



**Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D NA
HOMEOSTASE GLICÊMICA, EM MULHERES DIABÉTICAS, NA
PÓS-MENOPAUSA**

Monique Resende Costa Machado

**Rio de Janeiro
Fevereiro de 2019**



Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D NA
HOMEOSTASE GLICÊMICA, EM MULHERES DIABÉTICAS, NA
PÓS-MENOPAUSA**

Monique Resende Costa Machado

Tese apresentada à Pós-graduação em Pesquisa Clínica Aplicada à Saúde da Criança e da Mulher, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Orientadora: Prof^a Dr^a Lizanka Paola Figueiredo Marinheiro

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2019

CIP - Catalogação na Publicação

Machado, Monique Resende Costa.

INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D NA HOMEOSTASE GLICÊMICA, EM MULHERES DIABÉTICAS, NA PÓS-MENOPAUSA. / Monique Resende Costa Machado. - Rio de Janeiro, 2019.

143 f.; il.

Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, Rio de Janeiro - RJ, 2019.

Orientadora: Lizanka Paola Figueiredo Marinheiro.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. Colecalciferol. 2. Diabetes mellitus. 3. Período pós-menopausal. 4. Obesidade. 5. Insulina. I. Título.

Dedicatória

*Àqueles
que são essenciais
na minha vida:
Luiz, Amilcar, Gabriela,
Aparecida, Jorge e Chrislei.*

Agradecimentos

Importante é agradecer...

À minha orientadora, Prof^a Dra. Lizanka Marinheiro, por seu acolhimento, credibilidade, incentivo e compreensão, num dos momentos mais desafiadores da minha vida... Agradeço a oportunidade do aprendizado, através do seu exemplo de perseverança e determinação. Minha admiração e respeito.

Aos Professores do Instituto Fernandes Figueira, que sempre estiveram prontos na elucidação de minhas dúvidas e transferência de seus conhecimentos. Em especial, Professores Doutores Fábio Russomano, Zilton Vasconcelos, Letícia Guida, Saint Clair Gomes Jr, Vânia Fonseca, Eloane Ramos, Maria Elisabeth Moreira, Ana Maria Magalhães.

Ao Departamento de Patologia Clínica, na pessoa do Dr. Jânio Cordeiro.

Às voluntárias e à minha equipe de trabalho, Juliana Alencar, Carolina Moura, Claudia Netto e, em especial, ao amigo fraterno Claudio Melibeu, de caráter ímpar e auxílio imensurável em diversas questões, minha eterna gratidão.

A todos os componentes do Departamento de Ginecologia à época da realização do trabalho, em especial: Ana Lucia Tiziano, Lourdes Sombra, Socorro de Maria, Márcia Luiz, Magda Soares, Nara Bogaski, Márcia e Vânia.

À Maria Auxiliadora Santos, à Cecília Mallet, Vanessa Mendes, Irene Azevedo e Monique Brandão pelo acolhimento recebido, paciência e colaboração durante esses anos.

Ao Prof. Dr. Roberto Vieira, por ter me apresentado ao IFF e dado a oportunidade de exercer minha profissão com dignidade, sempre tendo uma palavra de incentivo.

Ao meu marido Luiz Machado, presente mais do que especial em minha vida, por sempre acreditar nas minhas possibilidades e compartilhar de todos os momentos. Sem palavras...

Aos meus pais Aparecida e Jorge, e irmã Chrislei, por sempre me apoiarem e compartilharem de minhas angústias e desafios.

À minha banca composta pelos Professores Doutores Claudia Netto, Miguel Madeira, Claudio Melibeu e Zilton Vasconcelos por suas disponibilidades e acréscimos na minha formação.

Lista de Siglas e Abreviaturas

1,25(OH) ₂ D ₃	1,25-dihidroxitamina D ₃ – vitamina D ativa
24,25(OH) ₂ D ₃	24,25-dihidroxitamina D ₃ – vitamina D inativa
25(OH)D ₃	25-hidroxitamina D ₃
AGS	Área de Gordura Subcutânea
AGV	Área de Gordura Visceral
AIRg	Resposta aguda de insulina à glicose
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
CC	Circunferência de Cintura
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças Do inglês: <i>Disease Control and Prevention</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CT	Colesterol total
CYP27B1	Enzima 25 hidroxivitamina D – 1 α hidroxilase
DCV	Doença Cardiovascular
DEXA	Absorção por Raio-X de dupla energia
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FGF23	Fator de crescimento fibroblástico circulante 23
FSH	Hormônio folículo estimulante
GJ	Glicemia de jejum
GLUT-4	Transportador de glicose 4

GOD-PAP	Método colorimétrico enzimático
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HbA1c	Hemoglobina glicada
HDL-c	HDL colesterol
HOMA	Modelo de Avaliação Homeostática
HOMA- β	Capacidade secretória célula β
HOMA-IR	Resistência à ação da insulina
I	Insulina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia Estatística
IDF	Federação Internacional de Diabetes Do inglês: <i>International Diabetes Federation</i>
IFF/Fiocruz	Instituto Fernandes Figueira
IKK- β	Via I κ B quinase- β
IL-1, IL-2, IL-6, IL-10	Interleucinas
IMC	Índice de Massa Corporal
INF- γ	Interferon gama
IOF	Fundação Internacional de Osteoporose Do inglês: <i>International Osteoporosis Foundantion</i>
IOM	Instituto de Medicina Do inglês: <i>Institute of Medicine</i>
JMJD1A JMJD3	e Proteínas contendo o domínio Jumonji 1A e 3
JNK1	Via Jun N-terminal quinase
LC-MS/MS	Espectrometria de massa em tandem
LSD1 e LSD2	Demetilase lisina específica
mRNA	Mensageiro do ácido ribonucleico

NF- κ B	Fator nuclear κ B
NHANES	Pesquisa Nacional de Exame de Saúde e Nutrição Do inglês: <i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PCR	Proteína C Reativa
PPAR δ	Receptor delta ativado por proliferador de peroxissoma
PPARc	Receptor c ativado por proliferador de peroxissoma
PTH	Paratormônio
PTH/PTHrP	Receptor do paratormônio e da proteína relacionada ao PTH
RCQ	Relação Cintura Quadril
ReBEC	Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos
RI	Resistência Insulínica
RNM	Ressonância Nuclear Magnética
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RVD	Receptor da vitamina D
RVDE	Elemento responsivo da vitamina
RXR	Receptor do ácido retinoico
SBEM	Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
SBPC/ML	Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
SM	Síndrome Metabólica
SRAA	Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
SRI	Substrato receptor de insulina
SUS	Sistema Único de Saúde

TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triglicerídeos
TNF- β	Fator de necrose tumoral beta
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TOTG	Teste Oral de Tolerância à Glicose
UCP1, UCP2	Proteínas desacopladoras tipo 1 e tipo 2
UVB	Raios ultravioletas
VD	Vitamina D
WHI	Iniciativa de Saúde das Mulheres Do inglês: <i>Women's Health Initiative</i>
WHI-CaD	Iniciativa de Saúde das Mulheres Cálcio – Vitamina D Do inglês: <i>Women's Health Initiative Calcium-Vitamin D</i>

Resumo e Palavras-Chave

Introdução: Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e a menopausa estão associados com os níveis de 25-hidroxivitamina D3 [25(OH)D3]. O efeito da suplementação de colecalciferol sobre a glicemia ou incidência de DM2 possui resultados discordantes nos principais estudos. **Objetivo:** Relacionar a suplementação de colecalciferol em mulheres diabéticas, na pós-menopausa, com a homeostase glicêmica, num período de 2 anos. **Método:** Quarenta mulheres, entre $63,84 \pm 7,56$ anos, receberam colecalciferol 1000 UI/dia por 12 meses e 2000 UI/dia por outros 12 meses. Os desfechos primários foram 25(OH)D3, glicemia de jejum (GJ), hemoglobina glicada (HbA1c), insulina de jejum (I), mensuração da resistência à ação da insulina (HOMA-IR), capacidade secretória da célula β (HOMA- β), colesterol total (CT), HDL colesterol (HDL-c), triglicerídeos (TG), proteína-C reativa (PCR). Os desfechos secundários foram: pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), circunferência de cintura (CC), relação cintura-quadril (RCQ), área de gordura visceral (AGV), índice de massa corporal (IMC). **Resultados:** As variáveis que mostraram significância nas comparações das medidas repetidas foram: a 25(OH)D3 [P0 ($27,99 \pm 9,23$) vs P12 ($38,35 \pm 9,67$), $p = 0,0001$; P0 ($27,99 \pm 9,23$) vs P24 ($42,78 \pm 9,17$), $p = 0,0001$]; HDL-c [P0 ($46,61 \pm 8,97$) vs P24 ($58,97 \pm 10,98$), $p = 0,001$; P12 ($49,94 \pm 10,82$) vs P24 ($58,97 \pm 10,98$), $p = 0,02$] e PAD [P0 ($83,24 \pm 14,51$) vs. P6 ($77,94 \pm 10,38$) vs. P12 ($77,42 \pm 9,99$) vs. P18 ($78,39 \pm 6,38$) vs. P24 ($75,81 \pm 6,72$) valor de $p = 0,044$]. Nas comparações múltiplas: 25(OH)D3 [P0 ($27,99 \pm 9,23$) vs. P12 ($38,35 \pm 9,67$) e P0 ($27,99 \pm 9,23$) vs. P24 ($42,78 \pm 9,17$) valor de $p = 0,0001$]; HDL-c [P0 ($46,61 \pm 8,97$) vs. P24 ($58,97 \pm 9,97$) valor de $p = 0,001$ e entre as medidas P12 ($49,94 \pm 10,82$) vs. P24 ($58,97 \pm 10,98$) valor de $p = 0,02$] e PAD [P0 ($83,24 \pm 14,51$) vs. P24 ($75,81 \pm 6,72$) valor de $p = 0,037$]. **Conclusão:** Apesar da identificação de receptores de vitamina D em diversos órgãos e sistemas participantes na fisiopatologia do DM2, não podemos afirmar que a suplementação de colecalciferol possa vir a contribuir para o a homeostase glicêmica desta doença multifatorial.

Palavras-chave: Colecalciferol, Diabetes Mellitus, período Pós-menopausal, Obesidade, Insulina.

Abstract e Keywords

Introduction: Type 2 diabetes mellitus (DM2) and menopause are associated with the status of 25 hydroxyvitamin D [25(OH)D3]. The effect of cholecalciferol supplementation on glycemia or incidence of DM2 has been reported in the primary trials with discordant results. **Objective:** This study mainly aimed to correlate the use of cholecalciferol in postmenopausal diabetic women with glycemic homeostasis within two years. **Method:** Forty postmenopausal diabetic women aged 63.84 ± 7.56 years received cholecalciferol 1,000 IU/day for 12 months and 2,000 IU/day for another 12 months. The primary outcomes evaluated the levels of 25(OH)D3, fasting glycemia (FG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), fasting insulin (I), insulin resistance measurement (HOMA-IR), insulin secretory capacity (HOMA- β), total cholesterol (TC), HDL cholesterol (HDL-c), triglycerides (TG), and C-reactive protein (CRP). Secondary outcomes were systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), waist circumference (WC), waist-hip ratio (WHR), visceral fat area (VFA) and body mass index (BMI). **Results:** Among the primary outcomes, in the comparisons of repeated measures, the variables that showed significant results were 25(OH)D3 [P0 ($27,99 \pm 9,23$) vs P12 ($38,35 \pm 9,67$), $p = 0,0001$; P0 ($27,99 \pm 9,23$) vs P24 ($42,78 \pm 9,17$), $p = 0,0001$]; HDL-c [P0 ($46,61 \pm 8,97$) vs P24 ($58,97 \pm 10,98$), $p = 0,001$; P12 ($49,94 \pm 10,82$) vs P24 ($58,97 \pm 10,98$), $p = 0,02$] and DBP [P0 ($83,24 \pm 14,51$) vs. P6 ($77,94 \pm 10,38$) vs. P12 ($77,42 \pm 9,99$) vs. P18 ($78,39 \pm 6,38$) vs. P24 ($75,81 \pm 6,72$) value of $p = 0,044$]. In the multiple comparisons, there was significance between the measures: 25(OH)D3 [P0 ($27,99 \pm 9,23$) vs. P12 ($38,35 \pm 9,67$) e P0 ($27,99 \pm 9,23$) vs. P24 ($47,78 \pm 9,17$) with $p = 0,0001$]; HDL-c [P0 ($46,61 \pm 8,97$) vs. P24 ($58,97 \pm 97$) value of $p = 0,001$ and P12 ($49,94 \pm 10,82$) vs. P24 ($58,97 \pm 10,98$) with $p = 0,02$] and PAD [P0 ($83,24 \pm 14,51$) vs. P24 ($75,81 \pm 6,72$) value of $p = 0,037$]. **Conclusion:** Despite the identification of vitamin D receptors in several organs and systems participating in the pathophysiology of DM2, we cannot say that the supplementation of cholecalciferol may contribute to the glycemic homeostasis of this multifactorial disease.

Keywords: Cholecalciferol, Diabetes Mellitus, Postmenopausal period, Obesity, Insulin.

Sumário

CAPÍTULO 1	19
1 - INTRODUÇÃO	19
2 - JUSTIFICATIVA	22
3 - OBJETIVO	23
3.1 – Objetivo geral.....	23
3.2 – Objetivos específicos.....	23
4 - MARCO TEÓRICO	24
4.1 - Vitamina D	24
4.2 – Valores de referência de vitamina D.....	26
4.3 – Doses recomendadas	28
4.4 – Ensaios metodológicos para dosagens de Vitamina D	29
4.5 - Climatério, menopausa e as mudanças metabólicas pertinentes ao processo de envelhecimento.	30
4.6 – Associações entre Vitamina D e o Diabetes.....	32
4.7 – Vitamina D e sua ação na célula β	34
4.8 – Vitamina D e sua ação na inflamação	35
4.9 – Vitamina D e a respiração mitocondrial.....	36
4.10 – Vitamina D e o Sistema Renina Angiotensina Aldosterona	37
4.11 - Ação na Obesidade	38
4.12 - Vitamina D e alterações epigenéticas.....	40
4.13 – Vitamina D e a prevenção do DM2	41
4.14 – Vitamina D no tratamento glicêmico do DM2.....	43
4.15 - Diabetes Mellitus, Deficiência de Vitamina D e o Envelhecimento feminino	45
5 – HIPÓTESE	46
6 - DETALHAMENTO METODOLÓGICO	47
6.1 - Considerações éticas.....	47
6.2 – População de estudo.....	48
6.3 - Critérios de elegibilidade	48
6.4 - Critérios de Inclusão	49
6.5 - Critérios de exclusão.....	49
6.6 - Variáveis de avaliação clínica e da composição corporal	50
6.7 - Variáveis laboratoriais	52
6.8 - Escolha da dose administrada	54
6.9 - Desenvolvimento do estudo.....	55
6.10 - Controle de Vieses	55
6.11 – Benefícios esperados	56
6.12 – Riscos inerentes ao estudo	56
6.13 - Análise Estatística	56
7 – RESULTADOS	57
8 – DISCUSSÃO	65

9 – REFERÊNCIAS	73
CAPÍTULO 2.....	79
Artigo 1 - Vitamina D e diabetes mellitus, suas epidemias e o envelhecimento. O que há de novo?	79
Artigo 2 – Influence of Vitamin D Supplementation on Glycemic Homeostasis in Postmenopausal Diabetic Women	85
CAPÍTULO 3.....	108
Considerações Finais e Conclusão	108
APÊNDICE.....	109
1 – Instrumento da Coleta de Dados	109
2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	110
3 – Gráficos dos desfechos primários	115
4 – Gráficos dos desfechos secundários	125
ANEXOS.....	131
1 – Folha de Rosto de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	131
2 – Carta Colaboração Departamento Ginecologia	133
3 – Carta Colaboração Departamento Patologia.....	134
4 – Carta Colaboração Laboratório Alta Complexidade	135
5 – Carta Colaboração Associação dos Funcionários.....	136
6 – Norma Submissão Artigo 1.	137
7 – Norma Submissão Artigo 2.	138
8 – Comprovante Submissão Artigo 2.	143

Lista de Figuras

Capítulo 1. Introdução, Marco Teórico, Detalhamento Metodológico.

<i>Figura 1. Síntese e Metabolismo da Vitamina D na Regulação do Cálcio, Fósforo e Metabolismo Ósseo.</i>	<i>26</i>
<i>Figura 2 . Atuação da Vitamina D na manutenção dos baixos níveis de cálcio e ROS.....</i>	<i>41</i>
<i>Figura 3. Fluxograma da Coleta de Dados</i>	<i>50</i>
<i>Figura 4. Linha do Tempo das Dosagens das Variáveis de Desfecho</i>	<i>54</i>

Lista de Tabelas

Capítulo 1. Introdução, Marco Teórico, Detalhamento Metodológico.

<i>Tabela 1. Metanálises e Revisões Sistemáticas.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabela 2. Características Basais da População</i>	<i>58</i>
<i>Tabela 3. Desfechos Primários.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabela 4. Desfechos Secundários.....</i>	<i>63</i>

Lista de Gráficos

<i>Gráfico 1. Comparações das medidas repetidas 25(OH)D3.....</i>	<i>60</i>
<i>Gráfico 2. Diferença entre as médias dos grupos 25(OH)D3</i>	<i>60</i>
<i>Gráfico 3. Comparação das medidas repetidas HDL-c</i>	<i>61</i>
<i>Gráfico 4. Diferença entre as médias dos grupos HDL-c</i>	<i>61</i>
<i>Gráfico 5. Comparação das medidas repetidas PAD</i>	<i>64</i>
<i>Gráfico 6. Diferença entre as médias dos grupos PAD</i>	<i>64</i>
<i>Gráfico 7. Comparação das medidas repetidas 25(OH)D3.....</i>	<i>115</i>
<i>Gráfico 8. Diferença entre as médias dos grupos 25(OH)D3</i>	<i>115</i>
<i>Gráfico 9. Comparação das medidas repetidas triglicerídeos</i>	<i>116</i>
<i>Gráfico 10. Diferença entre as médias dos grupos Triglicerídeos.....</i>	<i>116</i>
<i>Gráfico 11. Comparação das medidas repetidas PCR</i>	<i>117</i>
<i>Gráfico 12. Comparação das medidas repetidas Insulina</i>	<i>117</i>
<i>Gráfico 13. Diferença entre as médias dos grupos Insulina.....</i>	<i>118</i>
<i>Gráfico 14. Comparação das medidas repetidas HOMA-IR.....</i>	<i>118</i>
<i>Gráfico 15. Diferença entre as médias dos grupos HOMA-IR.....</i>	<i>119</i>
<i>Gráfico 16. Comparação das medidas repetidas HOMA -β.....</i>	<i>119</i>
<i>Gráfico 17. Diferença entre as médias dos grupos HOMA-β.....</i>	<i>120</i>
<i>Gráfico 18. Comparação das medidas repetidas HbA1c</i>	<i>120</i>
<i>Gráfico 19. Diferença entre as médias dos grupos HbA1c.....</i>	<i>121</i>
<i>Gráfico 20. Comparação das medidas repetidas Glicemia de jejum.....</i>	<i>121</i>
<i>Gráfico 21. Diferença entre as médias dos grupos Glicemia de Jejum</i>	<i>122</i>
<i>Gráfico 22. Comparação das medidas repetidas Colesterol Total</i>	<i>122</i>
<i>Gráfico 23. Diferença entre as médias dos grupos Colesterol Total</i>	<i>123</i>

<i>Gráfico 24. Comparação das medidas repetidas Colesterol HDL.....</i>	<i>123</i>
<i>Gráfico 25. Diferença entre as médias dos grupos Colesterol HDL.....</i>	<i>124</i>
<i>Gráfico 26. Comparação das medidas repetidas Circunferência da Cintura</i>	<i>125</i>
<i>Gráfico 27. Diferença entre as médias dos grupos Circunferência da Cintura</i>	<i>125</i>
<i>Gráfico 28. Comparação das medidas repetidas Relação Cintura/Quadril</i>	<i>126</i>
<i>Gráfico 29. Diferença entre as médias dos grupos Relação Cintura/Quadril</i>	<i>126</i>
<i>Gráfico 30. Comparação das medidas repetidas Índice de Massa Corporal</i>	<i>127</i>
<i>Gráfico 31. Diferença entre as médias dos grupos Índice de Massa Corporal</i>	<i>127</i>
<i>Gráfico 32. Comparação das medidas repetidas Área de Gordura Visceral</i>	<i>128</i>
<i>Gráfico 33. Diferença entre as médias dos grupos Área de Gordura Visceral</i>	<i>128</i>
<i>Gráfico 34. Comparação das medidas repetidas Pressão Arterial Sistólica</i>	<i>129</i>
<i>Gráfico 35. Diferença entre as médias dos grupos Pressão Arterial Sistólica</i>	<i>129</i>
<i>Gráfico 36. Comparação das medidas repetidas Pressão Arterial Diastólica</i>	<i>130</i>
<i>Gráfico 37. Diferença entre as médias dos grupos Pressão Arterial Diastólica</i>	<i>130</i>

Lista de Fórmulas

<i>Fórmula 1. HOMA-IR</i>	53
<i>Fórmula 2. HOMA-β</i>	53
<i>Fórmula 3. HOMA-IR modificada</i>	53
<i>Fórmula 4. HOMA-β modificada</i>	53

CAPÍTULO 1

1 - INTRODUÇÃO

A deficiência de Vitamina D (VD) e o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) são duas condições muito comuns na população idosa e consideradas preocupações de saúde pública¹⁻⁹. Somando-se a isso, observações epidemiológicas têm associado baixos níveis de 25-hidroxivitamina D3 [25(OH)D3] com aumento do risco de doenças não musculoesqueléticas, tais como câncer, esclerose múltipla, diabetes tipo 1 (DM1), DM2, doença cardiovascular (DCV)¹⁰⁻¹⁵. A potencial função extra-esquelética da VD é aventada em muitos estudos recentemente publicados, incluindo a demonstração da expressão de receptor de vitamina D (RVD) num grande número de células não-esqueléticas, incluindo células β -pancreáticas^{11,12,15-21}. Evidências adicionais têm fortemente sugerido que a VD tenha participação na modificação de risco para DM2, um efeito o qual parece ser mediado pela mesma sobre a função da célula β , sensibilidade insulínica e inflamação sistêmica^{14-20,22-26}. As primeiras evidências advêm de estudos observacionais longitudinais e transversais reportando a associação entre os níveis de 25(OH)D3 e risco de DM2 ou glicemia entre pacientes com DM2 estabelecido^{9,20,24-29}. Mais recentemente, pequenos ensaios clínicos, de curta duração, têm reportado o efeito da suplementação de VD com e sem cálcio sobre a glicemia e o risco de desenvolvimento de DM2 com resultados mistos^{6,9,18,20,21,23,24,27}.

A VD é um hormônio esteroide conhecido por sua participação essencial na manutenção da homeostase do cálcio, promovendo e mantendo a saúde óssea

e melhorando a função imune^{2,3,10,30-33}. Em 2008, foi estimado que 1 bilhão de pessoas apresentavam deficiência ou insuficiência dessa vitamina, a qual poderia ser resultante de limitada exposição solar, uso de protetores solares e vestimentas com pouca exposição, envelhecimento, síndromes de má absorção, assim como uma baixa ingestão de produtos que contenham VD^{3,14,17,34,35}.

A VD é obtida através da exposição aos raios ultravioletas (UVB) assim como de fontes nutricionais, ou por meio de sua suplementação^{3,10,17,18,30,32,35}. Apesar da elevada exposição ao UVB em países tropicais, estudos sugerem que a deficiência de VD é prevalente e também influenciada pela idade e sexo^{1,2,7,14,33,36,37}. Também chama a atenção, o fato de sua toxicidade ser evento raro e pouco descrito na literatura^{30,35,38}.

A Menopausa, ou seja, a parada do ciclo menstrual causada pelas secreções reduzidas de estrogênio e progesterona, é definida como a ausência de ciclos contínuos dentro de 1 ano ocorrendo, geralmente, entre as idades de 45-55 anos^{39,40}.

O estrogênio aumenta a atividade da 1- α -hidroxilase (expressa nos rins) responsável pela ativação da 25(OH)D3 e regulação do RVD. O envelhecimento feminino e subsequente queda dos níveis de estrogênio estão, então, associados com o declínio dos níveis de VD ativa^{2,7,33,39}.

A epidemia do DM2 e o reconhecimento de que o alcance de metas glicêmicas específicas possa substancialmente reduzir a morbidade, tem feito que o tratamento da hiperglicemia seja a prioridade máxima. Terapias também direcionadas a características encontradas no tratamento do DM2 tais como a

dislipidemia, a hipertensão arterial sistêmica (HAS), a hipercoagulabilidade, a obesidade e a resistência insulínica (RI), têm também sido foco de maior interesse de pesquisadores.

O presente estudo longitudinal, pareado, prospectivo, onde as voluntárias foram seus próprios controles, foi desenhado para relacionar o uso de colecalciferol com duas diferentes doses (1000 UI/dia e 2000 UI/dia) em mulheres diabéticas e na pós-menopausa, com a homeostase glicêmica num período de 2 anos. Utilizamos as siglas [25(OH)D3] como sinônimo de níveis de vitamina D, (VD) como sinônimo de vitamina D, [1,25(OH)₂D3] como sinônimo de VD ativa ou calcitriol.

Existe no Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente, a linha de pesquisa **ESTUDO DAS PRINCIPAIS COMORBIDADES DA MULHER NA PÓS-MENOPAUSA VISANDO UMA MELHOR QUALIDADE DE VIDA**, número do Parecer: 503.11, data da **Relatoria: 19/12/2013** e o atual projeto vêm a corroborar e dar continuidade a outros já realizados, concluídos ou em andamento.

A presente tese está apresentada em formato de coletânea de artigos de acordo com a deliberação do Departamento de Ensino e Comissão de Pós-graduação da Saúde da Criança e da Mulher e Pesquisa Aplicada à Saúde da Criança e da Mulher de número CPG 01/2013, que se encontra no anexo e após orientações recebidas pela Banca de Defesa de Tese, ocorrida em 26/02/2019.

2 - JUSTIFICATIVA

O climatério constitui-se num marco fisiológico do envelhecimento para a mulher. E, com o aumento da expectativa de vida, a detecção precoce, o tratamento e a amenização de quaisquer distúrbios ou doenças que comprometam a qualidade de vida ou afetem os índices de morbimortalidade, são essenciais para a melhoria da qualidade de vida. Dados nacionais provenientes de estudos em mulheres na pós-menopausa demonstram que o Brasil, apesar de ser um país tropical, apresenta uma população com deficiência de VD^{2,33}.

O DM2 é considerado fator de risco para DCV, HAS, doenças vasculares cerebrais, hiperlipidemia, osteoartrite, apneia obstrutiva do sono. Tais comorbidades estão presentes em muitas mulheres brasileiras na pós-menopausa^{4,6,40}.

A despeito de um grande número de estudos transversais e um número limitado de ensaios clínicos que avaliaram as concentrações de 25(OH)D3 como um potencial determinante de DCV e DM2, permanece ainda incerto se a melhoria de seus níveis poderia reduzir o risco dessas condições^{6,18,19,25,26,28,29}.

Mediante o que foi exposto, torna-se necessário o conhecimento da aplicabilidade do uso de colecalciferol em mulheres na pós-menopausa e diabéticas, no que diz respeito ao controle metabólico das mesmas e na redução dos riscos cardiovasculares. E, até o momento em que fora realizada revisão bibliográfica para a elaboração do projeto, ainda não havia nenhuma descrição de estudo, com as mesmas características as quais nos propusemos.

3 - OBJETIVO

3.1 – Objetivo geral

Relacionar o uso de colecalciferol em mulheres na pós-menopausa e diabéticas, com a homeostase glicêmica.

3.2 – Objetivos específicos

1. Avaliar a suplementação de colecalciferol em mulheres diabéticas, na pós-menopausa, com a homeostase glicêmica, num período de 2 anos, utilizando-se 1000 UI/dia por 12 meses e 2000 UI/dia por outros 12 meses.

2. Relacionar os níveis de 25(OH)D3 com:

Parâmetros bioquímicos: glicemia de jejum (GJ), hemoglobina glicada (HbA1c), insulina de jejum (I), resistência à ação da insulina (HOMA-IR), capacidade secretória célula β (HOMA- β), proteína C reativa (PCR), perfil lipídico [colesterol total (CT), HDL colesterol (HDL-c), triglicerídeos (TG)].

Parâmetros clínicos: índice de massa corporal (IMC), circunferência de cintura (CC), relação cintura-quadril (RCQ), massa corporal (em Kg), e pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD).

Parâmetros de composição corporal: área gordura visceral (AGV), essa mensurada por aparelho de bioimpedância elétrica.

4 - MARCO TEÓRICO

4.1 - Vitamina D

Vitamina D ou calciferol é o nome genérico para um grupo de esteroides, composto de duas maiores formas que são a vitamina D2 (ergocalciferol) e vitamina D3 (colecalfiferol). Ambas as formas compartilham de metabolismo idêntico, porém a primeira é proveniente de fontes dietéticas e a segunda forma é obtida pela irradiação cutânea^{3,10,14,30,32,35}.

Estudos recentes indicam que a vitamina D3 é significativamente mais eficaz do que a vitamina D2 não somente em aumentar as concentrações séricas de 25(OH)D3, mas também na manutenção dos níveis de vitamina e suas atividades biológicas. Então, a vitamina D3 é a opção preferida para correção de deficiência e manutenção com suplementos orais¹⁴.

A principal fonte de VD em humanos é a epiderme (80-90%), por meio da biossíntese cutânea, na qual ocorre a hidroxilação do 7 – dehidrocolesterol em pré-vitamina D3, reação esta catalisada pelos raios UVB^{18,30,32,35}. Ainda na pele, por reação de isomerização, a pré-vitamina D3 se transforma em vitamina D3 ou colecalfiferol³. Os outros 10-20% são provenientes de fontes dietéticas e suplementos nutricionais¹⁸. A VD proveniente da dieta é ligada à proteína ligadora da vitamina D e, em associação continuada com quilomícrons e lipoproteínas, alcança o fígado, onde é metabolizada juntamente com o colecalfiferol endógeno sintetizado, por ação do citocromo P450. Há, então, a formação da 25-hidroxivitamina D3 [25(OH)D3] ou calcidiol. Este último é o metabólito mais estável e com meia-vida mais longa (2 a 3 semanas), servindo como ferramenta na avaliação dos níveis corporais dessa vitamina, quer a mesma tenha sido ingerida ou sintetizada na pele^{10,18,32,41}.

No rim, a 25-hidroxivitamina D3 sofre duas diferentes hidroxilações uma pela enzima 25-hidroxivitamina D -1 α -hidroxilase (CYP27B1) para sua forma ativa, 1, 25 dihidroxivitamina D3 [1,25(OH)₂D3], a qual exerce seus efeitos por meio de receptores esteroidais nucleares e outra pela enzima 24-hidroxilase, dando origem à forma inativa que é a 24,25-dihidroxivitamina D3 [24,25(OH)₂D3]^{3,18}. A CYP27B1, está presente principalmente, mas não somente, nas células tubulares proximais dos rins. Tem sua estimulação primariamente pelo paratormônio (PTH) e inibição pelo fator de crescimento fibroblástico circulante 23 (FGF23), produzido por osteócitos^{3,18,30,32}.

A 1,25(OH)₂D3 possui uma alta afinidade com o RVD em tecidos alvos, onde atua modulando a expressão de genes relacionados. O RVD ativado forma um heterodímero com o receptor do ácido retinoico (RXR), participando assim, na estimulação da via nuclear do mesmo^{3,16,18}.

Reduções na concentração plasmática de cálcio são detectadas pelos receptores sensíveis desse eletrólito, na membrana plasmática, das células paratireoidianas, para que haja restauo da normocalcemia. Ocorre, então, uma sinalização para a liberação de PTH e aumento de sua expressão gênica. A interação entre o PTH com o receptor de paratormônio e proteína relacionada ao paratormônio (PTH/PTHrP), nas células tubulares proximais renais, sinaliza para um aumento na expressão de CYP27B1 e conversão de 25(OH)D3 a 1,25(OH)₂D3. Promovendo, assim, a absorção intestinal de cálcio e fosfato e liberação dos mesmos eletrólitos da fase mineral óssea. Quando a normocalcemia é restaurada, o eixo ativado 1,25(OH)₂D3:PTH é subsequentemente interrompido pelo FGF23^{3,30,32}. Vide Figura 1. Síntese e

Metabolismo da Vitamina D na Regulação do Cálcio, Fósforo e Metabolismo Ósseo.

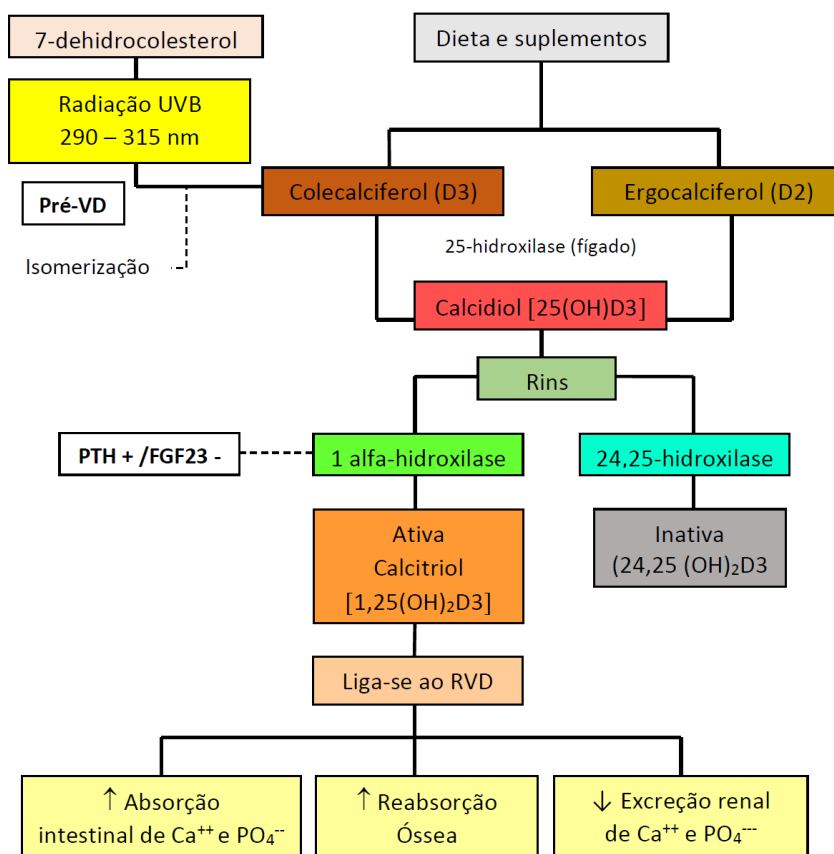


Figura 1. Síntese e Metabolismo da Vitamina D na Regulação do Cálcio, Fósforo e Metabolismo Ósseo.

UVB: raios ultravioletas; Pré-VD: pré-vitamina D; 25(OH)D3: 25-hidroxivitamina D3 ou calcidiol; 1,25(OH)₂D3: 1,25-dihidroxivitamina D3 ou calcitriol ou vitamina D ativa; 24,25 (OH)₂D3: 24,25 dihidroxivitamina D3 ou vitamina D inativa; PTH: paratormônio; FGF23: fator de crescimento fibroblástico 23; RVD: receptor de vitamina D.

4.2 – Valores de referência de vitamina D

O conceito de concentrações normais de 25(OH)D3 tem sido um desafio para a classe médica. Tem-se sugerido que valores plasmáticos de 25(OH)D3 abaixo de 20 ng/mL denotem deficiência, valores entre 21-29 ng/mL sejam compatíveis com insuficiência e, quando os valores plasmáticos se encontram entre 30-100 ng/mL denotam suficiência (para se converter a nanomoles por litro, multiplica-se por 2.496)^{1,2,35}.

No posicionamento conjunto das Sociedades Brasileiras de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) e Endocrinologia e Metabologia (SBEM), publicado em abril de 2018, é recomendado que valores de 25(OH)D3 sejam estratificados de acordo com a idade e as características clínicas individuais. Recomenda-se que nível acima de 20 ng/mL seja desejável para a população saudável até 60 anos; entre 30 e 60 ng/mL para grupos de risco como: idosos acima de 60 anos, indivíduos com fraturas ou quedas recorrentes, gestantes e lactantes, osteoporose primária e secundária, doenças osteometabólicas, tais como raquitismo, osteomalácia, hiperparatireoidismo, doença renal crônica, síndromes de má-absorção, como após cirurgia bariátrica e doença inflamatória intestinal, medicações que possam interferir com a formação e degradação da VD, tais como: terapia antirretroviral, glicocorticoides e anticonvulsivantes, neoplasias malignas, sarcopenia e diabetes. Também é alertado que níveis acima de 100 ng/mL estão atrelados ao risco de toxicidade e hipercalcemia⁴¹. Em 2011, as Recomendações da Sociedade Americana de Endocrinologia (*Endocrine Society Guideline*), apresentou um grupo de indicações mais abrangente para mensuração da 25(OH)D3 além do supracitado, o qual incluía sarcoidose, tuberculose, histoplasmose, paracocidioidomicose, beriliose, alguns linfomas¹⁰.

O Instituto de Medicina (*Institute of Medicine - IOM*) considera deficiência de VD valores de 25(OH)D3 abaixo de 20 ng/mL (ou 50 nmol/L) enquanto outros especialistas, como a Sociedade Americana de Endocrinologia, Fundação Nacional de Osteoporose (*National Osteoporosis Foundation*), Fundação Internacional de Osteoporose (*IOF*), Sociedade Americana de Geriatria sugerem que o valor mínimo necessário para reduzir o risco de

quedas e fraturas é de 30 ng/mL (ou 75 nmol/L)¹⁰. A Organização Mundial de Saúde (OMS) reforça a recomendação da manutenção de níveis séricos acima de 30 ng/mL (ou 75 nmol/L) baseado em revisões que demonstram adequada supressão de PTH, absorção de cálcio e redução dos riscos de fraturas com esses níveis³¹.

Níveis superiores a 30 ng/mL contribuem para uma melhor absorção de cálcio e, níveis abaixo, podem elevar os níveis circulantes de PTH, causando hiperparatireoidismo secundário. Além do mais, elevações moderadas do PTH podem promover RI, ganho de peso, hipertensão, hipertrofia ventricular esquerda e resposta de fase aguda, aumentando o risco de arritmias isquêmicas e mortalidade cardiovascular¹⁴.

4.3 – Doses recomendadas

As recomendações pela Sociedade Americana de Endocrinologia, em 2011, foram as de que todos os adultos com idades 50-70 e 70 anos requeiram, respectivamente, doses de 600 e 800 UI/dia de VD¹⁰. Tais doses seriam adequadas para maximizar a saúde óssea e a função muscular. Entretanto, se essas doses são suficientes para prover todos os demais potenciais benefícios extra-esqueléticos é fato desconhecido, até o momento^{10,14,20}. Doses diferentes são recomendadas por tal sociedade, de acordo com idade, peso e *status* (deficiência, insuficiência), como descrito a seguir:

Adultos com níveis deficientes de VD poderiam ser tratados com 50000 UI de vitamina D2 ou vitamina D3, uma vez por semana, durante 8 semanas ou sua dose equivalente diária de 6000 UI de D2 ou D3, para se alcançar níveis plasmáticos de 25(OH)D3 superiores a 30 ng/mL, seguido por

uma terapia de manutenção de 1500-2000 UI/dia. Já em pacientes obesos, pacientes com síndromes de má-absorção ou usuários de medicações que interfiram com o metabolismo da VD, as doses sugeridas foram bem mais elevadas (6000-10000 UI/dia) para se alcançar níveis de suficiência, seguida por terapia de manutenção de 3000-6000 UI/dia¹⁰.

A melhor maneira de se obter VD é através da exposição solar. Entretanto, para pessoas institucionalizadas e vulneráveis, e populações incapazes de se exporem adequadamente à luz solar, suplementos podem ser administrados conforme descrito: 1 cápsula de 50000UI de vitamina D3, a cada duas semanas. Considerando-se a falta de efeitos adversos associados a tal dose e potenciais benefícios na redução de morbidades, esta é uma prática custo-efetiva¹⁴.

Quando a vitamina D é administrada em intervalos maiores do que 1 mês, níveis adequados de 25(OH)D3 são alcançados somente por um curto período, trazendo menos benefícios. Porém, o objetivo deve ser a manutenção de um estado de equilíbrio de vitamina D durante todo o ano. A utilização de doses elevadas não-frequentes, pode ter efeitos negativos nos usuários¹⁴.

4.4 – Ensaios metodológicos para dosagens de Vitamina D

O atraso nos resultados, a variabilidade dos ensaios, o alto custo e a cobertura inadequada dos seguros de saúde e assim por diante, dificultam o diagnóstico e o tratamento nos casos de deficiência de 25(OH)D3^{14,41}.

Dentre os principais métodos disponíveis e de menor custo para mensuração da 25(OH)D3 estão os ensaios competitivos, que utilizam proteínas ligadoras da vitamina D ou anticorpos anti-25(OH)D3. São eles o radioimunoensaio e ensaios enzimáticos, quimioluminescentes ou

eletroquimioluminescentes. Porém, esses apresentam inúmeras limitações, podendo-se ter uma variação de até 21,5%, considerando-se a imprecisão e exatidão do ensaio em relação aos métodos de referência⁴¹.

A cromatografia líquida de alta performance, com detecção ultravioleta ou acoplada à espectrometria de massas em tandem (*LC-MS/MS*) é considerada o padrão ouro para mensuração da 25(OH)D₃, por apresentar menor interferência analítica e medir de forma indireta a vitamina D^{14,41}.

4.5 - Climatério, menopausa e as mudanças metabólicas pertinentes ao processo de envelhecimento.

No decorrer dos anos, ocorrem alterações fisiológicas na composição corporal, com aumento de quantidade de tecido adiposo e ou redução de massa magra e redução da massa óssea, especialmente entre as mulheres que têm a composição corporal diretamente afetada pelas mudanças hormonais observadas no climatério e acentuadas na menopausa^{5,39,40,42,43}.

O Inquérito Nacional de Avaliação de Saúde e Nutrição III (*NHANES*) demonstrou que a SM se associa a um maior risco de mortalidade para mulheres na pós-menopausa do que para homens ou mulheres na pré-menopausa. Também, diversos trabalhos mostram maior prevalência de SM em mulheres na pós-menopausa, em relação àquelas na pré-menopausa. Acredita-se que a SM, nesses casos, seja resultante direta da falência ovariana ou resultar das alterações metabólicas promovidas pelo aumento de gordura visceral secundária à diminuição de estrogênios⁴⁰.

A prevalência de SM em mulheres na pós-menopausa é de 22% a 69%, variando de um país para outro e com os critérios metodológicos empregados. No Brasil, o estudo de Figueiredo Neto, em 2010, mostrou que numa

população de 323 mulheres, a prevalência de SM na pós-menopausa foi de 49,8%⁴⁰.

Muitos são os critérios diagnósticos de SM encontrados na literatura que objetivam a identificação daquelas pessoas com maior propensão ao aparecimento do DM2 e risco de DCV. Mas, em 2004, a Federação Internacional de Diabetes (*IDF*), tentou uniformizar os diversos critérios, levando-se em consideração, principalmente, a presença de obesidade abdominal que, por si, leva a um quadro de RI, associada à presença de mais dois fatores como dislipidemia, HAS e alterações glicêmicas⁴⁴.

Considera-se a RI como a base fisiopatológica da SM e, embora a obesidade visceral seja um sinal clínico dessa resistência, a mesma pode existir desacompanhada do aumento de peso^{14,16,23,40,45}. Também, muito já fora discutido que a presença de SM é fator de risco para o desenvolvimento do DM2 e risco de DCV^{6,14,17,40,45}.

Índices elevados de diabetes são reportados em países localizados distantes da linha equatorial^{1,2,14,37}. Similarmente, aqueles que vivem em altas altitudes também estão menos expostos aos raios UVB, e tem uma elevada prevalência de deficiência de VD, DCV e diabetes. Diversos estudos epidemiológicos e ecológicos têm sido publicados, demonstrando uma forte associação entre a exposição solar e ou níveis de 25(OH)D3 com DM1, DM2, RI, HAS e SM¹⁴.

4.6 – Associações entre Vitamina D e o Diabetes

A forma onipresente de receptores intracelulares da VD e a expressão da CYP27B1 sugere a participação dessa vitamina em diversos processos metabólicos, além do já bem estabelecido na manutenção da saúde óssea^{14,16,18,21,23}. Tal fato sugere um papel indireto, mas não menos importante, da participação da VD nos metabolismos glicídico e lipídico, como refletido também na associação com DM2, SM, secreção insulínica, RI, síndrome dos ovários micropolicísticos e obesidade^{1,11,14,17,34}.

Estudos transversais, longitudinais e ecológicos reportaram correlações inversas entre os níveis de 25(OH)D3 com hiperglicemia e controle glicêmico em pacientes com DM2, redução do nível de conversão de pré-diabetes para diabetes e obesidade^{14,17,19,20,23,25,26,28,29}. Entretanto, nenhuma conclusão pôde ser retirada dos estudos atuais disponíveis, pois os mesmos tiveram baixo poder, poucos foram desenhados para desfechos glicêmicos, valores séricos mínimos, médios ou medianos de 25(OH)D3 foram mensurados ou reportados, muitos estudos não reportaram as medicações anti-diabéticas utilizadas, alguns estudos usaram doses mínimas outros doses excessivas de VD e houve relativa escassez de dados clínicos rigorosos sobre os efeitos da suficiência de vitamina D sobre desfechos não-calcêmicos. Muitos desses trabalhos encontram-se descritos no capítulo 2, nos artigos 1 e 2, da presente Tese, além de algumas metanálises e ou revisões sistemáticas na tabela 1.

Tabela 1. Metanálises e Revisões Sistemáticas

Metanálises Revisões Sistemáticas	Características dos estudos Resultados
<p>Vitamin D and type 2 diabetes</p> <p>Mitri J, Muraru MD, Pittas AG (2011)</p>	<p>Suplementação e desfechos glicêmicos (11 Ensaios) 8 ensaios com DM2 – sem efeito sobre desfechos glicêmicos 3 ensaios com IG – melhora sobre a RI</p> <p>Níveis de 25(OH)D3 e risco de DM2 (8 Coortes) 25(OH)D3 > 500 UI/dia - ↓ 13% - comparado a 200 UI/dia 25(OH)D3 > 25 ng/ml - ↓ 43% - comparado a < 14 ng/ml</p>
<p>Effect of vitamin D on glycaemic control and insulin resistance</p> <p>George PS, Pearson ER, Witham MD (2012)</p>	<p>25(OH)D3 sobre GJ, RI, progressão para DM2 e complicações (15 Ensaios) Δt = 6 semanas – 7 anos, doses 400 UI/d a 120000 UI/d</p> <p>DM2 e Intolerantes à glicose: GJ: (0.32 mmol/l; IC: 95% (0.57 a 0.07) RI: (0.25; IC: 0.48 a 0.03) HbA1c: sem efeito</p> <p>Glicemia normal: Nenhum efeito sobre as variáveis</p>
<p>The effect of vitamin D supplementation on glycaemic control in patients with type 2 diabetes</p> <p>Krul-Poel YHM et. al (2016)</p>	<p>25(OH)D3 sobre GJ, HbA1c e HOMA-IR (23 ensaios – população diabética)</p> <p>Valores de 25(OH)D3: 1.8 ± 10.2 nmol/l a 80.1 ± 54 nmol/l 4 ensaios houve melhora na redução da GJ: 64mmol/mol (média: 0.36; IC 95%: 0.12 a 0.61, p = 0.003) Nenhuma diferença sobre a HbA1c</p>
<p>The Effect of Improved Serum Vitamin D Status on Glycemic Control in Diabetic Patients</p> <p>Mirhosseini N et. al (2017)</p>	<p>Níveis de 25(OH)D3 sobre GJ e RI em diabéticos (24 Ensaios) n = 1528, Δt: 2 meses - 12 meses, doses 1000 UI/d – 8571 UI/d ↓HbA1c (média da diferença: 20.30% - IC: 20.45 a 20.15, p= 0.0001) ↓GJ (média da diferença: 24.9 mg/dL; IC: 28.1 a 21.6, p= 0.003) ↓HOMA-IR (média da diferença: 20.66; IC: 21.06 a 20.26; p= 0.001) ↑25(OH)D3 (17± 2.4 ng/mL) Melhor resposta dose: 4000 UI/d</p>
<p>Effect of Vitamin D Supplementation on Glucose and Insulin Homeostasis and Incident Diabetes among Nondiabetic Adults</p> <p>Tang H et. al (2018)</p>	<p>Níveis de 25(OH)D3 sobre os índices de glicose e homeostase glicêmica, incidência de DM2 em adultos não diabéticos (47 Ensaios) 44.161 indivíduos, Δt: 4 meses, dose 4000 UI/dia GJ, IJ, HOMA-IR Melhora não significativa do metabolismo da glicose e insulina, sem afetar o risco para DM2</p>

Legenda: 25(OH)D3: níveis de 25-hidroxivitamina D; DM2: diabetes mellitus tipo 2; GJ: glicemia de jejum; IJ: insulina de jejum; HOMA-IR: índice de resistência à ação da insulina; RI: resistência insulínica; IC: intervalo de confiança; HbA1c: hemoglobina glicada.

Diabetes mellitus não se limita somente a uma inabilidade na captação da glicose pela célula, mas também ao fato de ser uma doença inflamatória. Devido aos efeitos anti-inflamatórios da VD, não é surpresa a possibilidade de seus efeitos benéficos na melhoria da função das células β , liberação de insulina e redução da RI. A deficiência de VD não somente predispõe ao desenvolvimento do DM1 e DM2, mas também leva a uma resposta sub-ótima à terapia, devido à sua participação na sinalização da insulina. Apesar de fortes indícios, ainda é desconhecido se a adequação dos níveis de 25(OH)D3 poderiam prevenir a morte e apoptose de células β causadas pela idade ou glicotoxicidade^{14,18,23}.

A participação da VD no desenvolvimento do DM2 poder-se-ia dar por diversas ações:

4.7 – Vitamina D e sua ação na célula β

A participação da VD sobre a secreção insulínica é amplamente difundida, sendo que sua ação se daria por mecanismos direto e indireto. O primeiro, seria pela ligação da 1,25(OH)₂D3 ao RVD nas células β , pela identificação do RVDE no gene promotor de insulina humana e pela ativação transcricional do gene da insulina humana causada pela 1,25(OH)₂D3. Já a ação indireta da VD sobre a célula β parece ser mediada pela alteração do fluxo de cálcio através da membrana celular e mobilização do cálcio de organelas intracelulares e pelo aumento da sensibilidade insulínica, via estimulação da expressão do receptor de insulina nos tecidos adiposo e esquelético^{16,18}.

Outro potencial mecanismo é a regulação dos níveis de cálcio intra e extracelular diretamente ou através da alteração na concentração do PTH. Na deficiência de VD, há elevação dos níveis de PTH, ocasionando o aumento na concentração de cálcio, que por sua vez atenua a captação de glicose pela diminuição da atividade da fosfatase. O GLUT-4 permanece como uma forma fosforilada, a qual é conhecida como um transportador fraco de glicose. Ocorre, então, um aumento na RI pela diminuição da ação do GLUT-4^{16,17}.

Estudos em animais têm demonstrado que o calcitriol promove capacidade biossintética da célula β e acelera a conversão de pró-insulina à insulina. Ratos que não possuem um RVD funcional têm redução na secreção de insulina de até 60%, após sobrecarga de glicose, embora a secreção basal de insulina não seja afetada¹⁷.

4.8 – Vitamina D e sua ação na inflamação

Inflamação crônica, que está associada à obesidade, tem sido implicada na patogênese do DM2, por contribuir na geração da RI^{16,17,46}. Esta inflamação resulta na formação de citocinas, tais como interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (FNT- α), e infiltração de macrófagos no tecido adiposo branco. Uma das ações dessas citocinas é a estimulação das vias Jun N-terminal quinase (JNK1) e fator nuclear- κ B (NF- κ B) quinase- β [IkB quinase- β (IKK- β)] que reduzem a sinalização da via da insulina, por meio da fosforilação do substrato receptor de insulina (SRI)¹⁶. A VD parece desativar citocinas inflamatórias, reduzir a quimiotaxia de monócitos e promover a expressão da calbindina, uma proteína ligadora do cálcio que protege contra apoptose¹⁷. Além do mais, tem sido descrito que a VD diminui a produção de citocinas tais como interleucina-2 (IL-2), IL-6, TNF- α , interferon gama (INF γ), fator de

necrose tumoral beta (TNF- β), as quais estão normalmente envolvidas na destruição das células β ¹⁸.

Outro fator de suma importância na participação da RI é o estresse oxidativo, caracterizado pela formação de espécies reativas de oxigênio (ROS). Há indicações de que esse estresse oxidativo possa surgir através do aumento de ácidos graxos livres que atuam sobre a mitocôndria que por sua vez, aumentam a formação de ROS. O aumento de ROS, posteriormente, reduz a atividade da via de sinalização da insulina. A ação da 25(OH)D3 na regulação dos níveis de ROS depende da sua capacidade em controlar a expressão celular de antioxidantes, permitindo que haja uma estabilidade nas vias de sinalização insulínica¹⁶.

4.9 – Vitamina D e a respiração mitocondrial

A função mitocondrial é regulada pela VD através de duas ações. Primeiramente, ela atua através do RVD no núcleo mitocondrial para aumentar a expressão de muitos dos componentes responsáveis pela função mitocondrial. Posteriormente, o RVD entra na mitocôndria por um poro de permeabilidade transitória, onde ele pode atuar diretamente regulando sua função na cadeia respiratória. A VD também regula a expressão das proteínas desacopladoras tipo 1 (UCP1) e tipo 2 (UCP2), as quais estão localizadas na membrana mitocondrial interna, atuando na termogênese. Na deficiência de VD, a respiração mitocondrial declina devido à redução de mensageiros do ácido ribonucleico (mRNA) e proteínas que contribuem para a respiração mitocondrial¹⁶.

Esta importante função da VD na manutenção da função normal mitocondrial pode contribuir na hipótese de sua deficiência e o

desenvolvimento do diabetes. A elevação de ROS e a redução na formação da adenosina trifosfato (ATP) irão ter um maior impacto sobre a homeostase do cálcio, que pode contribuir para o declínio da liberação de insulina pelas células β . A redução de ATP irá reduzir a habilidade da bomba de cálcio sobre a membrana plasmática e sobre o retículo endoplasmático para expulsarem o cálcio do citosol. Ambos os efeitos irão induzir a uma elevação anormal dos níveis de cálcio nas células β , promovendo a morte celular e contribuindo para o início do diabetes¹⁶.

4.10 – Vitamina D e o Sistema Renina Angiotensina Aldosterona

Os maiores e bem estabelecidos fatores para a falência renal crônica são o estresse oxidativo causado pela hiperglicemia e ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). Estudos demonstram que a VD geralmente reduz o estresse oxidativo e a inflamação, potencialmente reduzindo o risco para a insuficiência renal^{17,47-49}.

A vitamina D endógena exerce efeitos benéficos sobre células musculares lisas dos vasos, sobre o endotélio, cardiomiócitos e possui relação inversa com a atividade da renina plasmática, sendo esta uma das principais ações, por interferir no tônus vascular, no volume do fluido extracelular e na homeostase eletrolítica. Não é conhecido se ocorre uma redução na transcrição da renina pela presença de RVDE no gene promotor da renina ou se há supressão gênica pela ativação do RVD⁴⁷⁻⁴⁹.

A regulação da pressão arterial, pelo SRAA ocorre da seguinte forma:

A renina, uma protease sintetizada e secretada pelas células justaglomerulares do rim, cliva o angiotensina I a partir do angiotensinogênio proveniente do fígado. O angiotensina I liberada é então convertida a

Angiotensina II pela enzima conversora de angiotensina, encontrada principalmente nos pulmões. A angiotensina II, efector biológico central do SRAA, atua diretamente sobre as células musculares lisas dos vasos, causando vasoconstrição; estimula o hipotálamo a produzir a sensação de sede e aumenta a ingestão de líquidos; estimula a produção de vasopressina, um hormônio antidiurético, no lobo posterior da hipófise, a qual aumenta a reabsorção de água no túbulo distal pelos canais aquaporina; e estimula a síntese e secreção no córtex adrenal da aldosterona, a qual afeta os canais de sódio a aumentar a reabsorção. Assim, a ativação do SRAA leva ao aumento do volume extracelular e pressão sanguínea⁴⁷.

Acredita-se que a angiotensina II contribua para o aumento da RI pela inibição da ação de insulina nos tecidos vascular e músculo esquelético, levando à diminuição da captação de glicose. Alguns dados suportam que o complexo formado por vitamina D-RVD seja um potencial regulador da atividade de renina em humanos e, que polimorfismos no gene desse complexo possam estar associados à patogênese do DM¹.

A ativação de vias sinalizadoras da insulina, como a Akt/JNK, pela VD pode também regular a atividade da angiotensina melhorando a função celular, reduzindo a apoptose e aumentando a sobrevivência da célula β ¹⁸.

4.11 - Ação na Obesidade

Obesidade e RI estão correlacionadas e diversos estudos têm demonstrado uma associação da SM com baixos níveis de 25(OH)D₃, o qual é mais pronunciado em indivíduos sobrepeso quando comparado a indivíduos de peso normal^{1,3,10,18,34}.

A deficiência de VD contribui para a RI inicial e o subsequente início do diabetes causado pela insulinopenia oriunda da morte das células β . A morte celular decorre após um período de hiperatividade, para vencer a RI imposta, onde a célula β fica exposta a níveis elevados de cálcio e ROS¹⁶.

Devido à lipossolubilidade da VD, o tecido adiposo é considerado um local para sua estocagem, reduzindo seus níveis circulantes e inativando seus metabólitos. Explicando-se, em parte, a hipovitaminose observada em indivíduos obesos^{3,10,14,17,30,35,50}. Por sua vez, a deficiência de vitamina D é um fator de risco para a obesidade, pois níveis reduzidos de 25(OH)D3 poderão levar a uma elevação secundária de PTH, o que pode promover o influxo de cálcio em adipócitos e aumentar a lipogênese e reduzir a lipólise. Além disso, a vitamina D é capaz de inibir a diferenciação dos pré-adipócitos, através da supressão do receptor c ativado por proliferadores de peroxissoma (PPARc), provocando assim, um aumento na lipogênese quando seus níveis séricos diminuem⁵⁰. Também, o receptor delta ativado do proliferador do peroxissoma (PPAR δ) está, algumas vezes, co-expresso com o RVD. A 1,25(OH)₂D3 aumenta a expressão do gene do PPAR δ , que tem mostrado favorecer o acúmulo de células de gorduras e oxidação de ácidos graxos¹⁷.

A vitamina D pode modular vias de RI associadas com o diabetes e a obesidade de várias maneiras. Inicialmente, ela pode atuar através de vias não genômicas para controlar a lipogênese e a lipólise. Entretanto, a maioria das ações parecem ser mediadas por mecanismos genômicos. Uma dessas ações é a inibição da diferenciação do adipócito durante a adipogênese pela manutenção da via de sinalização Wnt/ β -catenina e a via sinalizadora proteína

quinase mitogênica ativada. A VD também atua inibindo a apoptose pela redução da expressão mitocondrial da UCP2¹⁶.

Outra importante consequência da obesidade sobre a RI é a marcada alteração na secreção de adipocinas (leptina, adiponectina e resistina), as quais são hormônios importantes que contribuem para a homeostase glicêmica e lipídica. O declínio na liberação de leptina leva ao aumento do apetite por sua atuação no hipotálamo e a mesma também regula o metabolismo lipídico pela estimulação da lipólise, enquanto inibe a lipogênese. A resistina contribui na geração da inflamação. Há um aumento de evidências que demonstram a atuação da VD na redução da liberação de quimocinas e citocinas que deflagram a inflamação, e também na redução da quimiotaxia de monócitos¹⁶.

4.12 - Vitamina D e alterações epigenéticas

A VD tem papel importante na regulação de modificações epigenéticas que são características do diabetes. A epigenética compreende as modificações do genoma (cromatina e do ácido desoxirribonucleico – DNA), que não envolvem alterações na sequência do DNA. Os mecanismos mais relevantes são a metilação do DNA e as modificações das histonas. Em indivíduos obesos, há um aumento na metilação do DNA, o qual é um fator de risco para o desenvolvimento do diabetes. A VD atua prevenindo a hipermetilação de genes promotores relacionados ao diabetes¹⁶. Algumas dessas hipermetilações é induzida por um aumento na formação de ROS. Em adição, uma das principais funções da VD é a manutenção da expressão de DNA demetilases, tais como proteínas contendo o domínio Jumonji 1A e 3 (JMJD1A e JMJD3) e demetilase lisina específica 1 e 2 (LSD1 e LSD2), as quais atuam na prevenção da hipermetilação de múltiplas regiões promotoras

do gene¹⁶. Vide Figura 2. Atuação da Vitamina D na manutenção dos baixos níveis de cálcio e ROS.

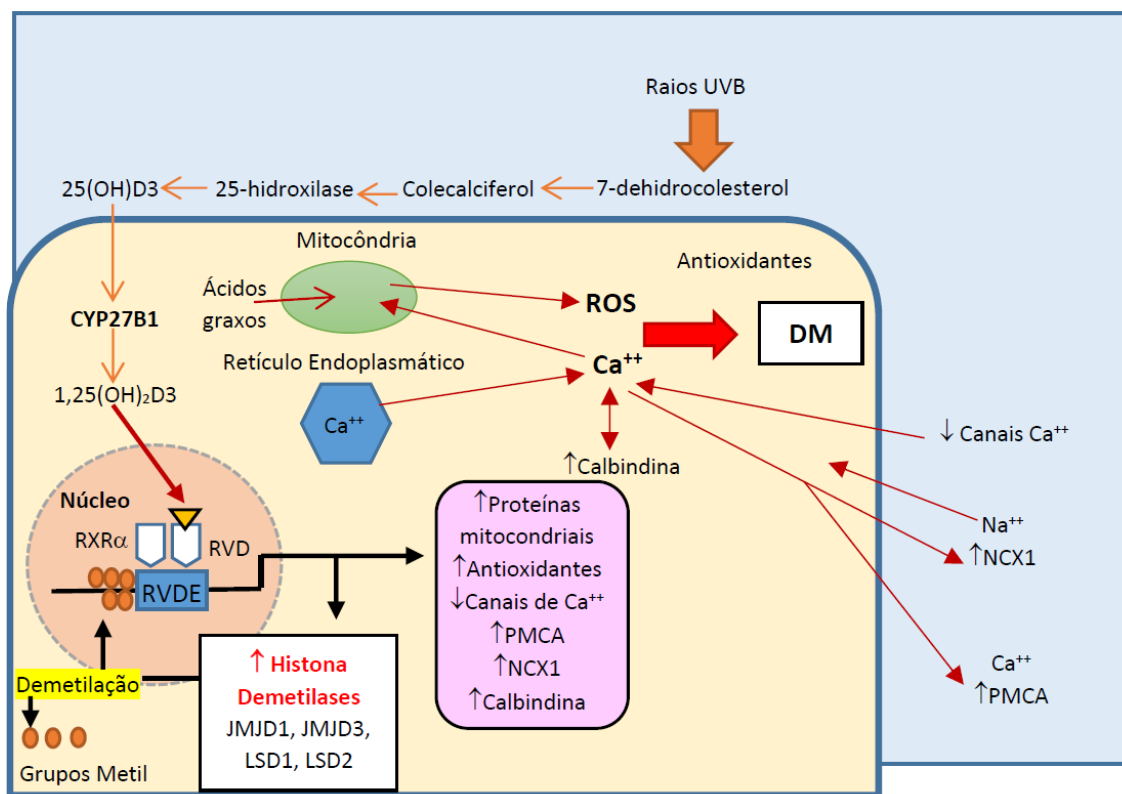


Figura 2 . Atuação da Vitamina D na manutenção dos baixos níveis de cálcio e ROS

Legenda: CYP27B1: 1 α -hidroxilase; JMJD1A e JMJD3: proteínas contendo o domínio Jumonji 1A e 3; LSD1 e LSD2: demetilase lisina específica 1 e 2; PMCA: membrana plasmática Ca²⁺-ATPase; NCX1: transportador sódio/cálcio; RVD: receptor vitamina D; RXR α : receptor do ácido retinoico; VDRE: elemento responsivo da vitamina D; ROS: espécies reativas de oxigênio.

4.13 – Vitamina D e a prevenção do DM2

A ideia em se prevenir o DM2 via utilização da VD emergiu durante as duas últimas décadas. Dados epidemiológicos correlacionaram a incidência do diabetes com a latitude e exposição solar, enquanto a suplementação de VD, nos casos de deficiência, pareceu reduzir o risco de desenvolvimento de ambos os tipos de diabetes (DM1 e DM2)^{17,18,23}. Entretanto, há uma lacuna a ser preenchida quanto à realização de estudos com elevado poder, investigando se a suplementação de VD em indivíduos com risco para desenvolvimento de DM2 poderiam se beneficiar. Porém, os resultados

encontrados na literatura, parecem mais promissores na interrupção do desenvolvimento do diabetes do que na melhoria da homeostase glicêmica na doença já estabelecida, como descrito no estudo abaixo.

Revisão sistemática relatou redução de 13% no risco de DM2 com ingestão de vitamina D >500 UI/dia comparada com <200 UI/dia, sendo que indivíduos com níveis de 25(OH)D3 sérica >25 ng/mL apresentaram 43% menos risco de desenvolver DM2 do que o grupo do menor tercil (<14 ng/mL). Foram incluídos poucos estudos e com *n* reduzido (*n*=32 a 62), esses bastante heterogêneos entre si, para avaliação da suplementação da VD sobre o controle glicêmico de pacientes com DM2. Os achados estatísticos não foram relevantes para o controle metabólico, embora tenha se evidenciado uma melhora na RI de pacientes com intolerância à glicose²⁴.

Entende-se, por intolerância à glicose e glicemia de jejum alterada segundo os valores basais e a interpretação dos resultados após a realização do teste oral de tolerância à glicose (TOTG), os seguintes valores: Glicemia de jejum alterada (mg/mL): >100 e <126 valores basais ou 2h após o TOTG <140 e Intolerância à glicose (mg/mL): < 126 valores basais ou 2h após o TOTG > 140 e < 200. Ambos são fatores de risco para o desenvolvimento do DM2⁵¹.

Apesar de muitos estudos observacionais terem demonstrado associação entre baixos níveis de 25(OH)D3 e aumento do risco para desenvolvimento de diabetes, o maior desafio está em demonstrar se a suplementação de vitamina D melhora a homeostase glicêmica e previne a progressão do pré-diabetes para o diabetes ou se ela pode melhorar o controle do diabetes já estabelecido. Alguns estudos notaram que a secreção de insulina é melhorada quando a VD é utilizada dentro dos três primeiros anos de

diagnóstico do diabetes, a qual suporta a ideia de que a suplementação não possa ser benéfica uma vez que as células β já tenham entrado em exaustão¹⁸.

Uma meta-análise, que envolveu 44,161 indivíduos não diabéticos, com uma duração de aproximadamente 4 meses e suplementação mediana de 4000 UI/dia de VD, demonstrou redução significativa da GJ, I, do HOMA-IR, além do aumento dos níveis dessa vitamina. Não foi encontrado nenhum efeito da suplementação da VD sobre a incidência de DM2, mas sugeriu-se que há um possível efeito dose-resposta da suplementação de VD na melhoria da glicemia e metabolismo da insulina entre adultos não diabéticos²⁰.

4.14 – Vitamina D no tratamento glicêmico do DM2

Como já dito anteriormente, a VD parece ter ação sobre a secreção de insulina, sensibilidade insulínica e inflamação crônica. Além do mais, a expressão de RVD nas células β e sua habilidade em produzir $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, sugerem ações autócrina e parácrina^{16-18,27}.

De acordo com o supracitado, as potenciais implicações terapêuticas desses achados levaram e ainda conduzem a muitos estudos, demonstrando melhoras significativas na glicemia de jejum, insulina e HOMA-IR após suplementação de VD em estudos observacionais¹⁷. Porém, tais efeitos não têm sido confirmados em todos os estudos de intervenção. Os resultados de pequenos ensaios clínicos e análises *post hoc* de grandes estudos de intervenção sobre o efeito da suplementação de VD, com ou sem cálcio, sobre a homeostase glicêmica, têm sido inconsistentes^{20,21,23,27}.

Tentando-se determinar se a suplementação de VD, com ou sem cálcio, melhoraria a homeostase glicêmica em 92 adultos com risco para DM2, um estudo placebo controlado, randomizado e duplo-cego, distribuiu a amostra em

4 grupos (vitamina D + cálcio), (vitamina D + placebo), (cálcio + placebo) e (placebo + placebo), nos quais os pacientes receberam colecalciferol (2000 UI uma vez ao dia), ou carbonato de cálcio (400 mg duas vezes ao dia) por 16 semanas. Os resultados mostraram que a suplementação com VD, mas não com cálcio, melhorou a função da célula beta pancreática e houve somente um ténue efeito sobre a atenuação da HbA1c. Entretanto, a suplementação com colecalciferol não melhorou o controle glicêmico em pacientes com níveis séricos normais de 25(OH)D₃²⁷.

Tentando-se esclarecer o potencial efeito da suplementação de VD, o *SUNNY Trial*, um estudo randomizado duplo-cego, placebo controlado foi desenhado. Neste estudo, com 275 voluntários diabéticos tipo 2, foi avaliada a suplementação de VD sobre a HbA1c e concluiu-se um benefício significativo no sexto mês sobre o controle glicêmico, somente naqueles voluntários severamente deficientes da vitamina^{17,25}.

Já com resultados discordantes, meta-análise recente com 23 estudos randomizados, também realizado pelo mesmo grupo de pesquisadores do *SUNNY Trial*, que incluiu 1797 voluntários, não encontrou nenhuma evidência que suportasse a melhoria no controle glicêmico de pacientes com DM2. Porém, na análise de subgrupos, houve um efeito favorável na glicemia de jejum daqueles voluntários com pobre controle glicêmico^{17,26}.

Atuais evidências, mostram alguns resultados otimistas em alguns subgrupos populacionais tais como mulheres na pós-menopausa, hipogonádicos hipogonadotróficos, deficientes renais, encorajando sua suplementação, quando em estados de deficiência, segundo a definição pelo IOM¹⁷.

4.15 - Diabetes Mellitus, Deficiência de Vitamina D e o Envelhecimento feminino

Em 2015, a IDF estimou que 8,8% (intervalo de confiança [IC] de 95%: 7,2 a 11,4) da população mundial com 20 a 79 anos de idade (415 milhões de pessoas) vivia com diabetes. Caso as tendências atuais persistam, a estimativa mundial de sua prevalência é superior a 642 milhões de pessoas em 2040. Cerca de 75% dos casos são de países em desenvolvimento, nos quais deverá ocorrer o maior aumento dos casos de diabetes nas próximas décadas^{19,52,53}.

Apesar de sua abordagem terapêutica ter melhorado nas últimas décadas, por meio da melhor compreensão de sua fisiopatologia e desenvolvimento de fármacos que atuam nas diversas etapas dessa doença, a explosão de novos casos suscita a necessidade do conhecimento de novos alvos terapêuticos na sua fisiopatologia e intervenções clínicas, para a prevenção e tratamento dessa epidemia⁴. Também, soma-se o fato de que a mulher no período pós-menopausal está susceptível ao desenvolvimento da SM⁴⁰.

A hipovitaminose D contribui para diversas comorbidades tais como a osteomalácia, osteoporose, quedas e fraturas. Além do mais, muitas são as evidências que sugerem a influência da VD em condições patológicas não-esqueléticas, incluindo DCV, câncer, desordens autoimunes, aumento da resistência à insulina e ao DM2^{1,2,7,12,54}.

O reconhecimento da presença de RVD e da enzima CYP27B1 em mais de 40 tipos de células humanas, traz a menção de que a VD tenha um papel peculiar na regulação de numerosos processos metabólicos, tais como obesidade, intolerância à glicose e DM2, hipertensão arterial e dislipidemia

aterogênica. Tais comorbidades também são comuns no período pós-menopausal. Somando-se a isso, o aumento da gordura corporal e obesidade estão associados com baixos níveis circulantes de 25(OH)D₃^{2,6,34,39}.

Importante se torna ressaltar que, em muitos dos estudos apresentados não foram relatadas as alterações medicamentosas realizadas no tratamento do DM2, que diferentes e incomuns doses de VD foram administradas, que houve diferenças no IMC dos participantes e nos valores basais de 25(OH)D₃ no início dos estudos, e que não houve a consideração de fatores genéticos e ambientais, como por exemplo, a dieta seguida por cada integrante. Fatores esses, que podem ter contribuído para a divergência nos resultados encontrados.

Nos últimos anos, o Brasil vem apresentando um novo padrão demográfico que se caracteriza pela redução da taxa de crescimento populacional e por transformações profundas na composição de sua estrutura etária, com um significativo aumento do contingente de idosos. O Instituto Brasileiro de Geografia Estatística (IBGE), em novembro de 2018, projetou a expectativa de vida da mulher brasileira até 79 anos, estando a mesma mais susceptível ao desenvolvimento de doenças crônicas⁵⁵.

Assim, este projeto visa analisar a relação do uso de colecalciferol em mulheres na pós-menopausa e diabéticas, com a homeostase glicêmica e com o consequente controle metabólico das mesmas, redução dos riscos cardiovasculares como, também, estimar se os valores de 25(OH)D₃ oferecem benefício clínico para esta população.

5 – HIPÓTESE

Vitamina D pode participar no controle do DM2.

6 - DETALHAMENTO METODOLÓGICO

Trata-se de um estudo longitudinal, pareado, onde as pacientes foram controles delas mesmo. O tamanho amostral foi baseado no estudo de Mitri J, Dawson-Hughes B, Hu FB, Pittas AG, em 2011, no qual se encontrou uma média para a resposta aguda de insulina à glicose (AIRg) de 15 ± 50 (um.L-1.min), um nível de confiança de 95% e um poder de 80%. A AIRg é a medida da área sob a curva de insulina, acima da linha de base, durante os primeiros 10 minutos após uma infusão intravenosa de glicose. O trabalho de Mitri et al. demonstrou que a suplementação de VD poderia ter uma participação no retardo da história natural do DM2, por ter ocorrido melhora da glicemia pós-prandial, consistente com a melhora da AIRg²⁷. Para o nosso estudo, calculou-se um tamanho da amostra de, no mínimo, 89 mulheres. No entanto, prevendo-se uma perda ao longo do tempo em torno de 10 a 15%, decidiu-se recrutar pelo menos 100 mulheres.

A pesquisa foi conduzida no ambulatório de Endocrinologia do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente - Fernandes Figueira (IFF/Fiocruz), após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e todas as participantes terem concordado e assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

6.1 - Considerações éticas

As voluntárias leram e assinaram o TCLE anteriormente à participação no estudo, de acordo com a Declaração de Helsinki. O protocolo do estudo foi aprovado pelo comitê de ética local (CAAE: 36698514.1.0000.5269).

6.2 – População de estudo

A amostra do estudo foi proveniente de uma prévia seleção de pacientes cadastradas no Banco de Dados do mesmo ambulatório, que já possuíam diagnóstico de DM2 e estivessem na menopausa, com indicação de suplementação de VD por osteoporose e ou baixa massa óssea, após entrevista e confirmação diagnóstica laboratorial. Foram entrevistadas 128 voluntárias. Como as mesmas voluntárias já possuíam indicação do uso de vitamina D bem estabelecido, não foi realizado o cadastro no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos. Houve, somente, aumento da dose preconizada.

As pacientes pós-menopáusicas, com diagnóstico de DM2 que ainda permanecem no ambulatório, são reagendadas a cada trimestre, salvo exceções, quando se reavalia a periodicidade de acordo com a gravidade de seu estado clínico. As pacientes que possuam risco de quedas ou diagnóstico de osteoporose ou osteopenia com fraturas, já possuem a indicação de reposição ou suplementação de colecalciferol e o fazem na dose de 600 UI/dia a 800 UI/dia, conforme indicado pelas principais sociedades de acompanhamento da Osteoporose. Entretanto, essas doses começam a serem revistas. Pacientes que fazem terapia de reposição hormonal da menopausa, em princípio, não possuem essa indicação de suplementação, visto que a reposição com estrogênio tenta manter essa saúde óssea permitindo também a absorção de cálcio a nível intestinal.

6.3 - Critérios de elegibilidade

Para o estudo foram adotados os seguintes critérios diagnósticos para DM2: glicemia de jejum em dois momentos $\geq 126\text{mg/dL}$ após jejum de 8h, glicemia 2h após TOTG $\geq 200\text{mg/dL}$, ou sinais e sintomas de hiperglicemia

com glicemia $\geq 200\text{mg/dL}$ em qualquer horário do dia⁵². A utilização da HbA1c $\geq 6,5\%$ isoladamente, não serviu como diagnóstico.

Para o diagnóstico de menopausa foram adotados os seguintes critérios: elevação do FSH ≥ 40 , acompanhado por hipoestrogenismo e ausência de ciclo menstrual num período ≥ 1 ano³⁹.

6.4 - Critérios de Inclusão

Mulheres na pós-menopausa, com diagnóstico confirmado de DM2 e que já possuísem indicação de suplementação de vitamina D.

6.5 - Critérios de exclusão

Usuárias de glicocorticoides, anticonvulsivantes, usuárias de suplementos que contenham cálcio ou vitamina D, portadoras de hepatopatia, nefropatia com insuficiência renal grau III, usuárias de medicação antirretroviral para HIV, usuárias de insulina, aquelas com diagnóstico de hiperparatireoidismo, hipercalcemia, linfomas, doenças granulomatosas, diagnóstico de neoplasia atual.

Tivemos, no total, 52 voluntárias excluídas: 4 possuíam diagnóstico de intolerância à glicose, 27 suplementavam cálcio juntamente com vitamina D, 3 utilizavam glicocorticoides, 1 usuária de medicação antirretroviral, 1 possuía estava sob investigação para câncer de mama, 1 usuária de anticonvulsivante, 15 usuárias de insulina.

O total de perdas foram 32, pois 11 voluntárias desistiram de participar devido problemas de locomoção e violência na cidade do Rio de Janeiro; não conseguimos contato com 19 devido cadastro não atualizado e 2 voluntárias já haviam falecido durante o período de convocação para entrevista.

Descontinuaram 4 voluntárias, por terem tido diagnósticos de infecção por Zika e Chikungunya, tendo sido necessário o uso de glicocorticoides. Vide Figura 3. Fluxograma da Coleta de Dados.

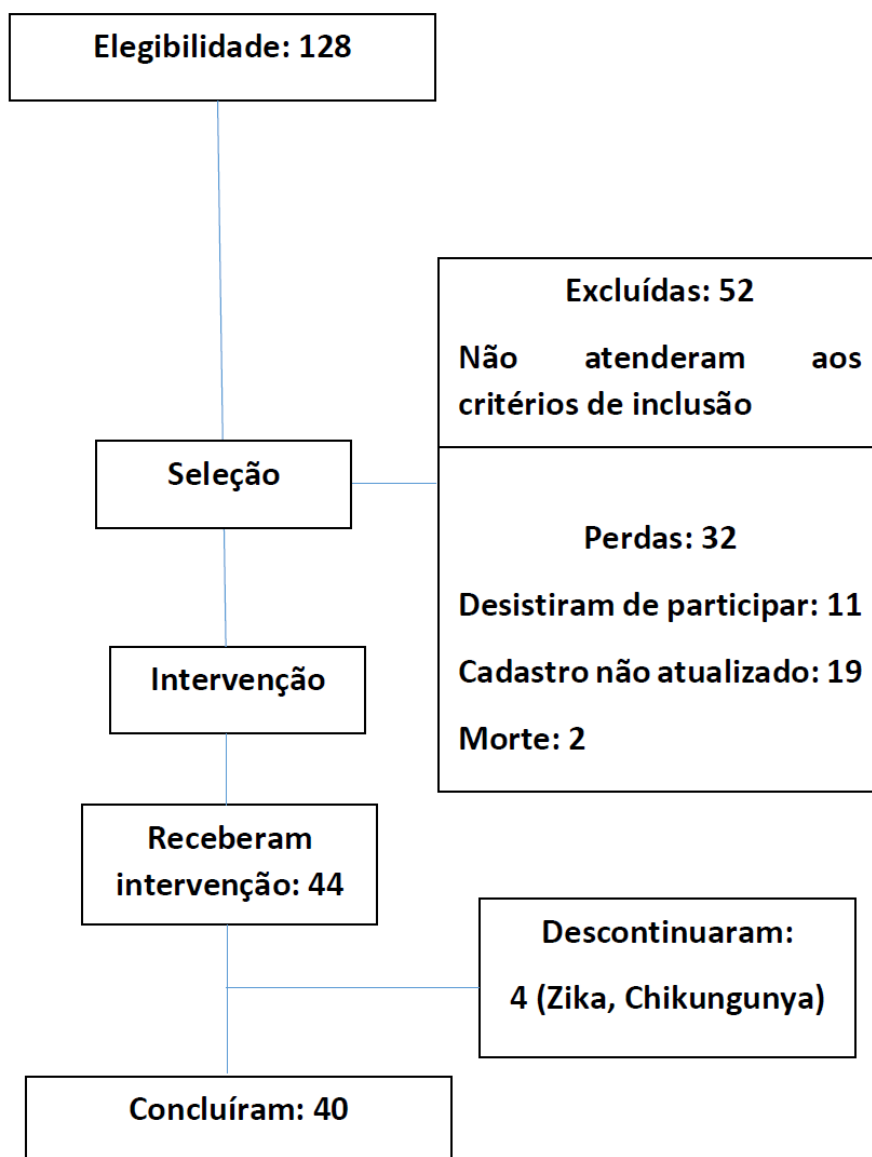


Figura 3. Fluxograma da Coleta de Dados

6.6 - Variáveis de avaliação clínica e da composição corporal

Mensurações de IMC, Massa Corporal (Kg), Altura (m), Circunferência de Cintura (CC), Relação Cintura-Quadril (RCQ), Pressão Arterial Sistólica (PAS), Pressão Arterial Diastólica (PAD) Área de Gordura Visceral (AGV).

Utilizou-se o aparelho de análise de composição corporal *InBody 720*[®] (sistema tetrapolar com 8 eletrodos tácteis, sistema de medição direta e segmentar em braços, pernas e tronco), representante comercial no Brasil - Ottoboni Comércio e Importação Ltda. CNPJ: 01.073.371/0001-66, fabricante Biospace - Coreia do Sul. Análise por bioimpedância elétrica é um método para se quantificar a composição corporal pela introdução de uma corrente elétrica através do corpo. A impedância pode ser calculada pela mensuração da corrente e voltagem, baseada sobre lei de Ohm ($IR=V/I$). Devido a água corporal ser considerada o único componente com condutividade elétrica, quando a corrente passa através do corpo, a impedância desta água pode ser mensurada. Com este valor de impedância, o volume corporal de água é calculado.

Impedância é a força opositora contra o fluxo da corrente. A gordura corporal, comparada à água corporal tal como sangue, tem uma condutividade muito menor e relativamente, uma elevada impedância. O *InBody 720*, usa o método de análise de impedância bioelétrica, podendo mensurar a impedância em cada membro e tronco separadamente. A validade da bioimpedância para composição corporal tem sido previamente documentada^{8,56}. Foi solicitado às voluntárias: 1) usarem roupas confortáveis; 2) manterem jejum de 12h previamente ao teste; 3) não ingerirem água e permanecerem em repouso por 2h previamente ao teste; 4) eliminação das excreções fisiológicas (urina e fezes) antes do teste; 5) não usar nenhum metal ou acessório (anéis, brincos, braceletes, cordões); 6) não realizar nenhuma atividade física 24h antes do teste. A altura corporal foi mensurada com um estadiômetro (*Stadiometer Seca 208 Bodymeter*) e CC e circunferência de quadril (CQ) foram mensuradas com

fita antropométrica. A CC foi mensurada na metade da distância média entre a crista ilíaca e a margem costal inferior. A pressão sanguínea foi avaliada pelo aparelho automático (*Welch Allyn Durashock DS44-BR*) do braço direito, na posição sentada, após repouso de 5 minutos. A hipertensão foi definida como pressão sistólica ≥ 140 mmHg ou pressão diastólica ≥ 90 mmHg ou história previamente conhecida e uso de medicação.

6.7 - Variáveis laboratoriais

Coleta no início do estudo: FSH e TOTG naquelas que se fizeram necessário, para confirmação diagnóstica do DM2. Trimestralmente: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), ureia, creatinina, Ca^{++} , P^+ , Mg^{++} , HbA1c, glicemia de jejum (GJ), insulina jejum (I), Colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL-c) e triglicerídeos (TG). Semestralmente: 25(OH)D3, Proteína C reativa (PCR). As análises laboratoriais seguiram o mesmo protocolo de acompanhamento laboratorial e ambulatorial de pacientes em tratamento e acompanhamento de DM2.

As mensurações sanguíneas foram realizadas pela manhã, após 12 horas de jejum noturno. Os principais parâmetros de desfecho e metodologias analíticas foram: GJ por método oxidase, HbA1c (sensibilidade 1,3% e linearidade 18,9%) por cromatografia líquida de alta resolução, 25(OH)D3 (sensibilidade 3,4 ng/mL e linearidade 155,9 ng/mL) e insulina jejum (sensibilidade 0,1 mcUI/mL linearidade 300,0 mcUI/mL) por ensaios quimioluminescentes, PCR por nefelometria, CT e TG por esterase oxidase, HDL-c por seleção direta todos os kits Wiener Laboratorios S.A.I.C. Riobamba 2944 – 2000 – Rosario - Argentina. O Modelo de Avaliação Homeostática (HOMA) foi utilizado para determinar a resistência insulínica (HOMA-IR) e a

função da célula β (capacidade secretória de insulina) (HOMA- β), usando-se as fórmulas calculadas⁷:

Fórmula 1. HOMA-IR

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{insulina de jejum (IU/ml)} \times \text{glicose de jejum}}{22.5}$$

Fórmula 2. HOMA- β

$$\text{HOMA-}\beta = \frac{20 \times \text{insulina de jejum (IU/ml)} \%}{\text{Glicose de jejum} - 3.5}$$

Devido as nossas unidades de glicemia de jejum e insulina de jejum não serem as mesmas das fórmulas originais, utilizamos como fórmulas substitutas as que se seguem, além da calculadora HOMA.

Fórmula 3. HOMA-IR modificada

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Insulina de jejum (mUI/ml)} \times \text{GJ (mg/dl)}}{405}$$

Fórmula 4. HOMA- β modificada

$$\text{HOMA-}\beta = \frac{360 - \text{Insulina jejum (mUI/ml)}}{\text{GJ (mg/dl)} - 63}$$

Calculadora HOMA

Glicose plasmática: 3,5 a 25 nmol/l ou 54 a 450 ng/dl-(mg/dl x 0.0555 = mmol/l)

Insulina plasmática: 20 a 400 pmol/l - (mUI/l x 7.175 = pmol/l)

mUI/l = UI/l

A análise da suplementação de colecalciferol com a homeostase glicêmica foi realizada por um período de 2 anos. Consideramos como homeostase glicêmica a relação da 25(OH)D3 com as seguintes variáveis (GJ, I, HbA1c, HOMA-IR e HOMA- β). Inicialmente, essas mulheres receberam a dose de 1000 UI/dia, sob a forma de gotas que correspondessem às doses ou

comprimidos idem e, após 12 meses, a dose foi de 2000 UI/dia, também por um período de 12 meses. Todas as amostras utilizadas foram por meio de doação e armazenadas no setor de Farmácia do IFF-Fiocruz. Vide figura 4 – Linha do Tempo das Dosagens das Variáveis de Desfecho.

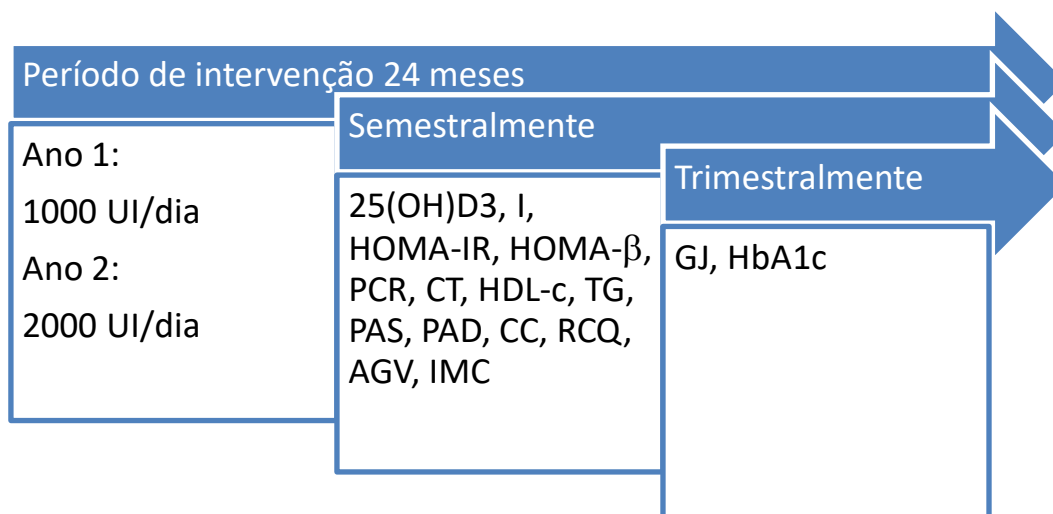


Figura 4. Linha do Tempo das Dosagens das Variáveis de Desfecho

Legenda: 25(OH)D3: vitamina D; I: insulina, HOMA-IR: índice de resistência à ação da insulina; Homa-β: índice de secreção de insulina pelas células β; PCR: proteína C reativa; CT: colesterol total; HDL-c: HDL colesterol; TG: triglicerídeos; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; CC: circunferência de cintura; RCQ: relação cintura quadril; AGV: área de gordura visceral; IMC: índice de massa corporal; GJ: glicemia de jejum; HbA1c: hemoglobina glicada.

6.8 - Escolha da dose administrada

As doses foram escolhidas a partir da literatura disponível, na qual recomendava-se que, nos casos de suficiência (níveis maiores ou iguais a 30 ng/dL) uma dose de 1000 UI/dia seria necessária para sua manutenção e nos casos de insuficiência ou deficiência, uma dose de 2000 UI/dia, dependentes da etnia. Essas são doses que se mostraram bastante seguras para administração, sem a ocorrência de efeitos colaterais e, ao mesmo tempo, superiores às estabelecidas nos consensos para a prevenção de quedas, que são da ordem de 600-800 UI/dia.

6.9 - Desenvolvimento do estudo

Quarenta mulheres diabéticas na pós-menopausa, idades entre $63,84 \pm 7,56$ anos, receberam colecalciferol 1000 UI/dia por 12 meses e 2000 UI/dia por outros 12 meses. As voluntárias foram submetidas a exames de sangue em jejum, avaliação antropométrica de composição corporal e exames clínicos a cada 3 meses, e recebiam nova quantidade de comprimidos. As medidas para análise do desfecho foram realizadas nos seguintes momentos: pré-experimento (P0), 12 meses após (P12) e 24 meses após (P24). Os desfechos primários foram a avaliação dos níveis sanguíneos da suplementação da 25(OH)D3, glicemia de jejum (GJ), hemoglobina glicada (HbA1c), insulina de jejum (I), resistência à ação da insulina avaliada pelo Modelo de Avaliação de Homeostase (HOMA-IR) e capacidade secretória de insulina (HOMA- β), os quais consideramos como homeostase glicêmica e colesterol total (CT), HDL colesterol (HDL-c), triglicerídeos (TG), proteína C reativa (PCR). Os desfechos secundários pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD), circunferência cintura (CC), razão cintura-quadril (RCQ), área de gordura visceral (AGV), índice de massa corporal (IMC).

6.10 - Controle de Vieses

A adesão ao tratamento foi avaliada pela equipe, por questionamento à voluntária durante contatos telefônicos quinzenais e contagem dos comprimidos às consultas. Pacientes permaneceram com a mesma dieta, previamente orientada para o controle do DM2 no ambulatório, e não foi permitido nenhuma suplementação nutricional adicional. As medicações utilizadas foram glibenclamida e ou metformina, na grande maioria das voluntárias. Para aumentar a validade do estudo, e por uma falta no consenso

em se definir qual o melhor nível de 25(OH)D3, a concentração plasmática de 25(OH)D3 não foi um critério de inclusão ou exclusão. As pacientes foram controles delas mesmo, neste estudo pareado.

Anteriormente à intervenção, todas as voluntárias foram avaliadas ambulatorialmente por nutricionista e instituído plano alimentar, o qual não foi modificado durante os 24 meses.

6.11 – Benefícios esperados

Avaliar a influência da suplementação com 25(OH)D3 no controle glicêmico de mulheres na pós-menopausa, com diagnóstico de DM2.

Determinar a viabilidade da suplementação de colecalciferol, via oral, como terapia auxiliar na prevenção de agravos macrovasculares relacionados ao DM2 ou mesmo no tratamento do controle glicêmico de mulheres diabéticas idosas. Utilizamos para isso as medidas de PCR, PAS, PAD, CC, RCQ, CT, TG.

6.12 – Riscos inerentes ao estudo

A vitamina D é lipossolúvel e armazenada no tecido adiposo. Sabemos do risco inerente à sua toxicidade causado por uma hipercalcemia, tais como (hipertensão, problemas gastrointestinais, anorexia, vômitos, náuseas, prurido, alterações do sistema nervoso central, insuficiência renal nos casos extremos), ou seja, esse quadro clínico foi excluído mediante avaliações física e laboratorial regulares, conforme proposto durante todo o período da pesquisa.

6.13 - Análise Estatística

Todos os dados são apresentados como média e desvio padrão. Inicialmente, foram realizadas medidas descritivas para a caracterização da

amostra, em seguida o teste de normalidade e homocedasticidade Kolmogorov Smirnov para verificar se as amostras estavam distribuídas de forma homogênea.

Para a comparação das médias que apresentaram normalidade foi utilizado o F teste paramétrico, ANOVA de um fator, para verificar as possíveis diferenças no tempo para os desfechos primários (P0 vs. P12 vs. P24) ou para os desfechos secundários (P0 vs. P6 vs. P12 vs. P18 vs. P24) e em caso de F significativo, um *post-hoc* de Bonferroni para análise das comparações múltiplas entre os tempos. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Para as variáveis que não apresentaram normalidade (PCR) foi utilizado o K teste não-paramétrico, Kruskal-Wallis para verificar as possíveis diferenças no tempo para os desfechos primários (P0 vs. P12 vs. P24) ou para os desfechos secundários (P0 vs. P6 vs. P12 vs. P18 vs. P24) e em caso de K significativo, um *post-hoc* de Mann-Whitney para análise das comparações múltiplas entre os tempos. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

O software IBM SPSS 24.0 foi utilizado para todas as análises estatísticas.

7 – RESULTADOS

A primeira análise estatística foi a descritiva com média e desvio padrão (média \pm desvio padrão) das variáveis da coleta de dados, Tabela 2. Características Basais da População.

Tabela 2. Características Basais da População

	Média	±	DP	K-S
Idade (ano)	63,84	±	7,56	0,07
Estatura (m)	1,54	±	0,04	0,20
Massa Corporal (kg)	70,52	±	14,03	0,05
Circunferência de Cintura (cm)	96,03	±	10,39	0,09
Circunferência de Quadril (cm)	101,87	±	9,01	0,18
Relação Cintura-Quadril	0,92	±	0,08	0,19
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	29,99	±	5,33	0,20
Área de Gordura Visceral (cm ²)	117,37	±	28,51	0,20
Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	136,47	±	26,5	0,05
Pressão Arterial Diastólica (mmHg)	83,23	±	14,5	0,05
Vitamina D sérica (ng/mL)	27,99	±	9,23	0,09
Glicose em Jejum (mg/dL)	124,63	±	26,51	0,18
Insulina (mcUI/mL)	8,71	±	2,99	0,20
HOMA-IR	2,74	±	1,25	0,14
HOMA- β	58,04	±	26,24	0,15
Hemoglobina Glicada (%)	6,59	±	6,3	0,08
Proteína C Reativa (mg/dL)	0,42	±	0,41*	0,00
Colesterol Total (mg/dL)	182,15	±	39,58	0,06
Colesterol HDL (mg/dL)	46,6	±	8,97	0,20
Triglicerídeos (mg/dL)	151,15	±	52,22	0,17

Legenda: K-S: Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov.
DP – Desvio Padrão. *- p-value < 0,05.

Dentre os desfechos, nas comparações das medidas repetidas, as variáveis que mostraram resultados significativos foram a vitamina D, P0 (27,99±9,23) vs P12 (38,35±9,67), p = 0,0001; P0 (27,99±9,23) vs P24 (42,78±9,17), p = 0,0001, podendo-se inferir uma boa adesão à intervenção proposta, e os níveis de HDL-c P0 (46,61±8,97) vs P24 (58,97±10,98), p = 0,001; P12 (49,94±10,82) vs P24 (58,97±10,98), p = 0,02. Nas comparações múltiplas houve ganhos na vitamina D entre as medidas do P0 (27,99 ± 9,23) vs. P12 (38,35±9,67) e P0 (27,99± 9,23) vs. P24 (47,78 ± 9,17) com o valor de p = 0,0001; para o HDL colesterol, nas comparações múltiplas, houve

significância entre as medidas P0 (46,61 ± 8,97) vs. P24 (58,97±97) com valor de $p = 0,001$ e entre as medidas P12 (49,94 ± 10,82) vs. P24 (58,97±10,98) com valor de $p = 0,02$. Com exceção do perfil hemodinâmico da 25(OH)D3 e HDL-c nas mulheres na pós-menopausa, todas as demais variáveis de desfechos primários e secundários bioquímicos: GJ, HbA1c, I, HOMA-IR, HOMA-β, PCR, CT e TG não mostraram diferença estatística significativa, vide Tabela 3.

Tabela 3. Desfechos Primários

Variável	Tempo	Média	±	Desvio Padrão	Intervalo de Confiança 95%	
					Inferior	Superior
Vitamina D*	P0	27,99	±	9,23	24,83	31,16
	P12	38,35	±	9,67	35,04	41,81
	P24	42,78	±	9,17	39,51	46,08
Glicemia em Jejum	P0	124,63	±	26,51	115,6	133,9
	P12	126,84	±	39,01	114,3	141,6
	P24	116,80	±	25,55	108,3	125,9
Insulina	P0	8,72	±	3,00	7,69	9,72
	P12	8,62	±	2,65	7,73	9,46
	P24	9,06	±	2,72	8,07	10,00
HOMA-IR	P0	2,75	±	1,26	2,3	3,2
	P12	2,75	±	1,44	2,3	3,3
	P24	2,66	±	1,17	2,3	3,1
HOMA-β	P0	58,05	±	26,25	48,7	67,2
	P12	72,36	±	68,13	52,7	98,7
	P24	73,53	±	37,4	60,8	87,7
Hemoglobina Glicada	P0	6,60	±	1,26	6,2	7,1
	P12	6,59	±	1,14	6,2	7,0
	P24	6,45	±	0,78	6,2	6,7
Proteína-C Reativa	P0	0,42	±	0,42	0,3	0,6
	P12	0,37	±	0,33	0,3	0,5
	P24	0,42	±	0,30	0,3	0,5
Colesterol Total	P0	182,15	±	39,59	168,6	195,9
	P12	178,13	±	35,12	166,5	190,1
	P24	191,58	±	44,87	177,0	209,0
Colesterol HDL**	P0	46,61	±	8,97	43,7	49,7
	P12	49,94	±	10,82	46,4	54,0
	P24	58,97	±	10,98	55,0	63,4
Triglicerídeos	P0	151,15	±	52,23	134,1	170,1
	P12	138,19	±	59,28	118,6	160,2
	P24	129,13	±	55,55	110,8	151,7

Resultados das comparações múltiplas: 25(OH)D3* P0 vs P12, $p = 0,0001$; P0 vs P24, $p = 0,0001$; HDL-c** P0 vs P24, $p = 0,001$; P12 vs P24, $p = 0,02$

Apresentamos os resultados das medidas repetidas e comparações múltiplas para as variáveis de desfecho primário, que tiveram significância estatística: 25(OH)D3 (gráficos 1 e 2) e HDL-c (gráficos 3 e 4).

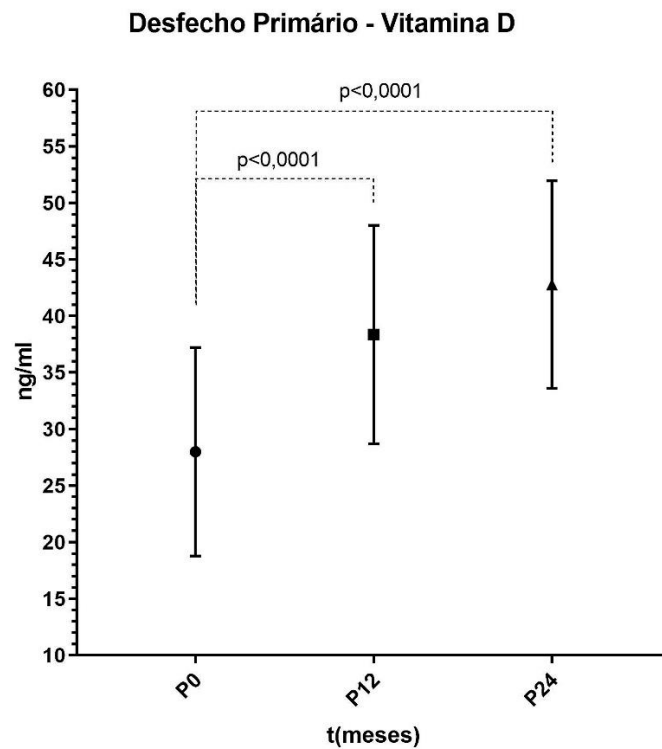


Gráfico 1. Comparações das medidas repetidas 25(OH)D3

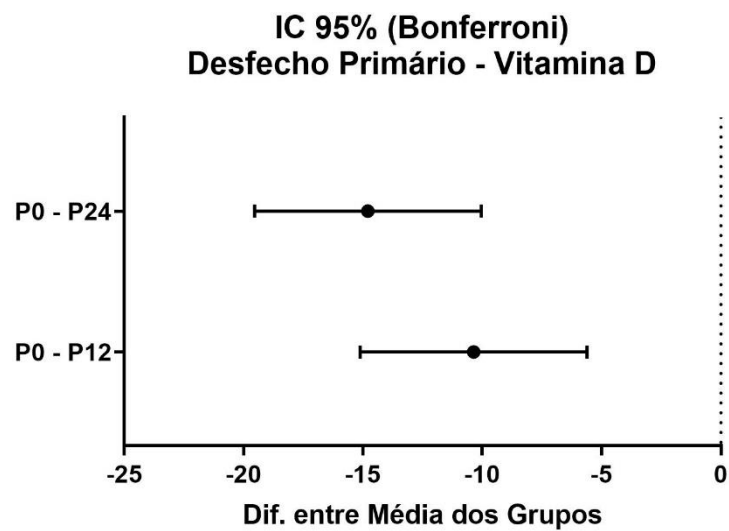


Gráfico 2. Diferença entre as médias dos grupos 25(OH)D3

Desfecho Primário - Colesterol HDL

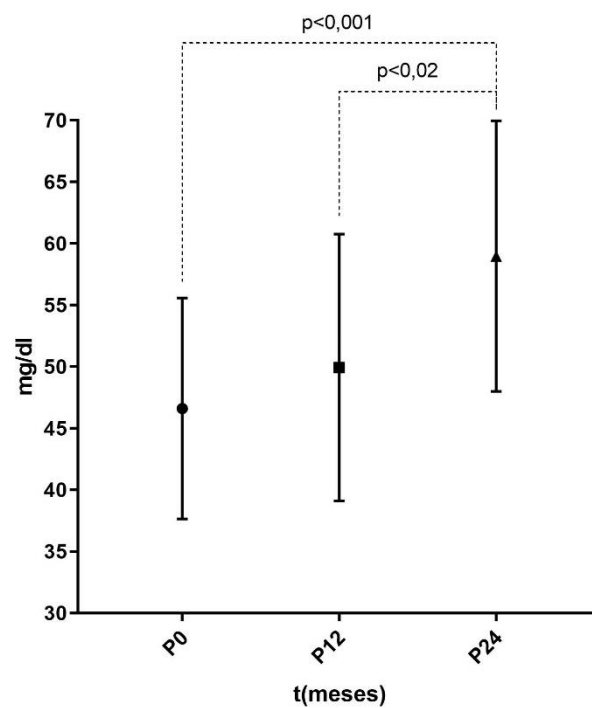


Gráfico 3. Comparação das medidas repetidas HDL-c

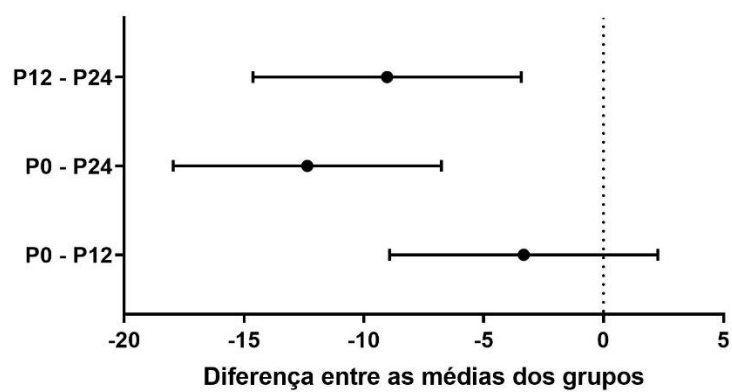
IC 95% (Bonferroni)
Desfecho Primário - Colesterol HDL

Gráfico 4. Diferença entre as médias dos grupos HDL-c

Por último, foram realizadas as análises das demais variáveis, que são as modificações na composição corporal e níveis tensionais ao longo dos 24 meses com a suplementação de colecalciferol.

Nas comparações das médias para a verificação das possíveis diferenças no tempo P0 ($83,24 \pm 14,51$) vs. P6 ($77,94 \pm 10,38$) vs. P12 ($77,42 \pm 9,99$) vs. P18 ($78,39 \pm 6,38$) vs. P24 ($75,81 \pm 6,72$) os resultados da ANOVA demonstraram que as voluntárias tiveram modificações significativas apenas PAD, valor de $p = 0,044$. Nas comparações múltiplas houve alteração entre as medidas P0 ($83,24 \pm 14,51$) vs. P24 ($75,81 \pm 6,72$) com o valor de $p = 0,037$.

As comparações das médias para a verificação das possíveis diferenças nos diversos tempos e a análise das comparações múltiplas das variáveis PAS, CC, RCQ, AGV e IMC não tiveram resultados significativos, vide Tabela 4.

Tabela 4. Desfechos Secundários

Variável	Tempo	Média	±	Desvio Padrão	Intervalo de Confiança 95%	
					Inferior	Superior
Circunferência de Cintura (cm)	P0	94,11	±	13,28	89,48	98,75
	P6	91,53	±	12,26	87,25	95,81
	P12	90,92	±	13,65	85,91	95,93
	P18	90,80	±	11,58	86,55	95,04
	P24	91,60	±	12,44	87,03	96,16
Circunferência de Quadril (cm)	P0	101,87	±	9,01	98,73	105,02
	P6	102,71	±	8,15	99,87	105,56
	P12	103,59	±	9,49	100,11	107,07
	P18	100,26	±	7,95	97,34	103,17
	P24	102,10	±	9,52	98,60	105,59
Relação Cintura-Quadril	P0	0,92	±	0,09	0,89	0,95
	P6	0,89	±	0,08	0,86	0,92
	P12	0,88	±	0,08	0,85	0,90
	P18	0,90	±	0,07	0,88	0,93
	P24	0,90	±	0,08	0,87	0,92
Índice de Massa Corporal (IMC)	P0	29,99	±	5,34	28,13	31,85
	P6	29,90	±	5,26	28,06	31,73
	P12	29,86	±	5,30	27,92	31,81
	P18	29,38	±	5,03	27,54	31,23
	P24	29,73	±	5,19	27,83	31,64
Área de Gordura Visceral	P0	117,38	±	28,51	107,43	127,33
	P6	117,28	±	27,21	107,79	126,77
	P12	119,61	±	28,42	109,18	130,03
	P18	115,15	±	24,92	106,02	124,29
	P24	119,53	±	27,49	109,44	129,61
Pressão Arterial Sistólica	P0	136,47	±	26,50	127,22	145,72
	P6	126,76	±	18,21	120,41	133,12
	P12	126,45	±	17,80	119,92	132,98
	P18	125,81	±	15,66	120,06	131,55
	P24	123,55	±	14,27	118,31	128,78
Pressão Arterial Diastólica*	P0	83,24	±	14,51	78,17	88,30
	P6	77,94	±	10,38	74,32	81,56
	P12	77,42	±	9,99	73,76	81,08
	P18	78,39	±	6,38	76,05	80,73
	P24	75,81	±	6,72	73,34	78,27

Resultado das comparações múltiplas: PAD* P0 vs P24, $p = 0,037$

Os resultados gráficos das medidas repetidas e comparações múltiplas para a variável de desfecho secundário que teve significância estatística, PAD, são os gráficos 5 e 6.

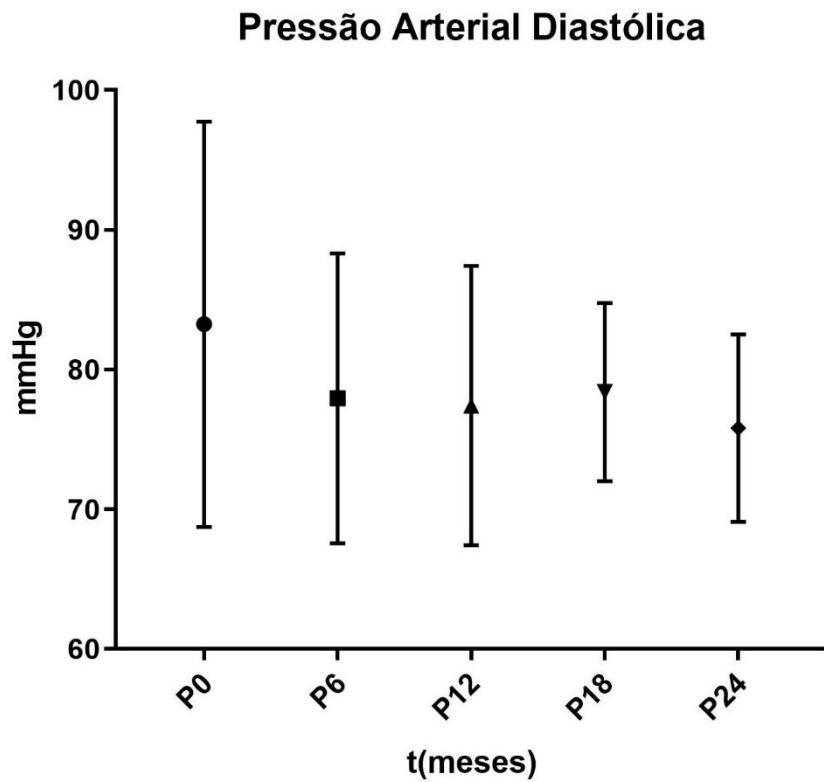


Gráfico 5. Comparação das medidas repetidas PAD

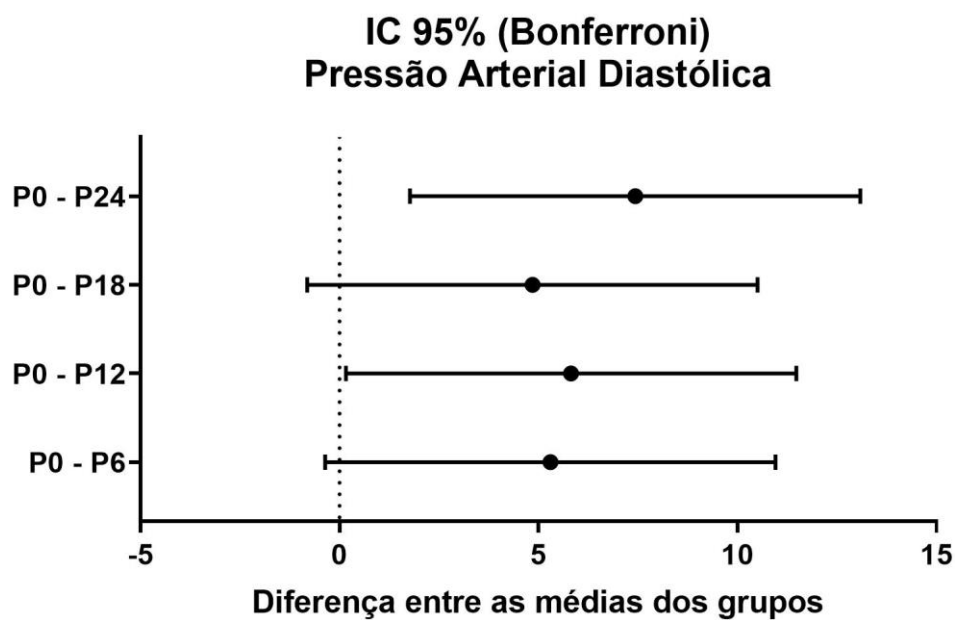


Gráfico 6. Diferença entre as médias dos grupos PAD

8 – DISCUSSÃO

O presente estudo, baseado na literatura científica vigente, teve como objetivo principal avaliar a influência da suplementação de colecalciferol em mulheres na pós-menopausa e diabéticas, com a homeostase glicêmica, num período de 2 anos. Todas as voluntárias, por estarem no período da pós-menopausa, tinham indicação da profilaxia na redução do risco de quedas, prevenção ou tratamento da osteoporose. Desta forma, não sendo necessário o registro do trabalho no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC).

Dentre os resultados encontrados, para os desfechos primários analisados, as variáveis que mostraram resultados significativos foram níveis de 25OHD e níveis de HDL-c. Todas as demais variáveis de desfechos primários não mostraram diferença estatística significativa. Dentre as variáveis de desfecho secundário, somente a PAD mostrou resultado significativo.

Sabe-se que a dislipidemia é um dos maiores fatores de risco para DCV e tem sido proposto que a deficiência de VD esteja associada a um maior risco de DCV por diferentes vias, incluindo os níveis de lipídeos. Estudos mostram que heterozigotos com hipercolesterolemia familiar sofrem mais de deficiência de VD, corroborando com esta hipótese. Adicionalmente, uma associação entre a deficiência de vitamina D e dislipidemia tem sido reportada em grandes populações, mas ainda há controvérsias. Dados do Tromsø Study mostraram uma forte e positiva associação entre níveis séricos de 25(OH)D3 e HDL-c, apesar da causa desta associação permanecer ainda desconhecida³⁶. Todos os estudos observacionais têm tido um desenho transversal e não puderam esclarecer a direcionalidade da associação⁵⁷⁻⁵⁹.

A VD pode afetar a dislipidemia via absorção intestinal aumentada de cálcio, supressão da secreção do PTH, ou através dos efeitos de secreção de insulina. Por outro lado, o colesterol é um precursor da 25(OH)D3 e pode afetar seus níveis circulantes. Por último, o nível adequado de VD pode ser também um mero reflexo do estado de saúde e pode não estar associada aos lipídeos sanguíneos^{12,46,57}. Em nosso estudo, conforme houve elevação dos níveis de 25(OH)D3, ocorreu também elevação dos níveis de HDL-c.

No estudo de Rotterdam foi encontrada associação bidirecional entre níveis de 25(OH)D3 e HDL-c⁵⁷. Embora o mecanismo molecular pelo qual a VD está relacionada aos níveis sérico de HDL-c não esteja completamente elucidada, polimorfismos do RVD têm sido associados com HDL-c assim como polimorfismos envolvidos no metabolismo lipídico têm sido associados com baixos níveis de HDL-c, o qual pode ser sugestivo de bidirecionalidade potencial^{57,58}. De modo inverso, Ooi et al, num estudo de randomização mendeliana mais precoce, mostrou uma associação inversa bidirecional entre HDL-c e níveis de 25(OH)D3. Especulou-se que a *up-regulation* na biossíntese do colesterol leva a um *down-regulation* da síntese de 25(OH)D3⁵⁷.

Algumas metanálises, com estudos de intervenção, sugerem que a correção da deficiência reduziria mortalidade geral^{41,60}. Entretanto, estudos de intervenção randomizados e controlados por placebo são escassos e ainda incapazes de demonstrar evidências sobre outros efeitos que vêm sendo descritos em outros sistemas, tais como imune e metabólico^{41,59}.

Há diversos mecanismos pelos quais a VD possa interferir no metabolismo da glicose, seja por sua função imunomoduladora na melhora da inflamação de baixo grau, observada na resistência insulínica do DM2 ou

através do estímulo da liberação de insulina pelas células β -pancreáticas. Elevados níveis de paratormônio (PTH), consequentes aos baixos níveis de 25(OH)D3, também têm sido implicados no prejuízo da liberação de insulina pelas células β -pancreáticas^{16,27,28}. Os metabólitos da VD, em nível periférico, podem aumentar a sensibilidade insulínica por diversas maneiras, como pelo aumento da expressão de RVD, quer pela ativação da transcrição de fatores importantes na homeostase glicêmica, ou ainda de uma forma indireta, que seria via regulação do cálcio, o qual é essencial para os processos intracelulares mediados pela insulina¹⁶. No estudo que se apresenta, ao suplementarmos colecalciferol, nenhuma alteração significativa no tempo ou entre as medidas, foi encontrada quer na redução da resistência insulínica (HOMA-IR), quer na melhora da secreção da célula β (HOMA- β) ou até nos níveis de insulina.

Estudo transversal recente, avaliando-se a associação dos níveis de 25(OH)D3 em mulheres diabéticas na pré (n=98) e pós-menopausa (n=94), com o controle glicêmico (GJ, perfil lipídico, HbA1c, insulina), demonstrou que a hipovitaminose foi mais prevalente entre as pós-menopausadas e foi significativamente associada com I ($R^2= 0.01760$, $p= 0.0008$), HbA1c ($R^2 = 0.3709$, $p = 0.0001$), e GJ ($R^2 = 0.3465$, $p = 0.0001$) no mesmo grupo. Entretanto, níveis adequados de 25(OH)D3 em ambos os grupos, foi associado à melhora do controle glicêmico⁷. Em nossa amostra, mesmo com a melhora significativa dos níveis de 25(OH)D3 no P0 (27.99 ± 9.23) vs. P 24 (42.78 ± 9.17) $p = 0.0001$, não encontramos associação de melhora das variáveis supracitadas tais como I no P0 (8.72 ± 3.0) vs. P 24 (9.06 ± 2.72) $p = 0.805$; HbA1c no P0 (6.60 ± 1.26) vs. P24 (6.45 ± 0.78) $p = 0.828$; GJ no P0 ($124.63 \pm$

26.51) vs. P24 (116.80 ± 25.55) $p = 0.406$). Certamente, um dos fatores limitantes para nossos resultados, foi o pequeno número amostral.

Nilas L e Christiansen C., em 1984, avaliaram o efeito do tratamento com 2000 UI/d de VD, por 2 anos, em 25 mulheres na pós-menopausa, para prevenção ou tratamento da perda de massa óssea, sobre a redução do peso corporal e níveis de glicose, não se encontrando nenhuma modificação dessas variáveis, quando comparado ao resultado do grupo placebo ($n=150$)⁹, indo de encontro aos nossos resultados. Para pacientes diabéticos ou com intolerância à glicose, uma metanálise com 15 ensaios, incluindo doses de VD que variavam de 400 UI a 120000UI, num período de 6 semanas a 2 anos, mostrou um pequeno efeito sobre a GJ (0.32 mmol/l , 95% CI -0.57 a -0.07) e uma pequena melhora na resistência insulínica (diferença média padrão -0.25 , 95% CI -0.48 a -0.03). Nenhuma diferença foi observada sobre a HbA1c em pacientes com diabetes e intolerância à glicose²⁸.

Numerosos estudos observacionais têm demonstrado associações entre baixas concentrações de 25(OH)D3 e elevado risco de morte por DCV^{12,46}. Apesar de alguns estudos sugerirem que a suplementação de VD melhore a função endotelial em população diabética e não diabética⁴⁶, esse achado promissor tem poucos dados disponíveis sobre o impacto vascular a longo prazo. Assim como quais doses seriam as mais adequadas e se doses mais elevadas melhorariam marcadores substitutos de DCV, como níveis de PCR e espessura médio-intimal. Evidências de causalidade a partir de ensaios randomizados para desfechos cardiovasculares foram inconclusivos ou negativos⁴⁶. No presente estudo, utilizando-se a PCR como fator de risco para

DCV, não encontramos diferenças significativas no tempo, quando avaliamos (P0 vs P12 vs P24).

Baixos níveis de 25(OH)D3, em pacientes diabéticos, predizem eventos macrovasculares, embora evidências para eventos microvasculares sejam menos robustas. A associação macrovascular pode ser atribuída a efeitos sobre a pressão arterial, atividade sobre o sistema renina-angiotensina-aldosterona, função endotelial, fator de crescimento vascular endotelial ou inflamação crônica.

Acredita-se que a angiotensina II contribua para o aumento da RI pela inibição da ação de I nos tecidos vascular e músculo esquelético, levando à diminuição da captação de glicose. Alguns dados suportam que o complexo formado por VD-RVD seja um potencial regulador da atividade de renina em humanos e, que polimorfismos no gene desse complexo possam estar associados à patogênese do DM2^{1,46,47,49}. A VD tem uma relação inversa com a atividade da renina plasmática, sendo esta uma das principais ações, por interferir no tônus vascular, no volume do fluido extracelular e na homeostase eletrolítica⁴⁷. No estudo de intervenção conduzido por Abdulridha et al., utilizando-se doses elevadas de colecalciferol (100000 UI a cada 2 semanas, por 8 semanas), mostrou uma significativa redução ($p < 0.01$) na dosagem sérica de Angiotensina II no grupo que recebeu a VD, elevação significativa dos níveis de 25(OH)D3 ($p < 0.01$) e significativa redução nos níveis da PAS e PAD ($p < 0.01$).

Numa metanálise de participação individual recente, publicado por Swart et al., onde se avaliou os efeitos da suplementação de VD sobre marcadores cardiovasculares e DM2, tais como pressão arterial, HbA1c, LDL-c, HDL-c, CT,

TG, GJ, I, peptídeo-C, PTH, e glicemia 2h após, não foram evidenciados efeitos sobre os desfechos principais como níveis tensionais (pressão sanguínea) e HbA1c. As análises de subgrupo de acordo com os níveis de 25(OH)D3 alcançados (entre 30ng/dL e 50ng/dL) mostraram uma significativa redução nas concentrações de LDL-c, após a suplementação⁶⁰. Já em nosso estudo, mesmo com valores de 25(OH)D3 alcançados semelhantes ao do estudo supracitado, tivemos resultados significativos apenas na melhoria da PAD nas comparações das médias no tempo ($p=0.044$) e nas comparações múltiplas entre as medidas ($p=0.037$). O mesmo não ocorreu na PAS.

A. Breslavsky et al., num estudo randomizado, placebo controlado, desenhado para avaliar o impacto a longo prazo da alta dose de VD sobre características arteriais, parâmetros de homeostase glicêmica, níveis circulantes de adiponectina e leptina em pacientes diabéticos dividiu em 2 grupos 47 pacientes diabéticos, no qual um deles recebeu 1000 U/d de VD , num período de 12 meses, para avaliar a parâmetros metabólicos como GJ, perfil lipídico, HbA1c, insulina, PCR, 25(OH)D3, adiponectina, leptina, índice aórtico e HOMA-IR. Os dois grupos eram hemodinamicamente semelhantes no início do estudo e, ao final de 12 meses parâmetros de homeostase glicêmica, leptina assim como a razão leptina adiponectina não se modificou em ambos os grupos. Os níveis de 25(OH)D3 aumentaram significativamente ($p=0.022$) e adiponectina circulante aumentou marginalmente ($p=0.065$) durante 12 meses de tratamento no grupo ativo, mas não no placebo⁴⁶. Em nosso estudo, não observamos reduções dos níveis de TG nem de CT, mesmo quando suplementamos com doses de 2000UI/dia e níveis de 25(OH)D3 superiores a 30ng/dl.

A relação negativa entre os níveis de 25(OH)D3 e massa gordurosa tem sido atribuída ao sequestro aumentado de VD pelos adipócitos³⁰. É desconhecido se os adipócitos simplesmente estocam VD ou a catabolizam ativamente⁵⁹ e os achados de que a suplementação de VD na dose de 1000 UI/d, por 1 ano, ocasionou mudanças no níveis circulantes de adiponectina (uma proteína especificamente expressa nos adipócitos humanos, a qual possui papel importante na sensibilidade insulínica, inflamação e aterogênese) demonstram a correlação entre os níveis de 25(OH)D3 e composição corporal⁴⁶.

Há uma associação inversa entre a 25(OH)D3 sérica e o IMC maior que 30 Kg/m². A VD é lipossolúvel e o aumento da adiposidade irá expandir a VD total, reduzindo assim a concentração total dos níveis séricos de 25(OH)D3. Por sua vez, a deficiência de VD é um fator de risco para a obesidade, pois níveis reduzidos de VD poderão levar a uma elevação secundária de PTH, o que pode promover o influxo de cálcio em adipócitos e aumentar a lipogênese e reduzir a lipólise. Além disso, a VD é capaz de inibir a diferenciação dos pré-adipócitos, através da supressão do receptor c ativado por proliferadores de peroxissoma (PPARc), provocando assim, um aumento na lipogênese quando seus níveis séricos diminuem⁵⁰. Entretanto, em nosso estudo, mesmo utilizando-se doses de suplementação de 1000 UI/d e 2000 UI/d por período de 1 ano cada, os resultados das comparações das médias para a verificação das possíveis diferenças nos diversos tempos e a análise das comparações múltiplas das variáveis CC, RCQ, AGV e IMC não tiveram resultados significativos. Entendemos que há muitos outros fatores que interferem na

determinação dessas variáveis como atividade física, ingestão alimentar, além de fatores genéticos.

Importante se torna ressaltar que, em muitos dos estudos apresentados não foram relatadas as alterações medicamentosas realizadas no tratamento do DM2, que diferentes e doses incomuns de VD foram administradas, que houve diferenças nos IMC dos participantes e nos valores basais de 25(OH)D3 no início dos estudos, e que não houve a consideração de fatores genéticos e ambientais, como por exemplo, a dieta seguida por cada integrante, além das metodologias utilizadas nas dosagens da 25(OH)D3. Alguns desses fatores, que podem ter contribuído para a divergência nos resultados encontrados, ocorreram também em nosso estudo, que. Tais limitações, podem ter gerado diversos confundidores na interpretação de nossos resultados. Procuramos reduzir nossos vieses, minimizar riscos e limitações por meio de contatos telefônicos, conferindo maior adesão, mantivemos a orientação alimentar prévia recebida no ambulatório de endocrinologia, utilizamos pareamento, o nível de 25(OH)D3 não foi critério de inclusão, aumentando a validade do estudo, e houve avaliação do risco de hipercalcemia. Entretanto, as características que se seguem como pequeno número amostral, o DM2 ser uma doença multifatorial e possuir muitos fatores confundidores que são de impossível controle, a amostra ser selecionada e não randomizada, tornam o nosso estudo como um modelo quase-experimental.

Permanece ainda incerto se a suplementação de VD poderia vir a melhorar os parâmetros metabólicos do DM2 e qual seria sua real participação.

9 – REFERÊNCIAS

1. Griz LHM, Bandeira F, Gabbay MAL, Dib SA, Carvalho EF de. Vitamin D and diabetes mellitus: an update 2013. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2014;58(1):1–8.
2. Bandeira F, Griz L, Freese E, Lima DC, Diniz ET, Marques TF, Lucena CS, others. Vitamin D deficiency and its relationship with bone mineral density among postmenopausal women living in the tropics. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2010;54(2):227–232.
3. Holick MF. Vitamin D Deficiency. *The New England Journal of Medicine*. 2007;357(3):266–281. doi:10.1056/NEJMra070553
4. Machado MRC, Gomes Junior SC, Marinheiro LPF. Vitamina D e diabetes mellitus, suas epidemias e o envelhecimento. O que há de novo? 2014 [accessed 2018 Oct 7]. <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/10016>. doi:10.1016/j.recli.2014.08.002
5. Srimani S, Saha I, Chaudhuri D. Prevalence and association of metabolic syndrome and vitamin D deficiency among postmenopausal women in a rural block of West Bengal, India. *PLOS ONE*. 2017;12(11):e0188331. doi:10.1371/journal.pone.0188331
6. Chacko SA, Song Y, Manson JE, Van Horn L, Eaton C, Martin LW, McTiernan A, Curb JD, Wylie-Rosett J, Phillips LS. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in relation to cardiometabolic risk factors and metabolic syndrome in postmenopausal women—. *The American journal of clinical nutrition*. 2011;94(1):209–217.
7. Fondjo LA, Sakyi SA, Owiredu WKBA, Laing EF, Owiredu E-W, Awusi EK, Ephraim RKD, Kantanka OS. Evaluating Vitamin D Status in Pre- and Postmenopausal Type 2 Diabetics and Its Association with Glucose Homeostasis. *BioMed Research International*. 2018;2018:1–12. doi:10.1155/2018/9369282
8. Bentes CM, Costa PB, Resende M, Miranda HL, Silva CMV, Netto CC, Marinheiro LPF. Association between muscle function and body composition, vitamin D status, and blood glucose in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes & Metabolic Syndrome*. 2017 Apr 28. doi:10.1016/j.dsx.2017.04.025
9. Nilas L, Christiansen C. Treatment with vitamin D or its analogues does not change body weight or blood glucose level in postmenopausal women. *International Journal of Obesity*. 1984;8(5):407–411.
10. Holick F, Binkley C, Bischoff-Ferrari A, Gordon M, Hanley A, Heaney P, Murad H, Weaver M. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of*

Clinical Endocrinology & Metabolism. 2011;96(7):1911–1930. doi:10.1210/jc.2011-0385

11. Muszkat P, Camargo MBR, Griz LHM, Lazaretti-Castro M. Evidence-based non-skeletal actions of vitamin D. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2010;54(2):110–117.

12. Gil Á, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Annals of Nutrition & Metabolism*. 2018;72(2):87–95. doi:10.1159/000486536

13. Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD, Black DM, Demay MB, Manson JE, Murad MH, Kovacs CS. The Nonskeletal Effects of Vitamin D: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocrine Reviews*. 2012;33(3):456–492. doi:10.1210/er.2012-1000

14. Wimalawansa SJ. Associations of vitamin D with insulin resistance, obesity, type 2 diabetes, and metabolic syndrome. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2018;175:177–189. (Vitamin D Deficiency and Human Health). doi:10.1016/j.jsbmb.2016.09.017

15. Maia J, da Silva AS, do Carmo RF, de Mendonça TF, Griz LHM, Moura P, Bandeira F. The association between vitamin D receptor gene polymorphisms (TaqI and FokI), Type 2 diabetes, and micro-/macrovascular complications in postmenopausal women. *The Application of Clinical Genetics*. 2016;9:131–136. doi:10.2147/TACG.S101410

16. Berridge MJ. Vitamin D deficiency and diabetes. *Biochemical Journal*. 2017;474(8):1321–1332. doi:10.1042/BCJ20170042

17. Grammatiki M, Rapti E, Karras S, Ajjan RA, Kotsa K. Vitamin D and diabetes mellitus: Causal or casual association? *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 2017;18(2):227–241. doi:10.1007/s11154-016-9403-y

18. Das G. Vitamin D and type 2 diabetes. *Practical Diabetes*. 2017;34(1):19–24b. doi:10.1002/pdi.2072

19. Mitri J, Muraru M, Pittas A. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *European journal of clinical nutrition*. 2011;65(9):1005–1015. doi:10.1038/ejcn.2011.118

20. Tang H, Li D, Li Y, Zhang X, Song Y, Li X. Effects of Vitamin D Supplementation on Glucose and Insulin Homeostasis and Incident Diabetes among Nondiabetic Adults: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *International Journal of Endocrinology*. 2018 [accessed 2018 Dec 17]. <https://www.hindawi.com/journals/ije/2018/7908764/abs/>. doi:10.1155/2018/7908764

21. Gulseth HL, Wium C, Angel K, Eriksen EF, Birkeland KI. Effects of Vitamin D Supplementation on Insulin Sensitivity and Insulin Secretion in Subjects With Type 2 Diabetes and Vitamin D Deficiency: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes Care*. 2017;40(7):872–878. doi:10.2337/dc16-2302

22. MITRI J, PITTAS AG. Vitamin D and diabetes. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2014;43(1):205–232. doi:10.1016/j.ecl.2013.09.010
23. Lips P, Eekhoff M, van Schoor N, Oosterwerff M, de Jongh R, Krul-Poel Y, Simsek S. Vitamin D and type 2 diabetes. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2017;173:280–285. doi:10.1016/j.jsbmb.2016.11.021
24. Seida JC, Mitri J, Colmers IN, Majumdar SR, Davidson MB, Edwards AL, Hanley DA, Pittas AG, Tjosvold L, Johnson JA. Effect of Vitamin D3 Supplementation on Improving Glucose Homeostasis and Preventing Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2014;99(10):3551–3560. doi:10.1210/jc.2014-2136
25. Krul-Poel YHM, Westra S, Boekel E ten, Wee MM ter, Schoor NM van, Wijland H van, Stam F, Lips PTAM, Simsek S. Effect of Vitamin D Supplementation on Glycemic Control in Patients With Type 2 Diabetes (SUNNY Trial): A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Diabetes Care*. 2015;38(8):1420–1426. doi:10.2337/dc15-0323
26. Krul-Poel YH, Wee M ter, Lips P, Simsek S. MANAGEMENT OF ENDOCRINE DISEASE: The effect of vitamin D supplementation on glycaemic control in patients with Type 2 Diabetes Mellitus: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Endocrinology*. 2016 Aug 2:EJE-16-0391. doi:10.1530/EJE-16-0391
27. Mitri J, Dawson-Hughes B, Hu FB, Pittas AG. Effects of vitamin D and calcium supplementation on pancreatic β cell function, insulin sensitivity, and glycemia in adults at high risk of diabetes: the Calcium and Vitamin D for Diabetes Mellitus (CaDDM) randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2011;94(2):486–494. doi:10.3945/ajcn.111.011684
28. George PS, Pearson ER, Witham MD. Effect of vitamin D supplementation on glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis. *Diabetic Medicine*. 2012;29(8):e142–e150. doi:10.1111/j.1464-5491.2012.03672.x
29. Mirhosseini N, Vatanparast H, Mazidi M, Kimball SM. The Effect of Improved Serum 25-Hydroxyvitamin D Status on Glycemic Control in Diabetic Patients: A Meta-Analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2017;102(9):3097–3110. doi:10.1210/jc.2017-01024
30. Wacker M, Holick MF. Sunlight and Vitamin D. *Dermato-endocrinology*. 2013;5(1):51–108. doi:10.4161/derm.24494
31. Osteoporosis WSG on P and M of, Organization WH. Prevention and Management of Osteoporosis: Report of a WHO Scientific Group. World Health Organization; 2003.
32. Adams JS, Hewison M. Update in vitamin D. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2010;95(2):471–478. doi:10.1210/jc.2009-1773

33. Russo LAT ML. Determinação da Concentração Plasmática de 25 Hidroxivitamina D em mulheres na pós-menopausa com baixa densidade mineral óssea e sua associação com parâmetros de metabollismo ósseo e fraturas vertebrais. [Tese Doutorado em Saúde da Mulher]. Rio de Janeiro: Instituto Fernandes Figueira - Fiocruz; 2009.
34. Grineva E, Karonova T, Micheeva E, Belyaeva O, Nikitina I. Vitamin D deficiency is a risk factor for obesity and diabetes type 2 in women at late reproductive age. *Aging (Albany NY)*. 2013;5(7):575–581.
35. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. Guidelines for preventing and treating vitamin D deficiency and insufficiency revisited. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2012;97(4):1153–8. doi:10.1210/jc.2011-2601
36. Aquino SLS, da Cunha ATO, Pereira HT, Freitas EPS, Fayh APT, Lima JG, Lima SCVC, Sena-Evangelista KCM, Pedrosa LFC. Predictors of 25-hydroxyvitamin D status among individuals with metabolic syndrome: a cross-sectional study. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2018 [accessed 2018 Jun 24];10. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5987652/>. doi:10.1186/s13098-018-0346-1
37. Correia A, Azevedo M do S, Gondim F, Bandeira F. Ethnic aspects of vitamin D deficiency. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2014;58(5):540–544. doi:10.1590/0004-2730000003320
38. Howard JE, Meyer RJ. INTOXICATION WITH VITAMIN D. *The Journal of Clinical Endocrinology*. 1948;8(11):895–910. doi:10.1210/jcem-8-11-895
39. Athayde A, Ruth Clapauch. In: *Endocrinologia feminina e andrologia: manual prático para endocrinologistas, ginecologistas, urologistas e médicos com interesse na área*. Vol. I. São Paulo: A.C. Farmacêutica; 2012. p. 392-00.
40. Meirelles RMR, Meirelles RMR. Menopause and metabolic syndrome. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2014;58(2):91–96. doi:10.1590/0004-2730000002909
41. SBPC/ML | SBPC/ML e SBEM atualizam Posicionamento de Vitamina D. [accessed 2018 Sep 11]. <http://www.sbpc.org.br/noticias-e-comunicacao/sbpcml-e-sbem-atualizam-posicionamento-de-vitamina-d/>
42. Rezende F, Rosado L, Franceschini S, Rosado G, Ribeiro R, Bouzas Marins JC. Revisão crítica dos métodos disponíveis para avaliar a composição corporal em grandes estudos populacionais e clínicos. *Arch. latinoam. nutr*. 2007;57(4):327–334.
43. Goyal S, Baruah M, Devi R, Jain K. Study on Relation of Metabolic Syndrome with Menopause. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2013;28(1):55–60. doi:10.1007/s12291-012-0243-6

44. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabetic Medicine*. 2006;23(5):469–480. doi:10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x
45. Goyal S, Baruah M, Devi R, Jain K. Study on relation of metabolic syndrome with menopause. *Indian journal of clinical biochemistry: IJCB*. 2013;28(1):55–60. doi:10.1007/s12291-012-0243-6
46. Breslavsky A, Frand J, Matas Z, Boaz M, Barnea Z, Shargorodsky M. Effect of high doses of vitamin D on arterial properties, adiponectin, leptin and glucose homeostasis in type 2 diabetic patients. *Clinical Nutrition*. 2013;32(6):970–975. doi:10.1016/j.clnu.2013.01.020
47. Martini LA, Wood RJ. Vitamin D and blood pressure connection: update on epidemiologic, clinical, and mechanistic evidence. *Nutrition Reviews*. 2008;66(5):291–297. doi:10.1111/j.1753-4887.2008.00035.x
48. Melamed ML, Manson JE. Genetics: Vitamin D and blood pressure--a preliminary verdict. *Nature Reviews. Endocrinology*. 2014;10(10):579–580. doi:10.1038/nrendo.2014.149
49. Abdulridha MK, Abdulaali AR, Arif IS. Modulation of endogenous angiotensin II, systolic, and diastolic blood pressure in hypovitaminosis D patients with cardiovascular risk after oral vitamin D3 supplementation. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2018;9(4):1382–1392. doi:10.26452/ijrps.v9i4.1690
50. Hao Y, Ma X, Shen Y, Ni J, Luo Y, Xiao Y, Bao Y, Jia W. Associations of Serum 25-Hydroxyvitamin D3 Levels with Visceral Adipose Tissue in Chinese Men with Normal Glucose Tolerance Slominski AT, editor. *PLoS ONE*. 2014;9(1):e86773. doi:10.1371/journal.pone.0086773
51. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, Lernmark A, Metzger BE, Nathan DM. Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Clinical Chemistry*. 2011 Jan 1:clinchem.2010.161596. doi:10.1373/clinchem.2010.161596
52. IDF diabetes atlas - 2017 Atlas. [accessed 2018 Dec 17]. <http://diabetesatlas.org/resources/2017-atlas.html>
53. Matheus. Diretrizes e Posicionamentos. Sociedade Brasileira de Diabetes. [accessed 2018 Dec 17]. <https://www.diabetes.org.br/profissionais/publicacoes/diretrizes-e-posicionamentos-1>
54. Heaney RP, French CB, Nguyen S, Ferreira M, Baggerly LL, Brunel L, Veugelers P. A Novel Approach Localizes the Association of Vitamin D Status With Insulin Resistance to One Region of the 25-Hydroxyvitamin D Continuum¹². *Advances in Nutrition*. 2013;4(3):303–310. doi:10.3945/an.113.003731

55. Síntese de Indicadores Sociais | Estatísticas | IBGE. [accessed 2019 Jan 22]. <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/sociais/populacao/9221-sintese-de-indicadores-sociais.html?edicao=23289&t=sobre>
56. Ogawa H, Fujitani K, Tsujinaka T, Imanishi K, Shirakata H, Kantani A, Hirao M, Kurokawa Y, Utsumi S. InBody 720 as a new method of evaluating visceral obesity. *Hepato-Gastroenterology*. 2011;58(105):42–44.
57. Vitezova A, Voortman T, Zillikens MC, Jansen PW, Hofman A, Uitterlinden AG, Franco OH, Kieffe-de Jong JC. Bidirectional associations between circulating vitamin D and cholesterol levels: The Rotterdam Study. *Maturitas*. 2015;82(4):411–417. doi:10.1016/j.maturitas.2015.08.005
58. Sarmiento-Rubiano LA, Angarita Ruidiaz JA, Suarez Dávila HF, Suarez Rodríguez A, Rebolledo-Cobos RC, Becerra JE. Relationship between Serum Vitamin D Levels and HDL Cholesterol in Postmenopausal Women from Colombian Caribbean. *Journal of Nutrition and Metabolism*. 2018 [accessed 2019 Feb 20]. <https://www.hindawi.com/journals/jnme/2018/9638317/abs/>. doi:10.1155/2018/9638317
59. Kavaric S, Vuksanovic M, Bozovic D, Jovanovic M, Jeremic V, Radojicic Z, Pekic S, Popovic V. Body weight and waist circumference as predictors of vitamin D deficiency in patients with type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Vojnosanitetski pregled*. 2013;70(2):163–169. doi:10.2298/VSP110713035K
60. Swart KM, Lips P, Brouwer IA, Jorde R, Heymans MW, Grimnes G, Gröbler MR, Gaksch M, Tomaschitz A, Pilz S, et al. Effects of vitamin D supplementation on markers for cardiovascular disease and type 2 diabetes: an individual participant data meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2018;107(6):1043–1053. doi:10.1093/ajcn/nqy078

CAPÍTULO 2

Artigo 1 - Vitamina D e diabetes mellitus, suas epidemias e o envelhecimento. O que há de novo?

RECLI-42; No. of Pages 6

ARTICLE IN PRESS

REPROD CLIM. 2014;xxx(xx):xxx-xxx



ELSEVIER

Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>

Artigo de revisão

Vitamina D e diabetes mellitus, suas epidemias e o envelhecimento. O que há de novo?☆

Monique Resende Costa Machado*, Saint Clair Gomes Junior
e Lizanka Paola Figueiredo Marinheiro

Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, Fundação Oswaldo Cruz (IFF – Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 26 de junho de 2014

Aceito em 11 de julho de 2014

On-line em xxx

Palavras-chave:

Vitamina D

Diabetes mellitus tipo 2

Pós-menopausa

Envelhecimento

R E S U M O

O diabetes mellitus do tipo 2, um problema de saúde pública, tem seu diagnóstico e tratamento negligenciados na prática clínica. Embora a abordagem terapêutica tenha avançado nas últimas décadas por meio da melhor compreensão de sua fisiopatologia e do desenvolvimento de fármacos que atuam nas diversas etapas dessa doença, o aumento de novos casos suscita a necessidade do conhecimento de outros alvos terapêuticos e de intervenções clínicas para a prevenção e o tratamento dessa doença. Evidências acumuladas em estudos transversais e longitudinais sugerem uma potencial participação da vitamina D na fisiopatologia do diabetes. Entretanto, os resultados são baseados em estudos clínicos com pequenas amostras, além de não considerar populações específicas, como, por exemplo, mulheres na pós-menopausa, nem tampouco qual o nível de suplementação que deve ser ofertado para uma resposta clínica satisfatória. Com o aumento da expectativa de vida, a detecção precoce, o tratamento e a amenização de quaisquer distúrbios ou doenças que comprometam a qualidade de vida ou afetem os índices de morbimortalidade são essenciais para a melhoria da qualidade de vida. Fazemos uma atualização dessas duas epidemias no contexto de vida da mulher pós-menopausa e das possíveis participações da vitamina D na fisiopatologia do diabetes mellitus do tipo 2.

© 2014 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

* Trabalho desenvolvido no Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, Fundação Oswaldo Cruz (IFF – Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: moniqueres@gmail.com (M.R.C. Machado).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2014.08.002>

1413-2087/© 2014 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Vitamin D and diabetes mellitus their epidemics and the aging. What is new?

A B S T R A C T

Keywords:

Vitamin D
Diabetes mellitus type 2
Postmenopause
Aging

Type 2 diabetes has been an of public health concern and therefore has its diagnosis and treatment delayed in clinical practice. Although, its treatment has improved in the last decades by better pathophysiology understanding and development of medicines that act in different phases and levels, the increase of new cases of diabetes claim for knowledge about newest therapeutics targets in order to prevent and treat this disease. Accumulated evidences from crossover and longitudinal studies suggested a potencial participation of Vitamin D in diabetes pathophysiology. However, the results are based on clinical studies with a few sample and do not consider specific populations like post menopausal women as did not determine dose of vitamin D that need to be offered. Early diagnosis, treatment and relieve of disorders and diseases that compromise the quality of life are extremely usefull in face to longest aging. We bring up an atualization about how vitamin D could take part on diabetes pathophysiology and some studies results.

© 2014 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda.

All rights reserved.

Introdução

Entre aproximadamente 40 e 65 anos, as mulheres vivenciam uma fase complexa, denominada climatério, que é uma síndrome com instalação gradual e variada de sintomas. Por causa das mudanças hormonais ovarianas que ocorrem nesse período, principalmente no tocante ao hipostrogonismo, podemos encontrar alteração na distribuição central da gordura corporal, além de um maior risco de doença cardiovascular (DCV), osteoporose, doenças degenerativas do cérebro e diabetes mellitus tipo 2 (DM2), entre outras. Já na menopausa, que é um marco dentro desse processo contínuo de envelhecimento, a presença de sinais e sintomas poderá se apresentar de forma mais intensa.^{1,2}

Sabe-se que, ao longo dos anos, ocorrem alterações fisiológicas na composição corporal, com aumento de quantidade de tecido adiposo e/ou redução de massa magra e redução da massa óssea, especialmente entre as mulheres que têm a composição corporal diretamente afetada pelas alterações hormonais observadas na menopausa.³

No decorrer das últimas décadas, pudemos observar o surgimento de diversas e diferentes epidemias, tais como a deficiência de vitamina D, a obesidade e o DM2. Todas essas, muito prevalentes nas mulheres pós-menopausa e que, talvez, possam estar correlacionadas ou intrínsecas umas às outras, compartilham bases fisiopatológicas. Com o aumento da expectativa de vida, torna-se enfática a necessidade de se oferecer melhores condições de saúde e qualidade de vida a essas mulheres.

As evidências acumuladas em estudos transversais e longitudinais sugerem uma potencial participação da vitamina D na fisiopatologia do DM2. Reporta-se uma associação inversa entre o status de vitamina D e a prevalência de hiperglicemia, DM2 ou intolerância à glicose.⁴⁻⁶

Apesar de a abordagem terapêutica do DM2 ter avançado nas últimas décadas, por meio da melhor compreensão de

sua fisiopatologia e do desenvolvimento de fármacos que atuam nas diversas etapas dessa doença, o aumento de novos casos suscita a necessidade do conhecimento de outros alvos terapêuticos e de intervenções clínicas para a prevenção e o tratamento dessa doença.

O presente artigo destina-se a fazer uma revisão dessas duas epidemias no contexto de vida da mulher pós-menopausa e das possíveis ações da vitamina D na fisiopatologia do DM2.

Diabetes mellitus e deficiência de vitamina D: condições comuns na população feminina pós-menopausa

O DM2 tem se tornado um problema mundial de saúde pública. Não obstante, tem seu diagnóstico e tratamento negligenciados na prática clínica. A estimativa mundial de sua prevalência foi de 171 milhões em 2000 e de 366 milhões em 2030. Essa alteração metabólica, que consiste de uma redução da secreção de insulina pancreática associada ou não à resistência insulínica (RI), tem sérias complicações que levam ao aumento da mortalidade.⁴

Aproximadamente, um bilhão de pessoas têm deficiência de vitamina D, a qual pode ser resultante de limitada exposição solar, uso de protetores solares e vestimentas com pouca exposição, envelhecimento e síndromes de má absorção, assim como baixa ingestão de produtos que contêm vitamina D.⁵

Reporta-se uma associação inversa entre o status de vitamina D e a prevalência de hiperglicemia, DM2 ou intolerância à glicose.⁴⁻⁶ Entretanto, os resultados de pequenos trials clínicos e análises *post hoc* de grandes trials sobre o efeito da suplementação de vitamina D, com ou sem cálcio sobre a homeostase glicêmica, têm sido inconsistentes.⁴

Vitamina D ou calciferol é o nome genérico para um grupo de esteroides, composto de duas maiores formas, que são

a vitamina D2 (ergocalciferol) e a vitamina D3 (colecalciferol). Ambas as formas compartilham de metabolismo idêntico, porém a primeira é proveniente de fontes dietéticas e a segunda é obtida pela irradiação cutânea. As características da vitamina D são semelhantes às de um hormônio.⁶

Baixos níveis de 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) contribuem para muitas condições, dentre elas osteomalácia, osteoporose, quedas e fraturas. Em adição, diversas evidências sugerem que a vitamina D possa influenciar condições patológicas não esqueléticas, incluindo DCV, câncer, desordens autoimunes, aumento da RI e DM2.^{6,7} Condições essas muito comuns na vida da mulher após os 40 anos.

O envelhecimento cutâneo, principalmente na mulher com idade superior a 51 anos, promove uma diminuição na capacidade de síntese de vitamina D. Mas, embora se tenha sugerido que o envelhecimento possa diminuir a habilidade do intestino de absorver uma dieta à base de vitamina D, estudos têm revelado que o envelhecimento não altera a absorção fisiológica ou farmacêutica de doses de vitamina D2 ou D3.⁸

O conceito de concentrações normais de 25(OH)D tem sido um desafio para a classe médica. Tem-se sugerido que valores plasmáticos de 25(OH)D abaixo de 20 ng/mL denotem deficiência, entre 21-29 ng/mL sejam compatíveis com insuficiência e entre 30-100 ng/mL denotem suficiência.⁶⁻⁸

Segundo o *guideline* escrito pela Endocrine Society Task Force, níveis de 25(OH)D iguais ou maiores a 30 ng/mL comparados com 20 ng/mL promovem um aumento de seus benefícios antifratura. Em contraste, o Institute of Medicine (IOM), baseado em evidências oriundas de estudos observacionais e recentes *trials*, sugere que o nível de 20 ng/mL de 25(OH)D poderia proteger em 97,5% a população contra complicações esqueléticas.^{6,8}

A prevalência da deficiência de vitamina D tem sido relatada até mesmo em regiões ensolaradas, como por exemplo, no Brasil. Em Recife (latitude 10°S), a prevalência de deficiência de vitamina D em mulheres pós-menopausa foi de 8% para valores abaixo de 15ng/mL e 43% para aqueles abaixo de 25 ng/mL. Já na Itália, em estudo observacional feito em mulheres também no período de pós-menopausa, os níveis de vitamina D foram menores nas pacientes portadoras de DM2 do que no grupo controle (39% versus 25%).⁶

No estudo *Women's Health Initiative Calcium-Vitamin D (WHI-CaD)*, feito com 292 mulheres na pós-menopausa (50-79 anos) com objetivo de avaliar as concentrações séricas de 25(OH)D em relação aos fatores de risco cardiometabólicos e à síndrome metabólica, observou-se uma associação inversa entre os níveis séricos de 25(OH)D com a adiposidade, hipertrigliceridemia, razão triglicérides:HDL colesterol e síndrome metabólica (SM). Além do mais, aquelas mulheres que apresentavam níveis de 25(OH)D \geq 20,83 ng/dL tinham menor prevalência de SM quando comparadas com o grupo com níveis 14,02 ng/dL.⁹

Já no estudo placebo-controlado *Women's Health Initiative (WHI)*, que abordou mulheres na pós-menopausa, mas sem DM2, o uso diário da suplementação de 1.000 mg de cálcio e 400 UI de colecalciferol falhou em reduzir o risco de progressão para o DM2 após sete anos. Esse resultado nulo pode, entretanto, ser atribuído ao uso de uma baixa dose de vitamina D no grupo que foi tratado ativamente, além de adesão <60% ao

uso das medicações e ao fato de que fosse permitido o uso de outros suplementos.^{4,6}

Os resultados encontrados na literatura são muito contraditórios, pois, a exemplo do que foi verificado em mulheres sul-asiáticas (23-68 anos, 4.000 UI/dia vitamina D, n=42, que não eram diabéticas, mas tinham RI) quando comparadas com o placebo (n=39) por seis meses, houve melhoria da RI avaliada pelo modelo de homeostase (HOMA-IR), a qual ficou mais evidente quando a concentração de 25(OH)D alcançou 32 mg/dL.⁴

Deficiência de vitamina D: um fenômeno mundial

Muitos são os estudos que demonstram um fenômeno mundial no que tange à insuficiência e à deficiência de vitamina D e suas repercussões clínicas. O melhor exemplo e um dos primeiros trabalhos a suscitar tal queda nos valores de vitamina D foi o *National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)*. Trata-se de um estudo populacional feito em 1994 e novamente em 2004, no qual foi observada a quase duplicação de pacientes deficientes de vitamina D (níveis <30ng/ml). As análises foram conduzidas no mesmo grupo e com o mesmo ensaio tecnológico. Nesse estudo transversal de uma amostra representativa da população americana, a 25(OH)D foi avaliada em 6.228 pessoas (2.766 brancos não hispânicos, 1.736 negros não hispânicos e 1.726 mexicano-americanos), com idade \geq 20 anos, mensuração de glicemia de jejum e ou duas horas após sobrecarga de glicose e medições de insulina. Os resultados mostraram uma associação inversa entre status de vitamina D e o diabetes, possivelmente envolvendo resistência em brancos não hispânicos e mexicano-americanos, mas não em negros não hispânicos.^{6,10}

O IOM considera deficiência de vitamina D valores de 25(OH)D abaixo de 20 ng/mL (ou 50 nmol/L), enquanto outros especialistas, como Endocrine Society, National Osteoporosis Foundation, International Osteoporosis Foundation e American Geriatric Society, sugerem que o valor mínimo necessário para reduzir o risco de quedas e fraturas é de 30 ng/mL (ou 75 nmol/L).⁸ A Organização Mundial de Saúde (OMS) reforça a recomendação da manutenção de níveis séricos acima de 30 ng/mL (ou 75 nmol/L) baseada em revisões que demonstram adequada supressão de paratormônio (PTH), absorção de cálcio e redução dos riscos de fraturas com esses níveis.¹¹

The Endocrine Society Clinical Practice Guideline, em 2011, sugeriu que todos os adultos com deficiência de vitamina D poderiam ser tratados com 50.000 UI de D2 ou D3, uma vez por semana, durante oito semanas, ou dose equivalente diária de 6.000 UI de D2 ou D3 para se alcançarem níveis plasmáticos de 25(OH)D superiores a 30 ng/ml, seguidos por terapia de manutenção de 1.500-2.000 UI/dia. Já em pacientes obesos, com síndromes de má-absorção ou usuários de medicações que interfiram com o metabolismo da vitamina D, as doses sugeridas foram bem mais elevadas (6.000-10.000 UI/dia) para se alcançarem níveis de suficiência, seguidas por terapia de manutenção de 3.000-6.000 UI/dia. Estratégia opcional para pacientes institucionalizados seria a administração de 50.000 UI de vitamina D2 três vezes por semana, durante um mês, ou 100.000 UI da mesma vitamina, a cada quatro meses.⁸

A vitamina D pode ser ingerida em jejum ou com uma refeição e não requer dieta rica em gordura para sua absorção. Pode ser administrada três vezes ao ano, uma vez por semana ou, ainda, uma vez ao dia e mostra ser efetiva na manutenção sérica de níveis de suficiência tanto em crianças como em adultos. Os usuários regulares da dose de 50.000 UI de D₂, uma vez por semana, durante oito semanas, que não mostram elevação de seus níveis plasmáticos deverão ter excluído o diagnóstico de doenças que cursam com má-absorção, tais como a doença celíaca ou a fibrose cística oculta.⁸

Vitamina D: fisiologia e mecanismo de ação

A maior fonte de síntese de vitamina D, em humanos, é a epiderme. Sua produção tem início com uma reação não enzimática mediada por raios ultravioleta B (UVB), que converte 7-dehidrocolesterol em pré-vitamina D₃. Ainda na pele, a pré-vitamina D₃ é convertida em vitamina D₃ por reação de isomerização térmica. Após ganhar a circulação, a vitamina D₃, por ação do citocromo P450, em nível hepático, se converte em 25 hidroxivitamina D₃ 25(OH)D₃. Esse último é o metabólito mais estável e com meia-vida mais longa e serve como ferramenta na avaliação do status corporal dessa vitamina, quer tenha sido ingerida ou sintetizada na pele.¹⁰

No rim, a 25(OH)D₃ é metabolizada pela enzima 25-hidroxivitamina D-1 α -hidroxilase (CYP27B1) para sua forma ativa (1,25(OH)₂D₃), a qual exerce seus efeitos por meio de receptores esteroidais nucleares. Essa enzima, a CYP27B1, está presente principalmente, mas não somente, nas células tubulares proximais dos rins. Sua síntese renal é também regulada por outros hormônios. Tem sua estimulação primariamente pelo PTH e sua inibição pelo fator de crescimento fibroblástico circulante 23 (FGF23), produzido por osteócitos.¹⁰

As características da 1,25(OH)₂D₃ são as mesmas de um hormônio e, conseqüentemente, a 25(OH)D₃ é um pró-hormônio, em vez de uma verdadeira vitamina.⁶ A 1,25(OH)₂D₃ tem alta afinidade com o receptor de vitamina D (VDR) em tecidos alvos, nos quais atua modulando a expressão de genes relacionados. Sua concentração sanguínea é de aproximadamente 0,1% da quantidade de seu pró-hormônio.¹⁰

Mudanças na ação e no metabolismo da vitamina D são rapidamente deflagradas quando da necessidade de se restaurar a normocalcemia, pois a queda na absorção intestinal de cálcio resulta em uma mínima, mas real, diminuição dos níveis de cálcio plasmáticos. Essa diminuição do eletrólito é detectada pelos receptores sensíveis ao cálcio na membrana plasmática das células paratireoidianas. Então, ocorrem uma sinalização para a liberação de PTH e um aumento de sua expressão gênica. A interação entre o PTH com o receptor PTH/PTHrP nas células tubulares proximais renais sinaliza para um aumento na expressão de CYP27B1 e conversão de 25(OH)D₃ em 1,25(OH)₂D₃. Promove, assim, a absorção intestinal de cálcio e fosfato e a liberação dos mesmos eletrólitos da fase mineral óssea. Quando a normocalcemia é restaurada, o eixo ativado 1,25(OH)₂D:PTH é subseqüentemente interrompido pelo FGF23.¹⁰ Como dito anteriormente, a avaliação da reserva corporal de vitamina D pode ser feita pela mensuração

da 25(OH)D₃ porque ela é mais prevalente forma circulante, com uma meia-vida de 2-3 semanas.⁸

Toxicidade da Vitamina D

A intoxicação por vitamina D é uma das mais raras condições médicas e algumas vezes causada pelo uso inadvertido ou a ingestão intencional de doses extremamente elevadas e por períodos prolongados. Seu quadro clínico cursa com hipercalemia, hiperfosfatemia, supressão dos níveis de PTH que podem levar a nefrocalcinose e calcificação de partes moles, principalmente vasos sanguíneos, além de fadiga, perda de peso, anorexia e prejuízo da função renal.^{12,13} Dificilmente a intoxicação é vista com níveis plasmáticos superiores a 200 ng/mL¹² e manifestações oculares, depósitos subconjuntivais e lesões em "bandas de ceratite" puderam ser visíveis ao exame com lâmpada de fenda, previamente aos sintomas de intoxicação.¹³

Uma das primeiras publicações acerca de intoxicação ocorreu em 1948, durante o relato de dez casos de pacientes que fizeram uso de doses elevadas para tratamento de artrite. A dose mais elevada recebida por um paciente foi 600.000UI/dia e a mais baixa 150.000UI/dia. A duração da terapêutica até o início dos sintomas foi bastante variada e ocorreu entre dois e 18 meses. O paciente que recebeu a dose mais elevada tornou-se sintomático precocemente, mas o que recebera 500.000 UI/dia somente manifestou sintomas após 18 meses.¹³

A preocupação acerca da fortificação de alimentos com vitamina D em países europeus precisa ser reconsiderada. Tal alarde se deu no início de 1950, quando houve o nascimento de bebês britânicos com alterações faciais, retardo mental e problemas cardíacos que foram incorretamente atribuídos ao enriquecimento do leite com a vitamina D. Acreditava-se que essas crianças fossem portadoras de alguma síndrome que causaria uma hipersensibilidade à vitamina D. Atualmente, as observações de que infantes que consumiram 2.000 UI/dia de vitamina D durante seu primeiro ano de vida não somente tiveram qualquer evidência de toxicidade como houve diminuição do risco de diabetes mellitus tipo 1 reforçam a segurança de seu uso.¹²

O IOM e The Endocrine Society concluíram que níveis circulantes de 25(OH)D de até 100 ng/mL foram seguros e razoáveis para se tentar postular um limite. Eles também concordaram que nem todos os trabalhos desenvolvidos até hoje conseguem apoiar a tese de que a efetividade da vitamina D₂ seja a mesma da vitamina D₃ na manutenção do status de 25(OH)D.¹²

Outras evidências sobre a segurança no uso de vitamina D que foram relatadas pelo *Endocrine Society Clinical Practice Guideline*, publicado em julho de 2011, são as que se seguem: 1) Adultos maiores de 18 anos que receberam 50.000 UI de vitamina D₂ a cada duas semanas (dose equivalente a 3.000 UI/dia) por até seis anos tiveram níveis calcêmicos dentro da normalidade e nenhuma evidência de toxicidade; 2) Estudo feito em ambos os sexos, em pacientes com idade de 18-84 anos que receberam o equivalente a 3.000 UI/dia durante seis anos, não relatou aumento do risco de nefrolitíase nem alterações da calcemia.

Baseado na literatura disponível, o grupo concluiu que a toxicidade por vitamina D é um evento raro. Embora não seja conhecido qual o valor máximo e seguro de níveis circulantes de 25(OH)D para se evitar hipercalcemia, muitos estudos em crianças e adultos têm sugerido que seriam necessários valores superiores a 150 ng/mL. Além do mais, o uso de doses de até 10.000 UI/dia de vitamina D em adultos saudáveis e por um período de ingestão por cinco meses não causou hipercalcemia nem aumentou a excreção urinária de cálcio, marcador mais sensível para potencial intoxicação por vitamina D.⁸

Vitamina D e possível participação no DM2

O número de pacientes com diagnóstico de DM2 está em franca expansão, quer seja pela longevidade, pelo crescimento populacional, pelo sedentarismo e, principalmente, pela obesidade. Apesar da reconhecida necessidade de mudanças no estilo de vida, compreendidas como reeducação alimentar e atividade física para controle metabólico, essas são medidas difíceis de ser alcançadas e mantidas.

Após o reconhecimento da presença de VDR e da enzima CYP27B1 em mais de 40 tipos de células humanas, dentre elas as células beta pancreáticas, houve a menção de que a vitamina D tivesse papel peculiar na regulação de numerosos processos metabólicos, tais como obesidade, intolerância à glicose, DM2, hipertensão arterial e dislipidemia aterogênica. Somando-se a isso, o aumento da gordura corporal e a obesidade estão associados com baixos níveis circulantes de 25(OH)D.^{5,6,9} A participação da vitamina D no desenvolvimento do DM2 poder-se-ia dar por diversas ações.

Ação na resistência insulínica

Em modelos animais, demonstrou-se que a secreção pancreática de insulina é inibida pela deficiência de vitamina D e que em humanos essa deficiência estaria relacionada à intolerância à glicose e ao surgimento do DM2.¹⁴

A vitamina D afeta a função das células betas pancreáticas em diversas vias, como, por exemplo, na ativação do VDR. A ligação de 1,25(OH)₂D ao VDR promove a transcrição de genes regulados por sua forma ativa. Além do mais, o efeito da vitamina D sobre a síntese e a secreção de insulina é evidenciado pela presença do elemento responsivo da vitamina D (VDRE) no gene promotor de insulina e na ativação da transcrição do gene de insulina humana causada pela 1,25(OH)₂D.⁶

Opcionalmente, a ativação da vitamina D pode ocorrer dentro da célula beta pela CYP27B1 e um efeito indireto sobre as células pancreáticas se daria por meio da regulação do cálcio. Em nível periférico, os metabólitos da vitamina D podem aumentar a sensibilidade insulínica por diversas maneiras, como pelo aumento da expressão de receptores de insulina e pela ativação da transcrição de fatores importantes na homeostase glicêmica, ou ainda de forma indireta via regulação do cálcio, o qual é essencial para os processos intracelulares mediados pela insulina.¹⁵

Outra forma de participação na RI seria por sua presença no sistema renina-angiotensina-aldosterona. Acredita-se que a angiotensina II contribua para o aumento da RI pela inibição

da ação de insulina nos tecidos vascular e músculo esquelético e leve à diminuição da captação de glicose. Alguns dados apoiam a tese de que o complexo formado por vitamina D-VDR seja um potencial regulador da atividade de renina em humanos e que polimorfismos no gene desse complexo possam estar associados à patogênese do DM.⁶

Ação na obesidade

Nos Estados Unidos, o Center for Disease Control and Prevention (CDC) concluiu que a deficiência de 25(OH)D tem se tornado mais prevalente naquele país por causa da obesidade, da diminuição do consumo de leite enriquecido com a vitamina e do aumento na proteção solar.¹²

Há associação inversa entre a 25(OH)D sérica e o índice de massa corporal (IMC) maior do que 30 Kg/m². A 25(OH)D₃ é lipossolúvel e o aumento da adiposidade irá expandir a vitamina D total e reduzir a concentração total dos níveis séricos de 25(OH)D. Por sua vez, a deficiência de vitamina D é um fator de risco para a obesidade, pois níveis reduzidos de 25(OH)D poderão levar a uma elevação secundária de PTH, o que pode promover o influxo de cálcio em adipócitos, aumentar a lipogênese e reduzir a lipólise. Além disso, a vitamina D é capaz de inibir a diferenciação dos pré-adipócitos, por meio da supressão do receptor c ativado por proliferadores de peroxissoma (PPARc), o que provoca aumento na lipogênese quando seus níveis séricos diminuem.¹⁶ Em crianças e adultos obesos há a indicação formal para se avaliar seu status de 25(OH)D.⁸

Estudo feito com 320 mulheres russas saudáveis entre 40-52 anos mostrou que níveis plasmáticos médios de 52,9 ± 22,7 nMol/L de 25(OH)D estavam associados com obesidade, aumento dos níveis plasmáticos de glicose após teste oral de tolerância a glicose (TOTG) e diminuição do índice de sensibilidade à insulina.⁵

Numa coorte chinesa com 567 homens com tolerância normal à glicose na qual cada participante foi submetido à análise para quantificação da gordura corporal total por meio de bioimpedância elétrica e ressonância nuclear magnética (RNM) para mensuração da área de gordura visceral (AGV) e área de gordura subcutânea (AGS), pacientes com IMC ≥ 25 kg/m² tinham níveis significativamente menores de 25(OH)D₃. Pacientes com sobrepeso ou obesos com percentual de gordura corporal ≥ 25% e AGV ≥ 80 cm² também tinham menores valores de 25(OH)D₃, independentemente do valor de IMC. A AGV esteve independentemente correlacionada com níveis de 25(OH)D₃, mesmo após ajustes para fatores confundidores. Em adição, os níveis séricos de 25(OH)D₃ pareciam diminuir em 0,26 ng/ml por cada aumento de 10 cm² na AGV.¹⁶

Perspectivas

Com o aumento da longevidade mundial, tem-se observado a emergência de verdadeiras "epidemias", tais como a síndrome metabólica, a obesidade, o DM2 e a deficiência de vitamina D. Não obstante, tem-se tentado estabelecer relação de causalidade ou consequência entre elas.

Dados nacionais provenientes de estudos em mulheres na pós-menopausa já comprovaram ser o Brasil um país com deficiência de vitamina D, apesar de sua localização geográfica

privilegiada. A frequência de excesso de peso na população superou oito vezes o déficit de peso entre as mulheres e em 15 vezes o da população masculina, segundo dados da 2ª etapa da Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 do IBGE. Constatou-se que a obesidade entre elas cresceu 50% de 1974 a 1989 e manteve-se estável entre 1989 e 2003.

As consequências da obesidade incluem uma das mais comuns doenças crônicas em nossa sociedade, o DM2. Esse, por sua vez, é fator de risco para DCV, hipertensão arterial, doenças vasculares cerebrais, hiperlipidemia, osteoartrite e apnéia obstrutiva do sono. Tais comorbidades estão presentes em muitas mulheres brasileiras na pós-menopausa.

A despeito do grande número de estudos transversais e do número limitado de *trials* clínicos que avaliaram as concentrações de 25(OH)D como um potencial determinante de DCV e DM2, permanece ainda incerto se a melhoria do seu status poderia reduzir o risco dessas condições. Mediante o exposto, torna-se necessário o conhecimento da aplicabilidade do uso de vitamina D em mulheres na pós-menopausa e diabéticas no que diz respeito ao controle metabólico e à redução dos riscos cardiovasculares.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Athayde A. Menopausa: a escolha da reposição hormonal. In: Ruth Clapauch, editor. *Endocrinologia feminina e andrologia: manual prático para endocrinologistas, ginecologistas, urologistas e médicos com interesse na área*. São Paulo: A.C. Farmacêutica; 2012.
- Goyal S, Baruah M, Devi R, Jain K. Study on relation of metabolic syndrome with menopause. *Indian J Clin Biochem*. 2013;28(1):55–60.
- Rezende F, Rosado L, Franceschini S, Rosado G, Ribeiro R, Marins JC. Revisão crítica dos métodos disponíveis para avaliar a composição corporal em grandes estudos populacionais e clínicos. *Arch Latinoam Nutr*. 2007;57(4):327–34.
- Mitri J, Muraru MD, Pittas AG. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65(9):1005–15.
- Grineva EM, Karonova T, Mischeeva E, Belyaeva O, Nikitina IL. Vitamin D deficiency is a risk factor for obesity and diabetes type 2 in women at late reproductive age. *Aging (Albany NY)*. 2013;5(7):575–81. Disponível em <http://www.impactaging.com/papers/v5/n7/pdf/100582.pdf>
- Griz LH, Bandeira F, Gabbay MA, Dib AS, Carvalho EF. Vitamin D and diabetes mellitus: an update 2013. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014;58(1):1–8.
- Heaney RP, French CB, Nguyen S, Ferreira M, Gaggerly LL, Brunel L, et al. A novel approach localizes the association of vitamin D status with insulin resistance to one region of the 25-hydroxyvitamin D continuum. *Adv Nutr*. 2013;4(3):303–10.
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911–30.
- Chacko AS, Song Y, Manson JE, Van Horn L, Eaton C, Martin LW, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in relation to cardiometabolic risk factors and metabolic syndrome in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2011;94(1):209–17.
- Adams JS, Hewison M. Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(2):471–8.
- World Health Organization. Prevention and management of osteoporosis. Report of a WHO Scientific Group. WHO technical report series 921. Geneva: World Health Organization; 2003.
- Wacker M, Holick MF. Sunlight and Vitamin D: a global perspective for health-Review. *Dermatoendocrinol*. 2013;5(1):51–108.
- Howard JE, Meyer RJ. Intoxication with vitamin D. *J Clin Endocrinol*. 1948;8(11):895–910.
- Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2011;34(6):e61–99.
- Mitri J, Dawson-Hughes B, Hu FB, Pittas AG. Effects of vitamin D and calcium supplementation on pancreatic β cell function, insulin sensitivity and glycemia in adults at high risk of diabetes: the Calcium and Vitamin D for Diabetes Mellitus (CaDDM) randomized controlled Trial. *Am J Clin Nutr*. 2011;94(2):486–94.
- Hao Y, Ma X, Shen Y, Ni J, Luo Y, Xiao Y, et al. Associations of serum 25-hydroxyvitamin D3 levels with visceral adipose tissue in Chinese men with normal glucose tolerance. *PLoSOne*. 2014;9(1):e86773.

Artigo 2 – Influence of Vitamin D Supplementation on Glycemic Homeostasis in Postmenopausal Diabetic Women

International Journal of Endocrinology

Influence of Vitamin D Supplementation on Glycemic Homeostasis in Postmenopausal Diabetic Women

Monique Resende Costa Machado¹, Claudio Melibeu Bentes¹, Juliana Alencar Barreto¹, Carolina Moura Vieira da Silva¹, Claudia Cardoso Netto², Saint Clair Gomes Junior³, Zilton Farias Meira de Vasconcelos³, Lizanka Paola Figueiredo Marinheiro¹.

¹Gynecologic Department, Fernandes Figueira Institute (IFF), Fiocruz, Rio de Janeiro - 22250-020 - Brazil

²Biomedicine Department, Federal University of the State of Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro – 20211-010 – Brazil

³Research Department, Fernandes Figueira Institute (IFF), Fiocruz, Rio de Janeiro – 22250-020 - Brazil

Correspondence: Monique Resende Costa Machado moniqueres@gmail.com

Resumo

Introdução: Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e a menopausa estão associados com o *status* de vitamina D [25(OH)D]. O efeito da suplementação de 25OHD sobre a glicemia ou incidência de DM2 tem sido reportada nos principais *trials* com resultados discordantes. **Objetivo:** O principal objetivo deste estudo longitudinal, pareado, prospectivo foi o de relacionar o uso de 25(OH)D em mulheres diabéticas na pós-menopausa com a homeostase glicêmica num período de 2 anos. **Método:** Quarenta mulheres diabéticas na pós-menopausa, entre $63,84 \pm 7,56$ anos, receberam colecalciferol 1000 UI/dia por 12 meses e 2000 UI/dia por outros 12 meses. As voluntárias foram submetidas a exames de sangue em jejum, avaliações antropométricas de composição corporal e exames físicos. Os desfechos primários foram avaliar os níveis de 25(OH)D, glicemia de jejum (GJ), hemoglobina glicada (HbA_{1c}), insulina de jejum (I), mensuração da resistência à ação da insulina (HOMA-IR), capacidade secretória da célula β (HOMA- β), colesterol total (CT), HDL colesterol (HDL-c), triglicerídeos (TG), proteína-C reativa (PCR). Os desfechos secundários foram: pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), circunferência de cintura (CC), relação cintura-quadril (RCQ), área de gordura visceral (AGV), índice de massa corporal (IMC). **Resultados:** Somente houve relação significativa entre a suplementação de 25(OH)D com os níveis de HDL-c e desfechos da PAD. **Conclusão:** Apesar da identificação de receptores de vitamina D em diversos órgãos e sistemas participantes na fisiopatologia do DM2, não podemos afirmar que a suplementação de 25(OH)D possa vir a contribuir para o a homeostase glicêmica desta doença multifatorial. Entretanto, foi observada uma melhora dos valores durante o tempo.

Palavras-chave: Colecalciferol, Diabetes Mellitus, período pós-menopausal, obesidade, insulina.

Abstract

Introduction: Type 2 diabetes mellitus (DM2) and menopause are associated with the status of vitamin D [25(OH)D]. The effect of 25(OH)D supplementation on glycemia or incidence of DM2 has been reported in the primary trials with discordant results. **Objective:** This longitudinal, prospective, paired study mainly aimed to correlate the use of 25(OH)D in postmenopausal diabetic women with glyceamic homeostasis within two years. **Method:** Forty postmenopausal diabetic women aged 63.84 ± 7.56 years received cholecalciferol 1000 IU/day for 12 months and 2000 IU/day for another 12 months. The volunteers underwent fasting blood tests, anthropometric assessments of body composition and physical examinations. The primary outcomes evaluated the levels of 25(OH)D, fasting glycemia (FG), glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}), fasting insulin (I), insulin resistance measurement (HOMA-IR), insulin secretory capacity (HOMA- β), total cholesterol (TC), cholesterol (HDL-c), triglycerides (TG), and C-reactive protein (CRP). Secondary outcomes were systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), waist circumference (WC), waist-hip ratio (WHR), visceral fat area (VFA) and body mass index (BMI). **Results:** A significant relationship was only found between 25(OH)D supplementation with HDL-c levels and DBP outcomes. **Conclusion:** Despite the identification of vitamin D receptors in several organs and systems participating in the pathophysiology of DM2, we cannot say that the supplementation of 25(OH)D may contribute to the glyceamic homeostasis of this multifactorial disease. However, it was observed an enhancement in the data values during time.

Keywords: Cholecalciferol, Diabetes Mellitus, postmenopausal period, obesity, insulin.

1 **1. Introduction**

2 Vitamin D [25(OH)D] deficiency and type 2 diabetes mellitus (DM2) are two common
3 conditions in the elderly population and are considered public health concerns [1,2].
4 Furthermore, epidemiological observations have associated low levels of 25(OH)D with
5 increased risk of non-musculoskeletal diseases such as cancer, multiple sclerosis, type 1
6 diabetes (T1DM), DM2, cardiovascular disease (CVD) [3-6]. The potential extra-skeletal
7 function of 25(OH)D is suggested in many recently published studies, including
8 demonstration of vitamin D receptor (VDR) expression in a large number of non-skeletal
9 cells, including β -pancreatic cells. Additional evidence strongly suggests that 25(OH)D has a
10 role in modifying the risk for DM2, an effect that appears to be mediated by 25(OH)D on cell
11 β function, insulin sensitivity and systemic inflammation [3,7]. The first evidence comes from
12 longitudinal and cross-sectional observational studies reporting the association between
13 25(OH)D status and risk of DM2 or glycemia among patients with established DM2 [8-11].
14 More recently, small short clinical trials have reported the effect of supplementation of
15 25(OH)D with and without calcium on glycemia and the risk of developing DM2 with mixed
16 results [9,12].

17 The 25(OH)D is a steroid hormone known for its essential role in maintaining calcium
18 homeostasis, promoting and maintaining bone health and improving immune function. The
19 25(OH)D deficiency is a worldwide public health problem. In 2008, one billion people were
20 estimated with 25(OH)D deficiency or insufficiency. The 25(OH)D is obtained through
21 exposure to ultraviolet rays (UVB) as well as nutritional sources. Despite the high exposure to
22 UVB in tropical countries, studies suggest that 25(OH)D deficiency is prevalent and also
23 influenced by age and gender [3,13-16].

24 Menopause, or menstrual cycle arrest caused by reduced secretions of estrogen and
25 progesterone, is defined as the absence of continuous cycles within one year, occurring

26 between the ages of 45 and 55 years. Estrogen increases the activity of 1- α -hydroxylase
27 (expressed in the kidneys) responsible for the activation of 25(OH)D and regulation of VDR.
28 Female aging and subsequent declining estrogen levels are then associated with declining
29 levels of active 25(OH)D [17]. The Endocrine Society recommends the prescription of
30 25(OH)D supplementation for fall prevention and suggests that all adults aged 50-70 and 70
31 years require at least 600 and 800 IU/d, respectively. To date, it is unknown whether doses of
32 600 and 800 IU/d of 25(OH)D are sufficient to provide all of the other potential non-skeletal
33 benefits of 25(OH)D. However, raising blood levels of 25(OH)D above 30 ng/ml may require
34 at least 1500-2000 IU/d of supplementation [5]. Although short-term studies have examined
35 higher doses of 25(OH)D over serum calcium levels, there are no reported cases of
36 intoxication in the literature suggesting doses up to 4000 IU/d cause hypercalcemia [5,18].

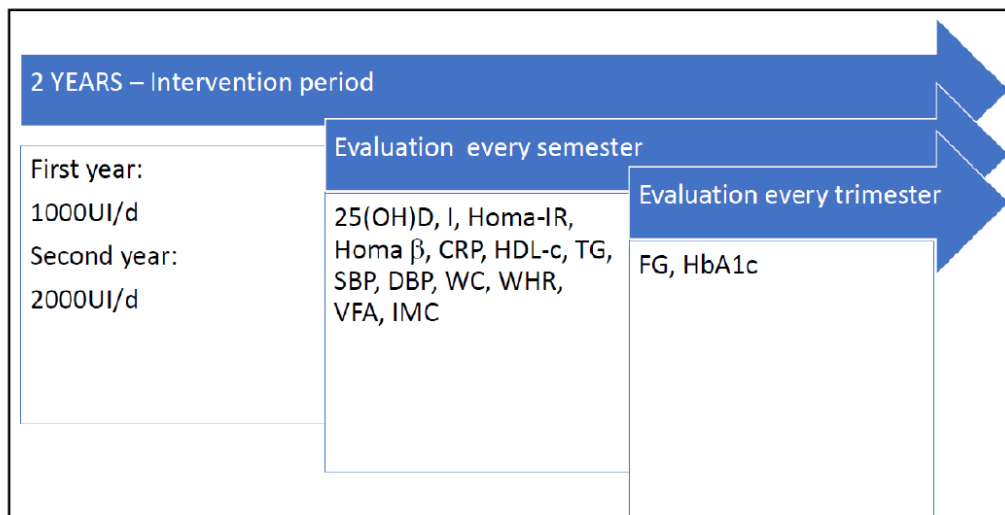
37 The present longitudinal, prospective, paired study, where the volunteers were their
38 controls, was designed to relate the use of 25(OH)D with two different doses (1000 or 2000
39 IU/day) in diabetic and postmenopausal women with homeostasis glucose over a two-year
40 period.

41 **2. Materials and Methods**

42 **2.1. Study design**

43 Forty postmenopausal diabetic women, ages 63.84 ± 7.56 years, received cholecalciferol
44 1000 IU/d for 12 months and 2000 IU/d for another 12 months. Adherence to treatment was
45 assessed by the team, by questioning the volunteer during biweekly telephone contacts and
46 counting the tablets at the consultations. The volunteers underwent fasting blood tests,
47 anthropometric evaluation of body composition and clinical examinations every three months
48 and received a new quantity of tablets **Timeline Flowchart. Figure 1.**

49



50 **Figure 1. Timeline Flowchart**

51 The measures for the analysis of the outcome were performed in the following moments:
 52 pre-experiment (P0), 12 months after (P12) and 24 months after (P24). The primary outcomes
 53 were the evaluation of blood levels of 25(OH)D supplementation, fasting glycemia (FG),
 54 glyated hemoglobin (HbA_{1c}), fasting insulin (I), insulin resistance measured by the
 55 Homeostasis Model Assessment (HOMA-IR) and insulin secretory capacity (HOMA-β), total
 56 cholesterol (TC), HDL cholesterol (HDL-c), triglycerides (TG) and C-reactive protein (CRP).
 57 Secondary outcomes were: systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP),
 58 waist circumference (WC), waist-hip ratio (WHR), visceral fat area (VFA) and body mass
 59 index (BMI).

60 **2.2. Ethical considerations**

61 The female volunteers read and signed the consent form before participating in the study,
 62 according to the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the local ethics
 63 committee (CAAE: 36698514.1.0000.5269).

64

65 **2.3. Study population**

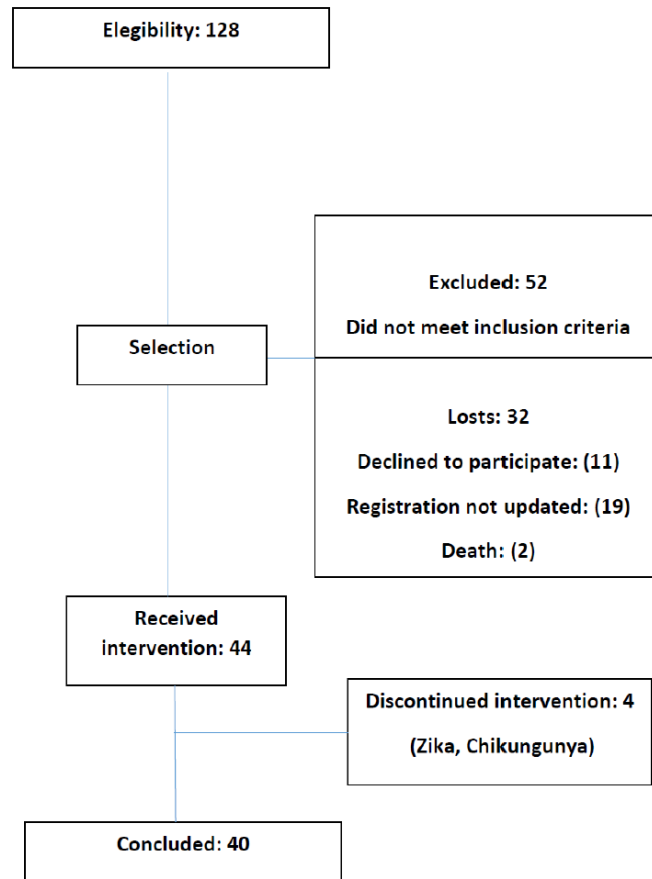
66 Female volunteers enrolled in the database of the outpatient clinic of endocrinology
 67 clinically diagnosed with DM2 in the postmenopausal period were included in the study.

68 **Population Characterization. Table 1.****Table 1 - Population Characterization**

	Mean	±	SD	K-S
Age (years)	63.84	±	7.56	0.07
Height (m)	1.54	±	0.04	0.20
Body mass (kg)	70.52	±	14.03	0.05
Waist circumference (cm)	94.11	±	13.28	0.14
Hip circumference (cm)	101.87	±	9.01	0.18
Waist-Hip Ratio	0.92	±	0.08	0.19
Body mass index (kg/m ²)	29.99	±	5.33	0.20
Visceral Fat Area (cm ²)	117.37	±	28.51	0.20
Systolic Blood Pressure (mmHg)	136.47	±	26.5	0.05
Diastolic Blood Pressure (mmHg)	83.23	±	14.5	0.05
Serum Vitamin D (ng/ml)	27.99	±	9.23	0.09
Fasting Glucose (mg/dl)	124.63	±	26.51	0.18
Insulin	8.71	±	2.99	0.20
HOMA-IR	2.74	±	1.25	0.14
HOMA-β	58.04	±	26.24	0.15
Glycemic Hemoglobin	6.59	±	6.3	0.08
C-reactive protein	0.42	±	0.41*	0.00
Total cholesterol	182.15	±	39.58	0.06
HDL Cholesterol	46.6	±	8.97	0.20
Triglycerides	151.15	±	52.22	0.17

69 Caption: K-S: Kolmogorov-Smirnov normality test. SD – Standard Deviation. *- p-value < 0.05.

70 The following were excluded from the study: Cancer, renal failure, hyperparathyroidism,
 71 hypercalcemia, nephrolithiasis, and liver disease carriers, and those under medication that
 72 could affect glyceimic and lipid metabolism, 25(OH)D metabolism or its absorption
 73 (phenytoin, rifampicin, isoniazid, glucocorticoid, and ketoconazole). Patients remained on the
 74 same diet, previously oriented to the control of diabetes in the outpatient clinic, and no
 75 additional nutritional supplementation was allowed. To increase the validity of the study and
 76 the lack of consensus on whether to define the best 25(OH)D status, the plasma concentration
 77 of 25(OH)D was not an inclusion or exclusion criterion. **Data Collection Flowchart. Figure**
 78 **2.**



79 **Figure 2. Data collection flowchart**

80 **2.4. Anthropometric Data**

81 The body height was measured with a stadiometer (Stadiometer Seca 208 Bodymeter)
 82 and waist circumference (WC) and hip circumference (HC) were measured with an
 83 anthropometric tape. WC was measured at half the mean distance between the iliac crest and
 84 the lower costal margin. Also, BMI and VFA were measured with the octopolar bioelectrical
 85 impedance device InBody 720 (Biospace, Seoul, Korea). The validity of bioelectric
 86 impedance for body composition has been previously documented [19,20].

87 The female volunteers were asked: 1) to wear comfortable clothing; 2) to fast for 12 hours
 88 before the test; 3) not to ingest water and rest for 2h before the test; 4) eliminate physiological
 89 excretions (urine and feces) before the test; 5) not to use any metal or accessory (rings,
 90 earrings, bracelets, cords); 6) not to perform any physical activity 24 hours before the test.
 91 Blood pressure was measured by an automatic device (Welch Allyn Durashock DS44-BR) on
 92 the right arm in a sitting position, after resting for 5 minutes. Hypertension was defined as
 93 systolic pressure ≥ 140 mmHg or diastolic pressure ≥ 90 mmHg or previously known history
 94 and use of medication.

95 2.5. Biochemical analysis

96 Blood measurements were performed in the morning after 12 hours overnight fasting. The
 97 primary outcomes and analytical methodologies were: fasting glycemia (FG) by enzymatic
 98 colorimetric method (GOD-PAP), glycated hemoglobin (HbA_{1c}) by liquid chromatography,
 99 vitamin D (25OHD) and fasting insulin (I) by chemiluminescent assay, c-reactive protein
 100 (CRP) by nephelometry, TC, HDL-c, TG by esterase/oxidase. The Homeostatic Model
 101 Assessment (HOMA) was used to determine the insulin resistance (HOMA-IR) **Equation 1.**
 102 and the β cell function (secretory capacity of insulin) (HOMA- β) **Equation 2.**, using the
 103 calculated formula [17]:

104

$$105 \quad \text{HOMA-IR} = \frac{\text{fasting insulin (IU/ml)} \times \text{fasting glucose}}{22.5} \quad (1)$$

106

$$107 \quad \text{HOMA-}\beta = \frac{20 \times \text{fasting insulin (IU/ml)} \%}{\text{Fasting glucose} - 3.5} \quad (2)$$

108

109 **2.6. Statistical Analysis**

110 All data are presented as mean and standard deviation. Initially, descriptive measures
111 were performed for the characterization of the sample, followed by the Kolmogorov-Smirnov
112 normality and homoscedasticity test to verify whether the samples were homogeneously
113 distributed.

114 Concerning the comparison of the means that showed normality, the F parametric test,
115 one-way ANOVA was used to verify the possible differences in time for the primary
116 outcomes (P0 vs. P12 vs. P24) or the secondary outcomes (P0 vs. P6 vs. P12 vs. P18 vs. P24)
117 and case of significant F, a Bonferroni post-hoc test was adopted for the analysis of multiple
118 comparisons between times. The level of significance was set at $p < 0.05$.

119 Concerning the variables that did not evidence normality (CRP), the K nonparametric
120 Kruskal-Wallis test was used to verify the possible differences in time for the primary
121 outcomes (P0 vs. P12 vs. P24) or secondary outcomes (P0 vs. P6 vs. P12 vs. P18 vs. P24) and
122 case of significant K, a Mann-Whitney post-hoc test was adopted for analysis of multiple
123 comparisons between times. The level of significance was set at $p < 0.05$.

124 IBM SPSS 24.0 software was used for all statistical analyses.

125 **3. Results**

126 Among the primary outcomes, in the comparisons of repeated measures, the variables that
127 showed significant results were vitamin D, P0 (27.99±9.23) vs. P12 (38.35±9.67), $p=0.0001$;
128 P0 (27.99±9.23) vs. P24 (42.78±9.17), $p=0.0001$, and a good adherence to the proposed
129 intervention can be inferred, and HDL-c levels P0 (46.61±8.97) vs. P24 (58.97±10.98),
130 $p=0.001$; P12 (49.94±10.82) vs. P24 (58.97±10.98), $p=0.02$. The multiple comparisons
131 evidenced gains in vitamin D between the measures of P0 (27.99±9.23) vs. P12 (38.35±9.67)
132 and P0 (27.99±9.23) vs. P24 (47.78±9.17) with the value of $p=0.0001$; for HDL-c, in the

133 multiple comparisons, there was significance between the measures P0 (46±8.97) vs. P24
 134 (58.97±97) with a value of $p=0.001$, and between measures P12 (49.94±10.82) vs. P24
 135 (58.97±10.98) with $p=0.02$. Except for the hemodynamic profile of the 25(OH)D and HDL-c
 136 in postmenopausal women, all other primary outcome variables FG, HbA_{1c}, I, HOMA-IR,
 137 HOMA-β, CRP, TC, and TG did not show a statistically significant difference. **Primary**
 138 **Outcomes. Table 2.**

Table 2 – Primary Outcomes

Variable	Time	Mean	±	Standard Deviation	Confidence Interval 95%	
					Lower	Upper
Vitamin D*	P0	27,99	±	9,23	24,83	31,16
	P12	38,35	±	9,67	35,04	41,81
	P24	42,78	±	9,17	39,51	46,08
Fasting Glycemia	P0	124,63	±	26,51	115,6	133,9
	P12	126,84	±	39,01	114,3	141,6
	P24	116,80	±	25,55	108,3	125,9
Insulin	P0	8,72	±	3,00	7,69	9,72
	P12	8,62	±	2,65	7,73	9,46
	P24	9,06	±	2,72	8,07	10,00
HOMA-IR	P0	2,75	±	1,26	2,3	3,2
	P12	2,75	±	1,44	2,3	3,3
	P24	2,66	±	1,17	2,3	3,1
HOMA-β	P0	58,05	±	26,25	48,7	67,2
	P12	72,36	±	68,13	52,7	98,7
	P24	73,53	±	37,4	60,8	87,7
Glycemic Hemoglobin	P0	6,60	±	1,26	6,2	7,1
	P12	6,59	±	1,14	6,2	7,0
	P24	6,45	±	0,78	6,2	6,7
c-Reactive Protein	P0	0,42	±	0,42	0,3	0,6
	P12	0,37	±	0,33	0,3	0,5
	P24	0,42	±	0,30	0,3	0,5
Total Cholesterol	P0	182,15	±	39,59	168,6	195,9
	P12	178,13	±	35,12	166,5	190,1
	P24	191,58	±	44,87	177,0	209,0
HDL Cholesterol**	P0	46,61	±	8,97	43,7	49,7
	P12	49,94	±	10,82	46,4	54,0
	P24	58,97	±	10,98	55,0	63,4
Tryglicerides	P0	151,15	±	52,23	134,1	170,1
	P12	138,19	±	59,28	118,6	160,2
	P24	129,13	±	55,55	110,8	151,7

Result of the multiple comparisons:

25(OH)D* P0 vs P12, $p = 0.0001$; P0 vs P24, $p = 0.0001$;

HDL-c** P0 vs P24, $p = 0,001$; P12 vs P24, $p = 0,02$

139
140

141 Finally, analyses of the secondary outcome variables, namely, changes in body
142 composition and blood pressure levels over 24 months with 25(OH)D supplementation were
143 performed.

144 In the comparisons of the means for the verification of possible differences in time P0
145 (83.24±14.51) vs. P6 (77.94±10.38) vs. P12 (77.42±9.99) vs. P18 (78.39±6.38) vs. P24
146 (75.81±6.72), the ANOVA results showed that the female volunteers had significant changes
147 only in DBP, p-value=0.044. The multiple comparisons evidenced a change between the P0
148 measures (83.24±14.51) vs. P24 (75.81±6.72) with the value of p=0.037. Comparisons of the
149 means for verifying the possible differences at different times and the analysis of the multiple
150 comparisons of the variables SBP, WC, WHR, VFA and BMI did not have significant results.

151 **Secondary Outcomes. Table 3.**

Table 3 – Secondary Outcomes

Variable	Tempo	Mean	±	Standard Deviation	Confidence interval 95%	
					Lower	Upper
Waist Circumference (cm)	<i>P0</i>	94.11	±	13.28	89.48	98.75
	<i>P6</i>	91.53	±	12.26	87.25	95.81
	<i>P12</i>	90.92	±	13.65	85.91	95.93
	<i>P18</i>	90.80	±	11.58	86.55	95.04
	<i>P24</i>	91.60	±	12.44	87.03	96.16
Hip Circumference (cm)	<i>P0</i>	101.87	±	9.01	98.73	105.02
	<i>P6</i>	102.71	±	8.15	99.87	105.56
	<i>P12</i>	103.59	±	9.49	100.11	107.07
	<i>P18</i>	100.26	±	7.95	97.34	103.17
	<i>P24</i>	102.10	±	9.52	98.60	105.59
Waist-Hip Ratio	<i>P0</i>	0.92	±	0.09	0.89	0.95
	<i>P6</i>	0.89	±	0.08	0.86	0.92
	<i>P12</i>	0.88	±	0.08	0.85	0.90
	<i>P18</i>	0.90	±	0.07	0.88	0.93
	<i>P24</i>	0.90	±	0.08	0.87	0.92
Body mass index (IMC)	<i>P0</i>	29.99	±	5.34	28.13	31.85
	<i>P6</i>	29.90	±	5.26	28.06	31.73
	<i>P12</i>	29.86	±	5.30	27.92	31.81
	<i>P18</i>	29.38	±	5.03	27.54	31.23
	<i>P24</i>	29.73	±	5.19	27.83	31.64
Visceral Fat Area	<i>P0</i>	117.38	±	28.51	107.43	127.33
	<i>P6</i>	117.28	±	27.21	107.79	126.77
	<i>P12</i>	119.61	±	28.42	109.18	130.03
	<i>P18</i>	115.15	±	24.92	106.02	124.29
	<i>P24</i>	119.53	±	27.49	109.44	129.61
Systolic Blood Pressure	<i>P0</i>	136.47	±	26.50	127.22	145.72
	<i>P6</i>	126.76	±	18.21	120.41	133.12
	<i>P12</i>	126.45	±	17.80	119.92	132.98
	<i>P18</i>	125.81	±	15.66	120.06	131.55
	<i>P24</i>	123.55	±	14.27	118.31	128.78
Diastolic Blood Pressure*	<i>P0</i>	83.24	±	14.51	78.17	88.30
	<i>P6</i>	77.94	±	10.38	74.32	81.56
	<i>P12</i>	77.42	±	9.99	73.76	81.08
	<i>P18</i>	78.39	±	6.38	76.05	80.73
	<i>P24</i>	75.81	±	6.72	73.34	78.27

Result of the multiple comparisons: DBP* P0 vs P24, p = 0,037

152

153

154 4. Discussion

155 This study is based on current scientific literature and aimed to evaluate the influence of
156 25(OH)D supplementation in postmenopausal and diabetic women with glycemic
157 homeostasis in a 2-year period. In the first year, 1,000 IU/day was supplemented, and the dose
158 was 2,000 IU/day in the second year. The female volunteers were their controls. Glycemic
159 homeostasis was considered as the set of variables such as FG, HbA_{1c}, I, HOMA-IR and
160 HOMA- β . The other outcomes were evaluations of the levels of TC, HDL-c, TG, CRP, SBP
161 and DBP, WC, WHR and BMI. All volunteers, because they were in the postmenopausal
162 period, had an indication of prophylaxis in reducing the risk of falls, prevention or treatment
163 of osteoporosis.

164 Among the results found, for the primary outcomes analyzed, the variables that showed
165 significant results were 25(OH)D and HDL-c levels. All other primary outcome variables did
166 not show a significant statistical difference. Among the secondary outcome variables, only the
167 DBP showed a significant result.

168 The 25(OH)D is a prehormone and plays a crucial role in calcium homeostasis, and
169 consequently in bone health. The existence of extraskeletal effects of 25(OH)D is still under
170 investigation and these effects would include reduction of oxidative stress, neuroprotective
171 functions, antimicrobial defense, immunoregulation, anti-inflammatory and anticancer
172 actions, and cardiovascular benefits. The first evidence of new activities of the 25(OH)D
173 hormone was the demonstration that VDR was present in other tissues such as keratinocytes,
174 promyelocytes, monocytes, lymphocytes, ovarian cells, and pancreatic islet cells [4,21].
175 However, randomized and placebo-controlled intervention studies are scarce and still unable
176 to show evidence of other effects described in other systems, such as immune and metabolic
177 ones [21,23].

178 There are several mechanisms by which 25(OH)D may interfere with glucose
179 metabolism, either because of its immunomodulatory function in improving low-grade
180 inflammation, observed in the insulin resistance of DM2 or through the stimulation of insulin
181 release by β -pancreatic cells [11,12]. Peripheral 25(OH)D metabolites may increase insulin
182 sensitivity in many ways, such as increased VDR expression, either by activating the
183 transcription of essential factors of glycemic homeostasis or indirectly, via regulation of
184 calcium, which is essential for insulin-mediated intracellular processes. However, the results
185 of small clinical trials and post hoc analyses of large trials on the effect of 25(OH)D
186 supplementation with or without calcium on glycemic homeostasis have been inconsistent
187 [11]. In this study, when we supplemented 25(OH)D, no significant change in time or
188 between measurements was found in either reduced insulin resistance (HOMA-IR) or
189 increased sensitivity (HOMA- β) or even in levels of insulin.

190 A recent cross-sectional study evaluating the association of 25(OH)D levels in
191 premenopausal (n=98) and postmenopausal (n=94) women with glycemic control (FG, lipid
192 profile, HbA_{1c}, insulin), showed that hypovitaminosis was more prevalent among
193 postmenopausal women and was significantly associated with I ($R_2=0.01760$, $p=0.0008$),
194 HbA_{1c} ($R_2=0.3709$, $p=0.0001$), and FG ($R_2=0.3465$, $p=0.0001$) in the same group. However,
195 adequate levels of 25(OH)D in both groups were associated with improved glycemic control
196 [17]. In our sample, even with a significant improvement in 25(OH)D levels at P0
197 (27.99 ± 9.23) vs. P24 (42.78 ± 9.17) $p=0.0001$, we did not find an association of improvement
198 of the above mentioned variables such as I at P0 (8.72 ± 3.0) vs. P24 (9.06 ± 2.72) $p=0.805$;
199 HbA_{1c} at P0 (6.60 ± 1.26) vs. P24 (6.45 ± 0.78) $p=0.828$; FG at P0 (124.63 ± 26.51) vs. P24
200 (116.80 ± 25.55) $p=0.406$). Indeed, one of the limiting factors for our results was the small
201 sample number.

202 In 1984, Nilas L and Christiansen C. evaluated the effect of 2,000 IU/d of 25(OH)D
203 treatment on 25 postmenopausal women for the prevention or treatment of bone mass loss
204 over 2 years on reduced body weight and glucose levels, and no change in these variables was
205 found when compared to the placebo group (n=150) [24], against our results. For diabetic or
206 glucose intolerant patients, a 15-trial meta-analysis, including 25(OH)D doses ranging from
207 400 to 120,000 IU over a period of 6 weeks to 2 years showed a small effect on FG (0.32
208 mmol/l, 95% CI -0.57 to -0.07) and a small improvement in insulin resistance (mean standard
209 difference -0.25, 95% CI -0.48 to -0.03). No difference was observed on HbA_{1c} in patients
210 with diabetes and glucose intolerance [12].

211 Numerous observational studies have demonstrated associations between low
212 concentrations of 25(OH)D and elevated risk of CVD-related death [4,25]. Although some
213 suggest that 25(OH)D supplementation improves endothelial function in both diabetic and
214 non-diabetic populations [25], this promising finding has little data available on long-term
215 vascular impact, as well as which doses would be the most adequate and whether higher doses
216 would improve surrogate markers of CVD, such as CRP levels and intima-media thickness.
217 Evidence of causality from randomized trials for cardiovascular outcomes was inconclusive
218 or negative. In this study, the use of CRP as a risk factor for CVD did not return significant
219 differences in time when evaluated (P0 vs. P12 vs. P24).

220 Low levels of 25(OH)D in diabetic patients predict macrovascular events, although
221 evidence for microvascular events is less robust. The macrovascular association can be
222 attributed to effects on blood pressure, activity on the renin-angiotensin-aldosterone system,
223 endothelial function, vascular endothelial growth factor or chronic inflammation. Doubts
224 remain concerning whether low levels of 25(OH)D are the cause or merely a marker of
225 disease deterioration or health status [12].

226 It is believed that angiotensin II contributes to the increase of IR by inhibiting the action
227 of I in vascular and musculoskeletal tissues, leading to lower glucose uptake. Some data
228 support that the complex formed by 25(OH)D-VDR is a potential regulator of renin activity in
229 humans and that polymorphisms in the gene of this complex may be associated with the
230 pathogenesis of DM2 [3,25].

231 A recent individual participation meta-analysis published by Swart et al. that evaluated
232 the effects of vitamin D supplementation on cardiovascular markers and DM2, such as blood
233 pressure, HbA_{1c}, LDL-c, HDL-c, TC, TG, FG, I, C-peptide, PTH, and glycemia 2h after
234 revealed no effects on the primary outcomes, such as blood pressure and HbA_{1c} levels. The
235 analyses of subgroups by 25(OH)D levels achieved (between 30ng/dL and 50ng/dL) showed a
236 significant decline of LDL-c concentrations after supplementation [22]. In our study, even
237 with 25(OH)D values achieved similar to the above, we had significant results only in the
238 improvement of DBP in the comparisons of time means (p=0.044) and in the multiple
239 comparisons between the measures (p=0.037). This did not occur with SBP.

240 The association between low levels of 25(OH)D and low HDL-c concentrations has been
241 discussed in some studies, but there is still controversy. Data from the Tromsø Study showed
242 a strong and positive association between serum levels of 25(OH)D and HDL-c, although the
243 cause of this association remains unknown [15]. Evident beneficial effects on the other
244 markers chosen for risk of CVD and glycemic homeostasis were not observed, as well as
245 adverse effects among female volunteers with serum response to 25(OH)D supplementation.
246 On the other hand, in a randomized placebo-controlled study designed to evaluate the long-
247 term impact of a high dose of 25(OH)D on arterial characteristics, glycemic homeostasis
248 parameters, circulating levels of adiponectin and leptin in diabetic patients, A. Breslavsky et
249 al. divided into two groups 47 diabetic patients, in which one of them received 1,000 IU/d of
250 25(OH)D over a 12-month period to evaluate metabolic parameters such as FG, lipid profile,

251 HbA_{1c}, D, adiponectin, leptin, HOMA-IR aortic index. The two groups were
252 hemodynamically similar at baseline and the end of 12 months of glycemic homeostasis
253 parameters, leptin and the leptin adiponectin ratio did not change in both groups. Levels of
254 25(OH)D increased significantly ($p=0.022$) and circulating adiponectin increased marginally
255 ($p=0.065$) during 12 months of treatment in the active group, but not in the placebo group
256 [25]. In our study, we did not observe reductions in TG or TC levels, even when
257 supplemented with doses of 2,000 IU/day and 25(OH)D levels above 30ng/dl.

258 The negative relationship between 25(OH)D levels and fat mass has been attributed to the
259 increased sequestration of 25(OH)D by adipocytes [18]. It is unknown whether adipocytes
260 simply store 25(OH)D or actively catabolize it [23], and the findings that supplementation of
261 25(OH)D at a dose of 1,000 IU/d for one year changed the circulating levels of adiponectin, a
262 protein specifically expressed in human adipocytes, which plays an essential role in insulin
263 sensitivity, inflammation and atherogenesis, show the correlation between 25(OH)D levels
264 and body composition [25]. There is an inverse association between serum 25(OH)D and BMI
265 greater than 30 kg/m². The 25(OH)D₃ is liposoluble and increased adiposity will expand total
266 vitamin D, thereby reducing the total serum concentration of 25(OH)D. In turn, 25(OH)D
267 deficiency is a risk factor for obesity, as reduced levels of 25(OH)D may lead to secondary
268 elevation of PTH, which may promote calcium influx into adipocytes, increasing lipogenesis
269 and reducing lipolysis. Also, 25(OH)D can inhibit the differentiation of pre-adipocytes
270 through peroxisome proliferator-activated receptor (PPARc) suppression, thereby causing
271 increased lipogenesis when its serum levels decrease [26]. However, in our study, even using
272 1,000/2,000 IU/d supplementation doses for a period of one year each, the results of
273 comparisons of the means for the verification of the possible differences at the different times
274 and the analysis of the multiple comparisons of the variables WC, WHR, VFA and BMI did

275 not have significant results. We understand that many other factors interfere in the
276 determination of these variables, such as physical activity, food intake, and genetic factors.

277 It is important to note that, in many of the studies shown, changes in the drug treatment of
278 DM2 were not reported, different and unusual doses of 25(OH)D were administered, there
279 were differences in the participants' BMI and baseline values of 25(OH)D at the beginning of
280 the studies, and that there was no consideration of genetic and environmental factors, such as
281 the diet followed by each member, besides the methodologies used in the 25(OH)D dosages.
282 Some of these factors, which may have contributed to the divergence in the results found, also
283 occurred in our study, which also contained a small number of participants. Such limitations
284 may have generated several biases in the interpretation of our results. It remains uncertain
285 whether 25(OH)D supplementation could improve the metabolic parameters of DM2 and
286 what their real participation would be.

287 **5. Conclusion**

288 Despite the identification of vitamin D receptors in various organs and systems involved
289 in the pathophysiology of DM2, we cannot affirm that 25(OH)D supplementation may
290 contribute to the glycemic homeostasis of this multifactorial disease. However, it was
291 observed an enhancement in the data values during time.

292 **6. Data Availability**

293
294 The data used to support the findings of this study are included within the article and at
295 ARCA repository - Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

296 **7. Conflicts of Interest**

297 The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this
298 paper.

299 **8. Funding Statement**

300 This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de
301 Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001

302 **9. Acknowledgements**

303 We would like to thank the head of department, Professor Fábio Russomano, Dr. Janio
304 Cordeiro, The Employee Association (ASFOC) and the research volunteers that believe in our
305 work.

306 **10. References**

307 [1] Griz L, Bandeira F, Diniz ET, Cabral M, Freese E. Prevalence of vitamin D deficiency
308 is higher in patients with Paget's disease of bone compared with age-matched controls. *Arq*
309 *Bras Endocrinol Metabol* 2013;57:509–512.

310 [2] Cavalcante R, Maia J, Mesquita P, Henrique R, Griz L, Bandeira MP, et al. The effects
311 of intermittent vitamin D3 supplementation on muscle strength and metabolic parameters in
312 postmenopausal women with type 2 diabetes: a randomized controlled study. *Ther Adv*
313 *Endocrinol Metab* 2015;6:149–54. doi:10.1177/2042018815578998.

314 [3] Griz LHM, Bandeira F, Gabbay MAL, Dib SA, Carvalho EF de. Vitamin D and
315 diabetes mellitus: an update 2013. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2014;58:1–8.

316 [4] Gil Á, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr*
317 *Metab* 2018;72:87–95. doi:10.1159/000486536.

318 [5] Holick F, Binkley C, Bischoff-Ferrari A, Gordon M, Hanley A, Heaney P, et al.
319 Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society
320 Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1911–1930.
321 doi:10.1210/jc.2011-0385.

- 322 [6] Muszkat P, Camargo MBR, Griz LHM, Lazaretti-Castro M. Evidence-based non-
323 skeletal actions of vitamin D. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2010;54:110–117.
- 324 [7] Chacko SA, Song Y, Manson JE, Van Horn L, Eaton C, Martin LW, et al. Serum 25-
325 hydroxyvitamin D concentrations concerning cardiometabolic risk factors and metabolic
326 syndrome in postmenopausal women-. *Am J Clin Nutr* 2011;94:209–217.
- 327 [8] Maia J, da Silva AS, do Carmo RF, de Mendonça TF, Griz LHM, Moura P, et al. The
328 association between vitamin D receptor gene polymorphisms (TaqI and FokI), Type 2
329 diabetes, and micro-/macrovascular complications in postmenopausal women. *Appl Clin*
330 *Genet* 2016;9:131–6. doi:10.2147/TACG.S101410.
- 331 [9] MITRI J, PITTAS AG. Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*
332 2014;43:205–32. doi:10.1016/j.ecl.2013.09.010.
- 333 [10] Mitri J, Muraru M, Pittas A. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *Eur J*
334 *Clin Nutr* 2011;65:1005–15. doi:10.1038/ejcn.2011.118.
- 335 [11] Mitri J, Dawson-Hughes B, Hu FB, Pittas AG. Effects of vitamin D and calcium
336 supplementation on pancreatic β cell function, insulin sensitivity, and glycemia in adults at
337 high risk of diabetes: the Calcium and Vitamin D for Diabetes Mellitus (CaDDM)
338 randomized controlled trial1234. *Am J Clin Nutr* 2011;94:486–94.
339 doi:10.3945/ajcn.111.011684.
- 340 [12] George PS, Pearson ER, Witham MD. Effect of vitamin D supplementation on
341 glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis. *Diabet Med*
342 2012;29:e142–50. doi:10.1111/j.1464-5491.2012.03672.x.
- 343 [13] Fondjo LA, Sakyi SA, Owiredu WKBA, Laing EF, Owiredu E-W, Awusi EK, et al.
344 Evaluating Vitamin D Status in Pre- and Postmenopausal Type 2 Diabetics and Its

- 345 Association with Glucose Homeostasis. *BioMed Res Int* 2018;2018:1–12.
346 doi:10.1155/2018/9369282.
- 347 [14] Bandeira F, Griz L, Freese E, Lima DC, Diniz ET, Marques TF, et al. Vitamin D
348 deficiency and its relationship with bone mineral density among postmenopausal women
349 living in the tropics. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2010;54:227–232.
- 350 [15] Aquino SLS, da Cunha ATO, Pereira HT, Freitas EPS, Fayh APT, Lima JG, et al.
351 Predictors of 25-hydroxyvitamin D status among individuals with metabolic syndrome: a
352 cross-sectional study. *Diabetol Metab Syndr* 2018;10. doi:10.1186/s13098-018-0346-1.
- 353 [16] Russo LAT ML. Determinação da Concentração Plasmática de 25 Hidroxivitamina D
354 em mulheres na pós-menopausa com baixa densidade mineral óssea e sua associação com
355 parâmetros de metabollismo ósseo e fraturas vertebrais. Tese Doutorado em Saúde da Mulher.
356 Instituto Fernandes Figueira - Fiocruz, 2009.
- 357 [17] Fondjo LA, Sakyi SA, Owiredu WKBA, Laing EF, Owiredu E-W, Awusi EK, et al.
358 Evaluating Vitamin D Status in Pre- and Postmenopausal Type 2 Diabetics and Its
359 Association with Glucose Homeostasis. *BioMed Res Int* 2018;2018.
360 doi:10.1155/2018/9369282.
- 361 [18] Wacker M, Holick MF. Sunlight and Vitamin D. *Dermatoendocrinol* 2013;5:51–108.
362 doi:10.4161/derm.24494.
- 363 [19] Ogawa H, Fujitani K, Tsujinaka T, Imanishi K, Shirakata H, Kantani A, et al. InBody
364 720 as a new method of evaluating visceral obesity. *Hepatogastroenterology* 2011;58:42–4.
- 365 [20] Bentes CM, Costa PB, Resende M, Miranda HL, Silva CMV, Netto CC, et al.
366 Association between muscle function and body composition, vitamin D status, and blood

367 glucose in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Metab Syndr* 2017.
368 doi:10.1016/j.dsx.2017.04.025.

369 [21] SBPC/ML | SBPC/ML e SBEM atualizam Posicionamento de Vitamina D n.d.
370 [http://www.sbpc.org.br/noticias-e-comunicacao/sbpcml-e-sbem-atualizam-posicionamento-](http://www.sbpc.org.br/noticias-e-comunicacao/sbpcml-e-sbem-atualizam-posicionamento-de-vitamina-d/)
371 [de-vitamina-d/](http://www.sbpc.org.br/noticias-e-comunicacao/sbpcml-e-sbem-atualizam-posicionamento-de-vitamina-d/) (accessed September 11, 2018).

372 [22] Swart KM, Lips P, Brouwer IA, Jorde R, Heymans MW, Grimnes G, et al. Effects of
373 vitamin D supplementation on markers for cardiovascular disease and type 2 diabetes: an
374 individual participant data meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*
375 2018;107:1043–53. doi:10.1093/ajcn/nqy078.

376 [23] Kavaric S, Vuksanovic M, Bozovic D, Jovanovic M, Jeremic V, Radojicic Z, et al.
377 Body weight and waist circumference as predictors of vitamin D deficiency in patients with
378 type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Vojnosanit Pregl* 2013;70:163–9.
379 doi:10.2298/VSP110713035K.

380 [24] Nilas L, Christiansen C. Treatment with vitamin D or its analogs does not change body
381 weight or blood glucose level in postmenopausal women. *Int J Obes* 1984;8:407–11.

382 [25] Breslavsky A, Frand J, Matas Z, Boaz M, Barnea Z, Shargorodsky M. Effect of high
383 doses of vitamin D on arterial properties, adiponectin, leptin and glucose homeostasis in type
384 2 diabetic patients. *Clin Nutr* 2013;32:970–5. doi:10.1016/j.clnu.2013.01.020.

385 [26] Hao Y, Ma X, Shen Y, Ni J, Luo Y, Xiao Y, et al. Associations of Serum 25-
386 Hydroxyvitamin D3 Levels with Visceral Adipose Tissue in Chinese Men with Normal
387 Glucose Tolerance. *PLoS ONE* 2014;9:e86773. doi:10.1371/journal.pone.0086773.

CAPÍTULO 3

Considerações Finais e Conclusão

O envelhecimento populacional, com o aumento da expectativa de vida principalmente das mulheres, é acompanhado pelo crescimento paralelo de doenças crônicas, tais como o Diabetes mellitus e suas complicações, doenças cardiovasculares, além do maior risco de neoplasias, osteoporose, estados demenciais, entre outros. Torna-se mister a busca por medidas e ou tratamentos que atenuem tais comorbidades.

A associação da vitamina D com tais situações tem sido exaustivamente discutida no âmbito nacional e internacional. Principalmente, após o reconhecimento de receptores de vitamina D em diversos sítios do organismo e sua possível ação em diferentes contextos, gera hipóteses bem pertinentes. Entretanto, os resultados ainda não são profícuos.

No trabalho que se apresenta e nos artigos descritos, o Artigo 1, desenvolvido durante a construção do projeto de pesquisa e o Artigo 2, com os resultados de nossa intervenção, sugerem uma melhoria dos valores das variáveis abordadas. Porém, por ser o diabetes uma doença multifatorial, resultados mais robustos se fazem necessário e o desenvolvimento de pesquisas na área básica e clínica urgem.

Concluimos que, apesar da identificação de receptores de vitamina D em diversos órgãos e sistemas participantes na fisiopatologia do DM2, não podemos afirmar que a suplementação de VD possa vir a contribuir para a homeostase glicêmica desta doença multifatorial.

APÊNDICE

1 – Instrumento da Coleta de Dados

FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA Nº:

PRONTUÁRIO:

DATA:

NOME:				IDADE:		DATA NASC:		
ENDEREÇO:								
CEP:		TELEFONES:			QUAL A SUA COR? branca preta parda amarela indígena			
ESTADO CIVIL: casada solteira viúva amasiada separada divorciada				QUAL A SUA RELIGIÃO?				
QUANTOS ANOS FREQUENTOU A ESCOLA?				QUAL A SUA OCUPAÇÃO?				
MENARCA:		Nº GESTAÇÕES:			PARTOS NORMAIS:		CESÁREA:	ABORTOS:
MENOPAUSA:		CIRÚRGICA? Sim não		FEZ TRH-M? sim não		POR QUANTO TEMPO?		
VOCE TEM?	DM? QUAL?	HAS	DISLIPIDEMIA	OBESIDADE	DCV	DOENÇAS DA TIREOIDE-QUAL?	OSTEOPOROSE	CANCER – QUAL?
PAI, MÃE OU IRMÃOS JÁ TIVERAM UMA DESSAS DOENÇAS?								
MEDICAÇÕES QUE FAZ USO:								
VOCE FUMA? Sim Não		QUANTOS MAÇOS AO DIA?		HA QUANTOS ANOS?		JA FUMOU?		HA QUANTO TEMPO PAROU?
VOCE BEBE? Sim Não		TIPO Cerveja Vinho Destilados		COPOS	GARRAFAS	FREQUENCIA		JA PARTICIPOU DE ALGUM GRUPO PARA DEPENDENTES QUÍMICOS?

1

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DA CRIANÇA, DA MULHER E DO ADOLESCENTE FERNANDES FIGUEIRA – IFF – FIOCRUZ
SERVIÇO DE ENDOCRINOLOGIA

FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA Nº:		PRONTUÁRIO:		DATA:	
QUANTAS PESSOAS RESIDEM COM VOCÊ?	QUANTAS TRABALHAM?	QUAL A RENDA FAMILIAR EM SALÁRIOS MÍNIMOS? 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Acima	POSSUEM ALGUM PROGRAMA DE AUXÍLIO DO GOVERNO? (bolsas, auxílios,...) Sim Não	QUAL?	
VOCE FAZ ALGUMA ATIVIDADE FÍSICA?	QUAL? QUANTOS MINUTOS?	REGULARMENTE OU NÃO?	FREQUÊNCIA SEMANAL:		
- QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO CURTA –					
(tempo gasto na última semana, por pelo menos 10 minutos contínuos em atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim).					
<input type="checkbox"/> atividades físicas VIGOROSAS são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal <input type="checkbox"/> atividades físicas MODERADAS são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal					
1a. Em quantos dias da última semana você CAMINHOU por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício? Dias _____ por SEMANA () Nenhum					
1b. Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia ? Horas: _____ Minutos: _____					
2a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo, pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR, NÃO INCLUA CAMINHADA) Dias _____ por SEMANA () Nenhum					

2

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DA CRIANÇA, DA MULHER E DO ADOLESCENTE FERNANDES FIGUEIRA – IFF – FIOCRUZ
SERVIÇO DE ENDOCRINOLOGIA

2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



INSTITUTO NACIONAL FERNANDES FIGUEIRA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: Influência da suplementação de vitamina D na homeostase glicêmica em mulheres diabéticas na pós-menopausa

Pesquisador Responsável: Dra. Lizanka Paola Figueiredo Marinheiro

Pesquisador Assistente: Dra. Monique Resende Costa Machado

Contato telefônico: 2554-1813 e-mail: lizanka@globocom

Instituição Responsável pela Pesquisa: Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente – Fernandes Figueira (IFF-Fiocruz)

Endereço: Avenida Rui Barbosa, 716 – 4º andar – Flamengo – Rio de Janeiro /
telefone: 2554-1700

Nome do voluntário: _____

Prontuário: _____

Prezada paciente, a senhora é convidada a participar voluntariamente de nossa pesquisa **Influência da suplementação de vitamina D na homeostase glicêmica em mulheres diabéticas na pós-menopausa**, por possuir o diagnóstico de diabetes e se encontrar na pós-menopausa.

Justificativa do estudo

A mulher, quando está na menopausa, possui uma dificuldade em produzir a vitamina D na pele, mesmo quando se expõe ao sol, devido ao processo de envelhecimento. Então, para se tentar evitar que ocorram as fraturas decorrentes da osteoporose, no período da menopausa, o uso dessa vitamina está indicado em diversas doses, de acordo com as idades. O diabetes, que é uma doença caracterizada pelos níveis elevados de glicose, poderá ter como complicações o infarto, derrame cerebral, cegueira, insuficiência renal, amputações, entre outros problemas. Alguns estudos mostraram que, talvez, os baixos níveis de vitamina D possam contribuir para o surgimento do diabetes. Entretanto, muitos estudos ainda estão sendo desenvolvidos. A nossa pesquisa tentará avaliar se a suplementação da vitamina D poderá contribuir para o melhor tratamento do seu diabetes, peso, pressão arterial, níveis de colesterol e triglicerídeos.

APROVADO
VALIDADE: 30/09/2016
INÍCIO 01/06/2015 FIM
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA- IFF/FIOCRUZ
Telefones 2554-1730 / Tel./Fax 2552-8491
Email: cepiff@iff.fiocruz.br

Rubrica voluntária

Rubrica pesquisador

TCLE 3. Após Parecer Consubstanciado 2

[Assinatura]
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - IFF/FIOCRUZ



Objetivo do estudo

Esse estudo tem como finalidade a avaliação do uso de vitamina D na melhoria do tratamento de seu diabetes, tais como: controle da glicose, do colesterol e triglicérides, da pressão arterial, peso e composição corporal, distribuição de gordura e marcadores de inflamação presentes no diabetes.

Como será feito o estudo

Ao concordar em participar da pesquisa, a senhora será avaliada durante suas **consultas médicas rotineiras** no ambulatório de endocrinologia, com a realização de exame físico completo, avaliação da composição corporal e distribuição de gordura por meio de um aparelho de bioimpedância sempre que se fizer necessário; realização de **exames de sangue regulares a cada três meses**, devido ser necessária a avaliação de sua hemoglobina glicada, que é o melhor marcador do controle de sua glicose nos últimos três meses. Suplementação de vitamina D durante 2 anos, por via oral, inicialmente na dose de 1000 UI/dia e, posteriormente, numa dose de 2000 UI/dia. Durante esse período, serão realizados **contatos telefônicos a cada 15 dias**, para enfatizar a importância da aderência ao estudo e orientar possíveis dúvidas. A vitamina D utilizada durante a pesquisa será oferecida **GRATUITAMENTE**, por seu médico, na forma de gotas ou comprimidos, durante todo o período da pesquisa. Nessas doses, não há danos, nem efeitos adversos à sua saúde, conforme as diretrizes e consensos utilizados para confecção desse estudo. Importante lembrar que a sua participação nesse estudo é voluntária e não irá interferir em **NADA** nas condutas e atendimentos do seu médico, caso não aceite participar.

Benefícios esperados

Esperamos que a suplementação de vitamina D contribua no controle de seu diabetes e complicações, além de proporcionar melhoria na saúde de seus ossos, devido ao fato de ocorrer uma diminuição na produção de vitamina D na sua pele, após a menopausa, e proporcionar uma melhor qualidade de vida para a senhora.

Determinar se a suplementação de vitamina D, por via oral, é viável como terapia auxiliar no tratamento do diabetes.

Sugerir, futuramente, a suplementação de vitamina D por via oral, na prevenção e/ou tratamento de outras doenças crônicas características do processo de envelhecimento, e que tal sugestão também possa ser adotada pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

APROVADO

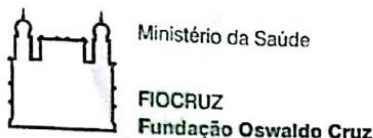
INÍCIO 01/06/2016 VALIDADE: 30/09/2016
 FIM 30/09/2016
 Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA-IFF/FIOCRUZ
 Telefones 2554-1730 / Tel./Fax 2552-8491
 Email: cepiff@iff.fiocruz.br

Rubrica voluntária

Rubrica pesquisador

TCLE 3. Após Parecer Consubstanciado 2

[Assinatura]
 Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
 INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - IFF/FIOCRUZ



Riscos esperados

O único risco da coleta de sangue é a possível ocorrência de um pequeno hematoma (mancha roxa), no seu braço, após a punção venosa (entrada da agulha no seu antebraço) e esse fato pode ocorrer em qualquer exame de sangue de rotina. O hematoma possui resolução espontânea na maioria das vezes e, no caso de demora na resolução, seu médico irá orientar-lhe acerca do que deverá ser feito.

Níveis tóxicos de vitamina D é um evento raro e o mesmo é causado pela ingestão de grandes quantidades de forma indevida. Nesse caso, observa-se aumento dos níveis de cálcio no sangue e, até o momento, nenhum estudo de longo tempo mostrou casos de intoxicação ou sugeriram que doses de até 4000 UI/dia pudessem causar até mesmo elevação dos níveis normais de cálcio no sangue. Lembramos que a senhora fará consultas médicas e exames de sangue regularmente e que avaliaremos as alterações que possam vir a surgir no período da pesquisa e que a dose máxima prescrita é de 2000 UI/dia.

Caso, durante o seu acompanhamento clínico, seja necessária a prescrição de insulina para o seu tratamento do diabetes, a senhora será excluída da pesquisa, mas **NÃO** perderá o direito ao atendimento médico de rotina na instituição.

Liberdade de recusar

A sua participação nessa pesquisa é voluntária e a senhora poderá abandonar ou retirar-se do estudo a qualquer momento, sem que isso cause qualquer prejuízo ao seu tratamento ou acompanhamento nessa instituição. O pesquisador desse estudo também poderá retirá-lo a qualquer momento, caso ele julgue ser necessário para o seu bem-estar.

Confidenciabilidade

Todas as informações obtidas nesse estudo são confidenciais, uma vez que seu nome não será associado às análises realizadas. Quando houver armazenamento de amostras de sangue, estas serão por código, respeitando a confidenciabilidade e sendo as mesmas utilizadas somente para o atual projeto. Dados pessoais e inerentes à sua saúde, presentes em seu prontuário, serão mantidos em sigilo, de acordo com a resolução vigente no país 466/2012. Os resultados serão divulgados em artigos, congressos, simpósios, reuniões, conferências e demais meios de divulgação científica, sem a citação do seu nome.

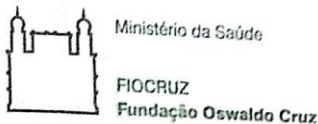
APROVADO
VALIDADE: 30/09/2015
INÍCIO 01/05/2015 FIM 30/09/2015
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA-IFF/FIOCRUZ
Telefones 2554-1730 / Tel./Fax 2552-8491
Email: cepiff@iff.fiocruz.br

Rubrica voluntária

Rubrica pesquisador

TCLE 3. Após Parecer Consubstanciado 2

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - IFF/FIOCRUZ



Recebimento de cópia do Termo de Consentimento

A senhora receberá uma via de igual teor a essa, com a assinatura do Pesquisador, para seu esclarecimento e segurança.

Ressarcimentos, pagamentos e indenizações

Nenhum valor, pagamento e ou taxa serão cobrados para a realização de seus exames e avaliações da composição corporal no aparelho de bioimpedância. Também não será oferecida qualquer contribuição financeira ou pagamento por sua adesão ao estudo. Sua adesão ao estudo é voluntária e, na ocorrência de eventuais prejuízos/danos que estejam diretamente e comprovadamente relacionados à pesquisa, haverá indenização dos mesmos pelo pesquisador principal.

Em caso de dúvidas

Caso tenha qualquer dúvida sobre essa pesquisa, pergunte ao profissional que está lhe atendendo. A senhora poderá pedir todos os esclarecimentos que julgar necessário, antes, durante e depois da realização da pesquisa. Se a senhora concordar em participar e desejar ter outras informações poderá contatar a responsável técnica pela pesquisa no Instituto Fernandes Figueira: Dra. Lizanka Paola Figueiredo Marinheiro no telefone 2554-1700, no Departamento de Ginecologia. No caso de ter alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Fernandes Figueira, que se encontra à disposição para eventuais esclarecimentos éticos e outras providências que se façam necessária (e-mail: cepiff@iff.fiocruz.br; Telefones: 2554-1730/fax: 2552-8491).

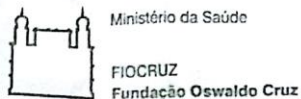
APROVADO
VALIDADE: 30/09/2016
INÍCIO 01/06/2015 FIM
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA-IFF/FIOCRUZ
Telefones 2554-1730 / Tel./Fax 2552-8491
Email: cepiff@iff.fiocruz.br

[Assinatura]
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - IFF/FIOCRUZ

Rubrica voluntária

Rubrica pesquisador

TCLE 3. Após Parecer Consubstanciado 2



Eu, _____, abaixo assinada, concordo em participar voluntariamente desse estudo. Declaro que li e entendi todas as informações referentes ao mesmo e que todas as minhas perguntas foram adequadamente respondidas pelo pesquisador.

Assinatura da voluntária, data e telefone de contato

Assinatura da testemunha, documento, data e telefone de contato

Assinatura do pesquisador responsável
Profª Drª Lizanka Paola Figueiredo Marinheiro
Avenida Rui Barbosa, 716 Flamengo / RJ
Tel: 2554-1813

Assinatura do pesquisador assistente

APROVADO
VALIDADE: 30.09.2010
INÍCIO 01.06.2009
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA-IFF/FIOCRUZ
Telefones 2554-1730 / Tel./Fax 2552-8491
Email: cepiff@iff.fiocruz.br

[Handwritten Signature]
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA - IFF/FIOCRUZ

Rubrica voluntária

Rubrica pesquisador

TCLE 3. Após Parecer Consubstanciado 2

3 – Gráficos dos desfechos primários

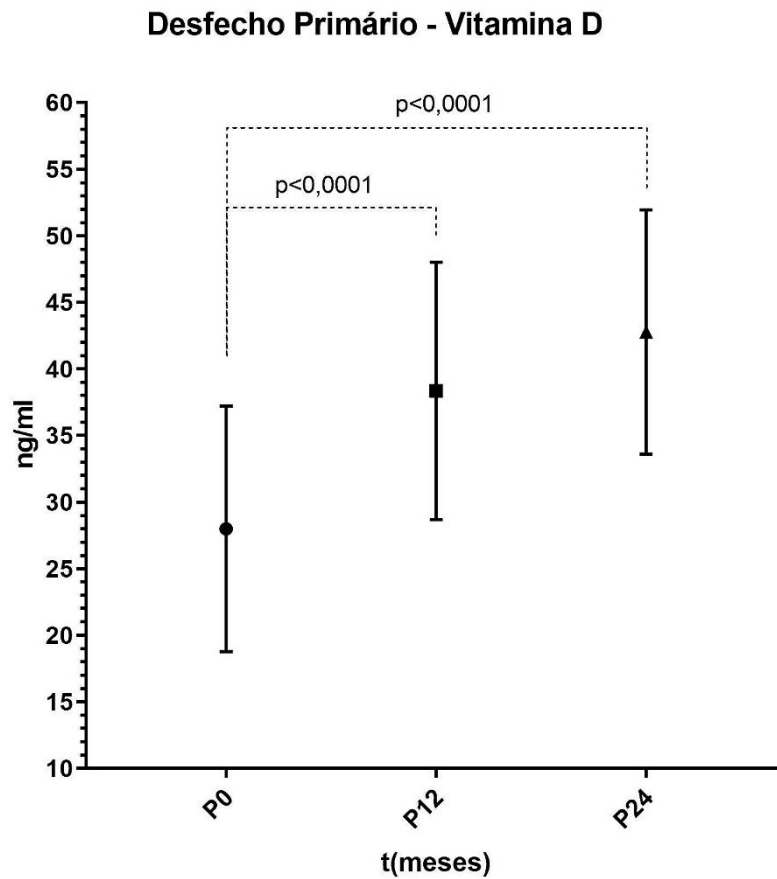


Gráfico 7. Comparação das medidas repetidas 25(OH)D3

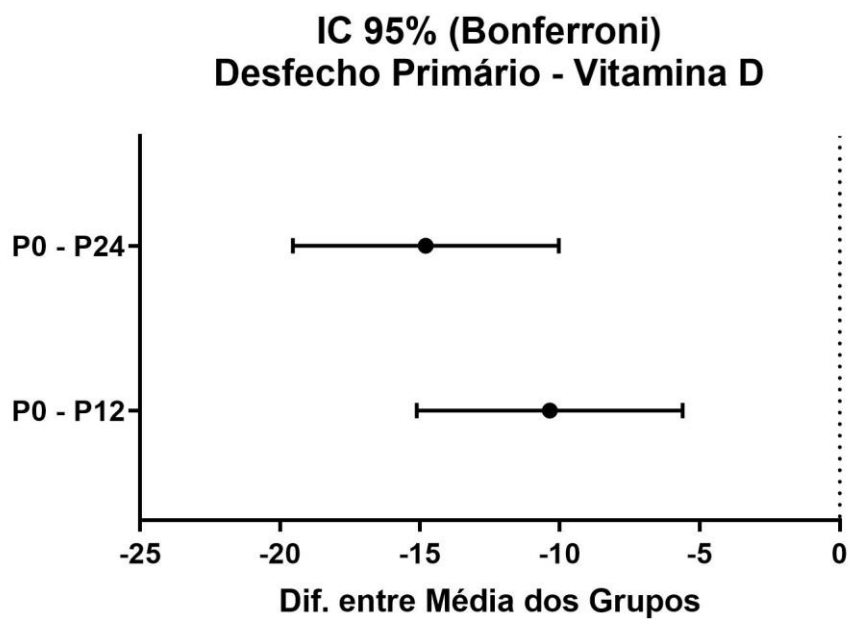


Gráfico 8. Diferença entre as médias dos grupos 25(OH)D3

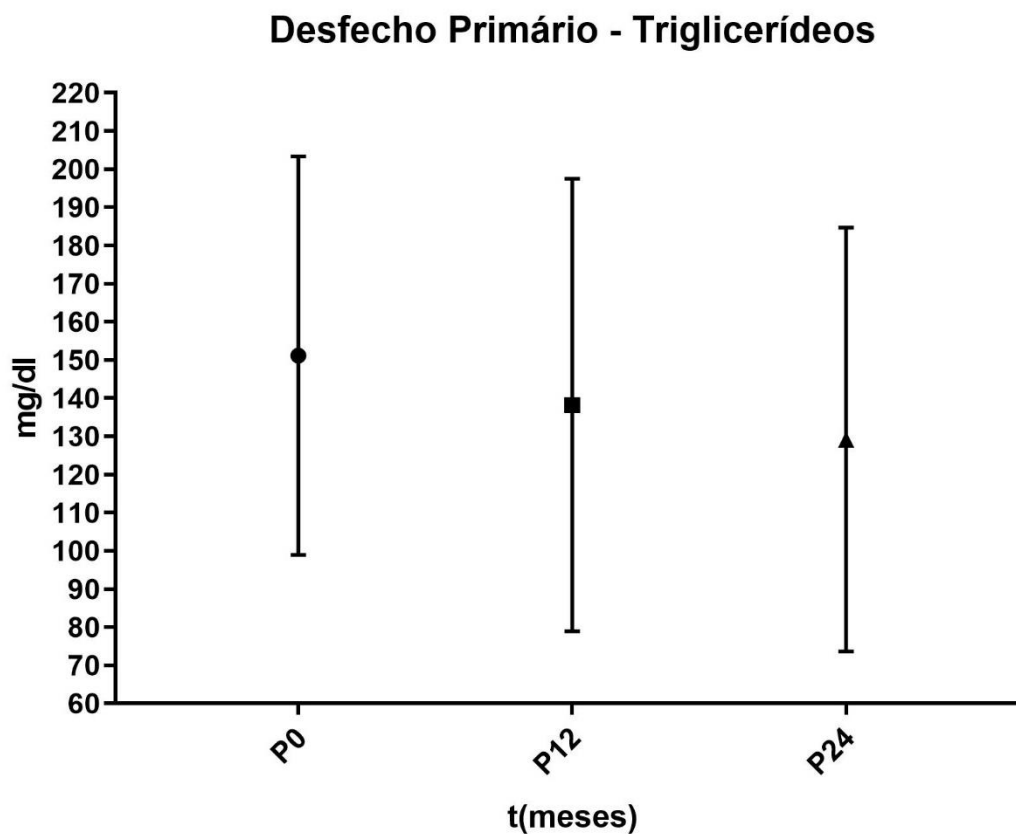


Gráfico 9. Comparação das medidas repetidas triglicerídeos

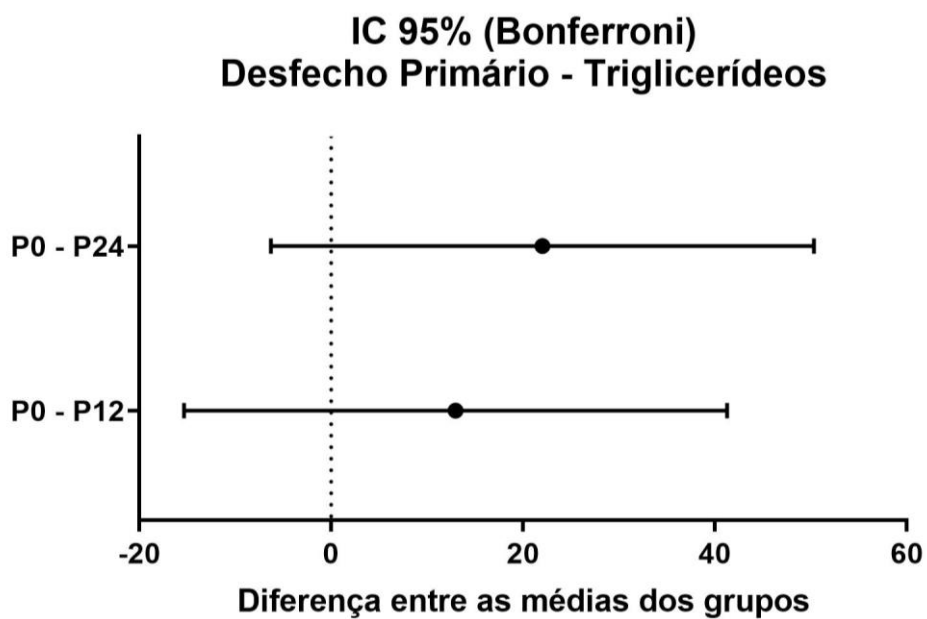


Gráfico 10. Diferença entre as médias dos grupos Triglicerídeos

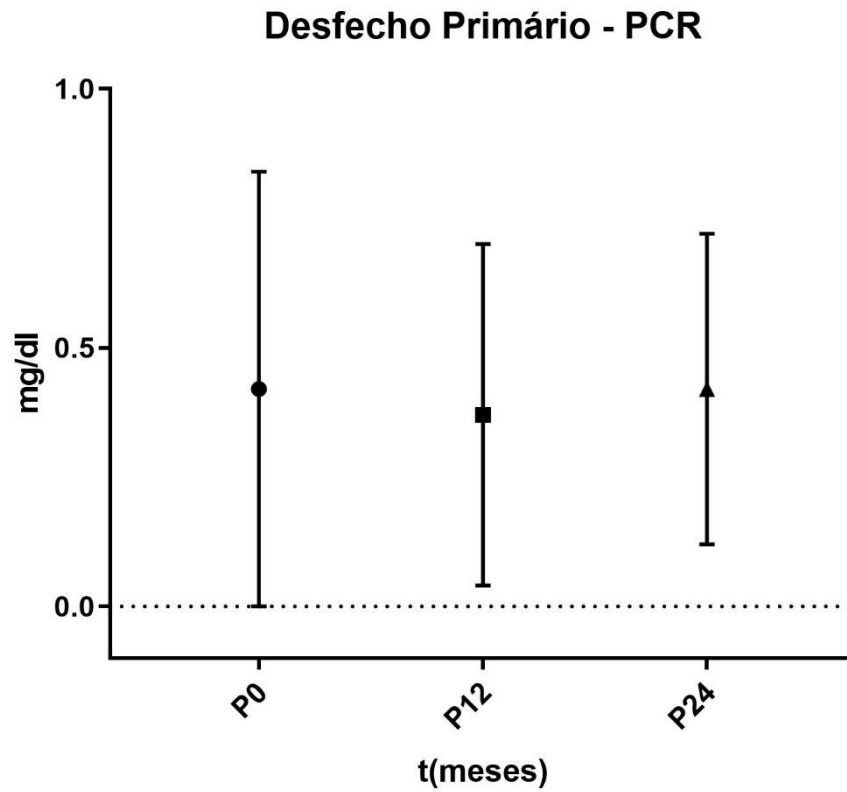


Gráfico 11. Comparação das medidas repetidas PCR

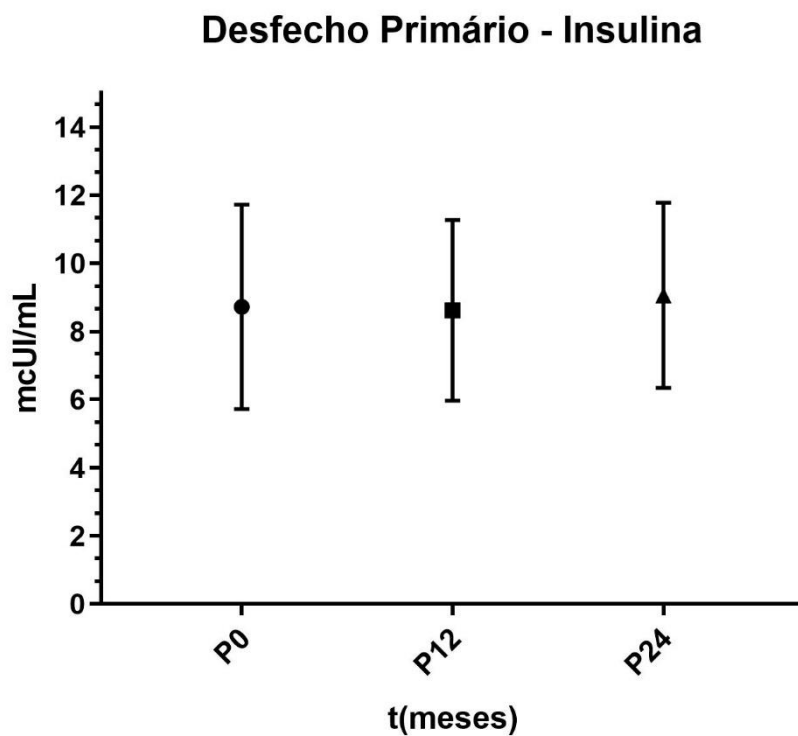


Gráfico 12. Comparação das medidas repetidas Insulina

**IC 95% (Bonferroni)
Desfecho Primário - Insulina**

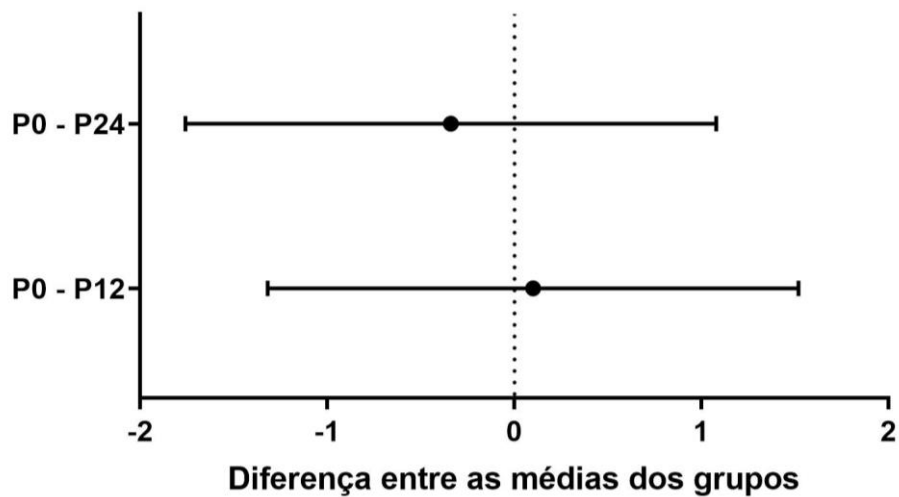


Gráfico 13. Diferença entre as médias dos grupos Insulina

Desfecho Primário - HOMA-IR

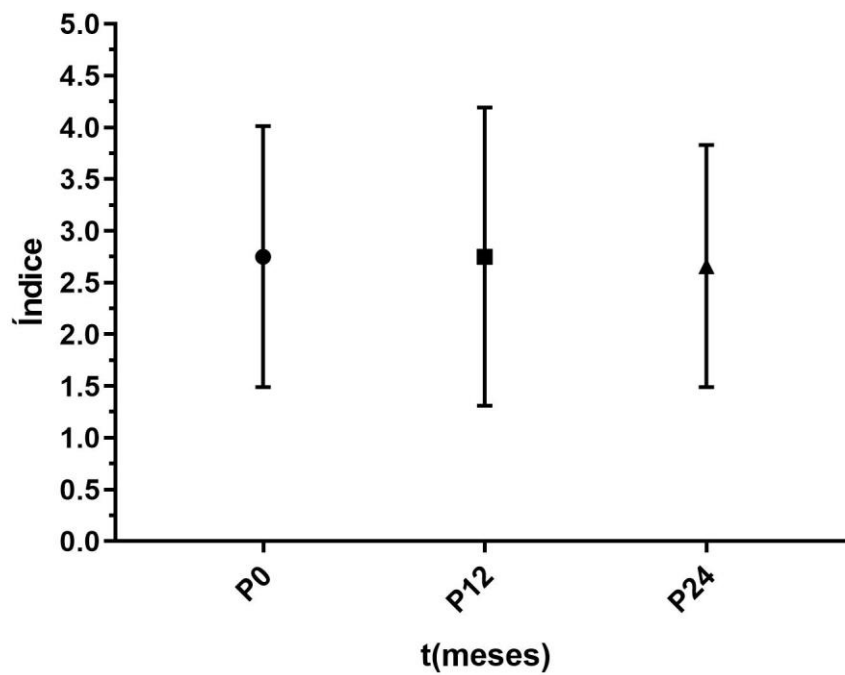


Gráfico 14. Comparação das medidas repetidas HOMA-IR

IC 95% (Bonferroni)
Desfecho Primário - HOMA-IR

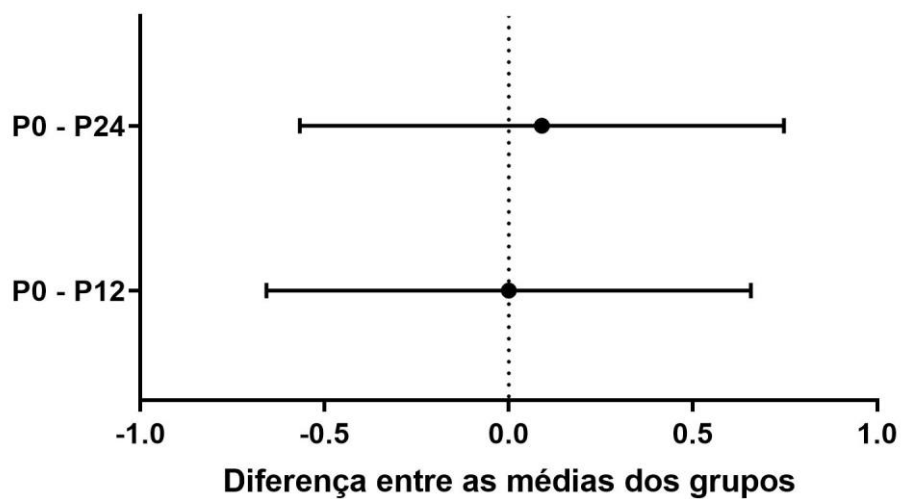


Gráfico 15. Diferença entre as médias dos grupos HOMA-IR

Desfecho Primário - HOMA-B

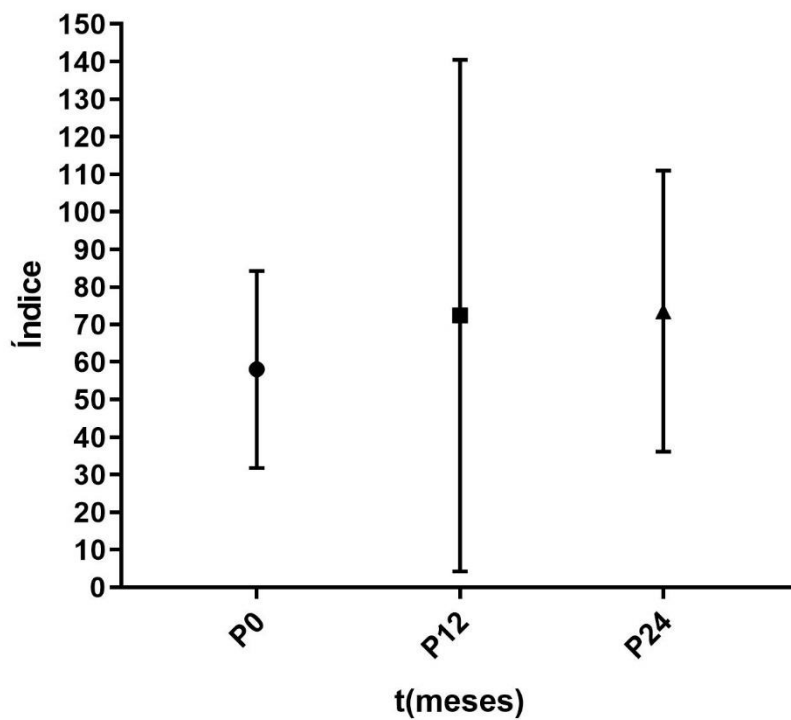


Gráfico 16. Comparação das medidas repetidas HOMA - β

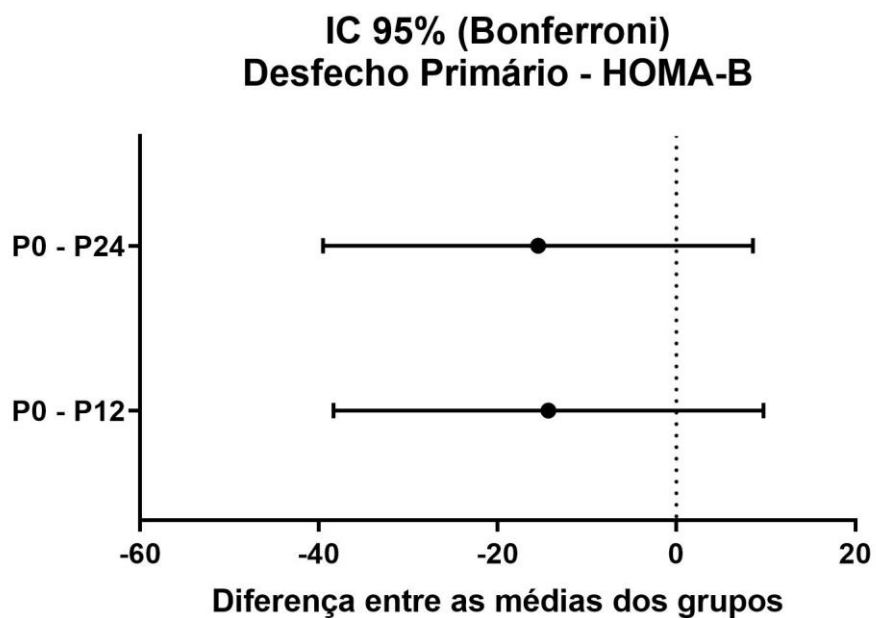
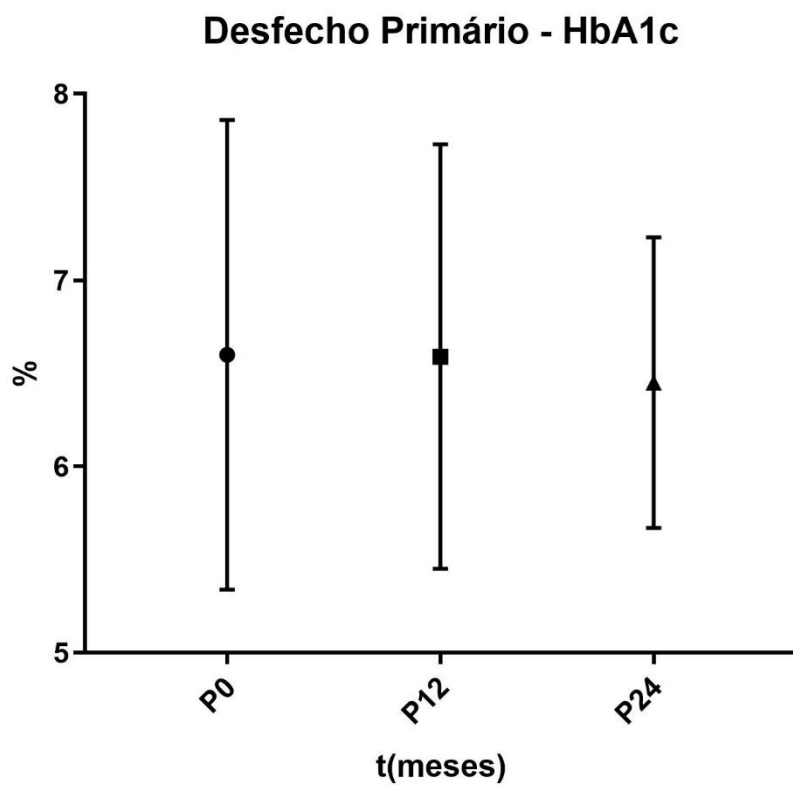
Gráfico 17. Diferença entre as médias dos grupos HOMA- β 

Gráfico 18. Comparação das medidas repetidas HbA1c

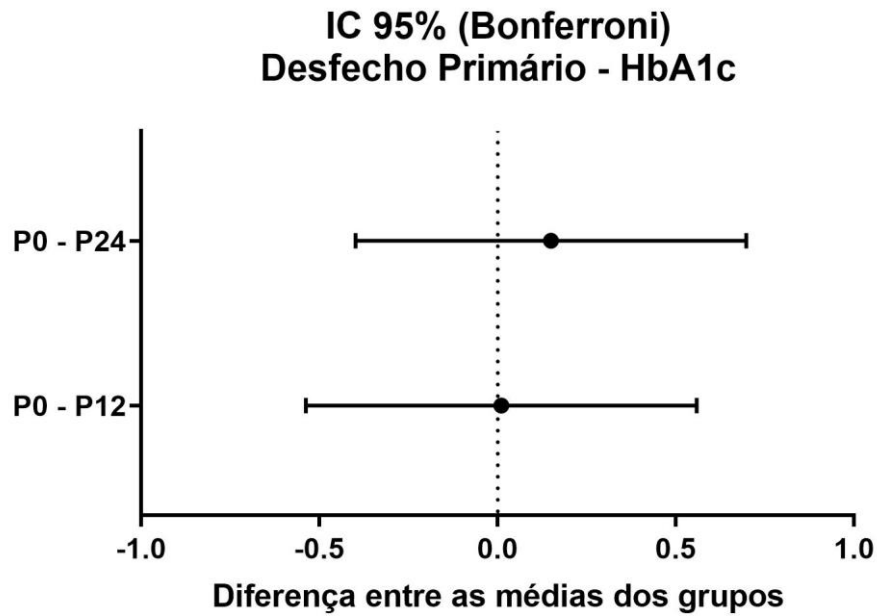


Gráfico 19. Diferença entre as médias dos grupos HbA1c

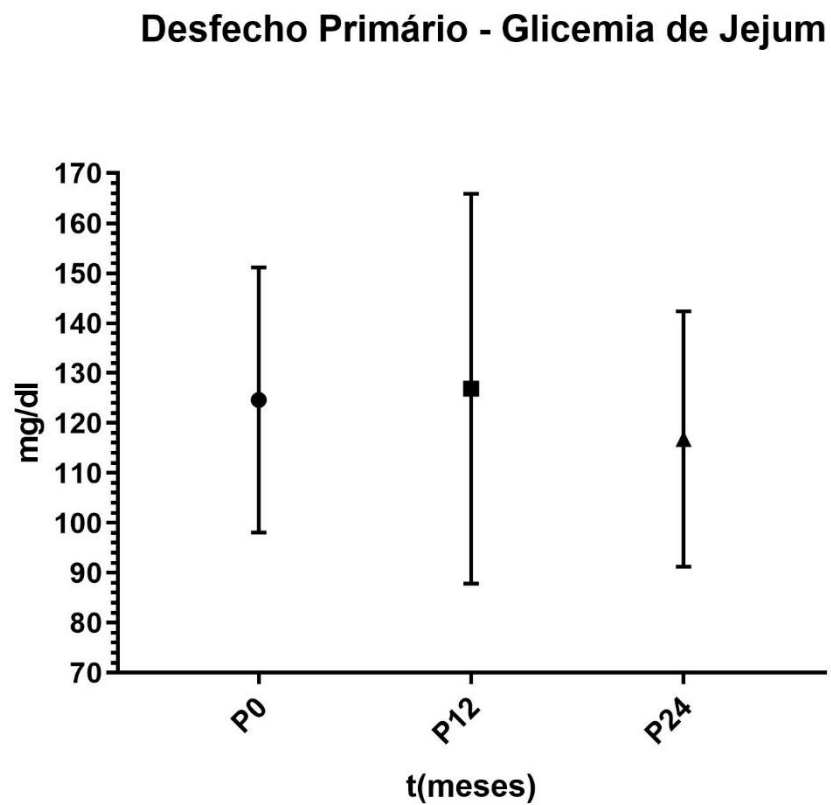


Gráfico 20. Comparação das medidas repetidas Glicemia de jejum

IC 95% (Bonferroni) Desfecho Primário - Glicemia de Jejum

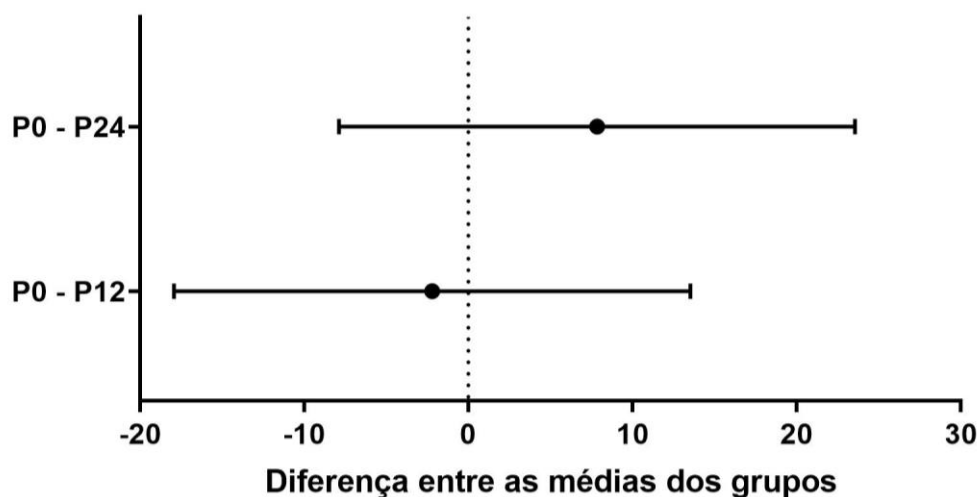


Gráfico 21. Diferença entre as médias dos grupos Glicemia de Jejum

Desfecho Primário - Colesterol Total

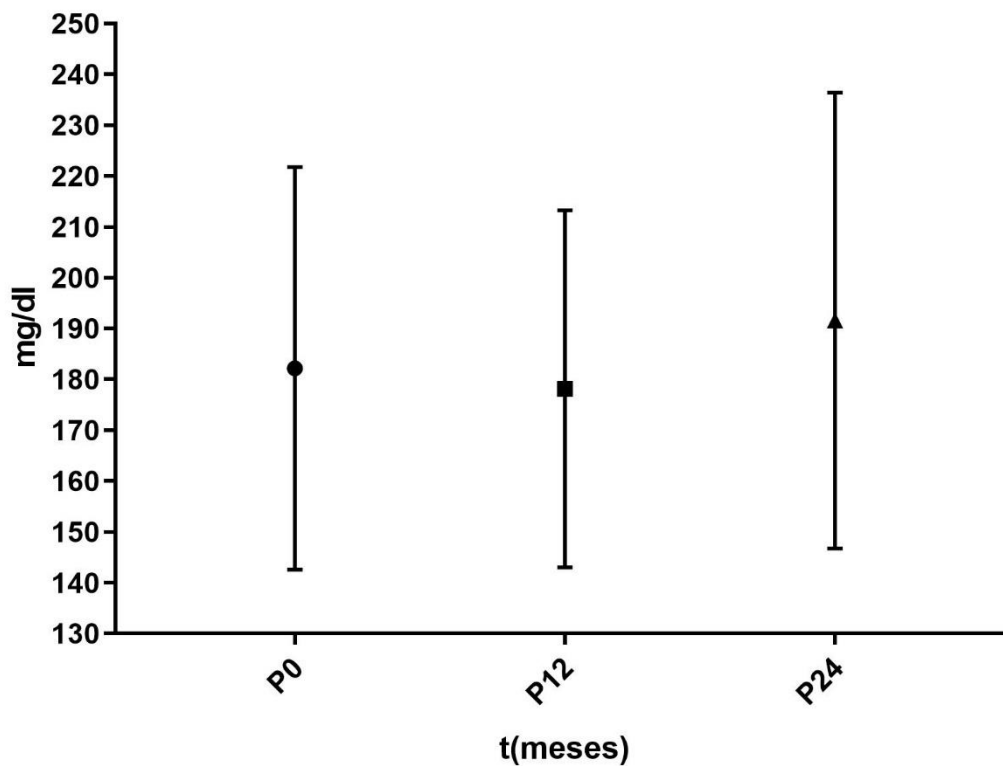


Gráfico 22. Comparação das medidas repetidas Colesterol Total

IC 95% (Bonferroni)
Desfecho Primário - Colesterol Total

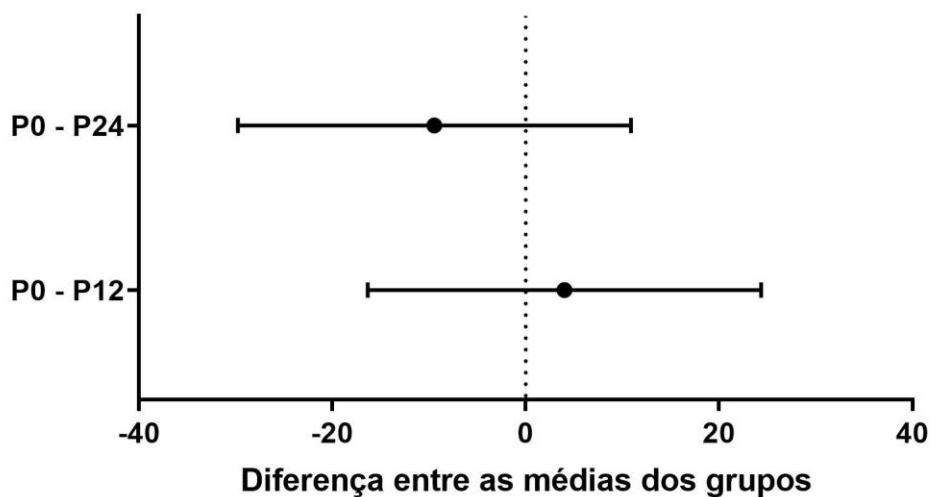


Gráfico 23. Diferença entre as médias dos grupos Colesterol Total

Desfecho Primário - Colesterol HDL

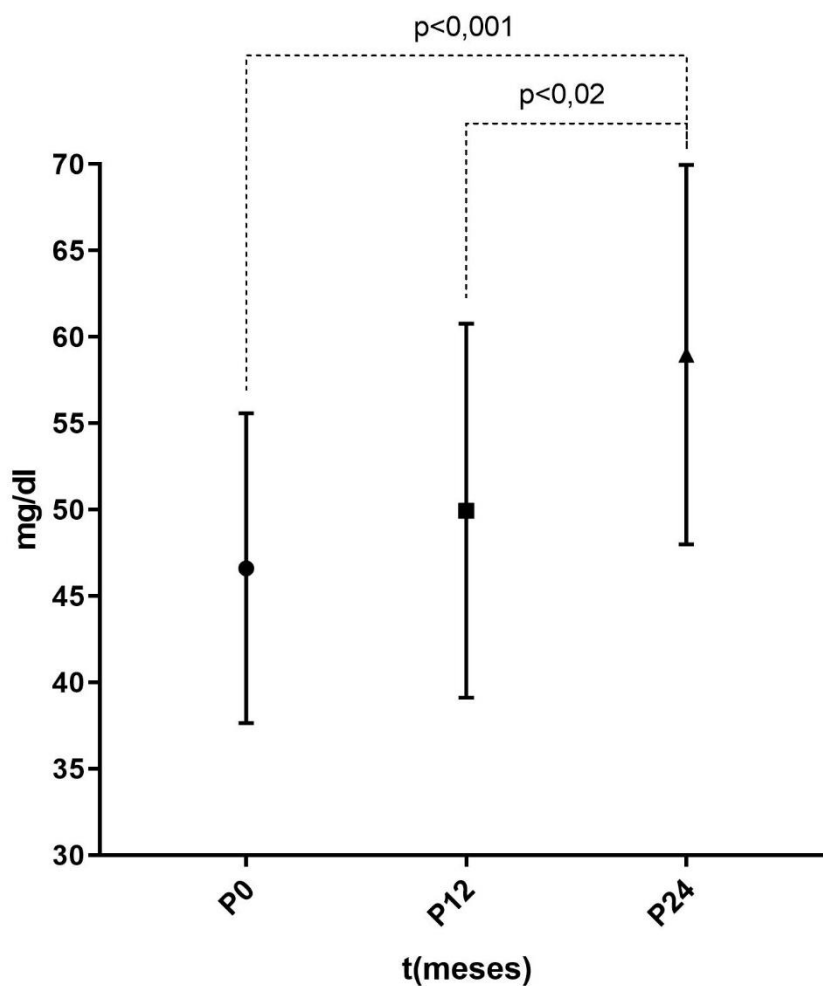


Gráfico 24. Comparação das medidas repetidas Colesterol HDL

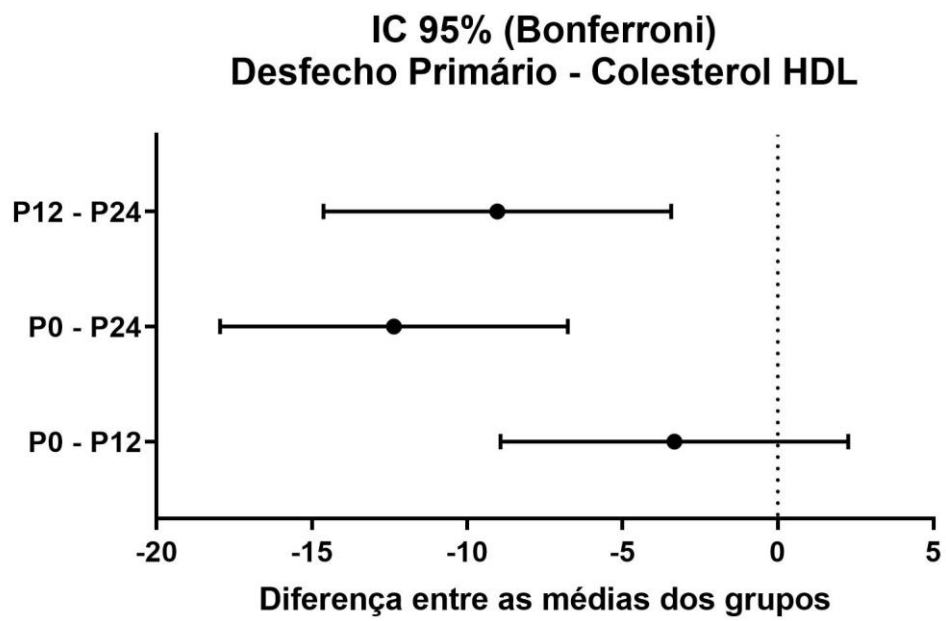


Gráfico 25. Diferença entre as médias dos grupos Colesterol HDL

4 – Gráficos dos desfechos secundários

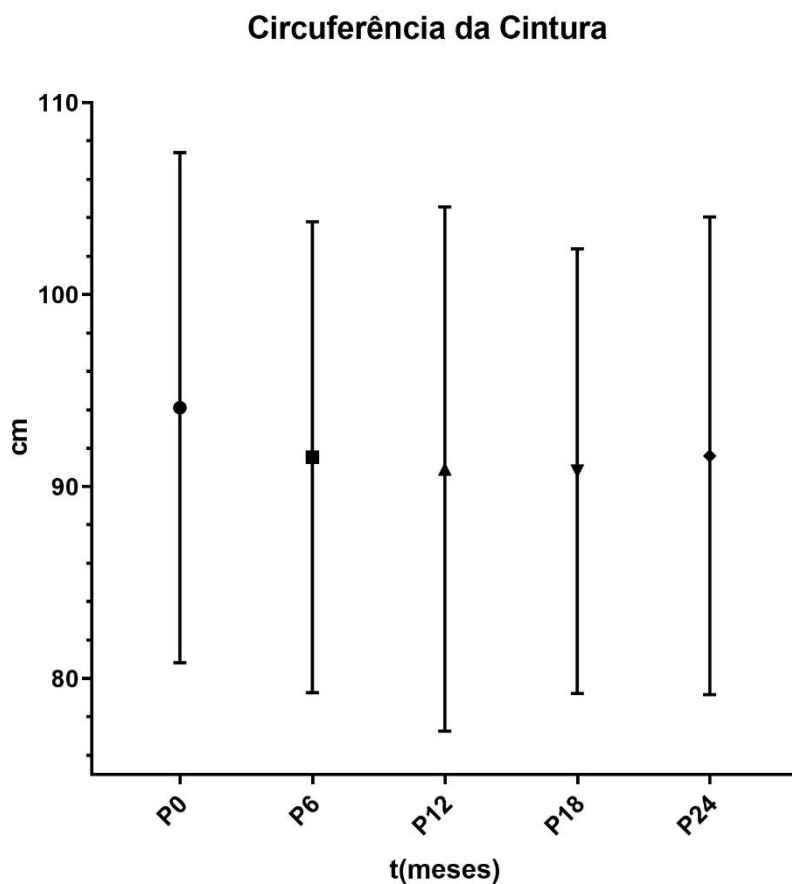


Gráfico 26. Comparação das medidas repetidas Circunferência da Cintura

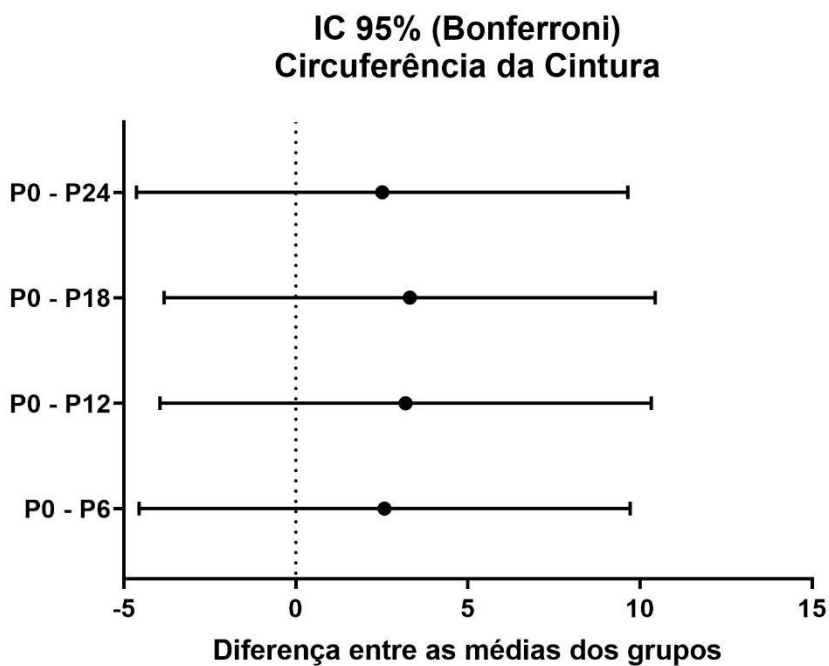


Gráfico 27. Diferença entre as médias dos grupos Circunferência da Cintura

Relação Cintura/Quadril

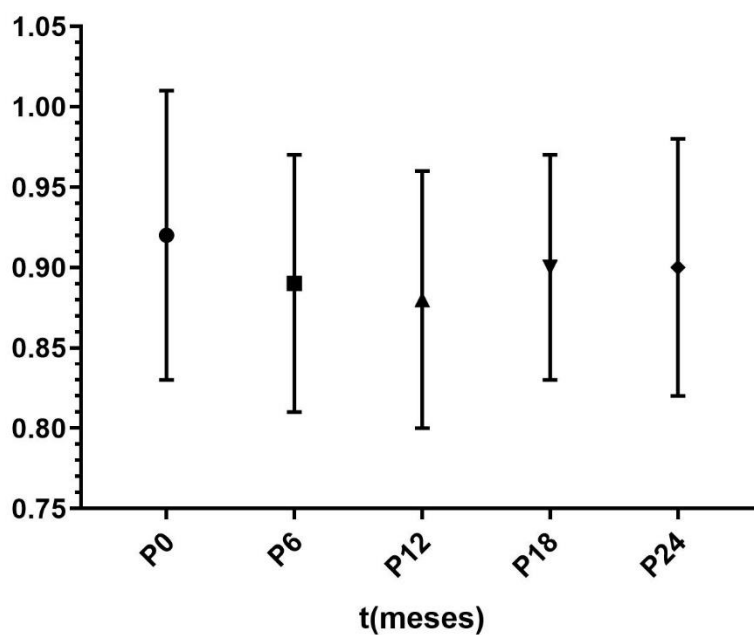


Gráfico 28. Comparação das medidas repetidas Relação Cintura/Quadril

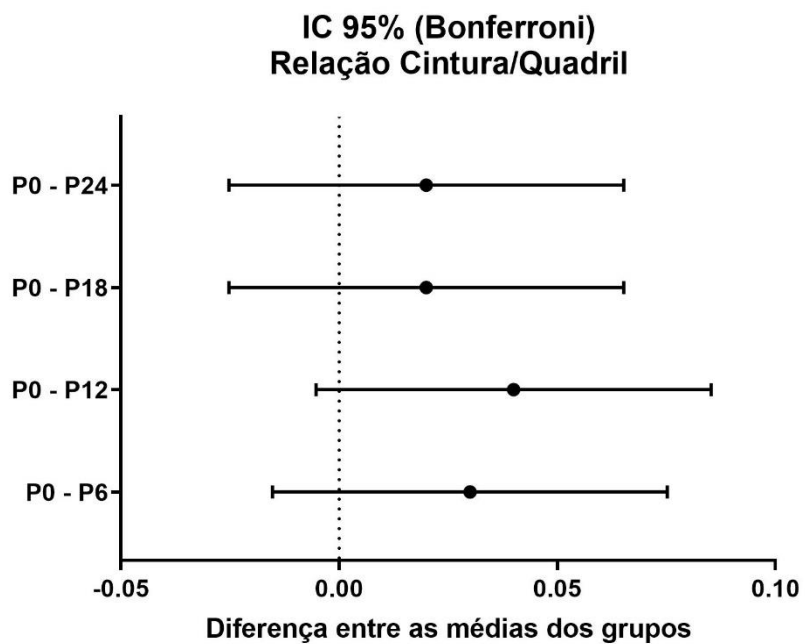


Gráfico 29. Diferença entre as médias dos grupos Relação Cintura/Quadril

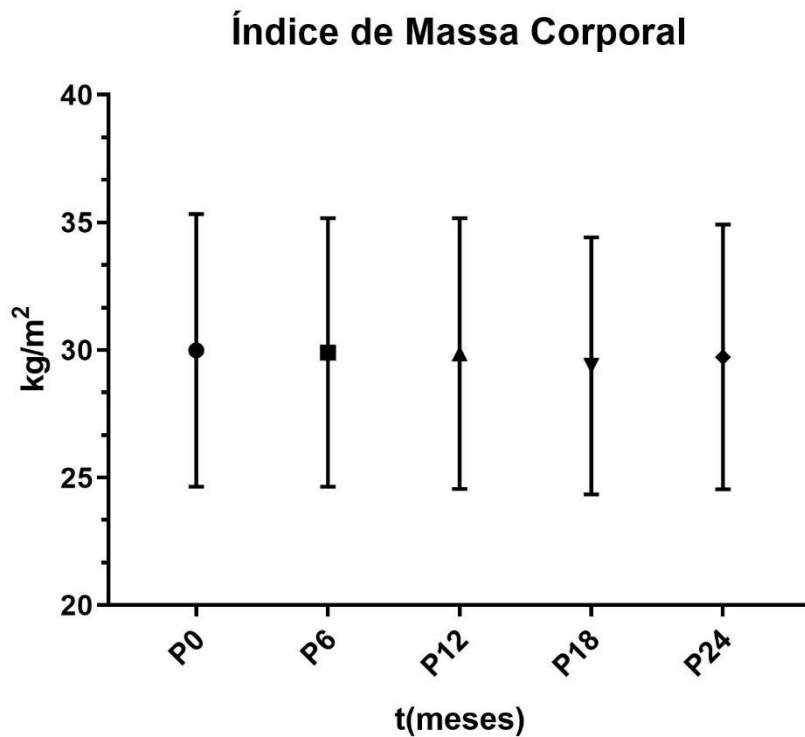


Gráfico 30. Comparação das medidas repetidas Índice de Massa Corporal

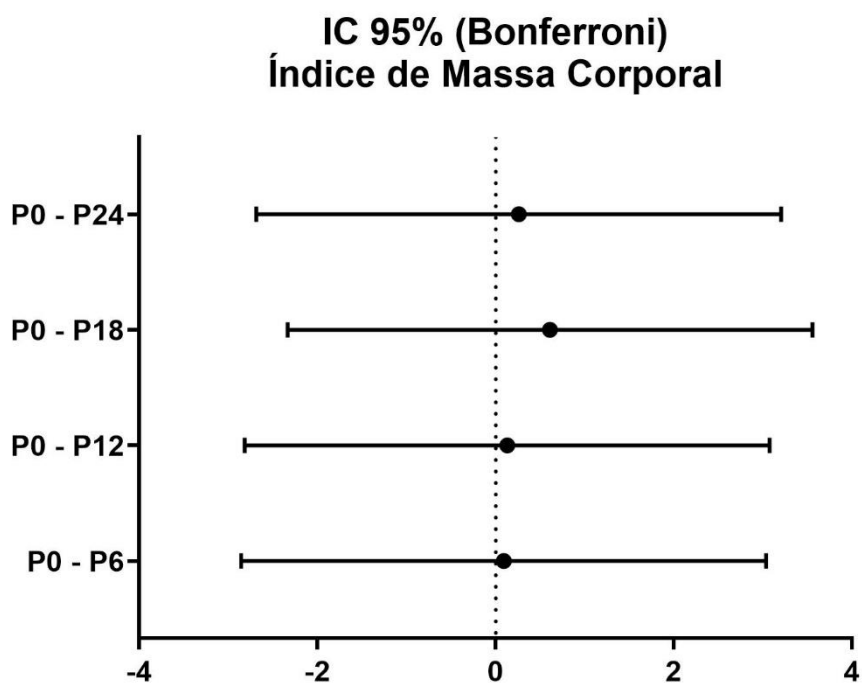


Gráfico 31. Diferença entre as médias dos grupos Índice de Massa Corporal

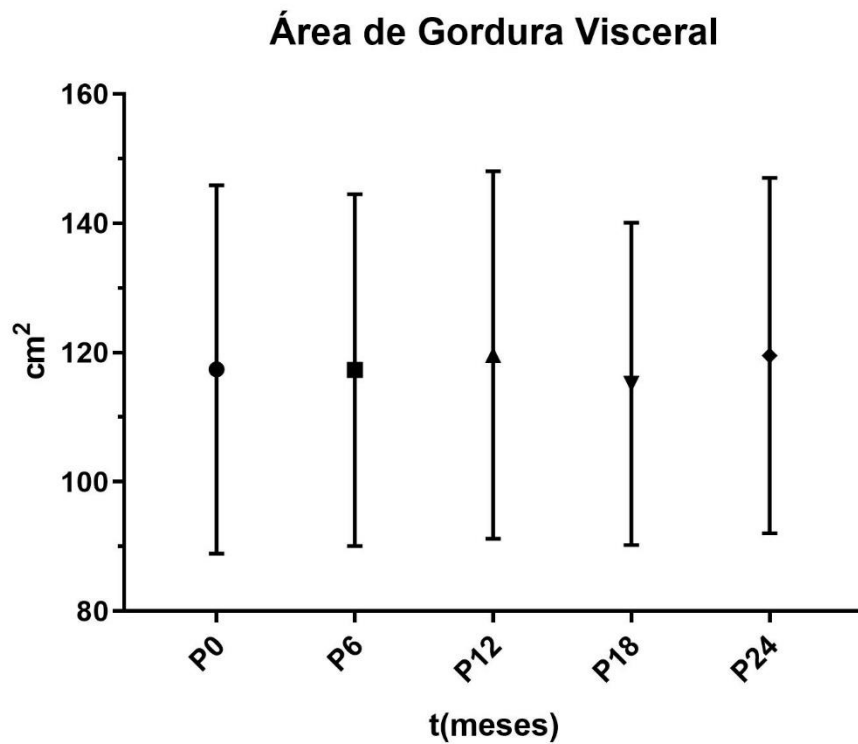


Gráfico 32. Comparação das medidas repetidas Área de Gordura Visceral

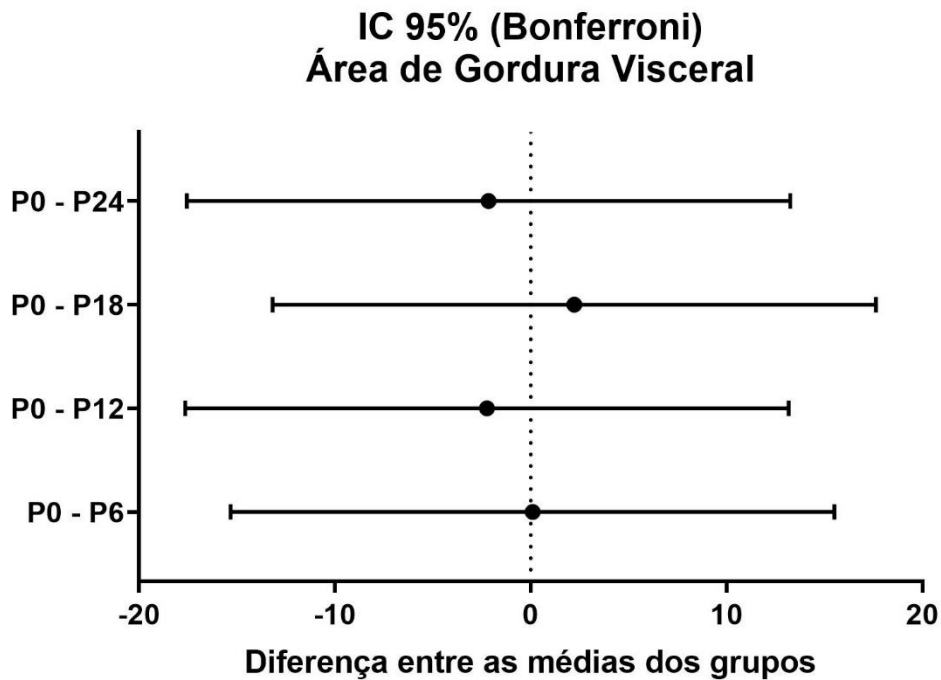


Gráfico 33. Diferença entre as médias dos grupos Área de Gordura Visceral

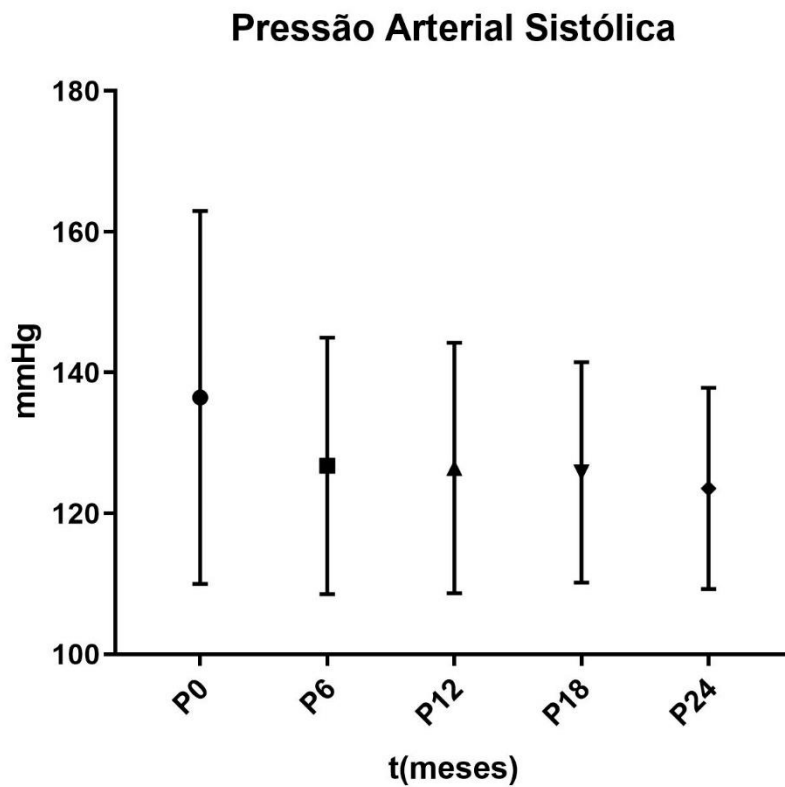


Gráfico 34. Comparação das medidas repetidas Pressão Arterial Sistólica

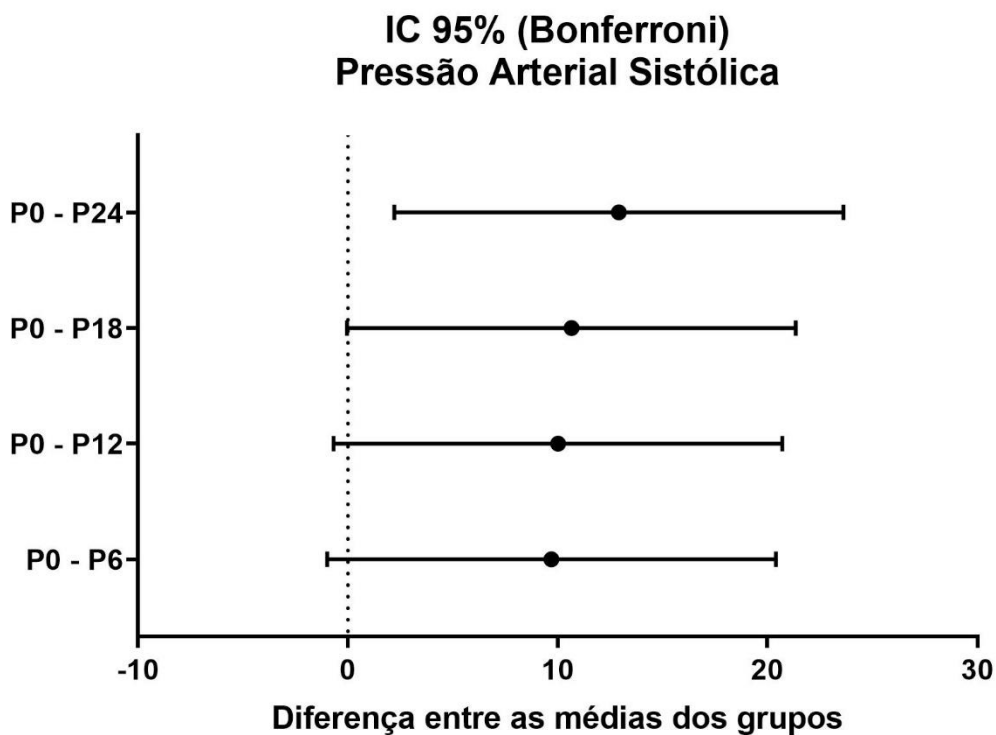


Gráfico 35. Diferença entre as médias dos grupos Pressão Arterial Sistólica

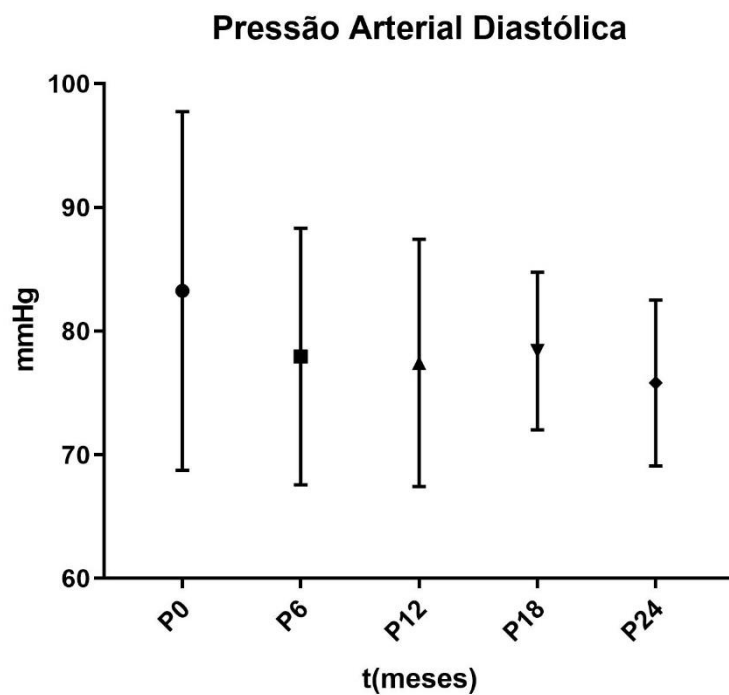


Gráfico 36. Comparação das medidas repetidas Pressão Arterial Diastólica

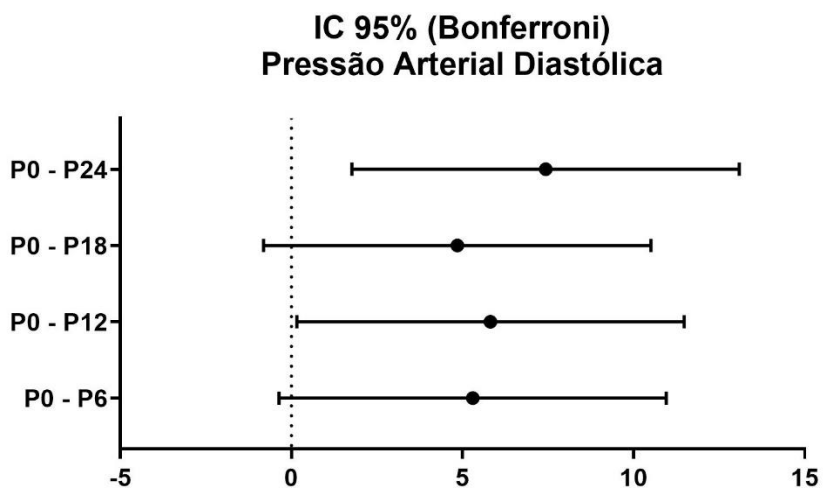


Gráfico 37. Diferença entre as médias dos grupos Pressão Arterial Diastólica

ANEXOS

1 – Folha de Rosto de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

INSTITUTO FERNANDES
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/
MS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Envelhecimento da Mulher: Estudo das Co-Morbididades de maior prevalência na mulher pós-menopausa, visando um envelhecimento com melhor qualidade de vida. Sub-projeto: INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D NA HOMEOSTASE GLICÊMICA EM MULHERES DIABÉTICAS NA PÓS-MENOPAUSA

Pesquisador: Lizanka Paola Figueiredo Marinheiro

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 36698514.1.0000.5269

Instituição Proponente: Instituto Fernandes Figueira - IFF/ FIOCRUZ - RJ/ MS

Patrocinador Principal: FIOTEC - FUNDAÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO EM SAÚDE

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.089.572

Data da Relatoria: 28/05/2015

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo de coorte para avaliar a relação da vitamina D na homeostase glicêmica em mulheres pós-menopausa e diabéticas. Serão recrutadas inicialmente 100 mulheres na pós-menopausa, com diagnóstico de DM2. Serão excluídas as usuárias de glicocorticoides, anticonvulsivantes, antirretrovirais, insulina, suplementos de cálcio e vitamina D, portadoras de hepatopatia, nefropatia grau III, com diagnóstico de hiperparatireoidismo ou hipercalcemia. Serão avaliados composição corporal e resultados laboratoriais, que tem um período de avaliação variando entre 3 a 6 meses de acordo com o exame ou procedimento clínico.

Objetivo da Pesquisa:

- Analisar a relação da vitamina D nos parâmetros clínicos relacionados ao DM2 (IMC, Circunferência abdominal, relação cintura-quadril, peso, níveis pressóricos);

- Analisar a a relação da vitamina D com os parâmetros bioquímicos relacionados ao DM2, tais como glicemia de jejum, HbA1c, insulina de jejum, HOMA-IR, HOMA, PCR ultra sensível, microalbuminúria (deterioração da função renal e marcador de risco de DCV), perfil lipídico

Endereço: RUI BARBOSA, 716

Bairro: FLAMENGO

CEP: 22.250-020

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2554-1730

Fax: (21)2552-8491

E-mail: cepiff@iff.fiocruz.br

INSTITUTO FERNANDES
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/
MS



Continuação do Parecer: 1.089.572

(colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, triglicerídeos), IL-1, IL-6, IL-10 e TNF

- Analisar a relação da vitamina D com o controle glicêmico e a composição corporal, expressa por área de gordura corpora total (AGT), área de gordura visceral (AGV), área de gordura subcutânea (AGS), esses mensurados por aparelho de bioimpedância elétrica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Pesquisadores descreveram riscos e benefícios conforme solicitação deste CEP

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisadores atenderam a todas as solicitações deste CEP

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Pesquisadores atenderam a todas as solicitações deste CEP

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as solicitações deste CEP foram atendidas pelos pesquisadores

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

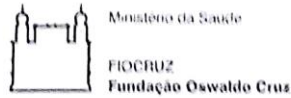
Considerações Finais a critério do CEP:

RIO DE JANEIRO, 01 de Junho de 2015

Assinado por:
maria elisabeth lopes moreira
(Coordenador)

Endereço: RUI BARBOSA, 716
Bairro: FLAMENGO **CEP:** 22.250-020
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2554-1730 **Fax:** (21)2552-8491 **E-mail:** cepiff@iff.fiocruz.br

2 – Carta Colaboração Departamento Ginecologia



À Vice-diretora de Pesquisa do IFF/Fiocruz
Kátia Sydrônio
C/c CEP-IFF

Dos Gestores da Área de Atenção à Saúde da Mulher
Prezada Sra.

Informamos que estamos de acordo com o desenvolvimento do projeto de tese de doutorado de Monique Resende Costa Machado intitulado:

“Influência da suplementação de vitamina D na homeostase glicêmica em mulheres diabéticas na pós-menopausa”,

sob a orientação do Dr^a. Lizanka Paola Figueiredo Marinheiro, deste IFF/Fiocruz.

Rio, 03 de setembro de 2014.

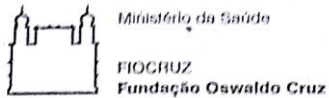
Raquel Fonseca Rodrigues
Enf^a Raquel F. Rodrigues
Gestora Área Saúde da Mulher
IFF / FIOCRUZ
Mat. 1551979 BIADE

Raquel Fonseca Rodrigues
Gestores da Área de Atenção à Saúde da Mulher

Fábio Russomano
Dr. Fábio B. Russomano
Gestor Área Saúde da Mulher
IFF / FIOCRUZ
Mat. 0164140 BIADE

Fábio Russomano

3 – Carta Colaboração Departamento Patologia



Rio de Janeiro, 18 de novembro de 2014.

MEMO/DPaC / 048-2014.


DO: DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA

PARA: CEP

Declaro que o Departamento de Patologia Clínica está de acordo com o desenvolvimento do projeto de tese de doutorado de Monique Resende Costa Machado intitulado: **INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA "D" NA HOMEOSTASE GLICÊMICA EM MULHERES DIABÉTICAS NA PÓS-MENOPAUSA**, sob orientação da Prof. Dr^a Lizanka Paola Figueiredo Marinheiro no Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente – Fernandes Figueira (IFF).

Colocando-me a disposição para maiores esclarecimentos,

Atenciosamente,



Dr. Junio Alves Cordeiro
CRBio-2 7104
Gestor do Dept^o de Patologia Clínica
Instituto Fernandes Figueira - FIOCRUZ
Mat. SIAPE 0463129

Av. Rui Barbosa, 716 – Flamengo - Rio de Janeiro - RJ - CEP: 22250-020
Tel.: (0xx21) 2554-1700 – Fax.: (0xx21) 2553-8094
<http://www.iff.fiocruz.br>

4 – Carta Colaboração Laboratório Alta Complexidade



Rio de Janeiro, 10 de novembro de 2014.

Ao CEP,
Assunto: Participação em projeto de pesquisa.

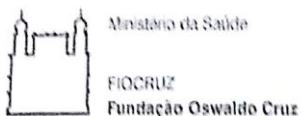
Declaro a minha participação como integrante do Laboratório de Alta Complexidade no projeto intitulado “**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D NA HOMEOSTASE GLICÊMICA EM MULHERES DIABÉTICAS NA PÓS-MENOPAUSA**” sob responsabilidade da aluna de doutorado Monique Resende Costa Machado e coordenado pela Dra. Lizanka Marinheiro do IFF/FIOCRUZ.

Atenciosamente,



Dr Zilton Vasconcelos
Pesquisador em Saúde Pública
Depto de Pesquisa Clínica -IFF/FIOCRUZ
Laboratório de Alta Complexidade

5 – Carta Colaboração Associação dos Funcionários



Rio de Janeiro, 28 de maio de 2015.

Da: Professora Lizanka Marinheiro – chefe Serviço de Endocrinologia

Para: Sr. Roberto Lopes – Diretor de Esportes ASFOC

Assunto: Cessão de espaço para realização de pesquisa de Doutorado

Alunos Monique Resende Costa Machado e Claudio Molibeu Bentes

Venho, por meio deste, oficializar nosso pedido de cessão de espaço para realização de pesquisa clínica, às quartas-feiras, das 7h às 12h, no local onde já se encontra instalado o aparelho de bioimpedância *In Body* 720, num período de 2 (dois) anos, a contar de 10 de junho de 2015.

Os projetos de pesquisa se encontram cadastrados no Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto Fernandes Figueira.

Aproveito a oportunidade para agradecer, desde já, a prontidão na cessão do espaço e parceria, e não somente à vossa pessoa, mas também ao Sr. Luiz Claudio.


Pronta a esclarecimentos,


Prof. Lizanka Marinheiro
Endocrinologia
CRM 52.42953-6

Profª Lizanka Marinheiro

Chefe da Endocrinologia Instituto Fernandes Figueira

IFF - Fiocruz

Recebido
10/06/2015


6 – Norma Submissão Artigo 1.

Instruções aos autores

A Revista Reprodução & Climatério publica artigos originais, artigos de atualização, opiniões, breves comunicações, relatos de caso e cartas ao editor (no máximo 500 palavras), na área de medicina reprodutiva, climatério, ginecologia endócrina e sexualidade. São aceitos artigos em português, espanhol ou inglês.

Os originais devem ser encaminhados para a SBRH, aos cuidados do editor, por correio eletrônico, para: sbrh@sbrh.org.br. Os originais devem ser escritos em folha A4, com espaço duplo e margens de 3 cm, em páginas numeradas. A fonte a ser utilizada é a Times New Roman, tamanho 12. Os originais devem ser preparados na seguinte sequência:

Página de Rosto

Título do trabalho em português e inglês (o título não deverá ser colocado em negrito ou caixa alta), título conciso (de 2 a 4 palavras, para constar no alto da página), nome completo dos autores (p. ex.: Patrick Steptoe), nome da(s) instituição(s) onde o trabalho foi desenvolvido, nome, endereço e e-mail do autor para correspondência.

Resumo

Deverá conter no máximo 200 palavras e ser estruturado, contendo: Objetivos, Métodos, Resultados, Conclusões e Palavras-chaves. Evitar, no resumo, abreviações e referências bibliográficas. Deverá ser acrescentado um resumo conciso, de 2 ou 3 linhas com as principais conclusões do trabalho, para ser colocado no índice da revista. Para artigos de atualização, comunicações breves, opiniões e relatos de casos, não é necessário que o Resumo seja estruturado.

Abstract

Versão para o inglês do texto do Resumo, acompanhado de keywords.

Texto do trabalho

Deverá conter Introdução, Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas. As abreviações devem ser restritas e sempre definidas na primeira aparição no texto. Eventuais tabelas deverão ser numeradas em algarismos arábicos, com título explicativo do conteúdo. Não se colocam traços verticais e limita-se os horizontais a um acima da tabela e um ao final. As figuras, fotos ou desenhos devem ser limitados ao estritamente necessário, e serão numerados em algarismos arábicos, com legenda explicativa. Tabelas, fotos, figuras e desenhos devem ser enviados em páginas separadas.

Nas referências bibliográficas, as citações devem obedecer às normas de Vancouver. Maiores esclarecimentos poderão ser obtidos no site: www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

Numere as referências por ordem de entrada no trabalho e use estes números para as citações no texto. Todos os autores devem ser citados, exceto quando houver mais de seis autores, quando se pode citar os seis primeiros seguidos pela expressão latina et al. Observe alguns exemplos de citações:

Artigos em periódicos

1. Nahas EAP, Pontes A, Nahas Neto J, Traiman P, Luca L, Abbade J. Efeitos da atividade física e da tibolona sobre a densidade mineral óssea em mulheres na pós-menopausa. *Reprod Clim.* 2001;16:47-52.
 2. Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935:40-6.
- Volume com suplemento:
3. Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with shortandlong-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. *Headache.* 2002;42Suppl 2:S93-9.

Livros

4. Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management.* 2nd ed. New York: RavenPress; 1995. p.465-78.
5. Norman IJ, Redfern SJ, editors. *Mental health care for elderly people.* New York: Churchill Livingstone; 1996.

Cartas e Editoriais

6. Kremer J. Yardsticks for successful donor insemination [letter]. *FertilSteril* 1991;55:1203-4.
7. Cancer in South Africa [editorial]. *S AfrMed J* 1994; 84:15.

Os manuscritos serão avaliados pelo Conselho Editorial de Reprodução & Climatério, podendo ser recusados, aceitos sem correções, ou aceitos com sugestões de correções, sendo neste último caso reencaminhados aos autores. Após aceitação definitiva, deverá ser feita carta assinada por todos os autores, fazendo menção que o manuscrito não foi publicado anteriormente e dizendo concordar com a publicação e transferência de copyright para Reprodução & Climatério. Os editores reservam-se o direito de fazer alterações gramaticais e estruturais que julgarem necessárias.

7 – Norma Submissão Artigo 2.

Hindawi Template version: May18

Journal Title

Concise and Informative Article Title

Firstname M. I. Lastname,¹ Firstname A. Lastname,² and Firstname B. Lastname^{1,2}

¹ Department, Institute, City ZIP/Post code, Country.

² Department, Institute, City ZIP/Post code, Country.

Correspondence should be addressed to Firstname B. Lastname; lastname@institution.edu

Abstract

The abstract should be a single, self-contained paragraph which summarises the manuscript. Ideally it will provide a brief context for the study, before describing the scientific approach and some key results in a qualitative manner. It should finish with a sentence to describe the implications for the field. The abstract must not include references, figures or tables.

Introduction

The introduction should be succinct, with no subheadings. Limited figures may be included only if they are truly introductory, and contain no new results.

Materials and Methods

The materials and methods section should contain sufficient detail so that all procedures can be repeated. It may be divided into headed subsections if several methods are described.

Results and Discussion

Subheadings

The results and discussion may be presented separately, or in one combined section, and may optionally be divided into headed subsections.

Advice on Equations

Equations should be provided in a text format, rather than as an image. Microsoft Word's equation tool is acceptable. Equations should be numbered consecutively, in round brackets, on the right-hand side of the page. They should be referred to as Equation 1, etc. in the main text.

$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a} \quad (1)$$

Advice on Figures

At the point of submission, authors may provide all figures embedded within the manuscript at a convenient break near to where they are first referenced or, alternatively, they may be provided as separate files. All figures should be cited in the paper in a consecutive order. Where possible, figures should be displayed on a white background. When preparing figures, consider that they can occupy either a single column (half page width) or two columns (full page width), and should be sized accordingly. All figures must have an accompanying caption which includes a title and, preferably, a brief description (see Figure 1).

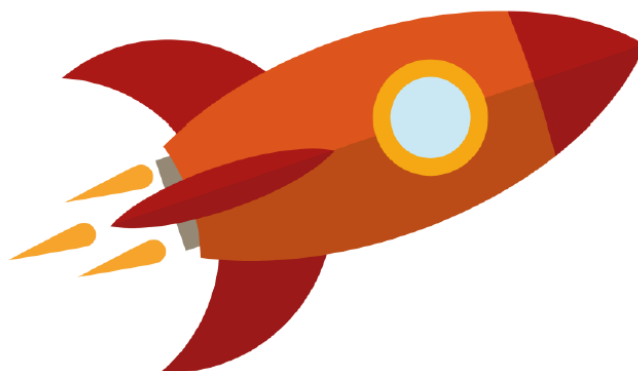


Figure 1: Basic rocket ship design. The rocket ship is propelled with three thrusters and features a single viewing window. The nose cone is detachable upon impact.

The caption can also be used to explain any acronyms used in the figure, as well as providing information on scale bar sizes or other information that cannot be included in the figure itself. Plots that show error bars should include in the caption a description of how the error was calculated and the sample size (see Figure 2).

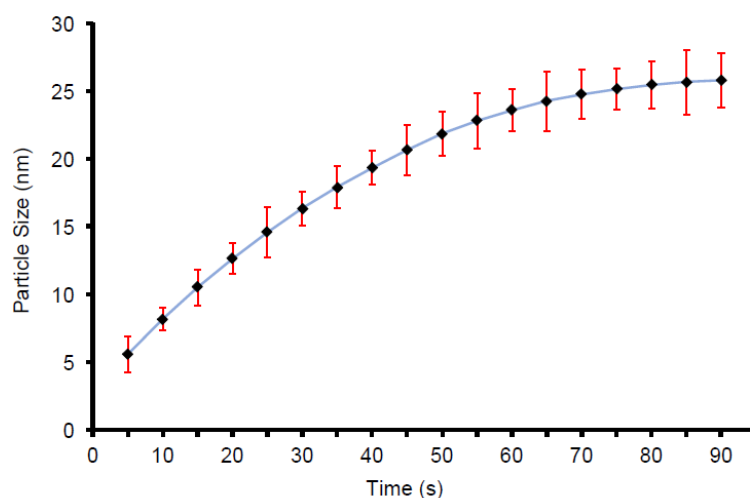


Figure 2: Plot of nanoparticle size with respect to time, recorded over a 90 s period. The error bars represent the standard deviation of measurements for 20 particles in five separate sample runs ($n = 100$).

If a figure consists of multiple panels, they should be ordered logically and labelled with lower case roman letters (i.e., a, b, c, etc.). If it is necessary to mark individual features within a panel (e.g., in Figure 3a), this may be done with lowercase Roman numerals, i, ii, iii, iv, etc. All labels should be explained in the caption. Panels should not be contained within boxes unless strictly necessary.

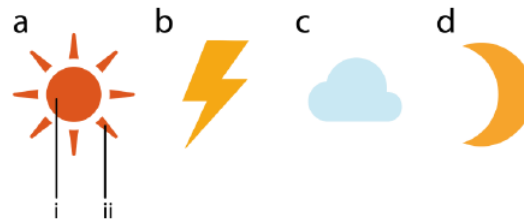


Figure 3: Representations of some common weather symbols. (a) The sun with (i) core, and (ii) rays. (b) Thunder bolt. (c) Cloud. (d) Moon.

Upon acceptance, authors will be asked to provide the figures as separate electronic files. At that stage, figures should be supplied in either vector art formats (Illustrator, EPS, WMF, FreeHand, CorelDraw, PowerPoint, Excel, etc.) or bitmap formats (Photoshop, TIFF, GIF, JPEG, etc.). Bitmap images should be of at least 300 dpi resolution, unless due to the limited resolution of a scientific instrument. If a bitmap image has labels, the image and labels should be embedded in separate layers.

Advice on Tables

Every table must have a descriptive title and, if numerical measurements are given, the units should be included in the column heading. Vertical rules should not be used (see Table 1). Tables should be cited consecutively in the text.

Table 1: Temperature and wildlife count in the three areas covered by the study.

Location	T [$^{\circ}$ C]	Turtles	Sharks	Octopuses	Starfish
Blue Lagoon	21.2	5	3	4	543
Regent's Canal	5.2	8	0	24	312
Shark Bay	12.8	4	7	9	122

Conclusions

The Conclusions section should clearly explain the main findings and implications of the work, highlighting its importance and relevance.

Data Availability

A data availability statement is compulsory for research articles and clinical trials. Here, authors must describe how readers can access the data underlying the findings of the study, giving links to online repositories and providing deposition codes where applicable. For more information on how to compose a data availability statement, including template examples, please visit: <https://www.hindawi.com/research.data/#statement>.

Conflicts of Interest

This section is compulsory. A competing interest exists when professional judgment concerning the validity of research is influenced by a secondary interest, such as financial gain. We require that our authors reveal any possible conflict of interest in their submitted manuscripts. If there is no conflict of interest, authors should state that “The author(s) declare(s) that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.”

Some of the information you choose to provide here may constitute your “sensitive personal data”. Please read our [Privacy Policy](#) for further information on how we handle your personal data.

Funding Statement

Authors should state how the research and publication of their article was funded, by naming financially supporting bodies followed by any associated grant numbers in square brackets.

Acknowledgments

An Acknowledgements section is optional and may recognise those individuals who provided help during the research and preparation of the manuscript.

Supplementary Materials

If Supplementary Materials are provided (e.g., audio files, video clips or datasets) they should be described here. Note that authors are responsible for providing the final Supplementary Materials files that will be published along with the article, which are not modified by our production team. You should remember to reference the Supplementary Materials’ contents at appropriate points within the manuscript. We recommend citing specific items, rather than referring to the Supplementary Materials in general, for example: “See Figures S1-S10 in the Supplementary Material for comprehensive image analysis.”

References

References will be reformatted in house, there is no need to adhere to a specific style at the point of submission. Authors are responsible for ensuring that the information in each reference is complete and accurate. All citations in the text must be numbered consecutively in square brackets, before any punctuation, for example, “as discussed by Smith [1],” and “as discussed elsewhere [2,3].” All uncited references will be automatically removed. The references should not contain footnotes. For your information, our citation style is:

[x] Author initials and surname, “Title in sentence style,” Journal title, vol. (volume number), no. (issue number), pp. (page numbers separated by an en-dash), Year.

For example:

[1] J. D. Watson and F. H. C. Crick, “A structure for deoxyribose nucleic acid,” *Nature*, vol. 171, no. 4356, pp. 737–738, 1953.

For articles with six or more authors, the first three authors are listed followed by 'et al.'. When journals use only article numbers, no page numbers are necessary. For example:

- [2] B. P. Abbott, R. Abbott, T. D. Abbott et al., "Observation of Gravitational Waves from a Binary Black Hole Merger," *Physical Review Letters*, vol. 116, no. 6, Article ID 061102, 2016.

8 – Comprovante Submissão Artigo 2.

23/12/2018

Hindawi Manuscript Tracking System



Thank You for Submitting Your Manuscript

Your manuscript has been successfully submitted to “International Journal of Endocrinology” and assigned the manuscript number 1457816.

An acknowledgement email will be sent to moniqueres@gmail.com, claudiomelibeu@gmail.com, julianna_barreto@yahoo.com.br, carolinamouranutri@hotmail.com, claucnetto@gmail.com, scgomes@ifffiocruz.br, zvasconcelos@gmail.com, lizanka@globo.com when our system has finished processing the submission. At that point, you will be able to track the status of your submission. Please note, this may take a few minutes.

Click [here](#) to return to your account in the Manuscript Tracking System.