



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**NÚCLEO DE PESQUISA EM ONCOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E**  
**CIÊNCIAS MÉDICAS**

**RAFAEL MENDONÇA LUZ**

**VITAMINA D E NEFROPATIA EM PACIENTES COM DIABETES**  
**MELLITUS TIPO 1**

Belém – Pará

2015

RAFAEL MENDONÇA LUZ

**VITAMINA D E NEFROPATIA EM PACIENTES COM DIABETES  
MELLITUS TIPO 1**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oncologia e Ciências Médicas, área de concentração: Medicina I do Núcleo de Pesquisas em Oncologia da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Oncologia e Ciências Médicas.

**Orientador 1:** Prof. Dr. João Soares Felício.

**Orientador 2:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elizabeth Sumi Yamada.

Belém – Pará

2015

Rafael Mendonça Luz

Vitamina D e nefropatia em pacientes com diabetes mellitus tipo 1.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oncologia e Ciências Médicas do Núcleo de Pesquisas em Oncologia da Universidade Federal do Pará, para a obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Medicina I.

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. João Soares Felício  
Universidade Federal do Pará  
Orientador

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elizabeth Sumi Yamada  
Universidade Federal do Pará  
Orientadora

---

Prof. Dr. André Salim Khayat  
Universidade Federal do Pará  
Membro

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ândrea Kely Campos Ribeiro dos Santos  
Universidade Federal do Pará  
Membro

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**  
**Biblioteca do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB/UFPA)**

---

Luz, Rafael Mendonça, 1982-

Vitamina D E Nefropatia em Pacientes com Diabetes Mellitus Tipo 1 / Rafael Mendonça Luz; Orientador, Prof. Dr. João Soares Felício. — 2015.

55 f. : il. ; color. : 30 cm.

Inclui bibliografias.

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Pará, Núcleo de Pesquisa em Oncologia, Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas, Belém, 2015.

1. Diabetes Mellitus tipo 1. 2. Nefropatias Diabéticas. 3. Vitamina D. I. Felício, João Soares, *orient.* II. Título.

CDD - 23. ed. 616.462

---

*Este trabalho é dedicado:  
Aos meus pais, Aldomira e Walter, pelo confiança, dedicação, amor e educação.  
À minha esposa Talita, sempre presente ao meu lado.  
Aos meus familiares e amigos que tanto me auxiliaram nesta caminhada.*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais que me colocaram neste mundo, me ninaram, trocaram minhas fraldas, cuidaram das minhas muitas febres, riram, brigaram, sonharam, ensinaram e ainda ensinam como andar com meus próprios pés.

Ao mundo, que colocou as pessoas certas, nas horas certas e da maneira certa, sempre que precisei.

À Deus, que criou este mundo e todo o projeto que me foi planejado a cumprir.

Ao mestre Dr. Felício, a quem considero um grande amigo e foi muito mais que um orientador, muito mais do que tinha a obrigação de ser.

À Dr<sup>a</sup>. Elizabeth Yamada, pela presença em todos os segundos que necessitei, como uma guia em todo o processo.

Em especial à Dra. Karem, cuja simples presença era suficiente para me acalmar e que sem sua dedicação nunca subiria mais este degrau.

A todos os funcionários do Hospital Universitário João de Barros Barreto/UFPA, que participaram desta pesquisa, direta ou indiretamente, sem os quais esta não seria concretizada.

A todos do centro de pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto (Ana Regina, Anna Elizabeth, Sheila, Paula, Ana Carolina, Franciane, Flávia) por todo suporte, todo auxílio e cada gota de sangue que doaram nesses anos.

Ao João Felício Abrahão Neto, pelo tempo dedicado na análise estatística deste trabalho.

Aos doutores Denisson Silva, João Acioli e Rafael Jardim pela parceria e contribuição ao projeto.

A Antônio Bentes, Alana Ferreira, Amanda Peixoto e Fabrício Resende pelas infindáveis contribuições e indispensável apoio.

A todos que deram, literalmente ou não, seu sangue neste projeto e me apoiaram nesta jornada.

*Tudo vale a pena  
Se a alma não é pequena.  
Quem quer passar além do Bojador  
Tem que passar além da dor.  
Fernando Pessoa*

## RESUMO

O Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) resulta da destruição das células beta pancreáticas por um processo imunológico, podendo evoluir com complicações renais. Tanto fatores genéticos como ambientais estão envolvidos na patogenia do DM1, e a deficiência de vitamina D surge como uma candidata dentre os fatores de risco para desenvolvimento tanto do diabetes, quanto da nefropatia diabética. O objetivo deste estudo foi avaliar a existência de uma associação entre níveis reduzidos de vitamina D, com a presença e o grau de nefropatia diabética em pacientes com DM1. Adicionalmente, nosso estudo visou estabelecer a prevalência de hipovitaminose D em controles da nossa região, e determinar se esta difere dos pacientes com DM1. Realizou-se um estudo transversal, entre novembro de 2013 e dezembro de 2014, no qual foram analisados os níveis de 25-hidroxivitamina D ou calcidiol [25(OH)D] e albuminúria em 37 pacientes com DM1 e níveis de creatinina normais, e em 36 indivíduos controles. Os pacientes com DM1 e hipovitaminose D apresentaram níveis de albuminúria mais elevados quando comparados com aqueles com níveis normais de vitamina D ( $\log_{10}$  albuminúria = 1,92 versus 1,44;  $p < 0,05$ ). Quando separamos o grupo com DM1 de acordo com o estágio da nefropatia diabética em pacientes com normoalbuminúria, microalbuminúria e macroalbuminúria, encontramos níveis menores de 25(OH)D nos últimos, quando comparados aos dois primeiros ( $26,7 \pm 6,2$ ;  $24,8 \pm 7$  e  $15,9 \pm 7,6$  ng/mL;  $p < 0,05$ , respectivamente). Ainda no grupo com DM1, encontramos correlações entre os níveis de vitamina D com os níveis de albuminúria e com os estágios de nefropatia diabética ( $r = -0,5$ ;  $p < 0,01$  e  $r = -0,4$ ;  $p < 0,05$ , respectivamente). Adicionalmente, a prevalência de hipovitaminose D entre os indivíduos controles foi bastante elevada (78%), e não houve diferença em relação aos pacientes com DM1, cuja prevalência foi de 73%. Os pacientes com DM1, quando comparados ao grupo controle, também não apresentaram diferença entre os níveis médios de 25(OH)D ( $24,2 \pm 7,4$  versus  $25,8 \pm 11,2$  ng/mL, NS). Nossos dados sugerem uma associação entre níveis reduzidos de vitamina D e a presença e gravidade da nefropatia diabética. Adicionalmente, os pacientes com diabetes mellitus tipo 1, quando comparados aos indivíduos controles normais em nossa região, não diferiram nos níveis médios e no *status* dos níveis de 25(OH)D.

**Palavras-chave:** Diabetes mellitus tipo1; Albuminúria; Vitamina D; 25(OH)D.

## ABSTRACT

Diabetes Mellitus type 1 (DM1) results from destruction of the pancreatic beta cells by an immunological process, which may progress to kidney complications. Both genetic and environmental factors are involved in the pathogenesis of type 1 diabetes, and vitamin D deficiency appears as a candidate among the risk factors for developing both diabetes and diabetic nephropathy. The objective of this study was to evaluate the existence of an association between low levels of vitamin D with the presence and degree of diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes. Additionally, our study aimed to establish the prevalence of vitamin D deficiency in normal individuals of our region and determine if it differs from DM1 patients. A cross-sectional study, between November 2013 and December 2014, in which levels of 25 (OH) D and albuminuria were analyzed in 37 patients with DM1, normal creatinine levels and 36 control subjects. The patients with DM1 and hypovitaminosis D had higher levels of albuminuria compared with those with normal vitamin D levels (albuminuria =  $\log_{10}$  1.92 vs. 1.44;  $p < 0.05$ ). When the group of patients was separated according to the stage of diabetic nephropathy in those with normoalbuminuria, microalbuminuria, and macroalbuminuria, we found lower levels of 25(OH)D in the latter when compared to the first two groups ( $26.7 \pm 6.2$ ,  $24.8$  and  $15.9 \pm 7 \pm 7.6$  ng / mL;  $p < 0.05$ , respectively). In DM1 group, we found correlations between vitamin D levels with the levels of albuminuria and diabetic nephropathy stages ( $r = -0.5$ ,  $p < 0.01$   $r = -0.4$ ;  $p < 0.05$ , respectively). Additionally, the prevalence of vitamin D deficiency among control subjects was quite high (78%), and there was no difference compared to patients with DM1, whose prevalence was 73%. Patients with type 1 diabetes when compared to control group also showed no difference regarding the average levels of 25(OH)D ( $24.2 \pm 7.4$  versus  $25.8 \pm 11.2$  ng / mL, NS). Our data suggest an association between reduced levels of vitamin D and the presence and severity of diabetic nephropathy. In addition, patients with type 1 diabetes mellitus, when compared to normal control subjects in our region did not differ in average and status of 25(OH)D levels.

**Keywords:** Type 1 Diabetes Mellitus; Albuminuria; Vitamin D; 25(OH)D.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 - Síntese de 1,25-dihidroxitamina D .....  | 17 |
| Figura 2 - <i>Status</i> de acordo com os níveis de vitamina D em pacientes com DM1 e no grupo controle. ....       | 33 |
| Figura 3- Correlação entre os níveis de vitamina D e albuminúria nos pacientes com DM1. .                           | 34 |
| Figura 4 - Correlação entre os níveis de vitamina D e o grau de nefropatia diabética.....                           | 35 |
| Figura 5 - Correlação entre os níveis de albuminúria e o status dos níveis de vitamina D em pacientes com DM1. .... | 36 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 - Características clínicas dos pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 e do grupo controle. ....      | 32 |
| Tabela 2 - Características laboratoriais dos pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 e do grupo controle. .... | 32 |
| Tabela 3 - Log <sub>10</sub> da albuminúria e níveis de vitamina D nos pacientes com DM1. ....                | 33 |
| Tabela 4 - Níveis de vitamina D e estágios de nefropatia em pacientes com DM1. ....                           | 34 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                         |   |
|-------------------------|---|
| 1,25(OH) <sub>2</sub> D | 1,25-dihidroxitamina D ou Calcitriol                          |
| 25(OH)D                 | 25-Hidroxitamina D ou Calcidiol                               |
| ADA                     | <i>American Diabetes Association</i>                          |
| ACE                     | Enzima conversora da angiotensina                             |
| ALT                     | Alanina transaminase  |
| Anti-GAD65              | Anti-descarboxilase do ácido glutâmico 65                     |
| Anti-IA-2               | Anti-tirosina fosfatase 2                                     |
| Anti-IA-2b              | Anti-tirosina fosfatase 2b                                    |
| Anti-Znt8               | Anti-transportador de Zinco                                   |
| ANOVA                   | Análise de variância  |
| AST                     | Aspartato transaminase  |
| CKD-EPI                 | <i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>      |
| DBP                     | Transportador de vitamina D                                   |
| DDM                     | Duração do Diabetes Mellitus                                  |
| DM                      | Diabetes Mellitus   |
| DM1                     | Diabetes Mellitus tipo 1                                      |
| DRCT                    | Doença renal crônica terminal                                 |
| HbA1c                   | Hemoglobina glicada   |
| HLA                     | Antígeno leucocitário humano                                  |
| HPLC                    | Cromatografia líquida de alta performance                     |
| HUJBB                   | Hospital Universitário João de Barros Barreto                 |
| IDF                     | <i>International Diabetes Federation</i>                      |
| IMC                     | Índice de Massa Corporal                                      |
| LC-MS/MS                | Cromatografia líquida associada à espectrofotometria de massa |
| MAD3                    | <i>Mothers against decapentaplegic homolog 3</i>              |
| MHC                     | Complexo de Histocompatibilidade Maior                        |
| NS                      | Não significativa   |
| PAS                     | Pressão Arterial Sistólica                                    |
| PAD                     | Pressão Arterial Diastólica                                   |

|              |  |
|--------------|--|
| PTH          | Paratormônio                                   |
| SBD          | Sociedade Brasileira de Diabetes               |
| SBN          | Sociedade Brasileira de Nefrologia             |
| SPSS         | <i>Statistical Package for Social Sciences</i> |
| TCLE         | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido     |
| TFG          | Taxa de filtração glomerular                   |
| TGF- $\beta$ | Fator de crescimento transformador $\beta$     |
| VDR          | Receptor da vitamina D                         |

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....                                    | <b>14</b> |
| 1.1 DIABETES MELLITUS TIPO 1 .....                            | 14        |
| 1.2 A VITAMINA D.....   | 16        |
| 1.3 VITAMINA D E DIABETES MELLITUS TIPO 1 .....               | 19        |
| 1.4 NEFROPATIA DIABÉTICA E DIABETES MELLITUS TIPO 1 .....     | 20        |
| 1.5 VITAMINA D E NEFROPATIA DIABÉTICA.....                    | 24        |
| <b>2. OBJETIVOS</b> .....                                     | <b>27</b> |
| 2.1 GERAL .....   | 27        |
| 2.2 ESPECÍFICOS .....   | 27        |
| <b>3. MÉTODO</b> .....  | <b>28</b> |
| 3.1 DESENHO DO ESTUDO.....                                    | 28        |
| 3.2 PERÍODO DO ESTUDO .....                                   | 28        |
| 3.3 POPULAÇÃO ESTUDADA .....                                  | 28        |
| 3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO .....                               | 28        |
| 3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO .....                               | 29        |
| 3.6 COLETA DE DADOS .....                                     | 29        |
| 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....                                 | 31        |
| <b>4. RESULTADOS</b> .....                                    | <b>32</b> |
| <b>5. DISCUSSÃO</b> .....                                     | <b>37</b> |
| <b>6. CONCLUSÃO</b> .....                                     | <b>41</b> |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....                                      | <b>42</b> |
| ANEXO A – EQUAÇÃO CKD-EPI.....                                | 49        |
| APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO ..... | 50        |
| APÊNDICE B – APROVAÇÃO DO ESTUDO MULTICÊNTRICO ORIGINAL ..... | 54        |
| APÊNDICE C – APROVAÇÃO DA EMENDA 1 .....                      | 55        |

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 DIABETES MELLITUS TIPO 1

O Diabetes Mellitus (DM) corresponde a um grupo heterogêneo de distúrbios do metabolismo da glicose (ADA, 2011). É caracterizado pela hiperglicemia crônica decorrente de alterações no metabolismo de carboidratos, proteínas e gorduras, em função da secreção insuficiente e/ou ausente de insulina, assim como, por defeitos da sua ação nos tecidos-alvos como o fígado, o tecido adiposo e muscular (DELLA MANNA, 2007). Atualmente, a classificação do DM é baseada em sua etiologia e inclui quatro classes: Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1), Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), outros tipos específicos de DM e DM gestacional. Além desses, existem dois grupos que são glicemia de jejum alterada, e a tolerância à glicose diminuída considerados fatores de risco para o desenvolvimento do DM e de doenças cardiovasculares (ADA, 2013; SBD, 2014). O DM 1 resulta da destruição das células beta pancreáticas por um processo imunológico. Em 2014, segundo dados da IDF (*International Diabetes Federation*), havia 387 milhões de diabéticos, 497.100 DM 1, com uma incidência de 79.000 casos em crianças em 2013, uma prevalência de 8,3% com previsão de aumento em 205 milhões (55%) em 2035, sendo a doença endócrina mais comum em indivíduos jovens, em países desenvolvidos e em desenvolvimento, representando cerca de 10% de todos os casos de diabetes (ADA, 2011).

Atualmente, o diagnóstico de DM pode ser realizado através de quatro maneiras: 1º Sintomas clássicos de hiperglicemia, acrescidos de glicemia casual  $\geq 200$  mg/dL, realizada a qualquer hora do dia, independente do horário das refeições; 2º Glicemia de jejum  $\geq 126$  mg/dL; 3º Glicemia  $\geq 200$  mg/dL 2 horas após sobrecarga oral de 75 g de glicose; 4º Hemoglobina glicada (HbA1c)  $\geq 6,5\%$ . Na ausência de hiperglicemia inequívoca, os testes devem ser repetidos em outra ocasião para confirmação do diagnóstico. (ADA, 2015).

Existem 4 estágios no desenvolvimento da doença: susceptibilidade genética, processo autoimune, pré-diabetes e diabetes (BUSTA; ALFONSO; PORETSKY, 2011). O DM1 apresenta intensa associação a determinados genes do sistema antígeno leucocitário humano (HLA, do inglês *Human Leukocyte Antigen*), e outros genes que podem suscitar o

desenvolvimento da doença ou proteger contra ela (SBD, 2014). Alguns haplótipos conhecidos estão relacionados com maior ou menor prevalência de DM1. O HLA *DR4-DQ8* ou haplótipos *DR3-DQ2* são detectados em mais de 90% dos pacientes com DM1 (DEVENDRA; EISENBARTH, 2003). Barret et al. (2009) encontraram 40 *locus* associados com aumento de incidência para DM1. Indivíduos com suscetibilidades genéticas são afetados por um fator ambiental que funciona como um gatilho, iniciando eventos que levarão à destruição das células pancreáticas. No pâncreas, ocorre maior ação de interferon e ativação de células do Complexo de Histocompatibilidade Maior (*MHC*, do inglês *Major Histocompatibility Complex*) de classe I, que favorece o ataque das células beta por linfócitos T  $CD8^+$  autorreativos e liberam antígenos de células beta que são levados às células apresentadoras de antígenos e transferidos para os linfonodos pancreáticos. Enquanto isso, na periferia, o gatilho ambiental que causou a alteração metabólica para iniciar as reações inflamatórias, mantém os estímulos favorecendo respostas do efetor do linfócito T e a conversão de linfócitos B em plasmócitos, produzindo anticorpos anti-insulina. Linfócitos T  $CD8^+$  são estimulados a proliferar e migrar para o pâncreas levando a mais destruição celular, liberação de antígenos e potencializando a destruição de células beta, reduzindo drasticamente o número de ilhotas.

No momento em que o número de células beta funcionais decai para 10-30% pode-se diagnosticar o DM1 (VAN BELLE; COPPIETERS; VON HERRATH, 2011). O processo de destruição de células beta pancreáticas pode ocorrer por mecanismos autoimunes, porém, existem casos em que não há evidências de tais processos, sendo, portanto, referidos como forma idiopática do DM1. Os marcadores de autoimunidade utilizados no diagnóstico são os auto-anticorpos anti-insulina, anti-decarboxilase do ácido glutâmico (Anti-GAD65, do inglês *Anti-Glutamic Acid Decarboxylase 65*), anti-tirosina fosfatases (Anti-IA-2 e Anti-IA-2b, do inglês *Tyrosine Phosphatase-related Islet Antigen 2 and 2b*) e anti-transportador de zinco (Anti-Znt8). Esses anticorpos podem estar presentes meses ou anos antes do diagnóstico clínico, ou seja, na fase pré-clínica da doença e em até 90% dos indivíduos quando se detecta hiperglicemia. Além do componente autoimune, as células T apresentam grande participação no processo imune do DM1, levando à destruição das ilhotas pancreáticas.

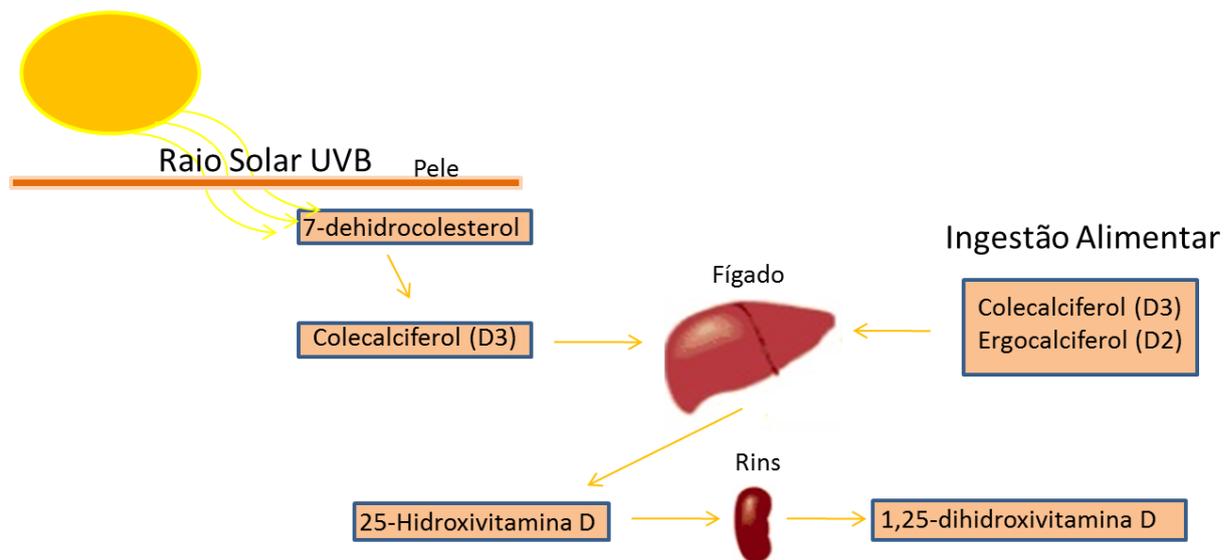
A prevalência e a incidência do DM1 variam entre as diversas áreas geográficas, com maior incidência nos países escandinavos e menor no Japão. No Brasil, a ocorrência é de 8 a cada 100.000 indivíduos com menos de 20 de idade, segundo publicação do Atlas da

*International Diabetes Federation* (IDF, 2014). Dados epidemiológicos sugerem que sua incidência está aumentando mundialmente em cerca de 3% ao ano, sendo que em algumas áreas, esse crescimento é maior em crianças com menos de 5 anos de idade, podendo estar relacionado a diversos fatores ambientais, como por exemplo às infecções virais (Ibidem, 2014). Admite-se que tanto fatores genéticos como ambientais estão envolvidos na patogênica do DM1, a deficiência de vitamina D surge como uma candidata dentre os fatores ambientais devido ao seu efeito modulador do sistema imunológico, e ao seu envolvimento na regulação da diferenciação e proliferação celular (LUONG; NGUYEN; NGUYEN, 2005), esta relaciona-se com outras doenças autoimunes como esclerose múltipla, doença de Crohn e artrite reumatóide (PONSONBY; LUCAS; VAN DER MEI, 2005; LEE et al., 2011; ANANTHAKRISHNAN et al., 2012; MOWRY et al., 2012).

## 1.2 A VITAMINA D

A vitamina D funciona como um pré-hormônio e pode ser sintetizada na pele a partir da exposição à luz solar, onde os raios UVB convertem a molécula de 7-deidrocolesterol, presente na membrana plasmática dos queratinócitos da camada basal da epiderme, originando o colecalciferol. Uma outra parte da vitamina D pode ser adquirida a partir de fontes alimentares, embora ela não ocorra naturalmente nos alimentos comumente ingeridos na nossa dieta (HOLLIS, 2005). As duas principais formas de vitamina D são a vitamina D<sub>2</sub> ou ergocalciferol, e a vitamina D<sub>3</sub> ou colecalciferol. A vitamina D que vem da pele ou da dieta é biologicamente inerte e requer uma primeira hidroxilação no fígado pela 25-hidroxilase, sendo transformada na 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] ou calcidiol que circula ligada às proteínas transportadoras de vitamina D como a proteína ligadora de vitamina D (DBP, do inglês *Vitamin D Binding Protein*) e a albumina. O calcidiol ainda requer mais uma hidroxilação a nível renal pela 1 $\alpha$ -hidroxilase (CYP27B1), para formar a 1,25-diidroxivitamina D [1,25(OH)<sub>2</sub>D], a forma biologicamente ativa da vitamina D, também denominada de calcitriol (Figura 1). A 1,25(OH)<sub>2</sub>D circula em concentrações inferiores às da 25(OH)D, por ter uma afinidade muito maior pelo receptor, sendo a forma biologicamente mais potente (ALVES, et al.; 2013). Vários tecidos e células possuem atividade 1 $\alpha$ -

hidroxilase, sendo independentes da hidroxilação renal. A  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  pode ser responsável pela regulação de mais de 200 genes que podem justificar muitos dos benefícios pleiotrópicos na saúde que estão associados à vitamina D (Ibidem, 2013) e interage com elementos de resposta a esta vitamina para influenciar a transcrição gênica, e afetar várias atividades biológicas (HOLICK, 2011).



**Figura 1 - Síntese de 1,25-dihidroxicolecalciferol**  
Fonte: Elaborado pelo autor.

A  $25(\text{OH})\text{D}$  é considerada o melhor marcador para avaliar os níveis de vitamina D em um indivíduo, pois reflete os níveis circulantes dessa vitamina e possui um longo tempo de meia-vida na circulação, aproximadamente 3 semanas (ZERWEKH, 2008). A concentração de  $25(\text{OH})\text{D}$  também indica a disponibilidade de substrato para a produção tecidual local, e ação autócrina/parácrina de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ . Em contraste, a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  possui um curto tempo de meia-vida (aproximadamente 4 horas), sendo fortemente controlada por mecanismos fisiológicos diversos, além de ser influenciada por diversos fatores (prolactina, estradiol, testosterona, prostaglandinas, bifosfonatos, corticosteróides, cetoconazol, heparina e diuréticos tiazídicos) (HOLICK et al., 2011; EPSTEIN, 2005 apud FARREL, 2013).

Existe grande dificuldade técnica na dosagem da  $25(\text{OH})\text{D}$  pela sua natureza hidrofóbica, sua ligação à DBP, e a presença de duas formas de origens diferentes, a  $25(\text{OH})\text{D}_2$  e a  $25(\text{OH})\text{D}_3$  (HOLLIS; HORST, 2007). Vários testes diagnósticos podem dosar os níveis séricos de  $25(\text{OH})\text{D}$ , entre eles a cromatografia líquida de alta performance (HPLC,

do inglês *High Performance Liquid Chromatography*), a cromatografia líquida associada à espectrofotometria de massa (LC-MS/MS, do inglês *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry*), o radioimunoensaio e a quimioluminescência. O HPLC é um método trabalhoso e muitas vezes de difícil implementação (PREMAOR; FURLANETTO, 2006). A LC-MS/MS, um método promissor em relação à acurácia, consegue mensurar a 25(OH)D<sub>2</sub> e a 25(OH)D<sub>3</sub>, porém é de alto custo, demorado e não acessível a todos os laboratórios (SNELLMAN et al., 2010). A dosagem por radioimunoensaio ou por quimioluminescência são os menos dispendiosos e oferecem como resultado a 25(OH)D total, sendo confiáveis e largamente utilizados na prática clínica (CASTRO, 2011). Uma queda de 30% em 1995, para 15% em 2011 foi observada na variabilidade interlaboratorial dos testes, em geral para dosagem de 25(OH)D (CARTER, 2012). Este fato tem gerado uma boa perspectiva na investigação sobre a atividade desta vitamina.

A vitamina D é bastante conhecida pela sua função no desenvolvimento e na conservação do tecido ósseo, bem como pela manutenção da homeostase normal do cálcio e do fósforo. Dessa forma, o nível ótimo de vitamina D seria aquele necessário para manter o paratormônio (PTH) em níveis adequados, visto que a deficiência de vitamina D leva a diminuição do cálcio sérico, o qual, em consequência, estimula as glândulas paratireóides a liberar o PTH a fim de elevar a reabsorção renal e óssea do cálcio (SCHUCH et al., 2009).

Cerca de 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 contenham vitamina D (MACHADO et al., 2014). Nos dias atuais, o conceito de ação ideal da vitamina D consiste em manter níveis constantes de 25(OH)D acima de 30 ng/mL. Devido à variabilidade existente entre os ensaios laboratoriais e pontos de corte, garantiria este objetivo, sem risco de toxicidade, manter os níveis da 25(OH)D em pelo menos 40 ng/mL. De acordo com a *Endocrine Society*, em 2011, consideramos níveis normais acima de 30 ng/mL. É considerado insuficiência quando os valores estão entre 20 e 30 ng/mL. Já deficiência é considerada quando os valores estão abaixo de 20 ng/mL (HOLLICK, 2011). Níveis acima de 50 ng/mL (>125nm/L) são considerados nocivos, levando à astenia, anorexia, náuseas, vômitos, desidratação e hipercalcemia (INSTITUTE OF MEDICINE). Os resultados dos valores de vitamina D podem ser expressos em nanograma por mililitro (ng/mL), ou

nanomol por litro (nmol/L), multiplicando-se o valor expresso em ng/mL por 2,5 para obter o correspondente em nmol/L.

### 1.3 VITAMINA D E DIABETES MELLITUS TIPO 1

O papel da vitamina D na manutenção da homeostase do cálcio e fósforo é reconhecido há décadas. No entanto, a descoberta de receptores de vitamina D em vários tecidos, assim como a capacidade destes para transformar 25(OH)D no metabólito mais ativo 1,25(OH)<sub>2</sub>D, parece guiar esta molécula para um futuro promissor. Níveis baixos de vitamina D possuem efeito negativo na função das células-beta pancreáticas, e a administração de doses regulares de vitamina D nos primeiros anos de vida pode diminuir o risco de desenvolvimento de DM1. Em um estudo de *coorte*, onde participaram 10.366 crianças, foi observado que a suplementação com 2.000 UI de vitamina D, quando comparada com doses mais baixas, diminuiu em 78% o risco de desenvolvimento de DM1. Uma meta-análise de 4 estudos, totalizando 1.429 casos e 5.026 controles, demonstrou uma redução de 29% no risco de desenvolvimento de DM1 nas crianças suplementadas com vitamina D, ao se comparar com crianças que não a receberam (HYPPÖNEN et al., 2001; ZIPITIS, 2008 apud ALVES et al., 2013).

Foi relatada uma associação inversa entre o *status* de vitamina D e a prevalência de hiperglicemia, DM2 ou intolerância à glicose (MACHADO et al., 2014) e a presença de receptores para vitamina D nas células pancreáticas (BLAND et al., 2004). A conversão da vitamina D em seu composto ativo pode ocorrer dentro da célula beta pancreática pela ação de uma 25(OH)D-1alfa-hidroxilase (CYP27B1) própria (BLAND et al., 2004). Indiretamente a vitamina D, pela via regulada do cálcio, afetaria a secreção de insulina cálcio-dependente. Atribuiu-se à vitamina D um importante papel na prevenção de morte de células das ilhotas pancreáticas, na sobrevivência de enxertos de células das ilhotas, e consequentemente na produção da insulina (RIACHY et al., 2006). Ainda mostra-se associação entre a deficiência de vitamina D e outros tradicionais fatores de risco cardiovasculares como hipertensão, resistência à insulina, diabetes e dislipidemia (FORMAN et al., 2007; PITTAS et al., 2010).

#### 1.4 NEFROPATIA DIABÉTICA E DIABETES MELLITUS TIPO 1

A nefropatia diabética é uma das complicações microvasculares mais comuns do DM, afetando a qualidade de vida e sobrevivência dos pacientes, sendo a maior causa de morbidade e mortalidade, principalmente relacionada à doença cardiovascular entre adultos jovens com DM1 (HAFEZ et al., 2015).

A hipertensão arterial sistêmica e o diabetes mellitus de qualquer tipo representam a principal causa de insuficiência renal crônica no Brasil e no mundo (LUCENA et al., 2013; SBN, 2015). O glomérulo é o principal local do rim afetado na nefropatia diabética. O acometimento glomerular no DM1 inicia-se após 5 a 10 anos de doença, tendo maior incidência após 15 anos. Histologicamente, observamos no início do envolvimento renal espessamento da membrana basal do capilar glomerular, discreto aumento da matriz mesangial e, posteriormente, glomeruloesclerose, sendo esta caracterizada por esclerose intercapilar difusa, ou esclerose intercapilar nodular da matriz mesangial (conhecida como lesão de Kimmestiel-Wilson). Esta última é a lesão mais característica da nefropatia diabética, embora não seja a mais comum e nem patognomônica (GROSS et al., 2005; BROWNLEE; AIELLO; COOPER, 2008).

A nefropatia diabética é caracterizada por deposição excessiva de proteínas da matriz extracelular nos glomérulos. O fator de crescimento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ , do inglês *Transforming Growth Factor*  $\beta$ ) é o principal mediador do acúmulo de proteínas da matriz extracelular na nefropatia diabética, por meio da *up-regulation* dos genes *TGF- $\beta$*  que codificam tais proteínas, assim como *down-regulation* dos genes para as enzimas que degradam as proteínas da matriz extracelular. Clinicamente a nefropatia diabética caracteriza-se por proteinúria, hipertensão arterial e uremia progressiva (DRONOVALLI; DUKA; BAKRIS, 2008). Os mecanismos fisiopatológicos da nefropatia diabética ainda não estão completamente esclarecidos. Sabe-se que ocorrem alterações na morfologia, na hemodinâmica glomerular e na composição química dos componentes glomerulares. A glicação não enzimática e a alteração na via dos polióis estão entre os mecanismos de lesão renal relacionados à hiperglicemia crônica. Os produtos de glicação não enzimática podem causar alterações quali-quantitativas nos componentes da matriz extracelular, colaborando para a ocorrência final de oclusão glomerular. Na via dos polióis, a glicose é reduzida a

sorbitol sob a ação da aldose redutase. O excesso de sorbitol causaria danos celulares a partir de mecanismos como estresse hiperosmótico celular, redução de mioinositol intracelular, além de redução da atividade da ATPase  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -dependente (GROSS et al., 2005; DRONOVALLI; DUKA; BAKRIS, 2008; FUKAMI et al., 2009).

As alterações hemodinâmicas e estruturais estão intimamente relacionadas no desenvolvimento da nefropatia diabética. Atualmente, sugere-se que a hiperglicemia leva a um aumento na formação de espécies reativas de oxigênio, o qual seria um evento precoce no surgimento das complicações diabéticas. Uma variedade de fatores de crescimento e citocinas são então, induzidas através de vias complexas de transdução de sinais que envolvem a proteína C quinase, proteínas quinase mitogênio-ativadas, e o fator de transcrição NF-kappa $\beta$ . Hiperglicemia, produtos finais de glicação avançada e espécies reativas ao oxigênio agem conjuntamente induzindo fatores de crescimento e citocinas. Entre eles, o fator de crescimento transformador  $\beta$  é especialmente importante no desenvolvimento da hipertrofia renal e acúmulo de componentes da matriz extracelular (DEFRONZO, 1995; BROWNLEE; AIELLO; COOPER, 2008; DRONOVALLI; DUKA; BAKRIS, 2008).

A ativação do sistema renina-angiotensina pela hiperglicemia, estresse mecânico e proteinúria, com aumento na formação local de angiotensina II, causa várias mudanças fisiopatológicas associadas à nefropatia diabética. De fato, tem sido demonstrado que a angiotensina II está envolvida na maioria dos processos fisiopatológicos relacionados ao desenvolvimento da nefropatia diabética como as alterações hemodinâmicas, hipertrofia, acúmulo de matriz extracelular, indução de fator de crescimento/citocina, formação de espécies reativas ao oxigênio, danos de podócitos, proteinúria, além de inflamação intersticial. Dessa forma, o bloqueio dos efeitos deletérios da angiotensina II tem fundamental importância no tratamento e prevenção da nefropatia diabética. Além disso, os fatores de crescimento do endotélio vascular e seus receptores parecem também participar ativamente na patogênese desta doença (SKYLER, 2001; BROWNLEE; AIELLO; COOPER, 2008; DRONOVALLI; DUKA; BAKRIS, 2008).

Adicionalmente, fatores genéticos e ambientais contribuem para o desenvolvimento da nefropatia diabética. O controle glicêmico inadequado é o principal fator de risco para o surgimento de microalbuminúria persistente, macroalbuminúria e insuficiência renal crônica terminal. O tempo de duração do DM também é considerado na gênese da nefropatia diabética, apesar de raramente surgir após 30 anos de doença. A hipertensão arterial também

tem importância no surgimento da microalbuminúria, sendo fundamental para a progressão da nefropatia clínica e a redução no ritmo de filtração glomerular (DEFRONZO, 1995; DAVID; BROSH; RAVID-SAFRAN, 1998; MURUSSI et al., 2003). Além disso, o desenvolvimento puberal, duração do DM e história de hipertensão materna foram os principais fatores de risco para o surgimento da nefropatia diabética em crianças e adolescentes com DM tipo 1 (GECER STUDY GROUP, 2000). Tabagismo e hipercolesterolemia também são considerados fatores de risco ambientais (DEFRONZO, 1995; DAVID; BROSH; RAVID-SAFRAN, 1998; MURUSSI et al., 2003; CHUAHIRUN; WESSON, 2002) e os dados sobre obesidade são mais contraditórios (MURUSSI et al., 2003).

A hipótese de que fatores genéticos podem contribuir para o surgimento da nefropatia diabética é apoiada por alguns fatos:

- a) São afetados 30 a 40% dos pacientes com DM (GROSS et al., 2005);
- b) Existe uma tendência à agregação familiar na nefropatia diabética (SEAQUIST et al., 1989);
- c) Pacientes cujos pais tenham hipertensão arterial ou nefropatia diabética têm risco maior (NELSON et al., 2011);
- d) Alguns grupos étnicos não europeus como os índios Pimma, africanos, hispânicos e nativos americanos estão sob maior risco de desenvolver nefropatia diabética (MURUSSI et al., 2003; BRORSSON; POCIOT, 2011).

Diversos polimorfismos genéticos têm sido avaliados em relação à predisposição para nefropatia diabética. O mais estudado é o gene da enzima conversora da angiotensina (*ACE*), apresentando um polimorfismo do tipo inserção/deleção no íntron (KUNZ et al., 1998). Além disso, os polimorfismos do gene da TGF- $\beta_1$  parecem contribuir para predisposição genética à nefropatia diabética do DM tipo 1 (PATEL et al., 2005).

Para o diagnóstico de nefropatia diabética são utilizados parâmetros como microalbuminúria e diminuição na taxa de filtração glomerular (TFG) (GROSS et al., 2005). Com base nos valores crescentes de albumina presentes na urina, a nefropatia diabética, historicamente, foi classificada em fases – normoalbuminúria, microalbuminúria e macroalbuminúria (Ibidem, 2005). Cerca de um terço dos portadores de DM1 podem desenvolver microalbuminúria, e 15 a 20% desenvolvem macroalbuminúria em 20 anos do diagnóstico da doença (HOVIND et al., 2004).

A nefropatia diabética divide-se em 5 estágios, sendo estes:

- a) Estágio 1 ou fase inicial, caracterizado por hiperfiltração glomerular e hipertrofia renal.
- b) Estágio 2 ou fase silenciosa, sendo marcado por microalbuminúria transitória após exercício extenuante.
- c) Estágio 3 ou nefropatia incipiente, onde ocorre microalbuminúria persistente ( $\geq 30$  a  $\leq 300$  mg/24h ou  $\geq 30$  e  $< 300$  mg/g de creatinina).
- d) A nefropatia clínica ocorre no estágio 4, caracterizado por macroalbuminúria ( $\geq 300$  mg/24h ou  $\geq 300$  mg/g de creatinina), diminuição da taxa de filtração glomerular e hipertensão arterial.
- e) No estágio 5 ou doença renal terminal, proteinúria, hipertensão arterial, *clearance* de creatinina  $< 10$  mL/min e/ou creatinina  $> 10$  mg/dL estão presentes (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002; VILAR, 2013).

A microalbuminúria persistente é a característica da nefropatia diabética incipiente, representando um estágio precoce desta doença renal e um fator de risco para o desenvolvimento de nefropatia diabética clínica, a qual é caracterizada pela presença de macroalbuminúria. A microalbuminúria, portanto, já estaria associada com lesões renais estruturais iniciais (PARVING; OSTERBY; RITZ, 2000).

A albuminúria patológica constitui a consequência de dano glomerular difuso induzido pelo diabetes. Entretanto, o túbulo-interstício renal desenvolve um importante papel na gênese da nefropatia diabética, como consequência de uma exposição persistente a uma variedade de fatores metabólicos e hemodinâmicos que levariam a dano renal, combinado ao DM1 de longa duração (BOLIGNANO et al., 2009).

Em pacientes DM1, o rastreamento da nefropatia diabética deve ser iniciado 5 anos após o diagnóstico da doença. Após esse período, a albuminúria deve ser utilizada anualmente como teste de rastreamento (ADA, 2013).

## 1.5 VITAMINA D E NEFROPATIA DIABÉTICA

A deficiência de vitamina D está associada com maior excreção urinária de albumina, bem como um aumento na prevalência de doença cardiovascular, mortalidade em pacientes com doença renal crônica e na população geral que apresenta níveis diminuídos desta vitamina (DE BOER et al., 2007; MEHROTRA; KERMAH; SALUSKY, 2009).

As células tubulares proximais dos rins reciclam a 25-hidroxivitamina D, a partir do ultrafiltrado glomerular, de volta para a circulação, ajudando assim a manter os níveis séricos de 25(OH)D requeridos para a produção extrarrenal de calcitriol. Em pacientes com doença renal crônica terminal (DRCT), tanto os níveis de 25(OH)D quanto de 1,25(OH)<sub>2</sub>D estão reduzidos. Isso se explica pelo fato de que, durante o curso da doença renal, há uma diminuição da biodisponibilidade da 25(OH)D (DUSSO; TOKUMOTO, 2011). A diminuição da taxa de filtração glomerular limita o fornecimento de 25(OH)D para a enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase no túbulo proximal, com queda na capacidade de produção renal de 1,25(OH)<sub>2</sub>D. Adicionalmente, à medida que cai a taxa de filtração glomerular, ocorre uma diminuição da proteína de ligação da 25(OH)D no túbulo proximal, reduzindo desta maneira, a reabsorção tubular da 25(OH)D, provocando a queda tanto da forma ativa quanto da forma inativa da vitamina D (TAKEMOTO et al., 2003; DUSSO; TOKUMOTO, 2011). Em análises de pacientes com doença renal crônica, baixas concentrações de calcitriol estiveram correlacionadas com maiores riscos de diabetes, maior relação albuminúria/creatinúria e menor taxa de filtração glomerular (LEVIN et al., 2007).

Taxas elevadas de angiotensina II são encontradas em rins lesados, e tem sido proposto que a mesma esteja envolvida como principal controladora no mecanismo que leva a destruição do rim. A angiotensina II aumenta os níveis de fator de crescimento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), que estimula as proteínas da matriz extracelular, além de levar a apoptose de podócitos. Tem sido observado, em diferentes modelos de doença renal, a supressão de TGF- $\beta$  pelos compostos de vitamina D, além de MAD 3 (*Mothers against decapentaplegic homolog 3*), uma proteína que forma complexos necessários para a transcrição de genes da matriz extracelular e outros genes envolvidos no estresse oxidativo (FLANDERS, 2004; HE et al., 2011).

Os níveis de vitamina D também se correlacionam com microalbuminúria em populações não diabéticas (FISCELLA; WINTERS; OGEDEGBE, 2011). Existem poucas evidências demonstrando que a deficiência ou insuficiência de vitamina D em diabéticos estaria associada com microalbuminúria (VERROTTI et al., 1999; DIAZ et al., 2009) e com macroalbuminúria (ENGELEN et al., 2015), sendo que os mecanismos que contribuiriam para esta associação permanecem em discussão (THRAILKILL et al., 2011), tornando importante a necessidade de maiores estudos para avaliar a existência ou não entre associação da nefropatia diabética em seus estágios iniciais com baixos níveis de vitamina D. O calcitriol, ativador natural do receptor de vitamina D, é produzido pelo rim, mas as concentrações plasmáticas diminuem conforme reduz a taxa de filtração glomerular. Em uma análise multivariada dos pacientes com doença renal crônica, menores concentrações de calcitriol estão fortemente correlacionadas com maior risco de diabetes, maior relação albumina/creatinina urinária e níveis mais baixos de TFG (LEVIN et al., 2007). Em modelos pré-clínicos, o paricalcitol, ativador seletivo do receptor da vitamina D, reduziu a albuminúria e retardou a progressão da lesão renal, com pouco efeito sobre os metabólitos minerais (MIZOBUCHI et al., 2007). A ausência do receptor de vitamina D em ratos diabéticos foi associada com albuminúria grave, esclerose glomerular aumentada com espessamento da membrana basal e supressão dos podócitos (ZHANG et al., 2008).

Resultados de estudos experimentais sugerem que a vitamina D poderia levar a renoproteção pela supressão da transcrição da renina, efeitos antiproliferativos, fibróticos ou uma combinação destes (MIZOBUCHI et al., 2007). Em modelos com e sem diabetes, a ativação do receptor da vitamina D suprimiu o fator de crescimento transformador  $\beta$  e infiltração de macrófagos, e substancialmente, reduziu a glomerulosclerose (TAN; LI; LIU, 2006). Possíveis mecanismos nefroprotetores desta vitamina incluiriam a supressão do sistema renina-angiotensina e efeitos sinérgicos com o bloqueador do receptor de angiotensina (DE BOER et al., 2012).

O aumento da incidência de DM1 tanto em países em desenvolvimento, como o Brasil, quanto em países desenvolvidos é preocupante, pois o DM1 impacta negativamente na qualidade e expectativa de vida, primariamente devido à morbidade e mortalidade das suas complicações crônicas microvasculares - retinopatia, nefropatia e neuropatia diabética - e macrovasculares (WALSH; BORCH-JONHSEN; ORCHARD, 2004; DELLA MANA, 2007; GOMES et al., 2012; SBD, 2014). Portanto, medidas que pudessem prevenir a ocorrência

destas complicações poderiam trazer grandes benefícios tanto para a saúde e qualidade de vida dos pacientes, quanto para a economia de um país.

Em um estudo com 227 pacientes com DM1 acompanhados durante 26 anos, Joergensen et al. (2011) encontraram que a deficiência severa de vitamina D, no período do diagnóstico do diabetes, não foi o fator preditivo para o surgimento da nefropatia diabética. Estes autores avaliaram os níveis de vitamina D enquanto os pacientes com DM1 ainda apresentavam normoalbuminúria. De maneira diferente, De Boer et al. (2012) mostraram que níveis baixos de vitamina D foram associados ao risco de desenvolver microalbuminúria. Ou seja, os dois principais estudos que tentaram associar a hipovitaminose D com o aparecimento da nefropatia diabética em seus estágios iniciais mostraram resultados antagônicos, provavelmente influenciados pelas metodologias utilizadas.

Existe uma grande dificuldade ao se avaliar o significado da possível relação entre níveis reduzidos de vitamina D e nefropatia diabética. O fato de a lesão renal em si causar redução dos níveis de vitamina D detectáveis à partir de uma TFG  $< 45 \text{ mL/min/1,73m}^2$ , torna difícil estabelecer se a hipovitaminose D seria um fator ambiental precipitante da nefropatia diabética, ou apenas uma consequência da progressão desta. Com este fim, seria importante estabelecer a existência de uma relação direta entre níveis baixos de vitamina D e a presença de nefropatia diabética em pacientes DM1, principalmente nos casos iniciais, ou seja, naqueles com nefropatia diabética incipiente (com microalbuminúria persistente) e com função renal normal, nos quais o tratamento padrão consegue estabilizar o quadro renal (PLUM; ZELLA, 2012).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Avaliar a existência de uma associação entre níveis reduzidos de 25(OH)D com a presença e o grau de nefropatia diabética em pacientes com DM1.

### 2.2 ESPECÍFICOS

1. Caracterizar a presença de níveis reduzidos da 25(OH)D no estágio inicial de nefropatia diabética (microalbuminúria persistente).
2. Estabelecer se os pacientes com diabetes mellitus tipo 1 apresentam níveis reduzidos de vitamina D quando comparados a amostra da população normal.
3. Determinar a prevalência de hipovitaminose D em controles normais da nossa população.

### **3. MÉTODO**

#### **3.1 DESENHO DO ESTUDO**

Transversal.

#### **3.2 PERÍODO DO ESTUDO**

De novembro de 2013 a dezembro de 2014.

#### **3.3 POPULAÇÃO ESTUDADA**

Este estudo incluiu 37 portadores de diabetes mellitus tipo 1 (grupo 1), recrutados do serviço ambulatorial de endocrinologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB). Adicionalmente, foi avaliado um grupo controle composto por 36 voluntários da população normal (grupo 2).

#### **3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

1. Pacientes com diagnóstico de diabetes mellitus 1;
2. Idade igual ou superior a 18 anos;
3. Níveis séricos normais de creatinina;

4. Os pacientes que aceitaram as condições do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A) antes de qualquer procedimento;
5. O grupo controle, semelhante ao grupo de casos, foi composto por maiores de 18 anos, com níveis séricos normais de creatinina, sem doenças conhecidas ou uso de medicações, exceto anticoncepcionais orais, e que assinaram o TCLE antes de qualquer procedimento do estudo.

### 3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

1. Gestantes e/ou lactantes;
2. Indivíduos com história prévia de doença hepática;
3. Indivíduos em uso de vitamina D/cálcio nos últimos 6 meses;
4. História prévia e concomitante de doenças do metabolismo ósseo;
5. Presença de hiper ou hipotireoidismo descompensado;
6. Pacientes que realizassem terapia renal de substituição;
7. Aqueles que não aceitassem as condições da pesquisa.

### 3.6 COLETA DE DADOS

Inicialmente, um total de 37 pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e 36 indivíduos controles foram avaliados utilizando-se os seguintes parâmetros clínicos: peso, altura, Índice de Massa Corpórea (IMC), idade cronológica e pressão arterial sistólica e diastólica. Valores de IMC  $\leq 18,5$  kg/m<sup>2</sup> foram considerados como baixo peso, entre 18,6 e 24,9 kg/m<sup>2</sup> como normais, entre 25-29,9 kg/m<sup>2</sup> como sobrepeso e  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> como obesidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1995). Foram considerados hipertensos indivíduos com pressão arterial sistólica  $\geq 140$  mmHg ou pressão arterial diastólica  $\geq 90$  mmHg (JAMES et al., 2014).

Os pacientes diabéticos (grupo 1) foram submetidos aos seguintes exames laboratoriais: hemograma, uréia, creatinina, alanina transaminase (ALT), aspartato transaminase (AST), fosfatase alcalina, gama GT, proteínas totais e frações, bilirrubina total e frações, sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, zinco, HbA1c, 25(OH)D, TSH, T4 livre, colesterol total e frações, triglicerídeos, glicemia de jejum e microalbuminúria em três amostras de urina isolada ou em urina de 24 horas. Por sua vez, os pacientes do grupo controle foram submetidos à coleta de: hemograma, uréia, creatinina, ALT, AST, fosfatase alcalina, gama GT, proteínas totais e frações, bilirrubina total e frações, sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, zinco, HbA1c e 25(OH)D. O colesterol total e frações, triglicerídeos e glicemia de jejum foram dosados através do método colorimétrico/automatizado.

A HbA1c foi dosada pelo método HPLC (PIMAZONI NETTO et al., 2009). Os níveis de 25(OH)D foram mensurados pelos métodos de quimioluminescência (WAGNER; HEATHER; REINHOLD, 2009), sendo classificados de acordo com os seus níveis em: deficiência (< 20,0 ng/mL), insuficiência (20,0 a 29,9 ng/mL) e normais ( $\geq$  30,0 ng/mL). Dosou-se também a creatinina sérica (método cinético/automatizado), sendo calculada a TFG pela fórmula de CKD-EPI (ANEXO A) (LEVEY et al., 2009). O TSH e T4 livre foram dosados por quimioluminescência.

Foram graduados em estágios os níveis de nefropatia através da albuminúria e da TFG. Quanto a TFG, classificamos em estágio 1 quando a TFG for  $\geq$  90 mL/min/1,73m<sup>2</sup> na presença de albuminúria, estágio 2 de 60-89 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, estágio 3 de 59-30 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, estágio 4 de 15-29 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, e estágio 5 quando a TFG for menor que 15 mL/min/1,73m<sup>2</sup> (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002). Quanto a albuminúria, os pacientes do grupo 1 foram classificados de acordo com o resultado em: normoalbuminúria (< 30 mg/24h ou < 30mg/g de creatinina), microalbuminúria ( $\geq$  30 mg/24h e < 300 mg/24h ou  $\geq$  30 e < 300 mg/g de creatinina) e macroalbuminúria ( $\geq$  300 mg/24h ou  $\geq$  300 mg/g de creatinina), sendo esta realizada por imunoturbidimetria (ADA, 2011).

O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do HUIBB (APÊNDICE B).

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis categóricas foram descritas como frequência (porcentagem), as variáveis numéricas com distribuição normal foram descritas como média e desvio padrão, as demais como mediana. Testes Qui-Quadrado e *Fisher* foram utilizados para comparação das variáveis categóricas. Os testes *t-Student* e *Man-Whitney* foram utilizados para comparar dois grupos com variáveis numéricas com e sem distribuição normal respectivamente. Para estabelecer correlações entre variáveis, foram utilizados os testes de Pearson e Spearman. O teste de análise de variância (ANOVA) comparou mais de dois grupos com variáveis numéricas e distribuição normal, e o teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparar mais de dois grupos de variáveis numéricas sem distribuição normal.

Para fins estatísticos, padronizou-se em relação ao estágio de nefropatia que para os pacientes com normoalbuminúria, microalbuminúria, macroalbuminúria foram atribuídos os numerais 1, 2 e 3 respectivamente. Do mesmo modo, em relação aos níveis de vitamina D, para os pacientes normais, insuficientes e deficientes, foram atribuídos os numerais 1, 2 e 3 respectivamente.

Adicionalmente, os valores de albuminúria foram convertidos em log de base 10 ( $\log_{10}$ ) para melhor análise dos dados. Foi criado um modelo de regressão linear simples utilizando a albuminúria como variável dependente e a vitamina D como variável independente. Nós utilizamos o modelo de regressão (*backward stepwise*) com a albuminúria como variável dependente e a idade, sexo, IMC, PAS, PAD, 25(OH)D, HbA1c e DDM1 para definir quais dessas variáveis seriam preditoras de maneira significativa. Após isso, foi realizado um modelo de regressão linear múltipla utilizando novamente a albuminúria como variável dependente para verificar se a combinação das variáveis incluídas, selecionadas a partir do modelo anterior, poderia trazer um incremento adicional ao valor preditivo da excreção de albumina quando comparado ao modelo de regressão linear simples.

Interferências foram representadas por teste de hipótese com um nível de significância bilateral de 0,05. Todas as informações foram armazenadas e processadas com softwares<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> SigmaStat 3.5 (Jandel Scientific Corporation, Chicago, Illinois) e Statistical Package for Social Sciences (SPSS 21.0)(IBM).

#### 4. RESULTADOS

As características clínicas dos pacientes com DM1 e controle encontram-se na Tabela 1. Quanto à prevalência de hipertensão arterial sistêmica, 81% dos pacientes com DM1 eram hipertensos, enquanto que 19% eram normotensos. As características laboratoriais dos pacientes com DM1 e do grupo controle são mostradas na Tabela 2.

**Tabela 1 - Características clínicas dos pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 e do grupo controle.**

|                              | Sexo<br>(M/F) | Idade<br>(anos) | DDM1*<br>(anos) | PAS**<br>(mmHg) | PAD***<br>(mmHg) | IMC****<br>(Kg/m <sup>2</sup> ) |
|------------------------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|---------------------------------|
| <b>DM1<br/>(N= 37)</b>       | 13/24         | 28,8 ± 7,9      | 13,2 ± 6,6      | 120,3 ± 13,6    | 76,1 ± 9,6       | 24,2 ± 3,9                      |
| <b>Controles<br/>(N= 36)</b> | 19/17         | 25,2 ± 3,0      | -               | 119,1 ± 12,3    | 74,0 ± 7,9       | 26,7 ± 5,8                      |
| <b>p</b>                     | NS            | NS              | -               | NS              | NS               | p < 0,05                        |

\*DDM1 = Duração do Diabetes Mellitus; \*\*PAS = Pressão Arterial Sistólica; \*\*\*PAD = Pressão Arterial Diastólica; \*\*\*\*IMC = Índice de Massa Corpórea.

**Tabela 2 - Características laboratoriais dos pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 e do grupo controle.**

|                              | HbA1c<br>(%) | Vitamina D<br>(ng/mL) | TFG<br>(mL/min/1,73m <sup>2</sup> ) | Microalbuminúria<br>(mg/24h) | Microalbuminúria<br>(log <sub>10</sub> mg/24h)* |
|------------------------------|--------------|-----------------------|-------------------------------------|------------------------------|---|
| <b>DM1<br/>(N= 37)</b>       | 10,3 ± 3,2   | 24,2 ± 7,4            | 95 ± 20                             | 236,2 ± 690,7                | 1,78 ± 0,36                                     |
| <b>Controles<br/>(N= 36)</b> | 5,2 ± 0,3    | 25,8 ± 11,2           | 92 ± 11                             | -                            | -   |
| <b>p</b>                     | p < 0,05     | NS                    | NS                                  | -                            | -   |

\* = log<sub>10</sub> = transformação dos valores de microalbuminúria para log<sub>10</sub>; TFG = Taxa de Filtração Glomerular; HbA1c = Hemoglobina glicada.

Os pacientes com DM1 também não diferiram dos controles quando foi avaliado o número de pacientes nos diferentes estágios de acordo com os níveis de vitamina D (Figura 2).

Em relação ao estágio de nefropatia diabética, foi encontrado que 8 pacientes (21,6%) apresentaram normoalbuminúria, 25 pacientes (67,6%) apresentaram microalbuminúria e 4 pacientes (10,8%) apresentavam macroalbuminúria. Os valores médios de microalbuminúria, transformados em  $\log_{10}$ , nos pacientes com DM1 e níveis normais e reduzidos de vitamina D são comparados na Tabela 3.

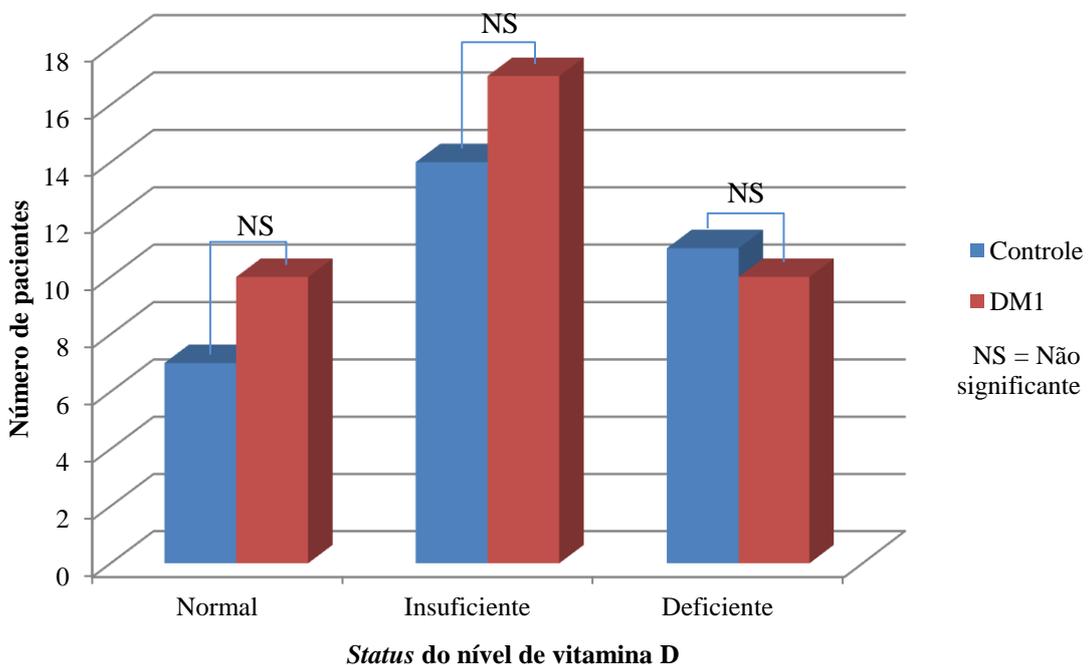


Figura 2 - Status de acordo com os níveis de vitamina D em pacientes com DM1 e no grupo controle.

Tabela 3 -  $\log_{10}$  da albuminúria e níveis de vitamina D nos pacientes com DM1.

|                         | Níveis de vitamina D (ng/mL) |              |
|-------------------------|------------------------------|--------------|
|                         | Normal                       | Alterado     |
| $\log_{10}$ albuminúria | 1,44 ± 0,08                  | 1,92 ± 0,50* |

\*=  $p < 0,05$  versus normal

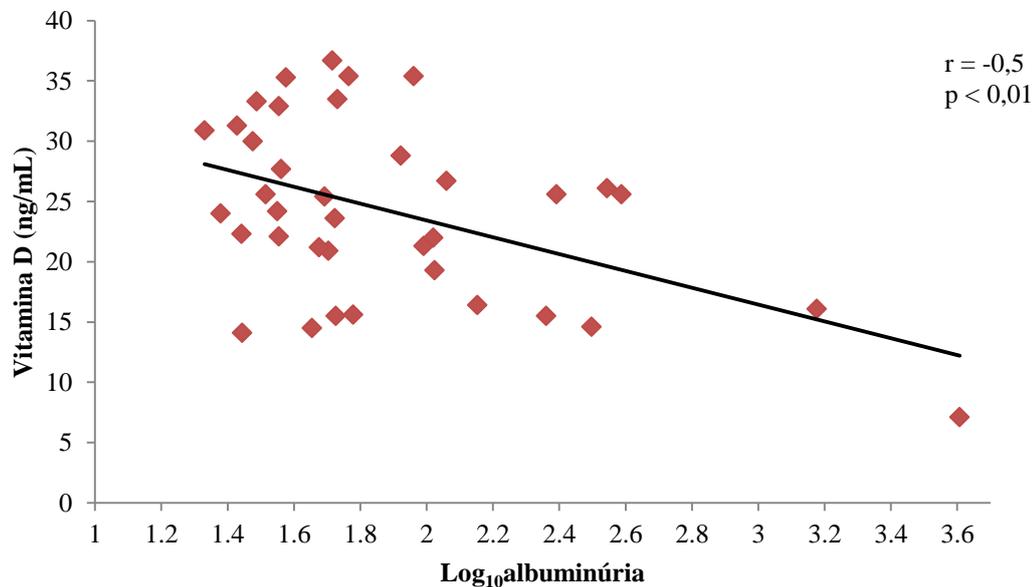
Os níveis de vitamina D nos diferentes estágios de nefropatia diabética são mostrados na Tabela 4. Ao comparar os níveis de vitamina D dos pacientes portadores de DM1, observa-se que só não há diferença significativa entre aqueles com normoalbuminúria versus microalbuminúria.

**Tabela 4 - Níveis de vitamina D e estágios de nefropatia em pacientes com DM1.**

|                           | Estágios de nefropatia       |                              |                              |
|---------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                           | Normoalbuminúria<br>(mg/24h) | Microalbuminúria<br>(mg/24h) | Macroalbuminúria<br>(mg/24h) |
| <b>Vitamina D (ng/mL)</b> | 26,7 ± 6,2 <sup>A</sup>      | 24,8 ± 7,0 <sup>A</sup>      | 15,9 ± 7,6 <sup>B</sup>      |

Na análise, letras diferentes representam diferenças estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ).

Adicionalmente foi encontrada correlação significativa entre os níveis de vitamina D e os níveis de albuminúria (transformados em  $\log_{10}$ ) nos pacientes com DM1 (Figura 3).



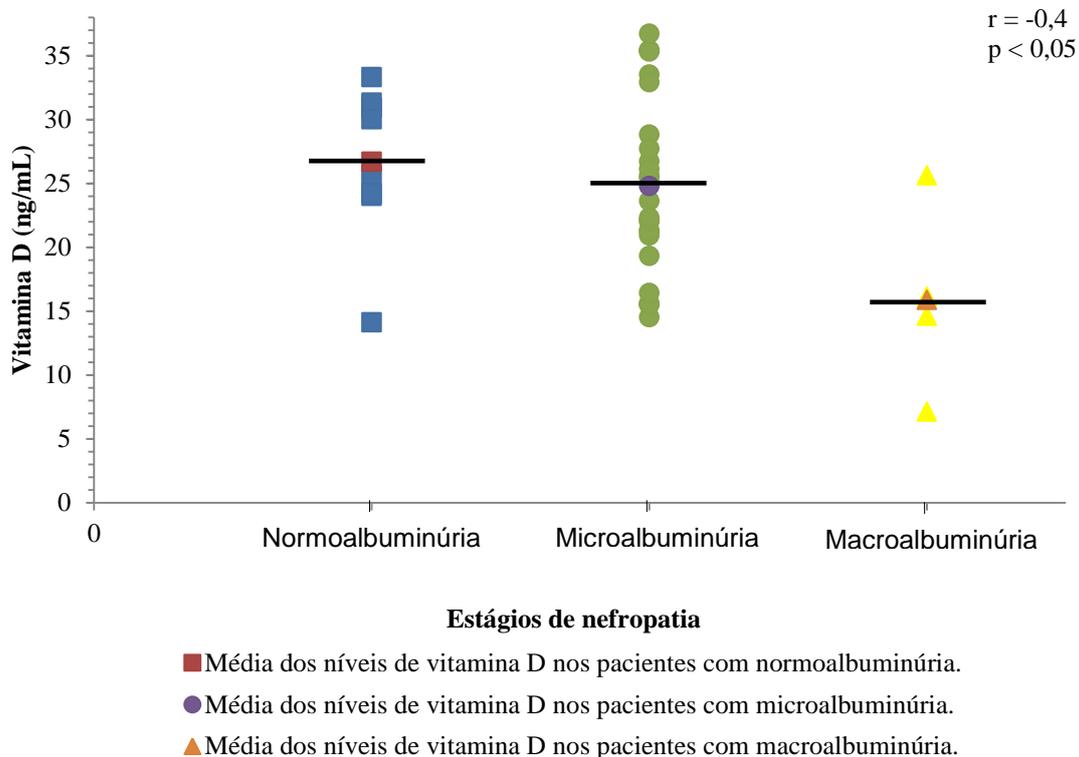
**Figura 3- Correlação entre os níveis de vitamina D e albuminúria nos pacientes com DM1.**

Quando avaliamos os níveis de vitamina D em relação ao grau de nefropatia diabética, encontramos uma queda progressiva destes níveis à medida que a nefropatia se agrava (Figura

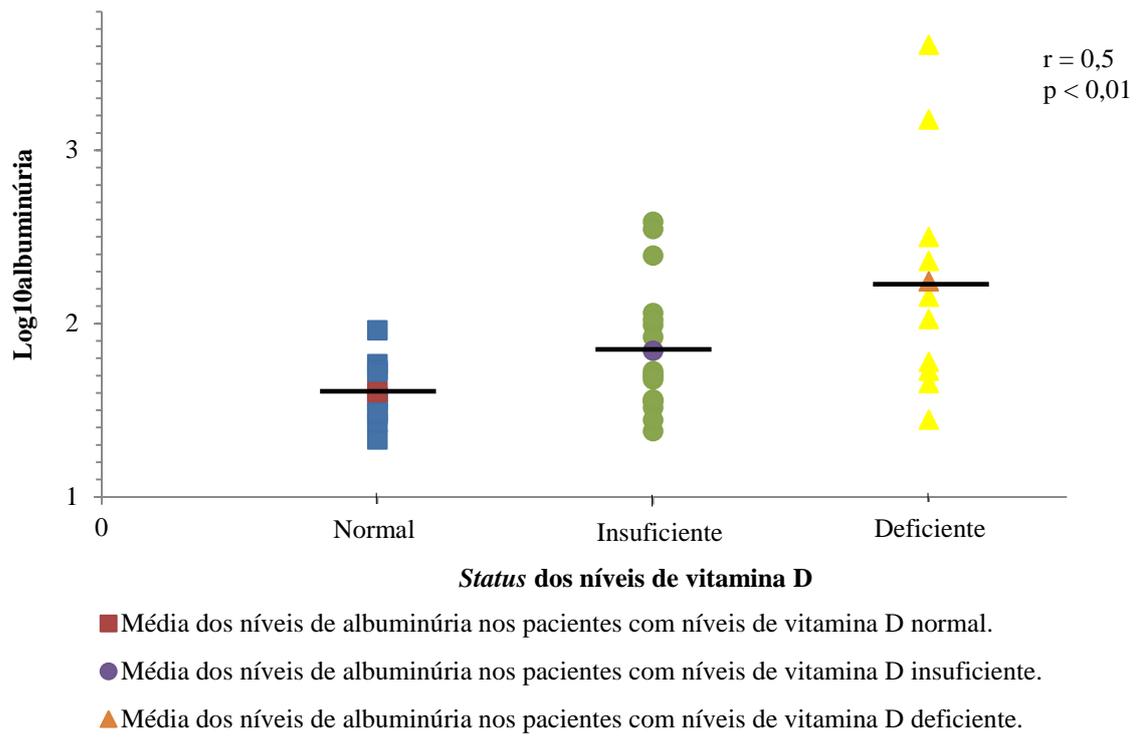
4). Quando foram analisados os níveis de albuminúria de acordo com o *status* dos níveis de vitamina D encontramos comportamentos semelhantes (Figura 5). Adicionalmente, não houve correlação entre os níveis de vitamina D e a TFG nos pacientes com DM1.

Nosso modelo de regressão linear simples com a albuminúria como variável dependente, e a vitamina D como variável independente mostrou um  $r^2 = 0,2$  com  $p < 0,01$ . O coeficiente  $b_1$  (gradiente de inclinação) foi igual a  $-43$ . Isto sugere que a cada elevação de 1 ng/mL de vitamina D, ocorreria uma redução de 43 mg/g de creatinina na excreção urinária de albuminúria.

O modelo de regressão (*backward stepwise*) encontrou que os níveis de vitamina D, Hb1Ac e DDM foram preditores independentes da excreção urinária de albumina. Quando incluímos estas três variáveis como preditoras em um modelo de regressão linear múltipla, encontramos um incremento no valor preditivo da excreção urinária de albumina quando comparado à utilização dos níveis de 25(OH)D isoladamente ( $r^2 = 0,34$  e  $p < 0,01$ ).



**Figura 4 - Correlação entre os níveis de vitamina D e o grau de nefropatia diabética.**



**Figura 5 - Correlação entre os níveis de albuminúria e o status dos níveis de vitamina D em pacientes com DM1.**

## 5. DISCUSSÃO

Nossos dados sugerem uma associação entre níveis reduzidos de vitamina D e a presença e gravidade da nefropatia diabética. Existem poucos estudos (VERROTI et al., 1999; JOERGENSEN, et al., 2011; DE BOER et al., 2012; ENGELEN et al., 2015) avaliando os níveis de vitamina D nos estágios precoces da nefropatia diabética, e sua associação com a presença de microalbuminúria e estes apresentam resultados conflitantes. Joergensen et al. (2011) avaliaram a vitamina D como preditor da progressão do estado de normoalbuminúria para microalbuminúria em pacientes com diabetes tipo 1. Para este fim, mediram os níveis de vitamina D antes do desenvolvimento de microalbuminúria e acompanharam esses pacientes por cerca de 26 anos. Neste período, 81% dos pacientes desenvolveram microalbuminúria e esta não foi associada a níveis reduzidos de vitamina D. De maneira diferente, Verroti et al. (1999) compararam os níveis de vitamina D e excreção urinária de albumina em 3 grupos (22 pacientes com DM1 e normoalbuminúria, 24 pacientes com DM1 e microalbuminúria e 24 controles). Seus achados apontaram níveis menores de 25(OH)D nos pacientes com microalbuminúria quando comparados aos outros grupos. De Boer et al. (2012) testaram associações entre metabólitos circulantes de vitamina D e microalbuminúria em pacientes com DM1. Estes encontraram que pacientes com baixas concentrações plasmáticas de vitamina D (abaixo de 20 ng/mL) apresentaram um aumento de 65% no risco de desenvolver microalbuminúria, quando comparados com aqueles com níveis  $\geq 30$  ng/mL. Nossos achados reforçam os dados descritos por Verroti et al. (1999) e De Boer (2012). Apesar de não encontrarmos diferença entre os níveis médios de 25(OH)D entre pacientes com DM1 normo e microalbuminúricos, nosso estudo demonstrou boa correlação entre a redução dos níveis de vitamina D com a evolução dos estágios de nefropatia diabética. Adicionalmente, nossos dados mostram a falta de associação entre os níveis de vitamina D com a função renal avaliada pela TFG, sendo similares aos dados descritos por De Boer et al. (2012).

Em nosso estudo, a prevalência de hipovitaminose D entre os indivíduos controles foi bastante elevada (78%), e não houve diferença em relação aos pacientes com DM1, cuja prevalência foi de 73%. Não foi encontrada diferença entre as médias de 25(OH)D e o *status* dos níveis de vitamina D entre os dois grupos. Pozzilli et al. (2005) demonstraram altas taxas

de deficiência de vitamina D em pacientes com DM1 recém diagnosticado, quando comparados a indivíduos controles em uma cidade ensolarada da Itália na região do Lazio. Paralelamente, Feng et al. (2015) ao realizarem uma meta análise revisando 13 artigos e estudando pacientes adultos portadores de DM1, com uma amostra total de 3494 participantes, onde 1790 eram controles saudáveis e 1704 apresentavam DM1, conseguiram ratificar os dados anteriores. Na meta análise encontrou-se que a 25(OH)D sérica dos diabéticos era mais baixa que a do grupo controle, com os níveis séricos de vitamina D de 2,61 ng/mL menores em média.

Nossos indivíduos controles apresentaram níveis médios de IMC na faixa considerada sobrepeso, com níveis mais elevados quando comparados aos pacientes com DM1. Tem sido reportado que o excesso de peso está associado à hipovitaminose D (MCGILL et al., 2008), portanto, isso não poderia justificar o fato de não termos encontrado diferenças nos níveis de vitamina D entre os dois grupos. Atualmente, não temos grandes estudos para determinar a prevalência de hipovitaminose D no Brasil. Dados da cidade de Recife indicam baixos níveis de vitamina D em mulheres pós-menopausadas (43%) (MACHADO et al., 2014), enquanto Linhares et al. (1984) ao avaliarem 226 crianças desta mesma população e região geográfica, não encontraram nenhum caso de deficiência da vitamina D. Ao contrário, em estudo com 102 idosos não institucionalizados de Porto Alegre, onde o clima é mais frio, a prevalência de hipovitaminose D foi considerada mais alta (87,5%) (SCALCO et al., 2008). Nossa região é quente, úmida e ensolarada, entretanto, nosso grupo controle reside na região urbana da capital (Belém), a qual é uma cidade não litorânea e com alta densidade de vegetação. Além disso, nossa população tem como hábito se proteger do sol. Estes fatores podem ter influenciado nossos resultados e levado a alta prevalência de hipovitaminose D em nosso grupo controle.

Tem sido reportado o envolvimento da hipovitaminose D no desenvolvimento do diabetes (MACHADO et al., 2014). Entretanto, não é conhecido se a deficiência de vitamina D poderia ser um fator ambiental envolvido na fisiopatologia e na evolução da nefropatia diabética. Receptores para vitamina D (VDR) estão presentes nos rins (DUSSO, 2012). Zhang et al., em 2008, demonstraram que a inativação do VDR levou ao desenvolvimento de nefropatia diabética mais grave em ratos, sugerindo um papel renoprotetor da vitamina D contra a lesão renal, ao regular o sistema renina-angiotensina e outros genes envolvidos na injúria renal. Em seu estudo, utilizaram ratos diabéticos separando-os em grupos com VDR

presente e ausente, e os acompanhou por 19 semanas. Após 5 semanas, ambos os grupos desenvolveram albuminúria, entretanto, esta foi mais precoce e significativa no grupo dos animais com VDR ausente. Além disso, conforme ocorria o envelhecimento desses animais, a excreção urinária de albumina tendia a ser maior no grupo com ausência do receptor de vitamina D. Não é conhecido se a reposição e/ou suplementação de vitamina D, *per se*, nos pacientes com microalbuminúria em fase inicial, pode reverter o quadro, interferindo na evolução da nefropatia diabética. O estudo VITAL (DE ZEEUW et al., 2010) mostrou que o tratamento por 24 semanas, com 2 ug de paracalcitol (análogo de vitamina D), em pacientes com DM tipo 2 e nefropatia diabética levou a uma significativa redução de excreção da albuminúria residual. Em contrapartida, redução significativa não foi demonstrada nos indivíduos em uso de 1 ug diária, assim como naqueles em uso de placebo. Entretanto, não existem estudos apontando qual seria o nível ideal de suplementação e não é conhecido se a elevação dos níveis de vitamina D para valores constantes (> 30 ng, por um período prolongado), independente da variabilidade do ensaio, poderia ajudar a elucidar se esta teria um possível efeito terapêutico na nefropatia diabética em seus estágios iniciais.

Um fator não analisado, e que poderia levantar hipóteses quanto ao papel da vitamina D na nefropatia diabética, é a perda de proteínas transportadoras de vitamina D nestes pacientes. Thrailkill et al. (2011) analisaram a perda renal de DBP em pacientes diabéticos e encontraram aumento na perda desta proteína na urina com um acréscimo maior nos albuminúricos, sugerindo que este mecanismo colaboraria com a hipovitaminose D. Neste sentido, pode-se levantar a questão se a perda desta proteína na urina tratar-se-ia de um marcador de risco da lesão renal ou um fator causal. Nossos dados de regressão sugerem um mecanismo de ação direta da vitamina D sobre a excreção urinária de albumina independente do controle glicêmico do diabetes.

Um desenho interessante que poderia avaliar o papel da vitamina D como fator ambiental da nefropatia diabética, seria um estudo de *coorte*, com pacientes normoalbuminúricos, acompanhados seriadamente, com avaliação dos níveis séricos de vitamina D para observar o desenvolvimento de nefropatia nesses pacientes. Contudo, esse seria um estudo eticamente inviável devido à necessidade de repor a deficiência de vitamina D quando detectada. Dessa forma, a maneira mais próxima de responder a essa questão seria através do tratamento de indivíduos com microalbuminúria recém diagnosticada, mesmo na ausência da hipovitaminose D, na intenção de manter níveis dessa vitamina acima de 30

ng/mL para verificar a possibilidade de reversão do quadro. Caso essa hipótese fosse confirmada, um grande passo seria dado com a utilização da vitamina D no tratamento dos estágios iniciais de nefropatia diabética.

Entre as deficiências do nosso estudo, encontra-se o baixo número de pacientes normoalbuminúricos quando comparados com aqueles portadores de microalbuminúria (8 versus 25). Este fato, associado a grande variabilidade dos níveis de albuminúria nos pacientes com DM1, pode ter sido responsável por não termos encontrado diferença entre os níveis médios de 25(OH)D nestes dois grupos.

A aplicabilidade clínica do nosso estudo seria o estabelecimento de uma associação entre a hipovitaminose D e a nefropatia diabética. Isto possibilitaria o surgimento de novos protocolos, os quais poderiam estabelecer se a reposição ou suplementação desta vitamina poderia ser útil no tratamento desta patologia de alta taxa de mortalidade que acomete nossos pacientes com diabetes mellitus tipo 1.

Nosso trabalho foi um estudo piloto transversal, a partir do qual estamos desenvolvendo um protocolo de reposição e suplementação, com doses mais altas de vitamina D, em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e microalbuminúria.

## 6. CONCLUSÃO

1. Nossos dados sugerem uma associação entre níveis reduzidos de vitamina D, a presença e o estágio da nefropatia diabética.
2. Os pacientes com diabetes mellitus tipo 1, quando comparados a indivíduos controles normais em nossa região, não apresentam diferenças entre os níveis médios de 25(OH)D e no *status* dos níveis de 25(OH)D.
3. A prevalência de hipovitaminose D em adultos jovens na nossa região foi de 78%. Adicionalmente, a frequência dos diferentes *status* de acordo com o nível de 25(OH)D neste grupo foi de: normal = 22%, insuficiente = 44%, deficiente = 34%.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, M.; et al. Vitamina D – importância da avaliação laboratorial. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**. v. 8, p.32-39, 2013.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. ADA. Clinical Practice Recommendation. **Diabetes Care**. v. 31, p.11-61. 2011. Suplemento 1.
- \_\_\_\_\_. Standards of medical care in diabetes-20. **Diabetes Care**. v. 36, p.11-66. 2013. Suplemento 1.
- \_\_\_\_\_. Standards of medical care in diabetes. **Diabetes Care**. v. 34. 2015. Suplemento 1.
- ANANTHAKRISHNAN, A. N.; et al. Higher predicted vitamin D status is associated with reduced risk of Crohn's disease. **Gastroenterology**. 142.3: 482-489. 2012.
- BARRETT, J. C.; et al. Genome-wide association study and a meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. **Nature Genetics**. 41(6):703-707. 2009.
- BLAND, R.; et al. Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in pancreatic islets. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**. 89–90:121–5. 2004.
- BOLIGNANO, D.; et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an early biomarker of nephropathy in diabetic patients. **Kidney Blood Pressure Research**. v. 39. 2009.
- BRORSSON, C.; POCIOT, F. Genetics of diabetic nephropathy in diverse ethnic groups. **Contributions to nephrology**. v. 170, p.8-18. 2011.
- BROWNLEE, M.; AIELLO, L. P.; COOPER, M. E. Complications of diabetes mellitus. In: kronenberg HM *et al.* (eds.). **Williams textbook of endocrinology**. 11th ed Philadelphia: W.B.Saunders. p.1417-501. 2008.
- BUSTA, A.; ALFONSO, B.; PORETSKY, L. Role of Vitamin D in the Pathogenesis and Therapy of Type 1 Diabetes Mellitus, Type 1 Diabetes - Complications, Pathogenesis, and Alternative Treatments. **InTech**. Doi: 10.5772/21918. 2011.  
Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/type-1-diabetes-complications-pathogenesis-and-alternative-treatments/role-of-vitamin-d-in-the-pathogenesis-and-therapy-of-type-1-diabetes-mellitus>. Acesso em: 05 jun. 2015
- CARTER, G. D. 25-Hydroxyvitamin D: a difficult analyte. **Clinical Chemistry**. 58(3):486–88. 2012.
- CASTRO, L. C. G. The vitamin D endocrine system. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**. v. 55, n. 8. 2011.

CHUAHIRUN, T.; WESSON, D. E. Cigarette smoking predicts faster progression of type 2 established diabetic nephropathy despite ACE inhibition. **American Journal of Kidney Diseases**. v. 39, p.376-82. 2002.

DAVID, M.; BROSH, D.; RAVID-SAFRAN, D. Main risk factors for nephropathy in type 2 diabetes mellitus are plasma cholesterol levels, mean blood pressure, and hyperglycemia. **Archives of Internal Medicine**. v. 158, p.998-1004. 1998.

DE BOER, I.; et al. 25-Hydroxyvitamin D levels and albuminuria in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). **American Journal of Kidney Diseases**. v. 50, n. 1, p.69-77. 2007.

\_\_\_\_\_, I. H; et al. Circulating Vitamin D Metabolites and Kidney Disease in Type 1 Diabetes. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 12, n. 97, p.4780-4788. 2012.

DEFRONZO, R. A. Diabetic nephropathy: etiologic and therapeutic considerations. **Diabetes Reviews**. v. 3, p.510-64. 1995.

DE ZEEUW, D.; et al. Selective vitamin D receptor activation with paricalcitol for reduction of albuminuria in patients with type 2 diabetes (VITAL study): a randomised controlled trial. **Lancet**. 2010.

DELLA MANNA, T. Not every diabetic child has type 1 diabetes mellitus. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro. v. 83, n. 5, p.178-183. 2007. Suplemento 1.

DEVENDRA, D.; EISENBARTH, G. S. Immunologic endocrine disorders. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**. n. 111:S624-S636. 2003.

DIAZ, V. A.; et al. The association of vitamin D deficiency and insufficiency with diabetic nephropathy: implications for health disparities. **Journal of the American Board of Family Medicine**. v. 22, p.521-527. 2009.

DRONOVALLI, S.; DUKA, I.; BAKRIS, G. L. The pathogenesis of diabetic nephropathy. **Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism**. v. 4, p.444-52. 2008.

DUSSO, A. S.; TOKUMOTO, M. Defective maintenance of the vitamin D endocrine system impairs vitamin D renoprotection: a downward spiral in kidney disease. **Kidney International**. v. 79, p.715-729. 2011.

\_\_\_\_\_, Renal vitamin D receptor expression and vitamin D renoprotection. **Kidney International**. 81(10):937-9. 2012.

ENGELEN, L.; et al. Low 25-hydroxyvitamin D2 and 25-hydroxyvitamin D3 levels are independently associated with macroalbuminuria, but not with retinopathy and macrovascular disease in type 1 diabetes: the EURODIAB prospective complications study. **Cardiovascular Diabetology**. 14:67. Doi 10.1186/s12933-015-0231-2. 2015.

FARREL, C. J. Determination of vitamin D and its metabolites. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 27, p.675–688. 2013.

FENG, R.; et al. Lower serum 25(OH)D concentrations in type 1 diabetes: A metaanalysis. **Diabetes Research and Clinical Practice**. n. 108, p.71–75. 2015.

FISCELLA, K. A.; WINTERS, P. C.; OGEDEGBE, G. Vitamin D and Racial Disparity in Albuminuria: NHANES 2001–2006. **American Journal of Hypertension**. v. 24, n. 10. 2011.

FLANDERS, K. C. Smad3 as a mediator of the fibrotic response. **International Journal of Experimental Pathology**. v. 85, n. 2, p.47-64. 2004.

FORMAN, J. P.; et al. Plasma 25-Hydroxyvitamin D Levels and Risk of Incident Hypertension. **Hypertension**. 49: 1063-1069. 2007.

FUKAMI, K.; et al. Role of AGEs in diabetic nephropathy. **Current Pharmaceutical Design**. v. 14, p.946-56. 2008.

GOMES, M. B. C.; et al. Prevalence of adults with type 1 diabetes who meet goals of care in daily clinical practice: a nationwide multicenter study in Brazil. **Diabetes Research and Clinical Practice**. v. 97, p.63-70. Jul. 2012.

GEGER STUDY GROUP. Risk factors for microalbuminuria in children and adolescents with type 1 diabetes. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**. v.13, p.613-20. 2000.

GROSS, J. L.; et al. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. **Diabetes Care**. v. 28, p.76. 2005.

HAFEZ, M. H.; et al. Detection of an earlier tubulopathy in diabetic nephropathy among children with normoalbuminuria. **Iranian Journal of Kidney Diseases**. v. 9, n. 2. 2015.

HE, W.; et al. Blockade of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling by paricalcitol ameliorates proteinuria and kidney injury. **Journal of the American Society of Nephrology**. v. 22, p.90-103. 2011.

HOLICK, M. F. Noncalcemic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and clinical applications. **Bone**. v. 17. 2011.

\_\_\_\_\_, et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. 96 (7): 1911-1930. Jul. 2011.

HOLLIS, B. W.; HORST, R. L. The assessment of circulating 25(OH)D and 1,25(OH)<sub>2</sub>D: where we are and where we are going. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**. 103:473-6. 2007.

\_\_\_\_\_, Circulating 25-Hydroxyvitamin D Levels Indicative of Vitamin D Sufficiency: Implications for Establishing a New Effective Dietary Intake Recommendation for Vitamin D. **Journal of Nutrition**. 135(2):317-22. 2005.

HOVIND, P.; et al. Predictors of the development of microalbuminuria and macroalbuminuria in patients with type 1 diabetes: Inception Cohort Study. **British Medical Journal**. v. 328. 2004.

HYPPÖNEN, E.; et al. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. **The Lancet**. v. 358, Issue 9292, 1500 – 1503. 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for Calcium and Vitamin D. Food and Nutrition Board. **National Academy Press**. Washington, DC. 2010.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF. **Diabetes Atlas**. 6<sup>a</sup> ed. Disponível em: <<http://www.idf.org/diabetesatlas>>. Acessado em: 04 ago.2015.

JAMES, P. A.; et al. 2014 Guideline for Management of High Blood Pressure. **Journal of the American Medical Association**. v. 311, n. 5. 5 Feb. 2014.

JOERGENSEN, C.; et al. Vitamin d levels, microvascular complications, and mortality in type 1. **Diabetes Care**. v. 34, p.1081–1085. 2011.

KUNZ, R.; et al. Association between the angiotensin-converting enzyme-insertion/deletion polymorphism and diabetic nephropathy: a methodologic appraisal and systematic review. **Journal of the American Society of Nephrology**. v. 9, p.1653-63. 1998.

LEE, Y. H.; et al. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. **Molecular Biology Reports**. v. 38, Issue 6, p.3643-3651. Aug. 2011.

LEVEY, A. S.; et al. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. **Annals of Internal Medicine**. v.150, n. 9, p.604-611. 2009.

LINHARES, E. R.; et al. Effect of nutrition on vitamin D status: studies on healthy and poorly nourished Brazilian children. **American Journal of Clinical Nutrition**. 39 (4): 625-30. Apr. 1984.

LUCENA, A. M.; et al. Complicações infecciosas no transplante renal e suas implicações às intervenções de enfermagem: revisão integrativa. **Enfermagem UFPE Online**, vol. 7, n. esp, p.953-959, mar. 2013. Disponível em:

<http://www.revista.ufpe.br/revistaenfermagem/index.php/revista/article/download/3112/5791>  
Acessado em: 29 mar. 2015.

LEVEY, A. S.; et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. **Annals of internal medicine**. 150(9): 604-12. 2009.

LEVIN, A.; et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. **Kidney International**. v. 71. 2007.

LUONG, K. V. Q.; NGUYEN, L. T. H.; PHAM NGUYEN, D. N. The role of vitamin D in protecting type 1 diabetes mellitus. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**. 21: 338–346. 2005.

MCGILL, A. T. Relationships of low serum vitamin D<sub>3</sub> with anthropometry and marks of the metabolic syndrome and diabetes in overweight and obesity. **Nutrition Journal**. 7:4. Doi: 10.1186/1475-2891-7-4. 2008.

MACHADO, M. R. C.; et al. Vitamina D e diabetes mellitus, suas epidemias e envelhecimento. O que há de novo? **Reprodução e Climatério**. v. 29, p.54–59, ago. 2014.

MEHROTRA, R.; KERMAH, D. A.; SALUSKY, I. B. Chronic kidney disease, hypovitaminosis D, and mortality in the United States. **Kidney International**. v. 76, n. 9. 2009.

MIZOBUCHI, M.; et al. Combination therapy with an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a vitamin D analog suppresses the progression of renal insufficiency in uremic rats. **Journal of the American Society of Nephrology**. 18:1796–806. 2007.

MOWRY, E. M.; et al. Vitamin D status predicts new brain magnetic resonance imaging activity in multiple sclerosis. **Annals of Neurology**. 72: 234–240. 2012.

MURUSSI, M.; COESTER, A.; GROSS, J.L. Diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus: risk factors and prevention. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. v. 47, p.207-19. 2003.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. K/DOQI. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **American Journal Kidney Diseases**. p. S1-266. 2002.

NELSON, R. G.; et al. Parental hypertension and proteinuria in Pima Indians with NIDDM. **Diabetologia**. v. 39, p.433-8. 1996.

PARVING, H. H.; OSTERBY, R.; RITZ, E. Diabetic nephropathy. **The kidney**, v. 73. 2000.

PATEL, A.; SCOTT, W. R.; LYMPANY, P. A. The TGF-beta1 gene c6don 10 polymorphism contributes to the genetic predisposition to nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetic Medicine* v. 22, p.69-73. 2005.

PIMAZONI NETTO, A.; et al. As interfer6ncias e as limita66es metodol6gicas na dosagem da hemoglobina glicada (A1C). *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. v. 45, n. 1, p.31-48. Fev. 2009.

PITTAS, A. G.; et al. Systematic review: vitamin D and cardiometabolic outcomes. *Annals of Internal Medicine*. 152:307–14. 2010.

PLUM, L. A.; ZELLA, J. B. Vitamin D compounds and diabetic nephropathy. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1;523(1):87-94. Jul. 2012.

PONSONBY, A. L.; LUCAS, R. M.; VAN DER MEI, I. A. F. UVR, vitamin D and three autoimmune diseases—multiple sclerosis, type 1 diabetes, rheumatoid arthritis. *Photochemistry and Photobiology*. v. 81:1267–1275. 2005.

POZZILLI, P.; et al. Low levels of 25-hydroxyvitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in patients with newly diagnosed type 1 diabetes. *Hormone and Metabolic Research*. v. 37, p. 680-683. Nov. 2005.

PREMAOR, M. O.; FURLANETTO, T. W. Hipovitaminose D em Adultos: Entendendo: Melhor a Apresenta66o de Uma Velha Doen6a. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. v. 50, n. 1. 2006.

RIACHY, R.; et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 protects human pancreatic islets against cytokine-induced apoptosis via down-regulation of the Fas receptor. *Apoptosis*. v. 11, n. 12. 2006.

SCALCO, R.; et al. High prevalence of hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in elders living in nonprofit homes in South Brazil. *Endocrine*. v. 33, p. 95-100. Mar. 2008.

SCHUCH, N. J.; et al. Vitamin D and endocrine diseases. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia*. v. 53. 2009.

SEAQUIST, E. R.; et al. Familial clustering of diabetic nephropathy. *New England Journal of Medicine*. v. 320, p.1161-5. 1989.

SKYLER, J. S. Retinopathy and nephropathy. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America*. v. 30, p.833-56. 2001.

SNELLMAN, G.; et al. Determining vitamin D status: a comparison between commercially available assays. *PLoS One*. 5(7):e11555. 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. SBD. Atualização brasileira sobre diabetes. Rio de Janeiro: AC Farmacêutica, 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. SBN. **Insuficiência Renal**. São Paulo. 2015. Disponível em: <<http://www.sbn.org.br/publico/insuficiencia-renal>>. Acessado em: 25 Fev. 2015.

TAKEMOTO, F.; et al. Gene expression of vitamin D hydroxylase and megalin in the remnant kidney of nephrectomized rats. **Kidney International**. v. 64. 2003.

TAN, X.; LI, Y.; LIU, Y. Paricalcitol attenuates renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. **Journal of the American Society of Nephrology**. 17:3382–93. 2006

THRAILKILL, K. M.; et al. Enhanced Excretion of Vitamin D Binding Protein in Type 1 Diabetes: A Role in Vitamin D Deficiency? **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 96, n. 1, p.142-149. 2011.

VAN BELLE, T. L.; COPPIETERS, K. T.; VON HERRATH, M. G. Type 1 Diabetes: Etiology, Immunology, and Therapeutic Strategies. **Physiological Reviews**. 91: 79–118. 2011.

VERROTTI, A.; et al. Calcium metabolism in adolescents and young adults with type 1 diabetes mellitus without and with persistent Microalbuminuria. **Journal of endocrinological investigation**. v. 22, p.198-202. 1999.

VILAR, L. **Endocrinologia Clínica**. 5º ed. Guanabara Koogan. 2013.

WAGNER, D.; HEATHER, E. C.; REINHOLD, V. An evaluation of automated methods for measurement of serum 25-hydroxyvitamin D. **Clinical Biochemistry**. v. 42, Issue 15, p. 1549-1556. Oct. 2009.

WALSH, M. G.; BORCH-JONHSEN, K.; ORCHARD, T. J. DiaMond investigators. A multinational comparison of complications assessment in Type 1 Diabetes: the Diamondsubstudy of complications (DiaComp) level 2. **Diabetes Care**. v. 27, p.1610–1617. Jul. 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Geneva: World Health Organization Technical Report Series, 854. 1995.

ZERWEKH, J. E. Blood biomarkers of vitamin D status. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 8. 2008.

ZHANG, Z.; et al. Renoprotective role of the vitamin receptor in diabetic nephropathy. **International Society of Nephrology**. 2008.

## ANEXO A – EQUAÇÃO CKD-EPI

CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*).

Adaptado para o português de Levey et al. (2009).

$$\text{TFG (mL/min/1.73 m}^2\text{)} = 141 \times \min(\text{Cr/k}, 1)^\alpha \times \max(\text{Cr/k}, 1)^{-1,209} \times 0,993^{\text{Idade}} \times 1,018$$

[mulher] x 1,159 [negro]

TFG: taxa de filtração glomerular; Cr: creatinina sérica; k é 0,7 para mulheres e 0,9 para homens;  $\alpha$  é -0,329 para mulheres e -0,411 para homens; min indica o mínimo de creatinina sérica ou 1; max indica o máximo de creatinina sérica ou 1.

## **APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (VERSÃO 1.1)**

#### **TÍTULO DO PROJETO:**

Avaliação de estratégias de rastreamento e diagnóstico da retinopatia diabética e neuropatia sensitiva distal e identificação de biomarcadores de complicações crônicas em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 com análise econômica do tratamento do diabetes e de suas complicações. Estudo aninhado ao estudo Multicêntrico Brasileiro de Diabetes Mellitus tipo 1

**COORDENADOR GERAL DO PROJETO:** Prof. Dra. Marília de Brito Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL DO CENTRO:** João Soares Felício

**LOCAL DE REALIZAÇÃO DO PROJETO:** Hospital Universitário João de Barros Barreto.

O Sr. (a) está sendo convidado (a) para participar como controle de um estudo multicêntrico acadêmico sob a coordenação geral da Prof. Dra. Marília de Brito Gomes (UERJ) e responsabilidade do seu centro do Dr. João Soares Felício, do Serviço de Endocrinologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto.

Os objetivos deste estudo estão descritos neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. É importante que você entenda porque o estudo está sendo realizado e o que ele envolverá. Portanto, leia com calma e atenção e analise cuidadosamente estas informações antes de decidir se você deseja participar. Não hesite em fazer perguntas para a equipe do estudo caso algum ponto não esteja claro ou se você desejar mais informações.

O (a) Sr(a) deve ler e assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes que quaisquer atividades relacionadas ao estudo possam ser realizadas.

## **OBJETIVOS DO ESTUDO**

- Avaliar a prevalência das complicações crônicas do diabetes (retinopatia, nefropatia, neuropatia periférica e autonômica cardíaca e doença cardiovascular) nos pacientes diabéticos tipo 1 em acompanhamento nas unidades ambulatoriais e hospitais públicos conveniados ao Sistema Único de Saúde (SUS) nas diferentes regiões do Brasil e avaliação dos custos da doença.
- Identificar marcadores de risco das complicações crônicas relacionadas ao diabetes (demográficos, clínicos, laboratoriais e genéticos).
- Avaliar a distribuição dos diferentes genótipos dos genes da enzima conversora da angiotensina (I/D), do componente p22phox da NADPH oxidase (242 C/T), das citocinas IL6 (promotor -174 C/G) , TGFβ1 (códon 10C/T, códon 25C/G), IL10 (-1082A/G, -819T/C, -592A/C), TNFα (-308 G/A), do gene IFNγ (+874 T/A) e dos genes *GCLC* (-129C/T), *NOX4* (-1435C/A), *CYBA* (-675A/T, não tem registro) e *TKT* (-3787T/G) ( rs9521445, rs39075, rs11186286 , rs451041, rs7956328, rs1041466, rs1888747, rs1788390, rs3017887, rs7637934) nos pacientes portadores de DM 1 e em indivíduos não diabéticos das diferentes regiões do Brasil.
- Avaliar se os polimorfismos acima descritos são associados à presença das complicações crônicas do diabetes.
- Avaliar um questionário geral simplificado, o inventário de Beck de depressão, a Escala de Hamilton e o questionário EUROQOL sobre as características de cada paciente.
- Avaliar os custos do tratamento e acompanhamento do diabetes e suas complicações.
- Comparar resultados com grupo de casos.

## **DADOS E PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS:**

- Coleta de sangue de 20 mL de sangue para análise bioquímica (Hemograma, uréia, creatinina, cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio, AST, ALT, FA, GGT, proteínas totais e frações, perfil lipídico, glicemia, hemoglobina glicada, 25 hidroxil vitamina D e zinco, dentre outros exames gerais);
- Coleta de 10 mL de sangue para análise dos polimorfismos genéticos descritos acima;
- Realização de testes de neuropatia autonômica cardiovascular (o exame tem duração de cerca de 15 a 20 minutos e é indolor. É semelhante a um Eletrocardiograma, com a diferença de que

em um momento do exame será necessário que você faça algumas manobras: respirar profundamente, assoprar contra uma válvula e levantar-se) .

Todo o material coletado (sangue) será utilizado para as análises do presente estudo. O material será encaminhado ao laboratório do centro participante para análise bioquímica. O material coletado para análise dos polimorfismos genéticos será encaminhado ao Laboratório de Histocompatibilidade (HLA) da UERJ para extração do DNA e posteriormente encaminhado aos centros de referência para análise específica. As amostras de DNA serão armazenadas no laboratório de HLA da UERJ para análise de futuros marcadores genéticos de risco de complicações da doença.

Toda nova pesquisa a ser feita com o material armazenado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da instituição e, quando for o caso, da CONEP.

Os exames cardiológicos serão o eletrocardiograma de repouso (ECG) e a avaliação do sistema nervoso autonômico cardíaco. Este exame dura cerca de 20 minutos e é indolor. É semelhante a um ECG, com a diferença de que em um momento do exame será necessário que você faça algumas manobras: respirar profundamente, assoprar contra uma válvula e levantar-se.

#### **CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS COLETADOS:**

Todas as informações coletadas serão mantidas em caráter sigiloso e utilizadas apenas para fins científicos.

#### **PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO:**

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária.

Se o Sr. (a) aceitou inicialmente em participar do estudo e depois decidiu sair por qualquer razão, você não terá nenhum prejuízo em seu atendimento dentro deste hospital.

Seus sucessores ou a quem de direito terá direitos sobre o material biológico armazenado em caso de óbito ou condição incapacitante do participante.

O (a) Sr. (a) ou seu representante legal poderá retirar o consentimento de guarda da amostra biológica humana armazenada no biobanco a qualquer tempo, com validade a partir da data da decisão tomada, devendo manifestar sua decisão através de documento devidamente assinado.

**CUSTOS:**

Não haverá nenhum custo ou remuneração para você participar do estudo.

**RISCOS E BENEFÍCIOS:**

**RISCOS:** Sua participação neste estudo não vai prejudicar e nem causar nenhum dano ao Sr. (a).

**BENEFÍCIOS:** Não haverá nenhum benefício direto se o Sr. (a) participar deste estudo, porém a pesquisa produzirá resultados que poderão ajudar outros pacientes no futuro.

**CONTATO:**

Se o (a) Sr. (a) tiver dúvida ou necessitar de esclarecimentos sobre a pesquisa, por favor, entre em contato com o Dr. João Soares Felício nos telefones 55 (91) 3201-6760.

Para obter informações adicionais sobre seus direitos como sujeito de pesquisa referente à sua participação neste estudo, por favor, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto, email: [ufpapesquisaclinica@yahoo.com.br](mailto:ufpapesquisaclinica@yahoo.com.br).  
Telefone: 55 (91) 3201-6760

**CONSENTIMENTO:**

Confirmo que, após receber as informações referentes aos objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que o estudo possa acarretar, ler e entender o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tirar todas as minhas dúvidas, concordo em participar voluntariamente do estudo.

**PACIENTE/REPRESENTANTE LEGAL**

|               |
|---------------|
| Nome completo |
| Assinatura    |
| Data:         |

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL ou PESSOA AUTORIZADA:**

|                |
|----------------|
| Nome completo: |
| Assinatura     |
| Data:          |

## APÊNDICE B – APROVAÇÃO DO ESTUDO MULTICÊNTRICO ORIGINAL



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS - CEP

### TERMO DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário João de Barros Barreto da Universidade Federal do Pará analisou o projeto de pesquisa intitulado **“Estratégias de rastreamento e diagnóstico da retinopatia e neuropatia diabética e identificação de biomarcadores de complicações crônicas em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 associado a análise econômica do tratamento”**, protocolo nº. **2158/11** sob a responsabilidade das colaboradoras Flávia Marques Santos, Ana Regina Motta e Carlliane Lima e Lins Pinto Martins, orientação do *Prof. Dr. João Soares Felício*, obtendo **APROVAÇÃO** na reunião do dia 27.09.2011, por estar de acordo com a Resolução nº196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde do Brasil.

Recomendamos a coordenação que mantenha atualizados todos os documentos pertinentes ao projeto.

Deverá ser encaminhado relatório semestral e, ao final, elaborado um relatório consolidado, incluindo os resultados finais da pesquisa, em prazo máximo de 60 (sessenta) dias, após a finalização da pesquisa.

*Prazo para envio de relatório parcial: setembro/2012.*

*Prazo para envio de relatório final: junho/13.*

Situação: **Aprovado**.

Belém, 27 de Setembro de 2011.

Dr. João Soares Felício  
Coord. do Comitê de Ética  
em Pesquisa / HUJBB  
CRM: 4409

Prof. Dr. João Soares Felício

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos / HUJBB/UFPA

Hospital Universitário João de Barros Barreto – Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/HUJBB/UFPA  
Rua dos Mundurucus, 4487 - Guamá CEP. 66.073-000 Belém / Pará - Brasil Fone/Fax: (91)3201 6754/ PABX:  
(91)3201 6600 Ramal: 6754 E-mail: [cephujbb@yahoo.com.br](mailto:cephujbb@yahoo.com.br) Blogger: [www.cephujbb.blogspot.com.br](http://www.cephujbb.blogspot.com.br)

*12/09/11 An. e assinatura*

## APÊNDICE C – APROVAÇÃO DA EMENDA 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto vem **APROVAR** e vem declarar que o **Dr. João Soares Felício** como membro efetivo deste comitê, não participou da Aprovação do seguinte documento:

- Emenda 01/01 do projeto: Estratégias de rastreamento e diagnóstico da retinopatia e neuropatia diabética e identificação de biomarcadores de complicações crônicas em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) associado à análise econômica do tratamento, para inclusão de grupo controle ao projeto inicial para comparação com o grupo de pacientes portadores de DM1;
- TCLE (versão 1.1)

Atenciosamente,  
Franciane T. Cunha de Melo  
Clínica Médica e Endocrinologia  
CRM 6595

---

Dra. Franciane Melo  
Comitê de Ética em Pesquisa  
Hospital Universitário João de Barros Barreto