.

* PTH = hormônio paratireoideano; **DMO = densidade mineral óssea; *** ACM = artéria cerebral média; ****GDNF= fator neurotrófico derivado da glia; *****IM = índice de metacarpo.

para o AVE, pois poderia levar à liberação de GDNF, uma vez que lidera a formação do complexo entre receptores VDR e TGF- β 1^{23,27}.

Considera-se que o aumento da pressão arterial exerce poderosos efeitos na circulação cerebral porque produz hipertrofia e remodelação definida como uma redução no diâmetro externo vascular, promovendo arteriosclerose. Na realidade, a hipertensão arterial altera também a habilidade das células endoteliais em liberar fatores vaso ativos e aumenta o tônus constritor de artérias sistêmicas e cerebrais⁸. A literatura também vem assinalando que a inibição da enzima conversora de angiotensina, que faz parte da modulação do sistema renina-angiotensina, contribui para a regulação cerebrovascular por inibir ações vasoconstritoras enquanto modula ações vasodilatadoras¹⁵. Nesse contexto, Li *et al*¹¹ identificaram a existência de uma relação inversa entre a concentração plasmática de 1,25-(OH)2D3 e a pressão arterial e/ou atividade plasmática de renina. Adicionalmente, ensaios recentes do nosso laboratório revelaram que administração crônica de colecalciferol é capaz de reduzir os níveis plasmáticos de aldosterona¹⁸.

Em ensaios clínicos, Sato *et al*^{19,20,21}, Kuno¹⁰ e Fujimatsu⁵ associaram o *status* de vitamina D ao maior risco de fraturas, principalmente no lado hemiplégico, sugerindo que a deficiência de vitamina D tem correlação com a sobrevida dos pacientes pós-AVE.

Não se sabe ao certo se esta deficiência de vitamina D observada nos pacientes pós-AVE é decorrente da idade avançada e incapacidade motora desse grupo ou se o *status* de vitamina D tem um papel importante na patogênese do AVE, no que concerne a uma suposta ação no desenvolvimento do quadro isquêmico e por isso, pacientes com hipovitaminose D estariam mais suscetíveis ao AVE e à osteopenia pós-AVE.

Os estudos que se beneficiaram da suplementação de vitamina D, em sua maioria utilizaram o seu metabólito mais ativo – a 1,25-(OH)2D3, entretanto, no ensaio de Brewer *et al* foi verificado que o seu uso em altas concentrações provocava efeitos deletérios em neurônios motores, por levar ao acúmulo de corrente dos canais de cálcio sensível-voltagem tipo L. Além disso, a literatura vem alertando que a 1,25-(OH)2D3 em doses supra-fisiológicas pode resultar em calcificação de tecidos moles, justificando a sua proibição como agente terapêutico^{1,6}. Portanto, sugere-se a investigação do uso terapêutico do colecalciferol, que apesar de ser menos ativo que o calcitriol, não possui a mesma intensidade de efeitos tóxicos que este último^{24,25}.

Em resumo, os resultados apresentados aqui são consistentes com a hipótese de que a vitamina D possua atividade neuroprotetora, embora divirjam quanto ao mecanismo de ação envolvido.

As observações acima foram extraídas com base em estudos que empregaram principalmente, indução de isquemia cerebral em modelos animais. Por isso, este trabalho sugere que novas pesquisas, utilizando o modelo animal espontaneamente susceptível ao AVE, bem como ensaios clínicos randomizados, sejam necessários para assim permitir a indicação da vitamina D na prevenção de eventos isquêmicos.

Agradecimentos

Apoio financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências

1. Brewer LD, Thibaut V, Chen KC, Langub MC, Landifield PW, Porter NM. Vitamin D hormone confers neuroprotection in parallel with downregulation of L-type calcium channel expression in hippocampal neurons. *Neuroscience*, 2001; 21(1): 98-108.
2. Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol* 1999; 277: F157-75.
3. Brown WV. Metabolic syndrome and risk of stroke. *Clin Cornerstone* 2004; 6(Suppl 3): S30-4.,
4. de Pádua MA, Fátima MS. Stroke and ischemic heart disease mortality trends in Brazil from 1979 to 1996. *Neuroepidemiology* 2003; 22(3): 179-83
5. Fujimatsu Y. Role of the parathyroid gland on bone mass and metabolism in immobilized patients. *Kureme Med J* 1998; 45(3): 265-70.
6. Furigay P, Swamy N. Anti-endothelial properties of 1,25-dihydroxy-3-epivitamin D3, a natural metabolite of calcitriol. *J Steroid Biochem Biol* 2004; 89-90(1): 427-31
7. Garcion E, Nafat S, Berod A, Darcy F, Bachet P. 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits the expression of inducible nitric oxide synthase in rat central nervous system during experimental allergic encephalomyelitis. *Mol Brain Res* 1997; 45: 255-67.
8. Iadecola C, Gorelick B. Hypertension, angiotensin and stroke: beyond blood pressure. *Stroke* 2004; 35: 348-50.
9. Jadad AR, Moher M, Browman GP, Booker L, Sigouin C, Fuentes M, et al. Systematic reviews and meta-analyses on treatment of asthma: critical evaluation. *BMI* 2000; 320: 537-40.
10. Kuno H. Vitamin D status and nonhemiplegic bone mass in patients following stroke. *Kurume Med J* 1998; 45(3): 257-63.
11. Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP. 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest* 2002; 110: 229-38

12. Li YC, Qiao G, Uskokovic M, Xiang W, Zheng W, Kong J. Vitamin D a negative regulator of renin-angiotensin system and blood pressure. *J Ster Biochem Mol Biol* 2004; 89-90: 387-392.
13. Losem-Heinrichs E et al. A combined treatment with 1 α ,25-dihydroxy-vitamin D3 and 17 β -estradiol reduces the expression of heat shock protein-32 (HSP-32) following cerebral cortical ischemia. *J Steroid Biochem Mol* 2004; 89-90: 371-74.
14. Lotufo PA. Mortalidade pela doença cerebrovascular no Brasil. *Rev Bras Hipertens* 2000; 7(4): 387-91.
15. Mark KS, Davis TP. Stroke: development, prevention and treatment with peptidase inhibitors. *Peptides* 2000; 21: 1965-73.
16. Oermann E, Bidmon HJ, Witte OW, Zilles K. Effects of 1 α ,25 dihydroxyvitamin D3 on the expression of HO-1 and GFAP in glial cells of the photothrombotically lesioned cerebral cortex. *J Chemic Neuroan* 2004; 28: 225-38.
17. Piedade PR, Gagliardi RJ, Damiani IT, Junior APN, Fuzaro MM, Sanvito WL. Papel da curva de agregação plaquetária no controle da antiagregação na prevenção secundária do acidente vascular cerebral isquêmico. *Arq Neuropsiquiatr* 2003; 31(3B): 764-67.
18. Santos RS, Costa VAV, Vianna LM. Cholecalciferol treatment changes urinary sodium-potassium ratio and plasma aldosterone of spontaneously hypertensive rats. *Clin Chim Acta* 2007; 376: 253-254.
19. Sato Y, Asoh T, kondo I, Satoh K. Vitamin D deficiency and risk of fractures among disabled elderly stroke patients. *Stroke* 2001; 32: 1673-77.
20. Sato Y, Maruoka H, Oizumin K, Kikuyama M. Vitamin D deficiency and osteopenia in the hemiplegic limbs of stroke patients. *Stroke* 1996; 27: 183-87.
21. Sato Y, Maruoka H, Oizumin K. Amelioration of hemiplegia-associated osteopenia more than 4 years after stroke by 1 α -hydroxyvitamin D3 and calcium supplementation. *Stroke* 1997; 28: 736-39.
22. Toescu EC. Apoptosis and cell death in neuronal cells: whwre does Ca $^{++}$ fit in? *Cell Cal* 1998; 24(5/6): 387-403.
23. Verity AN et al. Differential regulation of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) expression in human neuroblastoma and glioblastoma cell lines. *J Neurosci Res* 1999; 15(2): 187-97.
24. Vianna LM, ACR B, TB P. Effect of cholecalciferol treatment on the relaxant responses of spontaneously hypertensive rat arteries to acetylcholine. *Hypertension* 1999; 34(4): 897-901.
25. Vianna L, ACR B, TB P. Cholecalciferol treatment restores the relaxant responses of SHR arteries to bradykinin. *Pathophysiology* 2002; 3: 161-4.
26. Wang Y, Lin SZ, Chiou AL, Lawrencw RW, Hoffer BJ. Glial Cell line-derived neurotrophic factor protects against ischemia-induced injury in the cerebral cortex. *J Neurosci* 1997; 17(11): 4341-8.
27. Wang Y et al. Vitamin D3 attenuates cortical infarction by middle cerebral arterial ligation in rats. *Neuropharmacology* 2000; 39: 873-80.
28. World Health Organization. The World Health Report: 2002: Reducing risks, promoting healthy life. 2002. World Health Organization.