



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

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ALTAS DOSES DE
VITAMINA D SOBRE A NEUROPATIA AUTONÔMICA
CARDIOVASCULAR EM PACIENTES COM DIABETES
MELLITUS TIPO 1**

Lilian de Souza d'Albuquerque Silva

BELÉM – PA
2019



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

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ALTAS DOSES DE VITAMINA D
SOBRE A NEUROPATIA AUTONÔMICA CARDIOVASCULAR EM
PACIENTES COM DIABETES *MELLITUS* TIPO 1**

Lilian de Souza d'Albuquerque Silva

Trabalho de dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas do Núcleo de Pesquisas em Oncologia da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do grau de Mestre em Oncologia e Ciências Médicas.

Orientador 1: Prof. Dr. João Soares Felício.

Orientador 2: Prof^ª. Dr^ª. Elizabeth Sumi Yamada

BELÉM – PA
2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela presença constante na minha vida e por me mostrar que no final tudo vale a pena.

Ao meu esposo Alex e minha filha Isabela por compreenderem minha ausência em muitos momentos do nosso convívio familiar e pelo apoio incondicional às minhas decisões.

Aos meus pais, irmãs, cunhados e sobrinhos pela família especial que nós formamos.

Ao Dr João Felício pela orientação e incentivo constante para me tornar uma profissional sempre melhor.

A toda equipe deste trabalho: as médicas Dra Karem, Ana Carolina, Franciane e Natércia. Os alunos: Sávio, Bruna, Scarlett, Djanês, Manuela, Luisa e Norberto. Este trabalho jamais seria possível sem o esforço de cada um de vocês!

Aos nossos pacientes que nos emprestam suas próprias histórias em favor de um benefício maior: a ciência.

“A verdadeira coragem é ir atrás do seu sonho mesmo quando todos dizem que ele é impossível”

Cora Coralina.

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES E FONTES FINANCIADORAS

Hospital Universitário João de Barros Barreto

Núcleo de Pesquisa em Oncologia e Ciências Médicas

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Classificação do Diabetes <i>mellitus</i> segundo ADA	14
Figura 2: Classificação do Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1	15
Figura 3: Metabolismo da vitamina D	18
Figura 4: Ritmograma	33
Figura 5: Espectrograma	33
Figura 6: Teste respiratório	33
Figura 7: Teste de Valsalva	34
Figura 8: Teste ortostático	34
Figura 9: TP antes e depois da suplementação de vitamina D em pacientes DM1 com NAC	40
Figura 10: Parâmetros de variabilidade da FC em repouso antes e após suplementação de VD	40
Figura 11: Intervalo RR em milissegundos (ms) antes e depois da suplementação com vitamina D em pacientes com DM1 com NAC	41
Figura 12: Número de parâmetros anormais da variabilidade da FC em repouso (VLF, LF, HF) no total de pacientes antes e após a suplementação de vitamina D	42
Figura 13: Número de coeficientes anormais dos testes para NAC no total de pacientes antes e após suplementação de vitamina D	42
Figura 14: Correlação entre a variação do nível de vitamina D sérica e HF (%) final	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características clínicas dos pacientes com DM1 e NAC	38
Tabela 2: Características clínicas e laboratoriais de pacientes com DM1 e NAC antes e após da suplementação de vitamina D	39
Tabela 3: Parâmetros da NAC antes e depois da suplementação com vitamina D em pacientes com DM1	39

LISTA DE ABREVIATURAS

1,25(OH) ₂ D ₃	1,25 dihidroxivitamina D ₃
25(OH)D.....	25 hidroxivitamina D
ADA.....	Associação Americana de Diabetes (do inglês <i>American Diabetes Association</i>)
ANOVA.....	Análise de variância
CEP.....	Comitê de Ética em Pesquisa
DCCT.....	<i>Diabetes Control and Complications Trial</i>
DD	Decúbito dorsal
DM	Diabetes <i>Mellitus</i>
DM1	Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo 1
DM2.....	Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo 2
DNA.....	Ácido desoxirribonucleico (do inglês <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DRD.....	Doença renal do diabetes
DVP	Doença vascular periférica
ECG.....	Eletrocardiograma
FC	Frequência cardíaca
GWAS	<i>Genome-wide association study</i>
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HbA _{1c}	Hemoglobina glicada
HF.....	Frequência alta (do inglês <i>high frequency</i>)
HO	Hipotensão ortostática
HPLC.....	Cromatografia líquida de alta performance (do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
HUJBB.....	Hospital Universitário João de Barros Barreto
Hz.....	<i>Hertz</i>
IMC.....	Índice de Massa Corpórea
IRs.....	Receptor de insulina (Do inglês <i>insulin receptors</i>)
LF.....	Frequências baixas (do inglês <i>low frequencies</i>)
MAPA.....	Monitorização ambulatorial da pressão arterial
NAC.....	Neuropatia autonômica cardiovascular
NAD.....	Neuropatia autonômica diabética

NPH *Neutral Protamine Hagedorn*
PA Pressão arterial
PCR..... Proteína C reativa
PTH..... Paratormônio
RCV Risco cardiovascular
SBEM Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
SNA Sistema Nervoso Autônomo
SPSS *Statistical Package for Social Sciences*
SRAA..... Sistema renina angiotensina aldosterona
TA..... Termo de Assentimento
TCLE Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFG..... Taxa de filtração glomerular
UFPA Universidade Federal do Pará
UI..... Unidades internacionais
VD Vitamina D
VDR..... receptor da vitamina D (do inglês *vitamin D receptor*)
VFC Variabilidade da Frequência Cardíaca
VLF..... Frequência muito baixa (do inglês *very low frequency*)

RESUMO

A neuropatia autonômica cardiovascular (NAC), associada ao diabetes *mellitus* (DM), apesar de ser uma condição subclínica, é um importante fator de morbimortalidade nesses pacientes. No diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1) a NAC é tão alarmante que deve ser rastreada após os cinco primeiros anos de doença, entretanto, poucas medidas terapêuticas são recomendadas nas diretrizes internacionais sobre o assunto. Alguns autores têm avaliado o uso de drogas que possam interferir na história natural da doença e, por conseguinte melhorar a evolução do paciente e reduzir a mortalidade relacionada a esta complicação. A vitamina D aparece como um recurso promissor e de baixo custo. O objetivo de nosso estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de altas doses de vitamina D (VD) sobre a NAC em pacientes com DM1. Realizamos um estudo prospectivo, intervencionista, no qual 17 pacientes com diagnóstico de DM1 e NAC foram incluídos. Pacientes com níveis de VD inferiores a 30 ng/mL receberam 10.000 UI/ dia, e quando de 30 a 60 ng/mL, utilizaram 4.000 UI/dia. Dosagem sérica de VD e testes de NAC foram realizados antes e após 12 semanas de tratamento. Houve melhora dos parâmetros relacionados à variabilidade da frequência cardíaca (FC) de repouso, quais sejam: LF (1.9 ± 0.4 vs 2.2 ± 0.7 seg; $p=0.05$), TP (2.5 ± 0.3 vs 2.7 ± 0.5 seg; $p<0.05$), RRmax (0.8 ± 0.09 vs 0.9 ± 0.23 seg; $p<0.05$), RRNN (0.72 ± 0.09 vs 0.76 ± 0.09 seg; $p<0.05$) e SDNN ($0,015 \pm 0,005$ vs $0,026 \pm 0,018$ seg; $p<0.05$). Adicionalmente, foi demonstrado que a variação do nível sérico de VD correlacionou-se tanto com o HF (%) final (pós-tratamento) quanto com a relação LF/HF ($r=0,57$; $p<0,05$). Nosso estudo piloto é o primeiro a sugerir uma forte associação entre a suplementação com altas doses de vitamina D e a melhora da neuropatia autonômica cardiovascular em pacientes DM1. Isso ocorreu sem que houvesse variação na HbA1C, níveis pressóricos, lípidos e doses de insulina utilizadas.

Palavras-chave: Diabetes *Mellitus* tipo 1; Neuropatia Autonômica Cardiovascular; Vitamina D

ABSTRACT

Cardiovascular autonomic neuropathy (CAN), associated with diabetes *mellitus* (DM), despite being a subclinical condition, is an important morbidity and mortality factor in these patients. In type 1 diabetes *mellitus* (DM1) CAN is so alarming that it must be screened after the first 5 years of illness. Few therapeutic measures are recommended in international guidelines on the subject. Some authors have been studying drugs that can modified natural history of disease and then improve outcomes. Vitamin D seems promising resource and low cost. The aim of our study was to evaluate the effects of high-dose vitamin D (DV) supplementation on CAN in patients with DM1. We performed a prospective, interventional study in which 17 patients diagnosed with DM1 and CAN were included. Patients with VD levels below 30 ng / mL received 10,000 IU / day, and when 30-60 ng / mL, they used 4,000 IU / day. Serum VD dosage and CAN tests were performed before and after 12 weeks of treatment. There was an improvement in the parameters related to resting heart rate (HR) variability, which were: LF (1.9 ± 0.4 vs 2.2 ± 0.7 sec, $p = 0.05$), TP (2.5 ± 0.3 vs 2.7 ± 0.5 sec, $p < 0.05$), RRmax (0.8 ± 0.09 vs 0.9 ± 0.23 sec, $p < 0.05$), RRNN (0.72 ± 0.09 vs 0.76 ± 0.09 sec, $p < 0.05$) and SDNN (0.015 ± 0.005 vs 0.026 ± 0.018 sec; $p < 0.05$). In addition, it was demonstrated that the variation of the RV level correlated with both the final HF (after treatment) and the LF / HF ratio ($r = 0.57$, $p < 0.05$). Our pilot study is the first to suggest a strong association between high-dose vitamin D supplementation and improved cardiovascular autonomic neuropathy in DM1 patients. This occurred without any variation in HbA1C, blood pressure levels, lipids and insulin doses used

Keywords: Diabetes *Mellitus* type 1 - Autonomic Cardiovascular Neuropathy - Vitamin D

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Diabetes <i>mellitus</i>	13
2.2 Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1	14
2.3 Vitamina D	16
2.4 Relação entre vitamina D e diabetes <i>mellitus</i> tipo 1	18
2.5 Neuropatia diabética	20
2.6 Vitamina D e neuropatia autonômica cardiovascular	23
3. JUSTIFICATIVA	26
4. OBJETIVOS	27
4.1 Objetivos geral	27
4.2 Objetivos específicos	27
5. MÉTODO	28
5.1 Desenho do estudo: ensaio clínico	28
5.1.1 Descrição	28
5.1.2 Pacientes	28
5.1.3 Critérios de inclusão	29
5.1.4 Critérios de exclusão	30
5.1.5 Coleta de dados	30
5.1.5.1 Visita 1 (Triagem)	31
5.1.5.2 Visita 2	35
5.1.5.3 Visita 3	35
5.1.5.4 Visita 4 (Encerramento)	36
5.1.6 Biorrepositório	36
5.2 Análise estatística	36
6. RESULTADOS	38
7. DISCUSSÃO	44
8. CONCLUSÃO	48
9. APLICABILIDADE CLÍNICA	49
10. REFERÊNCIAS	50
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	57
APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMENTO	63
APÊNDICE C – VISITA 1 (TRIAGEM)	70
APÊNDICE D – VISITA 2	76
APÊNDICE E – VISITA 3	79
APÊNDICE F – VISITA 4 (FINAL)	82
ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEP	83
ANEXO B – APROVAÇÃO DA EMENDA	84

1. INTRODUÇÃO

A neuropatia representa uma das complicações mais frequentemente encontradas no diabetes, podendo eventualmente ser diagnosticada já nas fases iniciais da doença. Está associada a uma elevada morbimortalidade nestes pacientes, sendo considerada a principal causa de amputações, contribuindo para a promoção de uma baixa qualidade de vida dos pacientes com diabetes *mellitus* (DM) (CALLAGHAN et al., 2012).

Entre os diversos tipos de neuropatia associadas ao DM, a forma autonômica cardiovascular (NAC) apresenta-se na grande maioria das vezes como uma condição subclínica e por isso pouco diagnosticada, mas relacionada de forma independente com aumento significativo da mortalidade nos pacientes com DM. Essa condição é caracterizada por uma desnervação autonômica do sistema cardiovascular, levando a alterações hemodinâmicas e se relacionando a eventos macrovasculares fatais e não fatais (DIMITROPOULOS, 2014). Recomenda-se o rastreamento anual desta complicação a partir do diagnóstico no diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) e após os 5 primeiros anos da doença no caso do diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1). O *screening* da NAC vem sendo realizado utilizando-se análises da variabilidade da frequência cardíaca durante o repouso e durante testes descritos por Ewing, Campbell e Clarke (1980), além de pesquisa de hipotensão ortostática (CICCACCI et al., 2013; SPALLONE et al., 2011a; SPALLONE et al., 2011b). Recentemente, análise computadorizada de diversos parâmetros da variabilidade na frequência cardíaca tem mostrado boa sensibilidade e especificidade (ROLIM, DE SOUZA, e DIB, 2013).

Apesar das recomendações sobre o diagnóstico da NAC, poucos são os recursos terapêuticos desta condição atualmente. Assim, estudos como os de Johnson et al. (2004), Manzella et al. (2001) e Ziegler et al. (1997) têm avaliado o uso de drogas que possam interferir na história natural e, por conseguinte, melhorar a evolução do paciente e reduzir a mortalidade relacionada a esta complicação.

A vitamina D (VD) aparece como um recurso promissor e de baixo custo para o tratamento da neuropatia. Porém os dados da literatura, até o momento, se baseiam em estudos com modelos experimentais e observacionais correlacionando a hipovitaminose D com a presença e a gravidade da NAC (HANSEN ET AL., 2016; JUNG ET AL., 2015; MASER, LENHARD e POHLIG, 2014). Desta forma, é importante que ensaios clínicos longitudinais sejam feitos para que se observe de forma objetiva o comportamento dos parâmetros da NAC em pacientes diabéticos após a suplementação de VD (DA SILVA et al., 2015).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Diabetes *mellitus*

O DM representa um grupo de doenças metabólicas, com etiologias diversas, caracterizado por hiperglicemia crônica com alterações no metabolismo dos hidratos de carbono, lipídios e proteínas resultantes de uma secreção deficiente de insulina pelas células beta (β), resistência periférica à ação da insulina ou ambas. Os dois principais tipos são DM2, que responde por 85 a 90 % dos casos, e o DM1 que corresponde a 5 a 10 %. A hiperglicemia crônica do diabetes frequentemente está associada a dano, disfunção e insuficiência de vários órgãos, principalmente olhos, rins, coração e vasos sanguíneos (ADA, 2018).

A classificação atual do DM foi proposta pela ADA (do inglês *American Diabetes Association*) em 1997, e se baseia na etiologia da doença e não na forma de tratamento (EASTMAN e VINICOR, 1997). O DM2 surge habitualmente após os 40 anos de idade e a maioria dos pacientes (cerca de 80 %) é obesa. Contudo, pode acometer adultos mais jovens, até mesmo crianças e adolescentes. Aproximadamente 70 a 90 % dos pacientes com DM2 têm síndrome metabólica, caracterizada por um aglomerado de fatores que implicam risco cardiovascular elevado (dislipidemia, obesidade abdominal, resistência insulínica, tolerância alterada à glicose ou diabetes e hipertensão) (LAAKSONEN *et al.*, 2004).

TIPOS
Diabetes tipo 1: destruição das células beta pancreáticas → deficiência absoluta de insulina
Diabetes tipo 2: perda progressiva da secreção de insulina pelas células beta, num ambiente de resistência insulínica
Diabetes gestacional: diagnosticado no segundo ou terceiro trimestre gestacional, não se podendo confirmar diagnóstico de diabetes prévio.
Tipos específicos de diabetes relacionados a outras causas: síndromes monogênicas (diabetes neonatal, MODY), doenças do pâncreas exócrino (fibrose cística, pancreatite), relacionada a drogas (glicocorticoides)

Figura 1: Classificação do Diabete *mellitus* (ADA, 2018)

2.2 Diabetes Mellitus tipo 1

O DM1 compromete atualmente cerca de 10 a 20 milhões de indivíduos no mundo. É uma doença crônica e autoimune na maioria dos casos, caracterizada pela destruição seletiva das células beta pancreáticas, resultando numa perda progressiva da secreção de insulina. É considerado a doença crônica mais comum da infância e adolescência pois, em 40 % dos casos, é diagnosticada antes dos 20 anos de idade. Os outros 60 % surgem durante a vida adulta, onde o início é frequentemente menos dramático e pode ser confundido com o DM2 magro (KATSAROU *et al.*, 2017). A presença dos haplótipos DR3 e DR4 do sistema humano de histocompatibilidade (HLA) determina susceptibilidade de aproximadamente 50% para o surgimento desta enfermidade. Polimorfismos de genes como *INS-VNTR*, *PTPN22*, *SUMO4*, *NEUROD1* e *VDR* parecem estar envolvidos na etiologia de formas mais raras. As alterações genéticas conseguem se associar até no máximo 65 a 70 % dos casos de DM1 e não explicam o aumento da incidência desta doença nas últimas década (DIB, 2008).

Tipos	Características
DM1A (auto-imune)	Sistema antígeno leucocitário humano (HLA) DR3 / DR4 / DQ Gene INS-VNTR (locus IDDM2) Gene CTLA-4 (locus IDDM12) Gene PTPn22 Gene SUMO4 (locus IDDM5) Gene NEUROD1 (loci IDDM7, IDDM12 e IDDM13) Gene VDR
DM1B (idiopático)	Mesmas características clínicas do DM1A (peptídeo C baixo), porém com ausência de auto-anticorpos
Diabetes fulminante	Ocorrência de cetose rapidamente após sintomas, evolução rápida e necessidade de insulina permanente. Ocorre principalmente na idade adulta após sintomas gripais. Ausência de auto-anticorpos
Diabetes Duplo	Crianças ou adolescente obesos e/ou sinais resistência insulínica + presença auto-anticorpos

Figura 2: Classificação do Diabetes *mellitus* tipo 1 (DIB, 2008)

Dados da *International Diabetes Federation* (IDF) de 2015 demonstram que a incidência global de DM1 vem aumentando, com cerca de 86.000 crianças sendo diagnosticadas anualmente, o que representa um aumento de 3%. O diagnóstico é realizado principalmente na faixa etária entre 10 - 14 anos, porém estudo multicêntrico europeu revelou um acréscimo substancial da incidência na população menor de 5 anos, com uma estimativa de duplicação do número de casos novos entre 2005 e 2020 (KATSAROU *et al.*, 2017).

Existem poucos dados na literatura sobre as medidas de frequência desta doença no Brasil. Estudo de incidência de DM1 entre a população de até 14 anos da cidade de Bauru (São Paulo) entre 1986 e 2006, demonstrou média anual de 10,4 casos/100.000 habitantes, havendo predomínio da ancestralidade européia, classe sócio-econômica baixa ou média e faixa etária de 5 a 9 anos (NEGRATO *et al.*, 2010). Em trabalho publicado em 2012, Gomes *et al* compararam as características sócio-demográficas e clínicas de pacientes com DM1 das diferentes regiões brasileiras e observaram que, em contraste com as demais localidades, os diabéticos tipo 1 do norte/nordeste apresentam predominantemente origem não-caucasiana (65,6%). Adicionalmente observou-se que este grupo, apesar de apresentar parâmetros de controle glicêmico semelhantes à média nacional, difere daqueles das demais regiões no que tange o status econômico (baixo ou muito baixo), menor acesso à assistência médica no nível terciário de atenção à saúde e menor IMC. (GOMES *et al.*, 2012).

Estudos populacionais mostram que o diabetes *mellitus* tipo 1 ocorre na maioria dos grupos étnicos, sendo que este risco é mais elevado nas populações de ascendência européia. Entretanto, mesmo nestas populações existe uma elevada variabilidade. A explicação para essas diferenças pode estar relacionada a variantes gênicas, aos distintos mecanismos de regulação gênicos e à exposição aos diversos fatores ambientais, como por exemplo sazonalidade (provavelmente associada a infecções virais da infância), aleitamento materno no primeiro ano de vida e deficiências nutricionais específicas, como a hipovitaminose D (KATSAROU *et al.*, 2017).

Todos estes fatores afetam diretamente a competência imunológica de indivíduos geneticamente susceptíveis, resultando em destruição autoimune progressiva das células beta pancreáticas. Quando se alcança 90 % de perda destas células, o DM1 torna-se clinicamente manifesto (KATSAROU *et al.*, 2017). Ao se estudar especialmente a vitamina D, sabe-se que sua carência leva a uma autorreatividade das células T, e que isto afeta diretamente a maturação e função das células dendríticas. A atividade aumentada destas células representa um ponto crítico na auto-tolerância imunológica (ANTICO *et al.*, 2012).

2.3 Vitamina D

Inúmeras publicações têm se dedicado a descrever a relação da VD em diversos processos metabólicos. A atuação desta vitamina já se demonstrada em inúmeras etapas da atividade celular, como: diferenciação e proliferação, secreção de hormônios (por exemplo: insulina), ação no sistema imune e em diversas doenças crônicas não transmissíveis (SCHUCH, GARCIA e MARTINI, 2009).

O metabolismo da VD inicia-se na pele pela atuação dos raios solares, os quais têm a capacidade de sintetizar a pré-vitamina D₃ a partir de um éster de colesterol. Para se tornar um hormônio ativo este precursor deve passar por duas hidroxilações, sendo a primeira em seu carbono 25 no fígado (pela ação da enzima CYP27A1) e a segunda no carbono 1 nos rins (enzima CYP27B1). O metabólito com ação biológica 1,25 dihidroxivitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃) é também conhecido como calcitriol (SCHUCH, GARCIA e MARTINI, 2009).

Apesar de representar o hormônio com atividade biológica propriamente dita, sua mensuração sérica não se presta a avaliar sua reserva ou atividade no organismo humano. Para este fim deve-se utilizar a dosagem sérica da molécula intermediária monohidroxilada 25-hidroxivitamina D (25(OH)D), que é muito mais estável biologicamente e apresenta concentração sanguínea aproximadamente 100 vezes maior que a 1,25(OH)₂D₃ (SCHUCH, GARCIA e MARTINI, 2009). **Figura 3**

O calcitriol exerce sua ação na célula através da ligação ao receptor nuclear de VD (VDR, do inglês *vitamin D receptor*), que compõe uma superfamília de fatores de transcrição. Atua principalmente na transcrição gênica, tanto de forma estimuladora quanto inibidora. Sabe-se que vários genes humanos possuem uma sequência específica denominada elemento responsivo à VD, contudo não se conhece exatamente a influência do nível sérico da 25(OH)D em sua expressão fenotípica. Há evidências de que 3 % do genoma humano seja regulado pela 1,25(OH)₂D₃ (HOSSEIN-NEZHAD e HOLICK, 2013). **Figura 3**

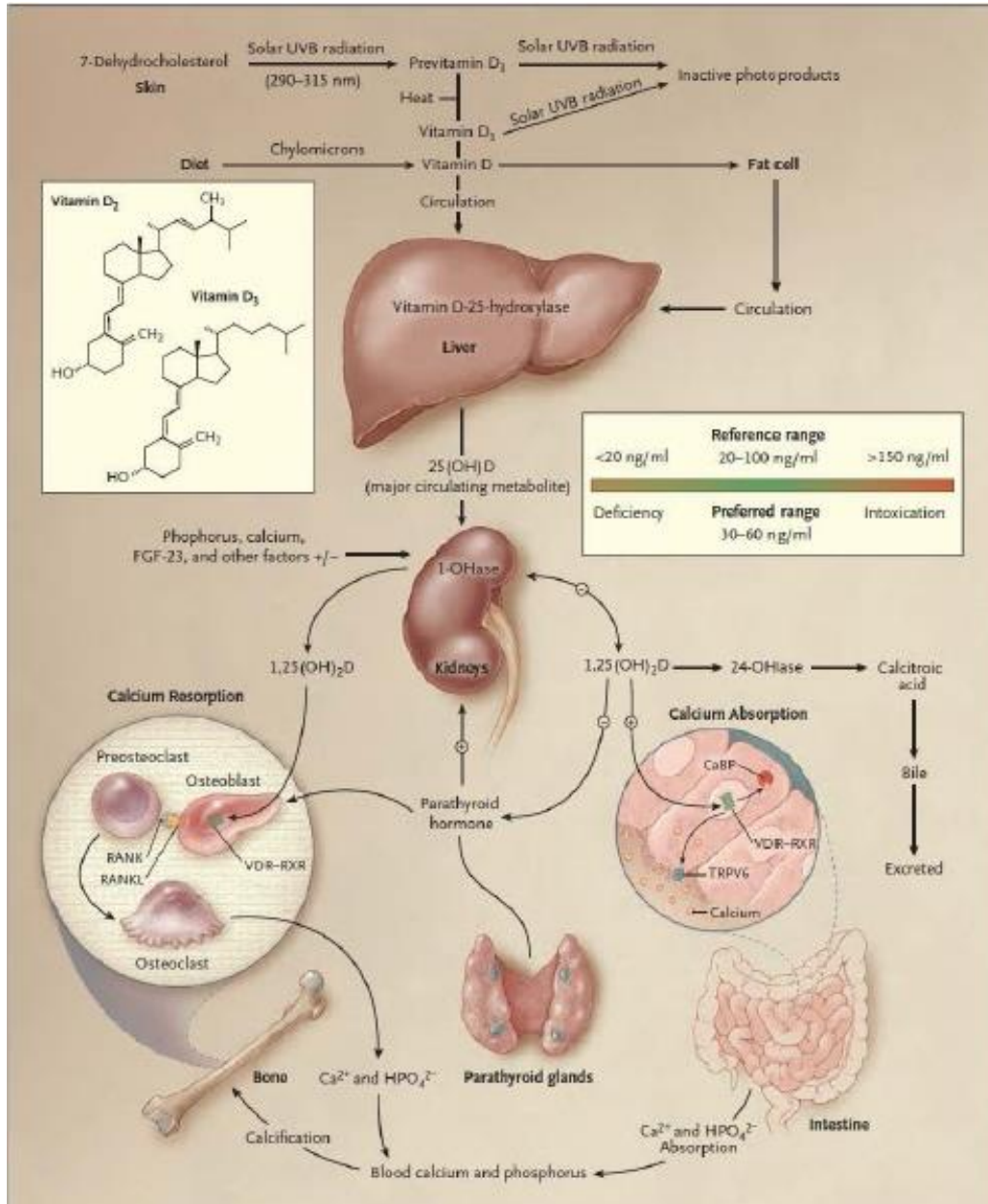


Figura 3: Metabolismo da vitamina D (Fonte: Holick, 2007)

O calcitriol atua classicamente na homeostasia do cálcio e fósforo no organismo humano, aumentando a absorção intestinal destes elementos, promovendo a mineralização óssea e inibindo a secreção do paratormônio (PTH). No entanto, sabe-se que as células de diversos tecidos humanos, como cérebro, ilhotas pancreáticas, osso, musculatura esquelética, rim, intestino, pele, paratireóide, hipófise, mama, linfócitos e monócitos exibem os VDRs em sua superfície nuclear, e que estes estão relacionados à modulação de 200 a 2000 genes, incluindo ação reguladora da resposta imune e apoptose. Tem-se demonstrado que a VD

desempenha também um papel em situações clínicas como câncer, doenças autoimunes, infecciosas e cardiovasculares (HOSSEIN-NEZHAD e HOLICK, 2013).

2.4 Relação entre vitamina D e o Diabetes *Mellitus* tipo 1

Há evidências de que o calcitriol atue como um supressor da proliferação de linfócitos B e T, em mecanismos que são importantes para impedir reações autoimunes (BIKLE, 2009). Níveis suficientes de VD seriam, portanto, fundamentais para impedir o desenvolvimento dessas reações. Em consonância com esta hipótese, vários estudos observacionais mostraram um aumento na prevalência de DM1 em latitudes nórdicas onde a exposição solar é reduzida, predizendo baixos níveis de 25(OH)D e de seus metabólitos (KRIEGEL, MANSON e COSTENBADER, 2012). Adicionalmente a esta observação, estudos têm mostrado que a suplementação de VD (dada para prevenção de raquitismo) tem efeitos protetores quanto ao risco de desenvolver DM1 (DAHLQUIST *et al.*, 1999; HYPPÖNEN *et al.*, 2001).

O resultado de meta-análise de estudo observacional realizado por Antico *et al.*, (2012) sugere que o risco de DM1 é reduzido em 29 % naqueles que foram suplementados com VD na infância, quando comparados com aqueles que não foram. Adicionalmente, o estudo mostra algumas evidências do efeito dose-resposta (maior suplementação resulta em melhor proteção) e do tempo de suplementação, predizendo uma resposta mais favorável quando administrada entre o sétimo e o 12º mês de vida, período crítico a maturação do sistema imune. Além disso, existem dados na literatura que demonstram que mesmo após a instalação do quadro clínico do DM1, a suplementação de VD em pacientes com deficiência proporciona melhora no controle glicêmico, com hemoglobina glicada significativamente menor, quando os níveis da vitamina alcançam valores maiores que 75 nmol/L (30ng/mL) em 12 semanas (ALJABRI, BOKHARI, e KHAN, 2010).

Dentre outros mecanismos de ação da VD, estuda-se a provável associação entre seus baixos níveis e maior resistência à insulina e que a reposição de VD possa melhorar o controle glicêmico e a sensibilidade insulínica de pacientes com DM1, DM2 e indivíduos normais (CHIU *et al.*, 2004; SCHWALFENBERG, 2011).

Do ponto de vista dos mecanismos celular e molecular, ainda não está claro como a suplementação de VD resultaria em melhoria na sensibilidade à insulina. O aumento da expressão de receptores de insulina (IR, do inglês *insulin receptors*) e transportadores de glicose após terapia com calcitriol foi demonstrado por alguns estudos experimentais em ratos

portadores de diabetes induzido por estreptozotocina (CALLE, MAESTRO e GARCÍA-ARENCIBIA, 2008; KUMAR *et al.*, 2011). Em cultura de células humanas precursoras de monócitos, o calcitriol foi capaz de induzir o aumento da expressão de IR. Todas essas ações são atribuídas à ativação de VDRs genômicos (CALLE, MAESTRO e GARCÍA-ARENCIBIA, 2008).

Outro estudo experimental mostrou que o calcitriol reduz a resistência à insulina, sendo que a melhora na captação de glicose foi verificada através de alterações em mediadores da cascata de sinalização intracelular da insulina (ZHOU *et al.*, 2008). Já em um estudo piloto de Felício *et al.* (2018), demonstrou-se que a suplementação de VD foi capaz de melhorar a variabilidade glicêmica e reduzir a dose diária de insulina em pacientes com DM1 (FELÍCIO *et al.*, 2018).

A deficiência de VD em pacientes com DM1 varia entre 15 a 90,6 %, dependendo da amostra analisada. De acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) (MAEDA *et al.*, 2014) e da *Endocrine Society* (HOLICK *et al.*, 2011), considera-se valor insuficiente de VD quando os seus níveis estão entre 20 e 29 ng/mL (50–72,5 nmol/L) e deficiente quando este valor se encontra inferior a 20 ng/mL (50 nmol/L). Entretanto este ainda é um tema controverso e outros grupos de pesquisadores, como do *Institute of Medicine* (ROSS *et al.*, 2011) advogam o limite da normalidade como 20 ng/mL, visto que este valor corresponde ao percentil 97,5 da população saudável. Recentemente, Manson *et al.* (2016) sugeriram que a maioria dos indivíduos saudáveis têm níveis de 25OHD entre 10 e 20 ng/mL. Os trabalhos que demonstraram associação de hipovitaminose D com doenças extra esqueléticas carecem de consistência metodológica, e, portanto, seus resultados até o momento não podem ser extrapolados para a população (HOLICK *et al.*, 2011; MAEDA *et al.*, 2014; MANSON *et al.*, 2016; ROSS *et al.*, 2011).

O fator genético parece desempenhar um papel importante tanto no nível sérico de VD quanto ao risco de desenvolvimento de doenças relacionadas contemporaneamente à sua carência. Polimorfismo FokI e BsmI do gene VDR já foram estudados como marcadores de suscetibilidade genética ao desenvolvimento de DM1. Os resultados não são completamente compreendidos, mas sugerem uma relação heterogênea: a presença do FokI parece melhorar a secreção de insulina, enquanto o BsmI reduz a produção deste hormônio nos pacientes DM1 (SILVA; MORY e DAVINI, 2008). Os estudos *Genome-wide association study* (GWAS) reportaram uma aumento de 49 % de risco de hipovitaminose D (usando ponto de corte <20 ng/mL) para indivíduos de ascendência européia portadores do alelo rs2282679 (relacionado a

proteína transportadora de VD) (HOSSEIN-NEZHAD & HOLICK, 2013; WANG *et al.*, 2010). Uma coorte relacionando desfechos compostos (fratura de quadril, infarto miocárdico, câncer e morte por qualquer causa) e hipovitaminose D em europeus demonstrou que o polimorfismo rs7968585 relacionado ao VDR foi associado aos eventos estudados (indivíduos com 1 alelo tinham *Odds Ratio* para risco de evento de 1,4, enquanto aqueles com 2 alelos apresentavam 1,82) (LEVIN *et al.*, 2012). Fatores epigenéticos relacionados à expressão dos genes *DHCR7*, *CYP2R1* e *CYP24A1* (todos envolvidos em etapas do metabolismo da VD) também foram associados ao nível sérico da 25(OH)D, sugerindo que indivíduos deficientes desta vitamina tem sua via metabólica prejudicada quer seja pela síntese reduzida e/ou pelo catabolismo aumentado (ZHU *et al.*, 2013).

2.5 Neuropatia diabética

O DM1 está associado a um aumento significativo do risco de complicações crônicas microvasculares (retinopatia diabética, doença renal do diabetes (DRD) e neuropatia diabética) e macrovasculares (cardiovasculares, doença cerebrovascular, insuficiência vascular periférica), evoluindo com elevada morbimortalidade em faixas etárias mais jovens, justificando o rastreamento precoce destas complicações para instituição de medidas de prevenção e terapêutica adequadas que possam alterar o curso natural da doença. A neuropatia sensitiva-motora e o acometimento cardiovascular são de relevante importância por serem hoje a principal causa de amputação e de mortalidade precoce neste grupo de pacientes, respectivamente (CRAIG, HATTERSLEY e DONAGHUE, 2009).

A neuropatia representa uma das complicações diabéticas mais frequentes, afetando cerca de 30 a 50 % dos pacientes, dependendo da metodologia diagnóstica empregada. Geralmente acomete indivíduos com longa duração da doença (superior a 10 anos), no entanto pode estar presente ao diagnóstico em pacientes com DM2 ou se manifestar precocemente, nos primeiros cinco anos de doença, em pacientes com DM1. As manifestações clínicas dependem do tipo de fibra nervosa predominantemente afetada, sendo a polineuropatia distal simétrica a forma mais frequente, presente em até 90 % dos casos, e caracterizada pelo dano aos neurônios sensitivos e motores periféricos. Outras formas incluem neuropatia por predominância de pequenas fibras, radiculoplexopatia e neuropatia autonômica (CALLAGHAN *et al.*, 2012).

Apesar de pouco diagnosticada a neuropatia autonômica diabética (NAD) pode comprometer significativamente a qualidade de vida e duplicar a mortalidade dos pacientes com essa complicação. Pode se manifestar como neuropatia isolada ou como parte de um envolvimento mais difuso. Apresenta-se clinicamente como gastroparesia, constipação e/ou diarreia, bexiga neurogênica, disfunção erétil, alterações na sudorese e NAC (CALLAGHAN *et al.*, 2012). Esta última condição pode estar presente desde o início do DM, mas é frequentemente subdiagnosticada. A prevalência varia de 2,6 a 90 % entre os diabéticos, dependendo dos critérios diagnósticos e aumenta com a idade, duração do diabetes e controle glicêmico inadequado (VINIK e ZIEGLER, 2007). Em geral, encontra-se associada à polineuropatia periférica (em até 62,5 % dos casos) assim como a outros fatores de risco cardiovascular (RCV), como hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia, DRD e retinopatia diabética (FOSS-FREITAS, MARQUES JUNIOR, e FOSS, 2008).

A patogênese da NAD é complexa e multifatorial. A hiperglicemia crônica e as alterações metabólicas associadas levam a um microambiente inflamatório com ativação de diversas vias que resultam em aumento de estresse oxidativo e nitrosativo, os quais induzem dano direto ao feixe nervoso e isquemia secundária à disfunção endotelial (Dimitropoulos, 2014). Lesão imunomediada por anticorpos contra os nervos simpáticos e parassimpáticos também são descritos, principalmente relacionado ao DM1 (GRANDBERG *et al.*, 2005). Adicionalmente, estudos tentam demonstrar a associação dessa complicação com determinados polimorfismos genéticos, porém os resultados até o momento são conflitantes e carecem de maior solidez para confirmação (CICCACCI *et al.*, 2012). Outro fator que emerge como possível colaborador da disfunção autonômica no DM é a presença de apneia obstrutiva do sono. Sabe-se que a prevalência destas duas condições é alta com o avançar do diabetes e que a relação entre ambas é bidirecional, visto que a hipóxia crônica pode incrementar o dano ao nervo periférico ao mesmo tempo que a presença da NAD é capaz de interferir no tônus das vias aéreas superiores piorando o drive respiratório (TAHRANI *et al.*, 2012).

A disfunção do sistema nervoso autonômico (SNA), o qual é responsável por modular a atividade do nó sinusal (frequência cardíaca), dos ventrículos (volumes sistólico e diastólico finais) e dos vasos sanguíneos (resistência vascular sistêmica), é a característica principal da NAC. O acometimento mais precoce se dá no nervo vago, o que leva a uma desnervação parassimpática e predomínio da estimulação simpática no sistema cardiovascular. Esta primeira fase costuma ser pouco sintomática passando despercebida pelo próprio paciente e seu médico assistente (DIMITROPOULOS, 2014).

Com a evolução desta complicação, há também o acometimento do sistema nervoso simpático, que representa a fase clínica e mais avançada da NAC. Em relação as manifestações clínicas já foram descritas taquicardia de repouso, intolerância à atividade física (consequente a bloqueio cronotrópico e inotrópico), regulação vasomotora coronariana anormal (com redução do limiar para isquemia), aumento do intervalo QT (com risco de arritmias e morte súbita), hipotensão postural, alteração de funções sistólica e diastólica (cardiomiopatia diabética), redução de resposta respiratória à hipóxia (aumentando o risco de complicações peri-operatórias), variação circadiana anormal simpato vagal (ausência de descenso noturno de pressão arterial sistólica), isquemia miocárdica silenciosa, além de rigidez arterial, condição reconhecida como preditora de risco e mortalidade cardiovascular em DM1 (DIMITROPOULOS, 2014).

A fase subclínica da NAC somente pode ser diagnosticada por meio de análise da frequência cardíaca (FC) por bandas espectrais e testes específicos formulados por Ewing, Campbell e Clarke (1980) no final da década de 70, os quais permanecem até hoje validados pelos mais importantes consensos internacionais sobre neuropatia autonômica (SPALLONE *et al.*, 2011). Estes testes levam em consideração a variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial durante o repouso e após manobras realizadas, como inspiração/expiração profundas, manobra de Valsalva e ortostase. Estes parâmetros cardiovasculares avaliados refletem especificamente a influência dos sistemas simpático e parassimpático na dinâmica cardiovascular e por isso são considerados fundamentais não apenas no diagnóstico, como também na graduação da NAC (DIMITROPOULOS, 2014).

Dois ensaios clínicos pivotantes para a diabetologia: o *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) e o STENO-2 estudaram a história natural desta complicação e concluíram que o controle glicêmico intensivo no DM1 e o tratamento dos múltiplos fatores de risco no DM2 são fundamentais para redução da incidência e da progressão da neuropatia nestes grupos de pacientes respectivamente (POP-BUSUI *et al.*, 2009; GAEDE *et al.*, 1999). Porém, até o momento, poucos recursos terapêuticos, além destes citados acima, têm demonstrado significância na redução da morbimortalidade destes pacientes (KUEHL e STEVENS, 2012).

Resultados promissores foram encontrados em ensaios clínicos conduzidos com drogas antioxidantes como o ácido alfalipóico e a vitamina E (ZIEGLER *et al.*, 1997; MANZELLA *et al.*, 2001;), porém estes achados não foram confirmados por Pop-Busui *et al.* (2013). Outros pesquisadores sustentam a hipótese fisiopatológica dos benefícios de análogos do peptídeo semelhante a glucagon 1 (GLP-1, do inglês *glucagon like peptide-1*) e de inibidores da

dipeptidil peptidase IV (DPP-IV) no tratamento tanto da neuropatia periférica, quanto da NAC, no entanto ainda hoje não há evidências estatísticas que confirmem essa suposição (ANAGNOSTIS *et al.*, 2011). Estudo com o uso de inibidor da aldose redutase conseguiu demonstrar melhora da função ventricular em pacientes diabéticos, porém sem alterar os parâmetros da NAC (JOHNSON *et al.*, 2004).

Devido à falta de agentes que efetivamente reduzam os desfechos e a progressão da NAC, a recomendação atual de tratamento desta condição baseia-se nas mudanças de estilo de vida, no controle glicêmico e dos fatores de risco cardiovasculares, além do manejo sintomático da hipotensão postural. Esta última condição, que representa um estado mais avançado de neuropatia, deve ser conduzida com adequada hidratação e manobras que facilitem o retorno venoso central, além do uso de drogas como midodrina, fludrocortisona, eritropoietina, desmopressina e análogos da somatostatina (SPALLONE *et al.*, 2011).

2.6 Vitamina D e Neuropatia diabética autonômica cardiovascular

O papel da VD na neuropatia diabética tem sido estudada por vários autores. Dentre estes, um importante levantamento epidemiológico americano realizado entre 2001 e 2004 demonstrou uma associação entre a hipovitaminose D e a ocorrência de sintomas neuropáticos periféricos nestes pacientes. Outros autores em estudos transversais têm observado correlação entre diversos parâmetros da neuropatia cardiovascular, especialmente os relacionados à modulação parassimpática e a 25(OH)D. É importante ressaltar que esta correlação nem sempre se dá de forma linear, apresentando-se também como curva em U invertido em alguns estudos, ou seja, com as maiores alterações dos testes de NAC relacionadas com níveis muito baixos ou muito aumentados de VD (HANSEN *et al.*, 2016; JUNG *et al.*, 2015; MASER *et al.*, 2014).

Em recente estudo de Da Silva *et al.* (DA SILVA *et al.*, 2015), correlacionou-se níveis séricos de 25(OH)D com NAC em pacientes com DM1. Foi observado neste estudo que os pacientes com NAC estabelecida apresentaram menores níveis séricos de 25(OH)D quando comparados àqueles que não apresentavam neuropatia. Ao avaliar a severidade da NAC (ausente, incipiente e estabelecida), foi encontrado menores níveis de 25(OH)D nos pacientes com NAC estabelecida quando comparados àqueles sem NAC.

As bases moleculares para esta associação podem estar no reconhecimento que a neuropatia diabética é multifatorial, mas que a via inflamatória exerce papel de grande importância no dano aos nervos periféricos e autonômicos e na observação de que a deficiência de VD associa-se a um aumento dos marcadores inflamatórios em pacientes diabéticos (incluindo proteína C reativa e expressão de receptores 2 e 4 toll-like e fator nuclear κ B) (AZAR, 2013). Além disso, já se demonstrou experimentalmente que baixos níveis de VD estão relacionados à redução de neurotrofina, e que após sua suplementação houve aumento deste fator de crescimento. Níveis reduzidos deste último estão relacionados a maior vulnerabilidade do feixe nervoso ao dano tóxico/metabólico (RIAZ *et al.*,1999).

Atualmente, a NAC duplica o risco de mortalidade em pacientes com DM1 e o seu tratamento permanece um desafio, existindo apenas alternativas terapêuticas paliativas que visam exclusivamente o controle dos sintomas. Portanto, a busca de novas terapias que possam atuar sobre a evolução da doença, representaria uma boa relação custo benefício. Recentemente, a VD tem sido associada a efeitos benéficos sobre a cascata inflamatória e no fator de crescimento neural (neurotrofina), tornando-se, por conseguinte, uma potencial opção para ser avaliada nos pacientes com NAC e DM1 (RIAZ *et al.*,1999).

3. JUSTIFICATIVA

A neuropatia diabética autonômica cardiovascular representa uma importante complicação do diabetes *mellitus*, implicando na perda de qualidade de vida e elevando a mortalidade do paciente portador desta complicação (DIMITROPOLOUS, 2014). Apesar das recomendações para o rastreamento precoce da NAC, esta ainda é uma condição subdiagnosticada pelos profissionais de saúde (SPALLONE *et al.*, 2011a; SPALLONE *et al.*, 2011b).

A escassez de recursos terapêuticos efetivos que alterem o curso e a mortalidade relacionada a esta complicação, representa um fator limitante ao *screening* dos pacientes (KUEHL e STEVENS, 2012). Vários autores têm se dedicado a estudar drogas que possam atuar positivamente no tratamento da NAC, porém nenhuma mostrou-se comprovadamente efetiva para este objetivo (MANZELLA *et al.*, 2001; JOHNSON *et al.*, 2004; ANAGNOSTIS *et al.*, 2011).

Dentre as substâncias pesquisadas, a VD parece percorrer um caminho promissor na constatação científica necessária para se firmar como uma opção de tratamento. A via fisiopatológica inflamatória da NAC representou o ponto de partida para as primeiras publicações relacionando-a a baixos níveis de VD (CHACKTOURA e AZAR, 2013). Em seguida surgiram estudos experimentais e observacionais que sugerem que esta associação pode de fato ser verdadeira (JUNG *et al.*, 2015; DA SILVA *et al.*, 2015; HANSEN *et al.*, 2016).

O estudo do impacto terapêutico da suplementação de VD na evolução da NAC perpassa necessariamente pela realização de ensaio clínico longitudinal em pacientes com diabetes *mellitus* tipo 1.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da suplementação de vitamina D na Neuropatia Autonômica Cardiovascular em pacientes com DM1.

4.2 Objetivos Específicos

- Avaliar as características clínicas e laboratoriais dos pacientes diabéticos tipo 1 com Neuropatia Autonômica Cardiovascular.
- Avaliar possível correlação entre o aumento sérico de vitamina D e os parâmetros da NAC.

5. MÉTODO

5.1 DESENHO DO ESTUDO: ensaio clínico

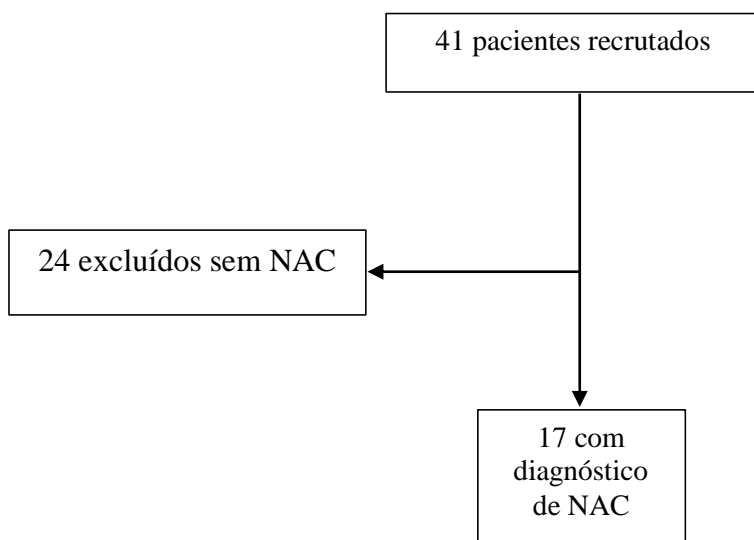
5.1.1 DESCRIÇÃO

Foi realizado ensaio clínico prospectivo de 12 semanas, comparativo, avaliando a neuropatia autonômica cardiovascular de pacientes tratados com suplementação com altas doses de vitamina D, de acordo com valor sérico da 25-OHD basal. Receberam 4.000UI/dia aqueles que apresentaram nível abaixo de 30ng/mL e 10.000UI/dia aqueles com dosagem entre 30 e 60ng/mL.

Foi criado um período de extensão de mais 12 semanas para aqueles pacientes que não alcançaram níveis de pelo menos 40 ng/mL de 25(OH)D neste primeiro momento. As doses de suplementação de vitamina D permaneceram iguais às do início do estudo de acordo com os níveis de 25(OH)D ao final das 12 semanas.

5.1.2 PACIENTES

Foram recrutados 41 participantes para o estudo no ambulatório de endocrinologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB) – UFPA. Destes apenas 17 apresentaram diagnóstico de neuropatia autonômica cardiovascular, conforme os critérios do Consenso de Toronto (SPALLONE *et al.*, 2011b), sendo então incluídos no estudo.



5.1.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

1. Pacientes com diagnóstico de DM1, com idade de 12 a 50 anos em acompanhamento regular com endocrinologista. Era necessário que o (a) paciente possuísse um médico cuidador independente do pesquisador do estudo e apresentasse $HbA1c \geq 7\%$.
2. Apresentar critério diagnóstico de neuropatia autonômica cardiovascular, conforme o Consenso de Toronto (SPALLONE *et al*, 2011b)
3. Tratamento com insulinoterapia em dose estável há pelo menos 3 meses antes da visita 1. Foram permitidas as insulinas basais: *Neutral Protamine Hagedorn* (NPH), insulina glargina, insulina detemir e insulina degludeca; e/ou insulinas ultra-rápidas: Aspart, glulisina e lispro; e/ou insulina rápida: insulina regular. Uma variação de até 10 % da dose foi permitida.
4. Pode-se incluídos pacientes em uso de metformina desde que em dose estável há pelo menos 3 meses antes da visita 1.
5. O (a) paciente aceitou manter o regime de dieta e exercício durante o estudo.
6. Capacidade e disposição para comparecer as consultas marcadas, e se submeter aos procedimentos cabíveis.
7. Capacidade e disposição para fazer uso da vitamina D nas doses previstas pelo estudo.

8. Fornecer o consentimento através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e Termo de Assentimento (TA) (APÊNDICE A e B, respectivamente), sendo esse último aplicado para pacientes menores de idade, foram obtido antes de qualquer procedimento do estudo.

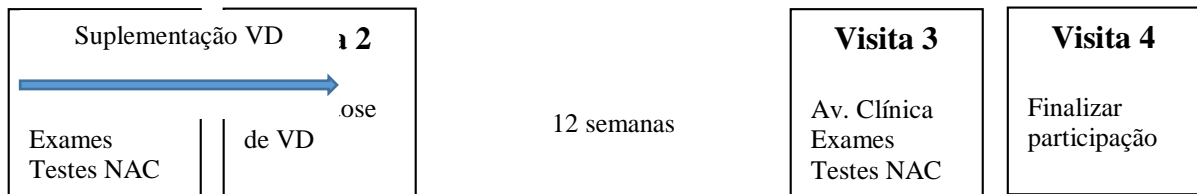
5.1.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

1. História prévia e concomitante de doenças do metabolismo ósseo.
2. História prévia e concomitante de doença hepática.
3. Níveis anormais de creatinina.
4. Feito uso de vitamina D ou cálcio dentro dos últimos 3 meses da visita 1.
5. Pacientes que fazem uso de bebida alcoólica que, na opinião do pesquisador, possa comprometer a segurança do paciente e os procedimentos do estudo.
6. Mulheres grávidas ou com intenção de engravidar.
7. Lactantes.
8. Hipotirodismo ou hipertiroidismo descompensado.
9. Anemias que, na opinião do pesquisador, pudessem interferir no valor da hemoglobina glicada, foram evitados pacientes com hemoglobina sérica ≤ 10 g/dL.
10. Pacientes submetidos à hemotransfusão e/ou doação de sangue dentro dos 3 meses antes da visita 1.
11. Pacientes com comorbidades que pudessem interferir na expectativa de vida do participante, na opinião do pesquisador.
12. Alergia ou intolerância conhecida ao princípio ativo da vitamina D.

5.1.5 COLETA DE DADOS

A coleta dos dados ocorreu durante visitas agendadas, incluídas nas fases de pré-tratamento (basal) e pós-tratamento (final do estudo). Foram realizadas 4 visitas oficiais e

visitas extras quando necessárias. Os participantes do estudo foram procedentes do serviço ambulatorial de Endocrinologia do HUIBB.



5.1.5.1 Visita 1 (Triagem)

Na visita de triagem, após verificação dos critérios de inclusão e exclusão e obtenção de TCLE, os pacientes foram submetidos a uma anamnese detalhada sobre condições específicas da sua doença de base e também foram obtidas informações relevantes sobre sua história médica geral e estilo de vida. Os pacientes do sexo feminino foram avaliados quanto às condições reprodutivas. Registrou-se de todas as medicações em uso corrente, bem como a posologia específica de cada uma, e também todas as medicações que os pacientes utilizaram nos últimos três meses.

Ainda nesta visita, os pacientes foram orientados a manter a terapia anti-diabética corrente por um período de 12 semanas conforme prescrição do seu médico assistente, exceto em casos de hipoglicemias recorrentes ou glicemia capilar em jejum maiores ou iguais a 240 mg/dL em dias consecutivos, situações nas quais os pacientes foram orientados a entrar em contato com os investigadores para realizar ajustes nas doses de insulinas basal ou ultrarrápida conforme avaliação apropriada. Os participantes também receberam orientação de registrar todas as doses diárias de insulina basal e ultrarrápida e os valores de glicemia capilar realizadas, em diário fornecidos.

Os participantes foram submetidos ainda a exame físico completo incluindo peso e altura para cálculo do índice de massa corpórea (IMC). O peso corporal e a estatura foram aferidos por meio de uma balança mecânica com estadiômetro acoplado (Welmy modelo 110, Brasil). O peso corporal foi medido com uma precisão de 0,1 quilogramas e a estatura com precisão de 0,5 centímetros. A partir dos valores de peso corporal e estatura, foi calculado o índice de massa corpórea (IMC), por meio da divisão do peso corporal (kg) pela estatura ao

quadrado (m²). Foram considerados com sobrepeso os indivíduos que apresentaram IMC entre 25 e 29,9 kg/m² e obesos aqueles com valor de IMC igual ou superior a 30 kg/m².

Na mesma oportunidade, foi realizada coleta de material dos pacientes (sangue total e urina) para obtenção dos seguintes parâmetros: hemoglobina glicada (HbA1C) e 25-hidroxitamina D (25(OH)D), ambas determinadas pelo método HPLC (*highperformance liquid chromatography*) (NETTO, 2009; WAGNER, HANWELL e VIETH, 2009). Pelo método colorimétrico/automatizado foram analisadas a glicemia plasmática de jejum, fósforo, cálcio total, ureia, albumina, colesterol total e frações (LDL, VLDL, HDL, não-HDL) e triglicerídeos. O método analisador automático CELL-DYN 3700 foi utilizado para analisar o hemograma. A proteína C reativa – ultrasensível foi analisada por turbidimetria do ARCHITECT, e a creatinina pelo método cinético/automatizado. A taxa de filtração glomerular (TFG) foi calculada pela fórmula CKD-EPI (ANEXO A) (LEVEY *et al.*, 2009).

Os testes autonômicos para pesquisa de NAC foram realizados pela manhã, após a verificação da glicemia capilar, cujo valor ficou entre 70 e 250 mg/dL. Os pacientes foram orientados a suspender o consumo de bebida alcoólica e cafeína, além de cessação de tabagismo por um período mínimo de 8 horas antes da realização do teste; a não realizar exercício físico vigoroso nas 24 h antecedentes ao exame e em caso de febre aferida ($Tax \geq 37,8$ °C) nos últimos dois dias, grande estresse emocional no dia anterior ou hipoglicemia nas 8 horas anteriores ao exame, os testes foram remarcados para outra ocasião.

Os dados da função autonômica cardiovascular foram avaliados por sistema computadorizado (VNS-MICRO) através de sete parâmetros de variabilidade da FC: três bandas de análise espectral dos batimentos cardíacos em repouso e três manobras (4 parâmetros) de estimulação simpática e vagal descritas por Ewing, Campbell e Clark (1980). O paciente foi colocado em decúbito dorsal (DD) a 30 graus e com respiração espontânea. Nesse momento foi realizado o registro computadorizado eletrocardiográfico durante 300 segundos. As ondas R são marcadas pelo software (são excluídos batimentos arrítmicos) e cada intervalo RR normal é analisado por um algoritmo matemático e expresso em um diagrama de amplitude de oscilação da frequência cardíaca (flutuações da FC por segundo) versus FC (hertz) (Figuras 1 e 2). A amplitude total do espectro da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é distribuído em três bandas: 1) componente de frequências muito baixas (VLF, do inglês *very low frequency*) (0,01-0,04 Hz) que está relacionado com as flutuações do tônus vasomotor ligadas à termorregulação e sudorese (controle simpático); 2) componentes de frequências baixas (LF, do inglês *low frequency*) (0,04 a 0,15 Hz) associado ao reflexo barorreceptor (controle

simpático com modulação vagal); e 3) componentes de frequências altas (HF, do inglês *high frequency*) (0,15 a 0,5 Hz), relacionado com o controle parassimpático (nervo vago).

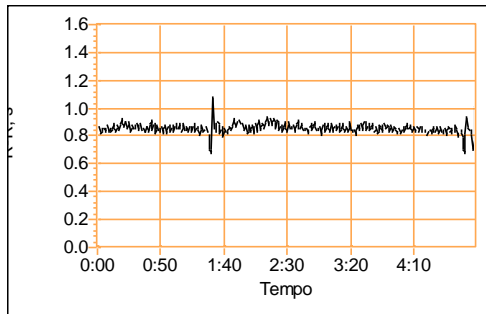


Figura 4: Ritmograma. Fonte: banco de dados do estudo

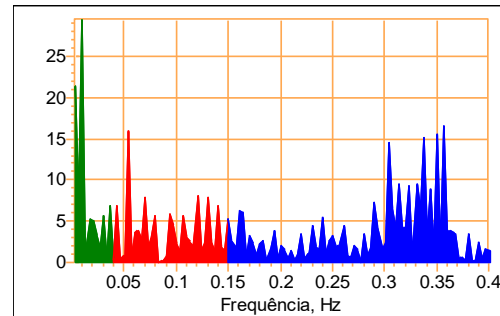


Figura 5: Espectrograma. Fonte: banco de dados do estudo.

Os clássicos testes de Ewing, até hoje recomendados pelas principais diretrizes internacionais sobre NAC, consistem em:

- Teste da respiração profunda: realizado com o paciente em DD a 30 graus, com o registro eletrocardiográfico de um ciclo respiratório profundo, com duração mínima de 5 segundos de cada componente. A FC mínima ou RR mais longo, observado na expiração (E), é dividido pela FC máxima ou RR mais curto, visto durante a inspiração (I), obtendo-se então o índice respiratório ou razão E:I. Esse teste será repetido por mais duas vezes, com intervalo de um minuto entre cada repetição.

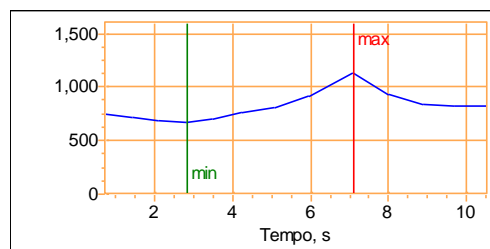


Figura 6: Teste respiratório. Fonte: banco de dados do estudo

- Teste de Valsalva: realizado nas mesmas condições acima e após 5 minutos de repouso. Consiste num esforço respiratório para atingir e manter uma pressão de 40 mmHg durante 15 segundos. Ao atingir esse valor pressórico é iniciado o registro do ECG. No 14º segundo, ocorre uma taquicardia máxima fisiológica. Após esse esforço, a válvula do esfigmomanômetro é liberada e então o registro do ECG se mantém por mais 30 segundos,

- período em que ocorre uma bradicardia máxima fisiológica. A razão de Valsalva é a relação entre a taquicardia e a bradicardia máximas. Esse teste será realizado duas vezes, repetindo-se o período de repouso inicial.

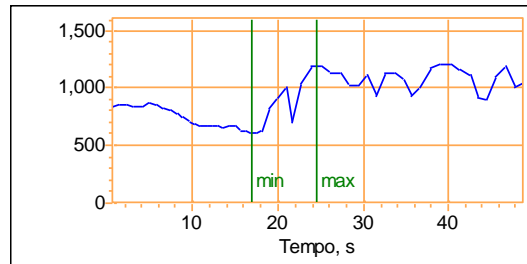


Figura 7: Teste de Valsalva. Fonte: banco de dados do estudo

- Teste da hipotensão ortostática (HO), o paciente permanece em DD a 30 graus durante 5 minutos. A PA é aferida no tempo basal, um e três minutos após o ortostatismo. Uma queda maior ou igual a 20 mmHg na PA sistólica é considerada alterada.
- Teste ortostático (razão 30:15) será realizado concomitantemente ao anterior, sendo o registro do ECG iniciado assim que o paciente começa os movimentos para se colocar em posição ortostática. Consiste na relação entre a FC ou intervalos RR correspondentes à taquicardia máxima em torno do 15º batimento e à bradicardia máxima em torno do 30º batimento.

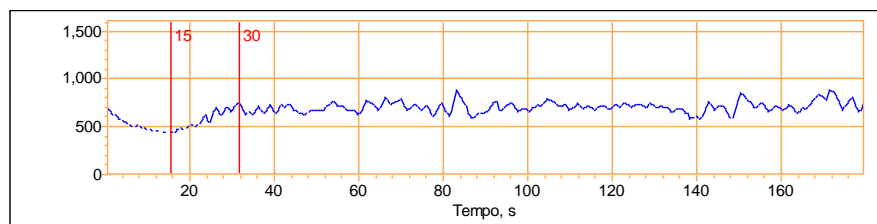


Figura 8: Teste ortostático. Fonte: banco de dados do estudo

Destes sete parâmetros analisados, se nenhum ou apenas um estiver alterado o indivíduo é considerado sem NAC. A presença de dois e três itens alterados determina o diagnóstico de NAC incipiente e estabelecida, respectivamente. Já a ocorrência de três medidas alteradas associados à hipotensão ortostática determina o diagnóstico de NAC grave.

Além dos parâmetros usados como critérios diagnósticos de NAC, o software apresenta dados da variabilidade da FC em repouso que refletem alterações importantes da inervação autonômica cardiovascular. O TP (*Total Power*) é a somatória das bandas espectrais da FC, relação LF/HF, que reflete o equilíbrio entre a estimulação simpática e parassimpática neste

sistema, RRmin (menor espaço RR), RRmax (maior espaço RR), RRNN (comprimento médio dos RR normais), SDNN (desvio-padrão da média dos RR normais).

Para melhor interpretação dos resultados, os valores de TP, VLF, LF e HF foram convertidos para o logarítmo de base 10.

5.1.5.2 Visita 2

Ocorreu até 21 dias após a visita de triagem. Os pacientes foram questionados sobre o surgimento de alguma intercorrência ou evento adverso neste período e após confirmada a realização de todos os procedimentos da visita inicial, os mesmos foram distribuídos nos dois grupos do estudo de acordo com seus níveis de 25OHD e instruídos a tomar diariamente, de preferência no mesmo horário, 4.000 UI/dia de colecalciferol (para aqueles com a 25OHD entre 30 e 60 ng/mL) ou 10.000 UI/dia (para aqueles com a 25OHD menor que 30 ng/mL) durante um período de 12 semanas.

5.1.5.3 Visita 3

Ocorreu até 12 semanas após o início da suplementação da vitamina D, com uma janela de até 21 dias. Nesta visita os pacientes foram avaliados quanto à ocorrência de evento adverso ou modificação no esquema terapêutico e foram submetidos aos mesmos procedimentos da visita de triagem.

Aqueles pacientes que permaneceram com níveis de 25OHD menores que 30 ng/mL ou entre 30 e 40 ng/mL, a despeito da suplementação realizada, foram incluídos num período de extensão de mais 12 semanas, sendo os procedimentos da visita final adiados para o final desse período. Sendo assim, esses pacientes receberam as mesmas orientações da visita de triagem e o colecalciferol foi novamente fornecido, obedecendo aos mesmos critérios iniciais (10.000 UI/dia para aqueles com 25OHD < 30 ng/mL e 4000 UI/dia para aqueles com 25OHD entre 30 e 40 ng/mL).

5.1.5.4 Visita 4 (Encerramento)

Após a confirmação da realização de todos os procedimentos da visita 3, o paciente retornou para a visita 4, quando ocorreu a suspensão da vitamina D e sua participação no estudo se encerrou.

Abaixo, encontra-se representado o cronograma das atividades desenvolvidas em cada fase do estudo (para mais detalhes, vide apêndices C, D, E e F, respectivamente).

5.1.6 Biorepositório

Após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e obtenção do TCLE, o soro dos pacientes incluídos no estudo foram armazenado em um freezer a temperatura -80°C localizado no Centro de Pesquisa em Endocrinologia do HUIBB/UFPA, cujo responsável é o Prof. Dr. João Soares Felício, orientador deste estudo. As amostras serão armazenadas por um período de 10 anos, com a finalidade de utilizá-las caso surjam novos marcadores relacionados ao DM1. Nenhuma pesquisa futura que envolva o biorepositório será realizada sem prévia submissão e aceite do CEP dessa instituição, conforme resolução CNS Nº 441 de 12 de maio de 2011.

5.2 Análise estatística

Os dados coletados foram organizados e analisados pelo programa SigmaStat 3.5® (Jandel Scientific Corporation, Chicago, Illinois) e Statistical Package for Social Sciences (SPSS 22®).

Para avaliar diferenças entre grupos de variáveis que não apresentem distribuição normal, o teste de Mann-Whitney foi utilizado. O teste de Wilcoxon, por sua vez, foi empregado na comparação entre variáveis dos mesmos grupos antes e após o período de acompanhamento e o qui-quadrado para variáveis binominais. Quanto a variáveis com distribuição normal, o teste t Student não pareado foi aplicado na comparação entre dois grupos, enquanto o teste t Student

pareado serviu para comparar os mesmos grupos antes e depois. Para a análise de correlação, coeficiente de correlação (Pearson) foi calculado, o teste de Spearman também foi utilizado. Modelos de regressão múltipla, e/ou linear foram montados para avaliar a influência dos níveis de 25(OH)D como variáveis independentes sobre o controle glicêmico.

Para fins estatísticos, os dados que apresentaram distribuição normal foram estabelecidos como valores de média e de desvio padrão, enquanto os dados com distribuição não normal foram representados em mediana e quartis 25 e 75. As diferenças entre mais de dois grupos com variáveis numéricas de distribuição normal foram avaliadas pelo teste de análise de variância (ANOVA). Valores de p menor que ($p < 0.05$) foram considerados significativos.

6. RESULTADOS:

As características clínicas e laboratoriais dos participantes do estudo estão descritas nas tabelas 1 e 2. Na tabela 2 verifica-se que não houve mudança em nenhuma destas características após a suplementação de vitamina D. Parâmetros como HbA1C, pressão arterial, dose de insulina, PCRus e lípidos se mantiveram estáveis.

TABELA 1 – Características clínicas dos pacientes com DM1 e NAC.

Características	N=17(%)
Idade (anos)	30 ± 10
Sexo (F/M)	7/10
Tempo de DM1 (anos)	15 ± 8
Dislipidemia (com/sem)	5/12 (29%)
HAS (com/sem)	4/13 (24%)
Nefropatia prévia (com/sem)	6/11 (35%)
Retinopatia (com/sem)	6/11 (35%)
Neuropatia periférica (com/sem)	8/9 (47%)
Tabagismo (com/sem)	4/13 (24%)
Etilismo (com/sem)	7/10 (41%)
IECA/BRA pré-tto (com/sem)	9/8 (53%)

DM1= Diabetes mellitus tipo 1. NAC= Neuropatia autonômica cardiovascular.
F= Feminino. M= Masculino HAS= Hipertensão arterial sistêmica. IECA= Inibidor da enzima conversora de angiotensina. BRA= Bloqueador do receptor de angiotensina.

Os parâmetros da avaliação de neuropatia autonômica cardiovascular realizados estão descritos na tabela 3. Após a suplementação de vitamina D observou-se melhora dos dados de repouso LF, TP, RRmax, RRNN e SDNN (figuras 4,5 e 6). Os itens HF e relação LF/HF apesar de não terem apresentado diferença estatística, mostraram uma tendência a este resultado (p=0.06). Todos estes parâmetros se relacionam à variabilidade da frequência cardíaca em repouso. Os testes dinâmicos empregados que conhecidamente geram flutuações na frequência cardíaca (teste da respiração profunda, Valsalva e ortostase), assim como a pesquisa de hipotensão postural, não apresentaram diferença no período anterior e posterior à suplementação da VD.

TABELA 2 – Características clínicas e laboratoriais de pacientes com DM1 e NAC antes e após da suplementação de vitamina D

Parâmetro	N=17		P
	Pré VD	Pós vit. D	
IMC (kg/m ²)	25 ± 5	25 ± 6	NS
PAS (mmHg)	116 ± 16	114 ± 16	NS
PAD (mmHg)	72 ± 11	73 ± 11	NS
FC (bpm)	87 ± 11	88 ± 12	NS
HbA1C (%)	9.8 ± 2.4	10.4 ± 2.8	NS
Insulina basal (UI)	36 ± 16	32 ± 14	NS
Insulina prandial (UI)	26 ± 15	28 ± 13	NS
Insulina total (UI)	56 ± 30	60 ± 24	NS
25-OH-Vitamina D (ng/mL)	24 ± 9	48 ± 23	<0.01
Glicemia de jejum (mg/dL)	166 ± 90	154 ± 92	NS
PCR ultrasensível	0.59 ± 0.9	0.26 ± 0.2	NS
Colesterol total	174 ± 39	184 ± 77	NS
HDL colesterol	44 ± 15	41 ± 15	NS
LDL colesterol	103 ± 27	100 ± 36	NS
Triglicerídeos	118 ± 44	129 ± 96	NS
Não-HDL colesterol	129 ± 32	128 ± 48	NS
Creatinina	0.77±0.26	0.8±0.25	NS

C/Q= Relação cintura-quadril. PAS = Pressão arterial sistólica. PAD= Pressão arterial diastólica. ITB= Índice tornozelo-braquial. FC= Frequência cardíaca. HbA1C= Hemoglobina glicada. PCR= Proteína C reativa. NS= Não significativo.

TABELA 3 – Parâmetros da NAC antes e depois da suplementação com vitamina D em pacientes com DM1.

Parâmetro	N=17		P
	Pré VD	Pós VD	
	Média ± DP	Média ± DP	
VLF (seg)	2.2 ± 0.23	2.3 ± 0.5	NS
LF (seg)	1.9 ± 0.4	2.2 ± 0.7	0.05
HF (seg)	1.6 ± 0.4	2 ± 0.6	0.06
Coef. Respiratório	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.2	NS
Coef. valsalva	1.4 ± 0.4	1.5 ± 0.6	NS
Coef. 30/15	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.2	NS
Redução PAS 3min	6.4 ± 10.8	6.5 ± 10.3	NS
TP (seg)	2.5 ± 0.3	2.7 ± 0.5	<0.05
LF/HF	2.6 ± 2.5	1.49 ± 0.89	0.06
RRmin (seg)	0.7 ± 0.08	0.6 ± 0.15	NS
RRmax (seg)	0.8 ± 0.09	0.9 ± 0.23	<0.05
RRNN (seg)	0.72 ± 0.09	0.76 ± 0.09	<0.05
SDNN (seg)	0,015 ± 0,005	0,026 ± 0,018	<0.01

NAC= Neuropatia autonômica cardiovascular. VD= Vitamina D. VLF= *Very low frequency*. LF= *Low frequency*. HF= *High frequency*. PAS 3 minutos = Pressão arterial sistólica após 3 minutos. RRmin = Menor espaço RR. RRmax= Maior espaço RR. RRNN= valor médio dos espaços RR normais. SDNN= Desvio padrão dos espaços RR normais. NS= Não significativo

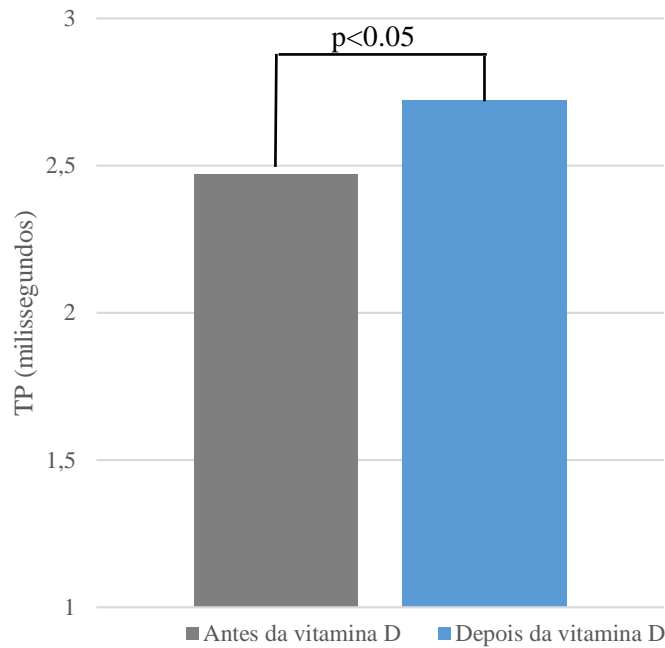


Figura 9: TP antes e depois da suplementação de vitamina D em pacientes com diabetes *mellitus* tipo 1 com neuropatia autonômica cardiovascular (N=17).

TP= *Total power* (somatório de todos intervalos RR)

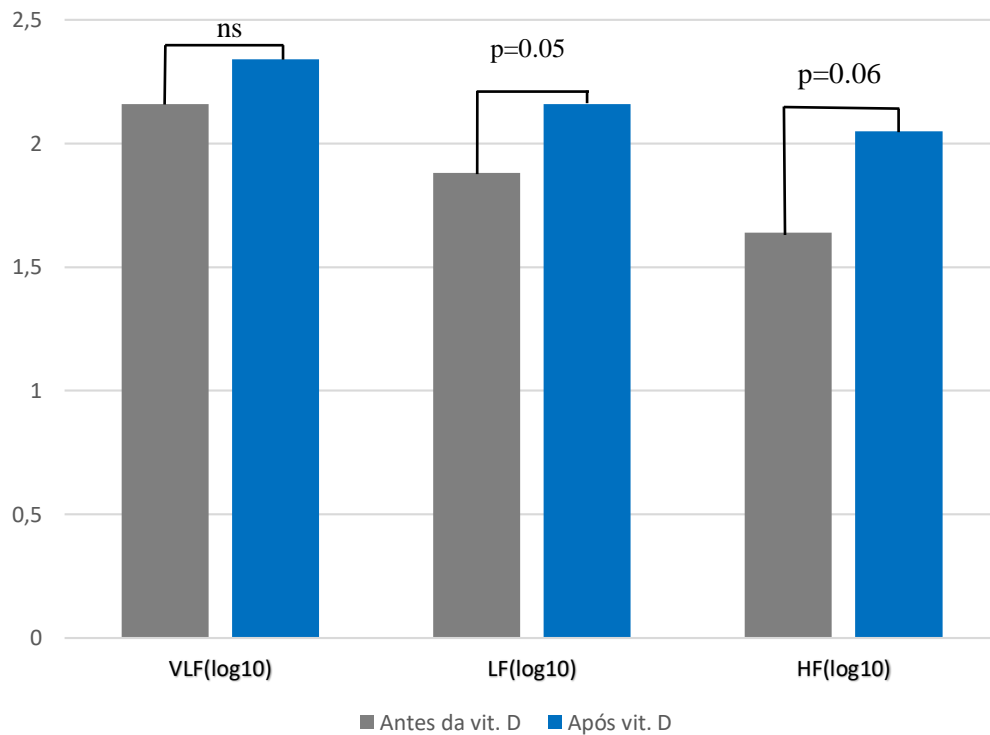


Figura 10: Parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca em repouso antes e após suplementação de vitamina D (N=17)

VLF= *very low frequency*. LF= *Low frequency*. HF= *High frequency*.

A figura 6 ilustra a diferença significativa entre as médias dos espaços RR em ms (RRNN), os desvios padrões destas médias (SDNN) e o maior espaço RR encontrado (RRmax) durante os 5 minutos de repouso em que os pacientes são analisados, nas visitas antes e após o uso de vitamina D. Nesta figura pode-se observar claramente o quanto a variabilidade da FC foi aumentada no final do estudo.

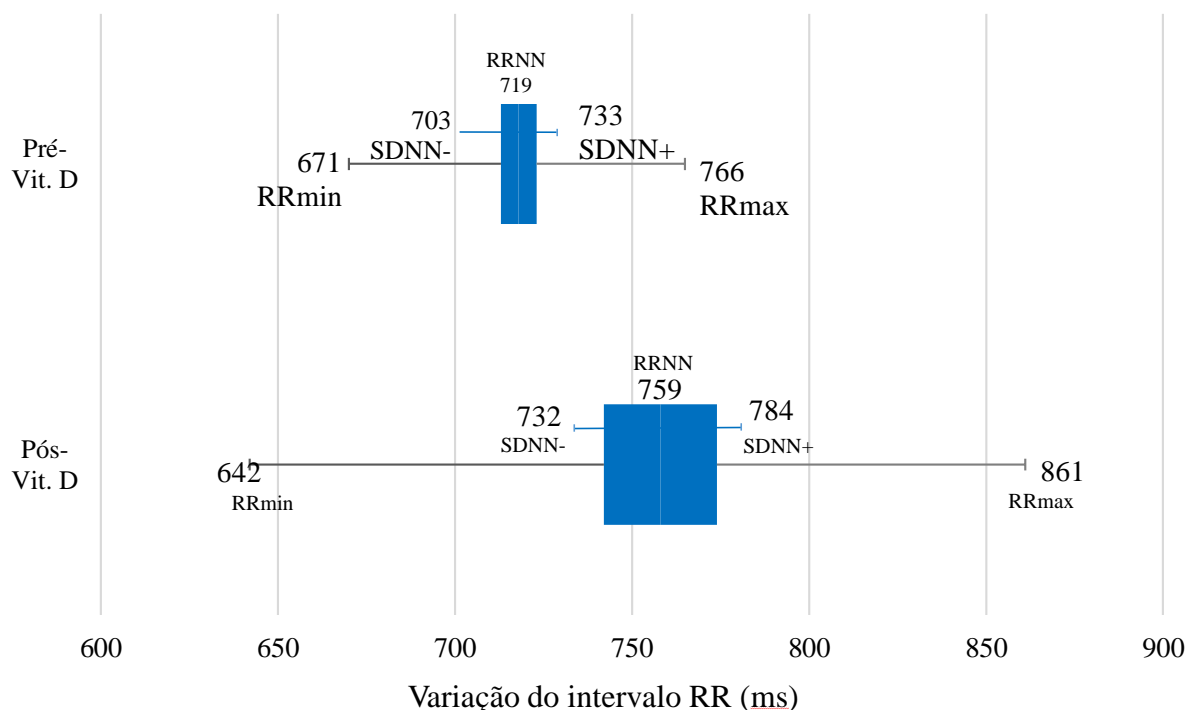


Figura 11: Parâmetros de variância do intervalo RR em milissegundos (ms) antes e depois da suplementação com vitamina D em pacientes com DM1 com NAC (N=17).

* = $p < 0.05$

RRNN= Média dos espaços RR normais durante o repouso. SDNN= Desvio-padrão dos espaços RR normais durante o repouso. RRmin= Menor espaço RR observado. RRmax= maior espaço RR observado

Quando se analisa apenas os itens que compõem os critérios diagnóstico de NAC, nota-se que há uma redução no número absoluto de parâmetros alterados relacionados à variabilidade da FC em repouso (VLF, LF e HF) após o tratamento com VD. Estes índices somados constituem o TP (montante de todos RR registrados durante 5 minutos de repouso). Figura 7.

Todavia, o número de coeficientes alterados, relacionados aos testes dinâmicos, não foi modificado após a suplementação da vitamina D. Figuras 8.

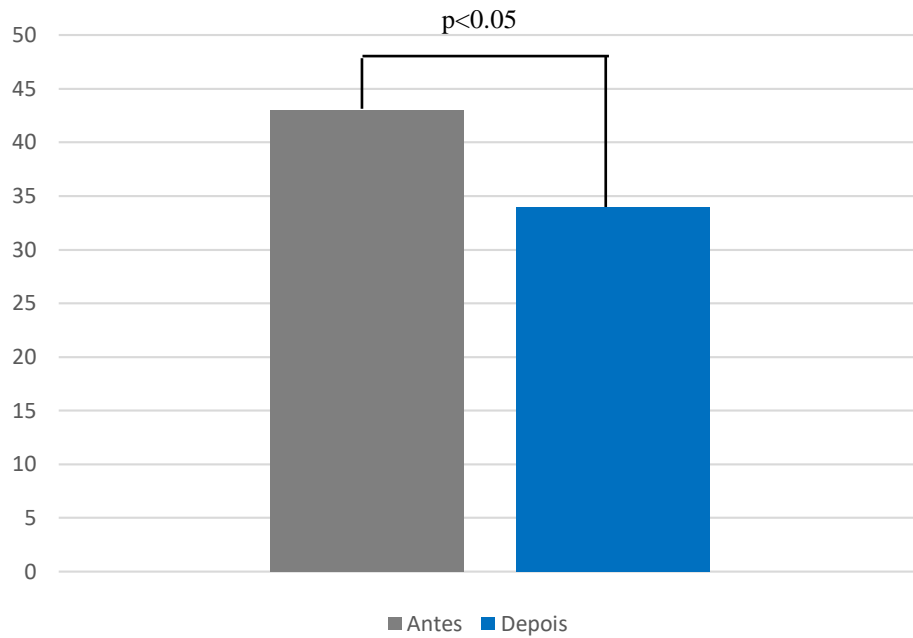


Figura 12: Número de parâmetros anormais da variabilidade da frequência cardíaca em repouso (VLF, LF, HF) no total de pacientes antes e após a suplementação de vitamina D. VLF= *very low frequency*. LF= *Low frequency*. HF= *High frequency*.

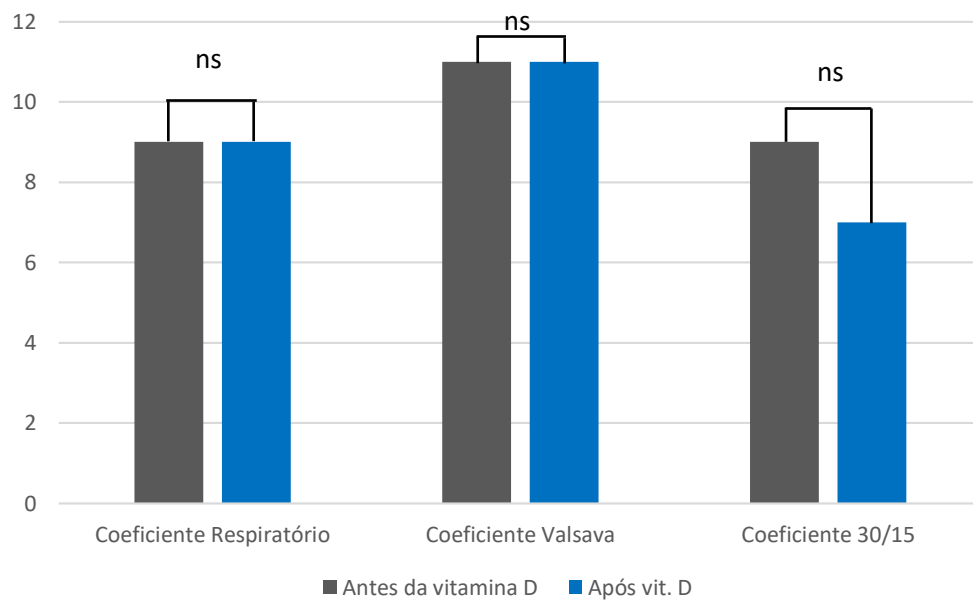


Figura 13: Número de coeficientes anormais dos testes para neuropatia autonômica cardiovascular no total de pacientes antes e após suplementação de vitamina D.

A figura 9 ilustra a correlação encontrada entre o percentual de HF no período pós suplementação de vitamina D e o aumento absoluto do nível de VD sérica no final do estudo. Adicionalmente, também verificou-se que a redução da relação LF/HF relaciona-se com a variação percentual de VD.

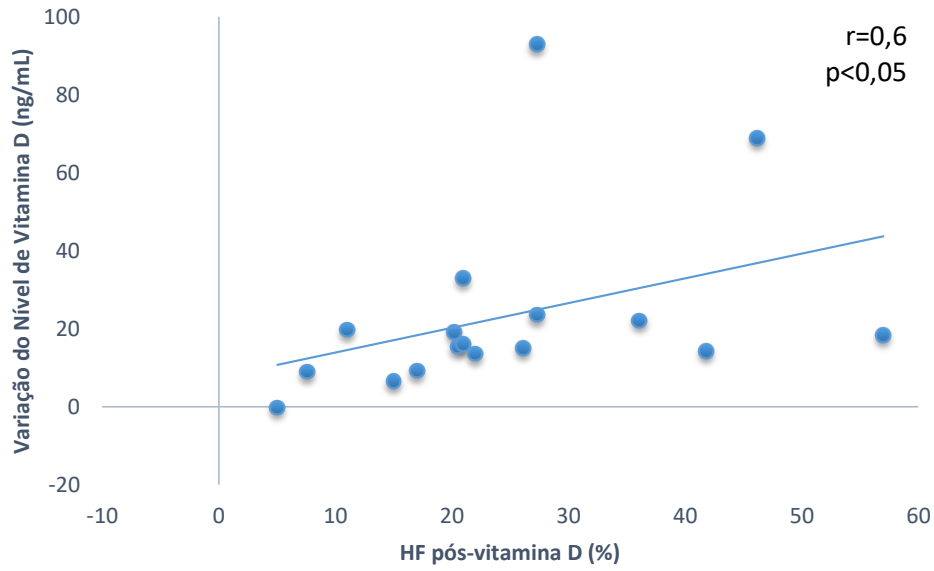


Figura 14: Correlação entre a variação do nível de vitamina D sérica e HF (%) final.
HF= *High frequency*

7. DISCUSSÃO

Nosso estudo encontrou uma forte associação entre a suplementação com altas doses de vitamina D e a melhora dos parâmetros de avaliação da NAC em pacientes diabéticos tipo 1 com neuropatia autonômica. Isso ocorreu sem que houvesse variação na HbA1C, níveis pressóricos, lípidos e doses de insulina utilizadas. Adicionalmente, a variação percentual do nível sérico de VD se correlacionou com a melhora dos parâmetros de repouso da NAC.

A avaliação da inervação parassimpática por meio da análise de variabilidade da FC em repouso, tem sido defendida por alguns autores como método sensível e específico para o diagnóstico de disautonomia cardiovascular, além da simplicidade de sua execução e de não requerer a cooperação do paciente (TAKASE *et al.*, 1992; ZIEGLER *et al.*, 2001; BALCIOGLU *et al.*, 2007; KHANDOKER; JELINEK e PALANISWAMI, 2009; SEYD; JOSEPH; JACOB, 2012; SILVA *et al.*, 2016). Takase *et al.*, 1992 descrevem que um ponto de corte < 30ms no parâmetro SDANN tem sensibilidade de 72% e especificidade de 92% para diagnóstico de NAC em pacientes diabéticos tipo 2, enquanto Ziegler *et al.* (2001) apontam que o índice HF foi mais sensível para detectar precocemente disfunção autonômica em pacientes diabéticos numa fase em que os testes funcionais ainda são normais, empregando-se um valor de 0.892. Estes achados reforçam a validade dos resultados do nosso estudo que mostraram melhora dos índices de avaliação da FC em repouso em resposta à curta intervenção terapêutica, em detrimento dos testes dinâmicos, que permaneceram inalterados (TAKASE *et al.*, 1992; ZIEGLER *et al.*, 2001).

Alguns estudos transversais sugerem uma associação entre os níveis séricos de vitamina D e a presença e a gravidade das neuropatias periférica em pacientes com diabetes (ZUBAIR *et al.*, 2013; MASER; LENHARDE POHLIG, 2014; JUNG *et al.*, 2015; HANSEN *et al.*, 2016). Adicionalmente, apenas Jung e colaboradores, 2015 demonstraram uma associação entre esses valores de VD e os parâmetros de repouso da NAC em diabéticos. Alamdari *et al.*, 2015 observaram em diabéticos tipo 2, que aumentos de 2.5nmol/L de 25 OH Vitamina D sérica, se correlacionaram com uma redução de 2.2% e 3.4% na prevalência e severidade, respectivamente, das alterações de velocidade de condução nervosa. Não é de nosso conhecimento que tenha sido publicado na literatura dados sobre o efeito da suplementação de vitamina D em diabéticos tipo 1 com NAC (JUNG *et al.*, 2015; ALAMDARI *et al.*, 2015). O único estudo encontrado (MANN *et al.*, 2014) que avaliou esta hipótese terapêutica foi

realizado em um grupo de apenas 13 indivíduos saudáveis (não-diabéticos) e com hipovitaminose D, por um período de 28 dias na dose de 5.000 a 10.000UI/dia. Os participantes foram submetidos a um efeito estressor agudo e fisiológico com a injeção endovenosa de angiotensina II durante 30 minutos antes e após a suplementação de VD. Houve redução da relação LF/HF e aumento absoluto de HF. Apesar do número de pacientes reduzido e de se tratar de uma população diferente daquela estudada por nós, os resultados de ambos se aproximam e seguem as mesmas hipóteses fisiopatológicas. Nosso estudo é, portanto, o primeiro a avaliar o efeito da suplementação de VD em altas doses em diabéticos tipo 1 com diagnóstico prévio de NAC.

Vários fatores têm sido relacionados com o aparecimento e progressão da NAC. A hiperglicemia crônica tem papel de destaque em várias publicações sobre o assunto. Dados do clássico estudo DCCT/EDIC sobre NAC, publicados em 2009 (POP-BUSUI *et al.*, 2009) mostraram que o controle intensivo do DM1 foi capaz de reduzir a incidência da NAC após 14 anos de seguimento do grupo de pacientes. Não somente a HbA1C (UKPDS), mas também a variabilidade glicêmica estão envolvidas na fisiopatologia desta complicação (STRATTON *et al.*, 2000; FLEISHER *et al.*, 2017). O sistema renina angiotensina também tem sido implicado na patogênese da neuropatia diabética (MALIK *et al.*, 1998, GAEDE *et al.*, 2003; COPPEY *et al.*, 2006). Didangelos *et al.* (2017) demonstraram melhora desta condição por meio de aumento do coeficiente respiratório e estabilização dos demais parâmetros estudados, com uso de quinalapril por dois anos em pacientes diabéticos (DIDANGELOS *et al.*, 2017). Esses estudos sugerem um potencial benefício que o bloqueio do sistema renina angiotensina com IECA ou BRA poderia ter sobre a NAC.

Outra intervenção que também parece contribuir para a melhora desta complicação cardiovascular é o exercício físico. Em artigo de revisão publicado em 2017, Rohling *et al.* (2017) analisaram dados que demonstram que exercícios intensos de *endurance* ou combinados com atividade resistida (com VO₂ acima de 80% e volume \geq 150 minutos/semana) são capazes de melhorar diversos parâmetros da NAC em pacientes diabéticos tipo 1 e 2 recém diagnosticados (ROHLING *et al.*, 2017). Adicionalmente, Ziegler *et al.* (2018) em ensaio clínico publicado em 2017, estudaram a correlação entre as alterações na variabilidade da frequência cardíaca e o perfil de resistência insulínica avaliado por *clamp* euglicêmico/hiperinsulinêmico. Os resultados sugeriram que nesta fase precoce da evolução do diabetes, a resistência insulínica e o hiperinsulinismo compensatório podem contribuir para o

desenvolvimento de neuropatia autonômica vagal cardiovascular no DM tipo 2 (ZIEGLER *et al.* 2018).

Finalmente, os mediadores inflamatórios e marcadores metabólicos parecem representar outras vias na complexa etiopatogenia desta complicação microvascular, apesar dos resultados ainda serem inconclusivos, devido à transversalidade dos dados. Hansen *et al.* (2017), constataram em 2017 que os valores iniciais de proteína C reativa ultrasensível (PCRus), interleucina 6 (IL-6) e antagonista do receptor de interleucina 1 (IL-1Ra) se correlacionaram com aumentos mais significativo da FC e piora de vários índices de sua variabilidade, mesmo após ajuste para sexo, idade e status de diabetes. Outro estudo transversal coreano revelou concentração sérica de Apo-A1 menor entre os diabéticos tipo 2 com NAC, além de maiores níveis de PCRus e fibrinogênio neste grupo de pacientes (HANSEN *et al.*, 2017; CHUNG *et al.*, 2018).

Nossos pacientes, não apresentaram variações no controle glicêmico, resistência à insulina (avaliada pela dose de insulina), lípidos e PCRus. Adicionalmente, aqueles que utilizavam IECA ou BRA, o faziam em doses estáveis há pelo menos 12 semanas antes do início do estudo. O mesmo ocorreu em relação à orientação sobre atividade física. Portanto, nos parece improvável que algum desses fatores possam ter influenciado os nossos resultados.

Dado o caráter multifatorial das neuropatias diabéticas, muitos fatores genéticos e ambientais podem estar relacionados ao seu aparecimento e progressão. Dentre os elementos hereditários, vários polimorfismos aparecem como candidatos ao aumento da suscetibilidade a estas complicações. A ocorrência do alelo D (deleção da repetição 287-bp Alu no íntron 16) no gene da enzima conversora da angiotensina (*ECA*) reduz o nível sérico e a atividade desta enzima e se correlaciona com a ocorrência de Polineuropatia diabética (DPN). Assim como, a presença do alelo T na posição 677 do gene *MTHFR* (Metileno tetrahydrofolato redutase) também eleva o risco de DPN em diabéticos tipo 2 de vários grupos étnicos. Outro gene muito estudado nesta associação é o da Glutathione S-transferase (*GTS*), sendo que o achado concomitante dos polimorfismos *GSTM1* (genótipo nulo) e *GSTT1* (genótipo selvagem) apresenta relação com a ocorrência de NAC em pacientes DM1. Vários outros estudos de menor poder estatístico sugerem associação com outros genes, como: *GLO-1*, *POE*, *TCFL2*, *VEGF* e *IL-4* (POLITI *et al.*, 2016).

Entre os fatores epigenéticos, alguns polimorfismos de miRNAs já foram descritos em associação à neuropatias diabéticas. A variante rs2910164 (G>C) do *hsa-MIR146A* parece exercer um efeito protetor ainda não completamente estabelecido. Enquanto a presença do alelo

T do rs11888095 do *hsa-MIR128A* aumenta o risco de desenvolver PND, mesmo após correção para idade, gênero, IMC, duração do DM e HbA1C (POLITI *et al.*, 2016). Polimorfismos do gene do receptor de vitamina D (*VDR*) já foram descritos em associação à ocorrência tanto do diabetes tipo 1 quanto do tipo 2, porém não há na literatura até o momento dados que liguem as alterações genéticas e epigenéticas do metabolismo da 25-OHD com a suscetibilidade às neuropatias diabéticas (SILVA, MORY e DAVINI, 2008). Amostras de biorrepositório de todos os pacientes do nosso estudo foram devidamente coletadas e armazenadas, as quais poderão servir no futuro para análise destes fatores genéticos descritos.

O efeito da vitamina D nas complicações microvasculares do diabetes tem sido estudado por alguns autores. Apesar dos resultados ainda não serem conclusivos, Grammatiki, Karras e Kotsa (2018) recentemente, em artigo de revisão, sugerem essa associação, inclusive na neuropatia periférica. Relatos sobre a implicação desta vitamina na NAC não estão disponíveis na literatura.

Portanto, por se tratar de estudo piloto, nossos dados são insuficientes para elucidar o real efeito da suplementação de vitamina D na neuropatia cardiovascular destes pacientes. O número reduzido de participantes, o curto período de tempo a que foram submetidos ao tratamento com VD e a ausência de grupo controle com NAC e em uso de placebo tornam a interpretação dos nossos resultados limitada na compreensão da utilidade da vitamina D no arsenal terapêutico desta complicação diabética. Estudos prospectivos que contemplem essa metodologia são necessários para que estas respostas sejam esclarecidas.

8. CONCLUSÃO

Nossos dados demonstraram uma forte associação entre a suplementação com altas doses de vitamina D e a melhora de parâmetros da variabilidade da frequência cardíaca em repouso em pacientes diabéticos tipo 1, com diagnóstico prévio de neuropatia autonômica cardiovascular. Adicionalmente, verificou-se correlação entre a variação do nível de vitamina D sérica e parâmetros da NAC.

9. APLICABILIDADE CLÍNICA

A vitamina D é uma droga muito estudada na atualidade e várias publicações já demonstraram benefícios extra esqueléticos desta substância, como em doenças cardiovasculares, infecciosas, autoimunes e neurodegenerativas (HOSSEIN-NEZHAD; HOLICK, 2013). Apesar destes resultados serem passíveis de algumas críticas pela comunidade científica, esta continua sendo uma linha de pesquisa crescente (MANSON *et al.*, 2016).

A correlação da neuropatia autonômica cardiovascular com a VD também tem sido alvo de estudo por alguns autores (HANSEN *et al.*, 2016; JUNG *et al.*, 2015; DA SILVA *et al.*, 2015). Por se tratar de uma condição clínica prevalente e nociva para os pacientes com DM e principalmente pela exiguidade de opções de tratamento, estes trabalhos se revestem de grande importância e expectativa.

Adicionalmente, as características farmacocinéticas e farmacodinâmicas favoráveis, como simples administração e posologia, baixo perfil de efeitos colaterais, boa tolerabilidade e segurança, tornam a suplementação de vitamina D uma opção terapêutica viável à população de pacientes com DM1 e portadora de NAC.

10. REFERÊNCIAS

ALAMDARI, A. et al. An inverse association between serum vitamin D levels with the presence and severity of impaired nerve conduction velocity and large fiber peripheral neuropathy in diabetic subjects. **Neurological Sciences**, v. 36, n. 7, p. 1121–1126, 2015.

ALJABRI, K. S.; BOKHARI, S. A.; KHAN, M. J. Glycemic changes after vitamin D supplementation in patients with type 1 diabetes mellitus and vitamin D deficiency. **Annals of Saudi medicine**, v. 30, n. 6, p. 454–8, 2010.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Microvascular complications and foot care. **Diabetes Care**, v. 40, n. January, p. S88–S98, 2017.

ANAGNOSTIS, P. et al. Glucagon-like peptide-1-based therapies and cardiovascular disease: Looking beyond glycaemic control. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 13, n. 4, p. 302–312, 2011.

ANTICO, A. et al. Can supplementation with vitamin D reduce the risk or modify the course of autoimmune diseases? A systematic review of the literature. **Autoimmunity Reviews**, v. 12, n. 2, p. 127–136, 2012.

AZAR, M. C. AND S. T. The role of vitamin D deficiency in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 5, n. 4, p. e155–e165, 2013.

BALCIOĞLU, S. et al. Heart Rate Variability and Heart Rate Turbulence in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus With Versus Without Cardiac Autonomic Neuropathy. **American Journal of Cardiology**, v. 100, n. 5, p. 890–893, 2007.

BIKLE, D. D. Vitamin D and immune function: Understanding common pathways. **Current Osteoporosis Reports**, v. 7, n. 2, p. 58–63, 2009.

CALLAGHAN, B. C. et al. Diabetic neuropathy: Clinical manifestations and current treatments. **The Lancet Neurology**, v. 11, n. 6, p. 521–534, 2012.

CALLE, C.; MAESTRO, B.; GARCÍA-ARENCIBIA, M. Genomic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on insulin receptor gene expression, insulin receptor number and insulin activity in the kidney, liver and adipose tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. **BMC Molecular Biology**, v. 9, n. 1, p. 65, 2008.

CARE, F. Microvascular complications and foot care. **Diabetes Care**, v. 40, n. January, p. S88–S98, 2017.

CHAKHTOURA, M.; AZAR, S. T. The role of vitamin D deficiency in the incidence, progression, and complications of type 1 diabetes mellitus. **International Journal of Endocrinology**, v. 2013, 2013.

- CHIU, K. C. et al. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and β cell dysfunction. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 820–825, 2004.
- CHUNG, J. O. et al. Serum apolipoprotein A-1 concentrations and the prevalence of cardiovascular autonomic neuropathy in individuals with type 2 diabetes. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 32, n. 4, p. 357–361, 2018.
- CICCACCI, C. et al. TCF7L2 gene polymorphisms and type 2 diabetes: Association with diabetic retinopathy and cardiovascular autonomic neuropathy. **Acta Diabetologica**, v. 50, n. 5, p. 789–799, 2013.
- COPPEY, L. J. et al. ACE inhibitor or angiotensin II receptor antagonist attenuates diabetic neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetes**, v. 55, n. 2, p. 341–348, 2006.
- CRAIG, M. E.; HATTERSLEY, A.; DONAGHUE, K. C. Definition, epidemiology and classification of diabetes mellitus in childhood after “ispad clinical practice consensus guidelines 2009 compendium”. **Pediatrics**, v. 49, n. SUPPL. 1, p. 8–13, 2009.
- DA SILVA, A. K. F. et al. Application of Heart Rate Variability in Diagnosis and Prognosis of Individuals with Diabetes Mellitus: Systematic Review. **Annals of Noninvasive Electrocardiology**, v. 21, n. 3, p. 223–235, 2016.
- DA SILVA, D. et al. Vitamin D deficiency and cardiovascular autonomic neuropathy in patients with type 1 diabetes mellitus. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 7, n. Suppl 1, p. A44, 2015.
- DAHLQUIST, G. et al. Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. **Diabetologia**, v. 42, n. 1, p. 51–54, 1999.
- DIB, S. A. Heterogeneidade do diabetes melito tipo 1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 2, p. 205–218, 2008.
- DIDANGELOS, T. et al. Efficacy of Administration of an Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor for Two Years on Autonomic and Peripheral Neuropathy in Patients with Diabetes Mellitus. **Journal of Diabetes Research**, v. 2017, 2017.
- DIMITROPOULOS, G. Cardiac autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus. **World J Diabetes**, v. 5, n. 1, p. 17, 2014.
- EASTMAN, R. C.; VINICOR, F. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 20, n. 7, p. 1183–1197, 1997.
- EURODIAB. Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type I, The EURODIAB Substudy 1 Study Group. **Diabetologia**, v. 42, p. 51–54, 1999.
- EWING, D. J.; CAMPBELL, I. W.; CLARKE, B. F. Assessment of cardiovascular effects in diabetic autonomic neuropathy and prognostic implications. **Annals of Internal Medicine**, v. 92, n. 2 II, p. 308–311, 1980.

FELICIO K. M. et al. Glycemic variability and insulin needs in patients with type 1 diabetes mellitus supplemented with vitamin d: a pilot study using continuous glucose monitoring system. **Current Diabetes Review**, v. 14, n. 4, p. 395-403, 2018

FELICIO, KM et al. Glycemic variability and insulin needs in patients with type 1 diabetes mellitus supplemented with vitamin D: a pilot study using continuous glucose monitoring system. **Current diabetes reviews**, v. 13, 2018

FISHER, V. L.; TAHRANI, A. A. Cardiac autonomic neuropathy in patients with diabetes mellitus: Current perspectives. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 10, n. 1, p. 419–434, 2017.

FLEISCHER, J. et al. Continuous glucose monitoring adds information beyond HbA1c in well-controlled diabetes patients with early cardiovascular autonomic neuropathy. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 31, n. 9, p. 1389–1393, 2017.

FOSS-FREITAS, M. C.; MARQUES JUNIOR, W.; FOSS, M. C. Neuropatia autonômica: uma complicação de alto risco no diabetes melito tipo 1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 2, p. 398–406, 2008.

GAEDE, P. et al. Intensified multifactorial intervention in patients with type 2 diabetes mellitus and microalbuminuria: The Steno type 2 randomised study. **Lancet**, v. 353, n. 9153, p. 617–622, 1999.

GOMES, MB et al. Regional differences in clinical care among patients with type 1 diabetes in Brazil: Brazilian Type 1 Study Group. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 4, n. 44, 2012

GRAMMATIKI, M.; KARRAS, S.; KOTSA, K. The role of vitamin D in the pathogenesis and treatment of diabetes mellitus: a narrative review. **Hormones**, 2018.

HANSEN, C. S. et al. High and low vitamin D level is associated with cardiovascular autonomic neuropathy in people with Type 1 and Type 2 diabetes. p. 1–8, 2016.

HANSEN, C. S. et al. Vitamin B12 deficiency is associated with cardiovascular autonomic neuropathy in patients with type 2 diabetes. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 31, n. 1, p. 202–208, 2017.

HOLICK, M. F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 96, n. 7, p. 1911–1930, 2011.

HOLICK, MF. Vitamin D deficiency. **N Engl J Med**, v. 357, p. 266 – 281, 2007.

HOSSEIN-NEZHAD, A.; HOLICK, M. F. Vitamin D for Health: A Global Perspective. **Mayo Clinic Proc.**, v. 88, n. 7, p. 720–755, 2013.

HOSSEIN-NEZHAD, A.; HOLICK, M. NIH Public Access. **National Institute of Health**, v. 88, n. 7, p. 720–755, 2014.

HYPONEN, E. et al. Intake of Vit D and risk of type 1 diabetes.: A birth cohort study. **Lancet**, v. 358, p. 1500–1503, 2001.

JOHNSON, B. F. et al. Cardiac Abnormalities in Diabetic Patients With Neuropathy. **Diabetes Care**, v. 27, n. 2, p. 448–454, 2004.

JUNG, C. H. et al. Relationship between vitamin D status and vascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus. **Nutrition Research**, v. 36, n. 2, p. 117–124, 2016.

KATSAROU, A. et al. Type 1 diabetes mellitus. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, p. 17016, 2017.

KHANDOKER, A. H.; JELINEK, H. F.; PALANISWAMI, M. Identifying diabetic patients with cardiac autonomic neuropathy by heart rate complexity analysis. **BioMedical Engineering Online**, v. 8, p. 1–12, 2009.

KUEHL, M.; STEVENS, M. J. Cardiovascular autonomic neuropathies as complications of diabetes mellitus. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 8, n. 7, p. 405–416, 2012.

KUMAR, P. T. et al. Vitamin D3 restores altered cholinergic and insulin receptor expression in the cerebral cortex and muscarinic M3 receptor expression in pancreatic islets of streptozotocin induced diabetic rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 22, n. 5, p. 418–425, 2011.

LAAKSONEN, D. et al. Epidemiology and treatment of the metabolic syndrome. **Annals of Medicine**, v. 36, n. 5, p. 332–346, 2004.

LEVEY, A. S. et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. **Annals of Internal Medicine**, v. 150, n. 9, p. 604–612, 2009.

LEVIN, G. P. et al. Genetic Variants and Associations of 25-Hydroxyvitamin D Concentrations With Major Clinical Outcomes. **Journal of the American Medical Association**, v. 308, n. 18, p. 1898–1905, 2012.

LUONG, K. V. Q.; HOANG NGUYEN, L. T.; PHAM NGUYEN, D. N. The role of vitamin D in protecting type 1 diabetes mellitus. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 21, n. 4, p. 338–346, 2005.

MAEDA, S. S. et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 58, n. 5, p. 411–433, 2014.

MALIK, R. A. et al. Effect of angiotensin-converting-enzyme (ACE) inhibitor trandolapril on human diabetic neuropathy: Randomised double-blind controlled trial. **Lancet**, v. 352, n. 9145, p. 1978–1981, 1998.

MANN, M. C. et al. Vitamin D supplementation is associated with improved modulation of cardiac autonomic tone in healthy humans. **International Journal of Cardiology**, v. 172, n. 2, p. 506–508, 2014.

MANZELLA, D. et al. Chronic administration of pharmacologic doses of vitamin E improves the cardiac autonomic nervous system in patients with type 2 diabetes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 6, p. 1052–1057 6p, 2001.

MARTIN A. KRIEGEL, JOANN E. MANSON, AND K. H. C. Does Vitamin D Affect Risk of Developing Autoimmune Disease?: A Systematic Review. **National Institutes of Health**, v. 40, n. 6, p. 512–531, 2012.

MASER, R. E. . B; LENHARD, M. J. . C; POHLIG, R. T. . Vitamin D insufficiency is associated with reduced parasympathetic nerve fiber function in type 2 diabetes. **Endocrine Practice**, v. 21, n. 2, p. 174–181, 2015.

NEGRATO, CA et al. Temporal trends in incidence of type 1 diabetes between 1986 and 2006 in Brazil. **J Endocrinol Invest**, v. 33, p. 373-377, 2010.

NETTO, A. P. HbA1c e o controle glicêmico: um desafio para todos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 45, n. 1, p. 6–6, 2009.

PATTERSON, C. C. et al. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. **The Lancet**, v. 373, n. 9680, p. 2027–2033, 2009.

POLITI, C. et al. Recent advances in exploring the genetic susceptibility to diabetic neuropathy. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 120, n. 0, p. 198–208, 2016.

POP-BUSUI, R. et al. Effects of Prior Intensive Insulin Therapy on Cardiac Autonomic Nervous System Function in Type 1 Diabetes: The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study (DCCT/EDIC). v. 119, n. 22, p. 2886–2893, 2010.

POP-BUSUI, R. et al. Effects of triple antioxidant therapy on measures of cardiovascular autonomic neuropathy and on myocardial blood flow in type 1 diabetes: A randomised controlled trial. **Diabetologia**, v. 56, n. 8, p. 1835–1844, 2013.

RIAZ, S. et al. A vitamin D3 derivative (CB1093) induces nerve growth factor and prevents neurotrophic deficits in streptozotocin-diabetic rats. **Diabetologia**, v. 42, n. 11, p. 1308–1313, 1999.

RÖHLING, M. et al. Cardiorespiratory Fitness and Cardiac Autonomic Function in Diabetes. **Current Diabetes Reports**, v. 17, n. 12, 2017.

ROLIM, L. C.; DE SOUZA, J. S. T.; DIB, S. A. Tests for early diagnosis of cardiovascular autonomic neuropathy: Critical analysis and relevance. **Frontiers in Endocrinology**, v. 4, n. NOV, p. 2–5, 2013.

ROSS, A. C. et al. The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians Need to Know. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 96, n. 1, p. 53–58, jan. 2011.

SCHUCH, N. J.; GARCIA, V. C.; MARTINI, L. A. Vitamina D e doenças endocrinometabólicas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 625–633, 2009.

SCHWALFENBERG, G. K. A review of the critical role of vitamin D in the functioning of the immune system and the clinical implications of vitamin D deficiency. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 55, n. 1, p. 96–108, 2011.

SEYD, A. P. T.; JOSEPH, P. K.; JACOB, J. Automated diagnosis of diabetes using heart rate variability signals. **Journal of Medical Systems**, v. 36, n. 3, p. 1935–1941, 2012.

SILVA, M. E. R.; MORY, D.; DAVINI, E. Marcadores genéticos e auto-ímmunes do diabetes melito tipo 1: da teoria para a prática. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 2, p. 166–180, 2008.

SPALLONE, V. et al. Cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes: clinical impact, assessment, diagnosis and management. **Diabetes/metabolismo Research and Review**, v. 27, n. 7, p. 639–53, 2011b.

SPALLONE, V. et al. Recommendations for the use of cardiovascular tests in diagnosing diabetic autonomic neuropathy. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 21, n. 1, p. 69–78, 2011a.

TAHRANI, A. A. et al. Obstructive sleep apnea and diabetic neuropathy: A novel association in patients with type 2 diabetes. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 186, n. 5, p. 434–441, 2012.

TAKASE, B. et al. Heart rate variability in patients with diabetes mellitus, ischemic heart disease, and congestive heart failure. **Journal of electrocardiology**, v. 25, n. 2, p. 79–88, 1992.

TO, B.; BY, Y.; HISTORY, F. S. The Most Powerful Indicator. 1999.

VINIK, A. I. et al. Diabetic autonomic neuropathy. **Diabetes care**, v. 26, n. 5, p. 1553–79, 2003.

VINIK, A. I.; ANANDACOOMARASWAMY, D.; ULLAL, J. Antibodies to neuronal structures: Innocent bystanders or neurotoxins? **Diabetes Care**, v. 28, n. 8, p. 2067–2072, 2005.

VINIK, A. I.; ZIEGLER, D. **Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy** *Circulation*, 2007.

WAGNER, D.; HANWELL, H. E. C.; VIETH, R. An evaluation of automated methods for measurement of serum 25-hydroxyvitamin D. **Clinical Biochemistry**, v. 42, n. 15, p. 1549–1556, 2009.

WANG, T. J. et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. **The Lancet**, v. 376, n. 9736, p. 180–188, jul. 2010.

WINER, N.; SOWERS, J. R. Epidemiology of Diabetes. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 44, n. 4, p. 397–405, 2004.

WU, C. et al. Vitamin D supplementation and glycemic control in type 2 diabetes patients: A systematic review and meta-analysis. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 73, p. 67–76, 2017.

ZHU, H. et al. A genome-wide methylation study of severe vitamin d deficiency in African American adolescents. **Journal of Pediatrics**, v. 162, n. 5, p. 1004–1009.e1, 2013.

ZIEGLER, D. et al. Differential associations of lower cardiac vagal tone with insulin resistance and insulin secretion in recently diagnosed type 1 and type 2 diabetes. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 79, p. 1–9, 2018.

ZIEGLER, D. et al. Effects of treatment with the antioxidant alpha-lipoic acid on cardiac autonomic neuropathy in NIDDM patients. A 4-month randomized controlled multicenter trial (DEKAN Study). *Deutsche Kardiale Autonome Neuropathie*. **Diabetes care**, v. 20, n. 3, p. 369–73, mar. 1997.

ZIEGLER, D. et al. Time- and frequency-domain estimation of early diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. **Clinical Autonomic Research**, v. 11, n. 6, p. 369–376, 2001.

ZUBAIR, M. et al. 25-Hydroxyvitamin D [25(OH)D] levels and diabetic foot ulcer: Is there any relationship? **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 7, n. 3, p. 148–153, 2013.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.

Título: Avaliação da neuropatia autonômica cardiovascular após suplementação de vitamina D em paciente diabéticos tipo I.

Você está sendo convidado a participar de um estudo clínico. É importante que você leia esse termo de consentimento cuidadosamente e leve o tempo que precisar para esclarecer suas dúvidas com a equipe do estudo.

QUAL É O OBJETIVO DO ESTUDO?

O Diabetes Mellitus tipo 1 é a doença endócrina mais comum em indivíduos jovens em países desenvolvidos e em desenvolvimento, representando cerca de 10 % de todos os casos de diabetes. Até 90 % dos pacientes com diabetes tipo 1 apresentam ao longo da vida neuropatia autonômica cardiovascular, que se trata de uma complicação que afeta os nervos do coração e dos grandes vasos e a sua presença aumenta a chance de morte nestes pacientes. Alguns estudos demonstram melhora nos níveis de hemoglobina glicada e da neuropatia autonômica em pacientes diabéticos tratados da deficiência de vitamina D, contudo existem poucos estudos sobre a influência da suplementação de vitamina D no controle glicêmico e dos parâmetros desta neuropatia específica de diabéticos não deficientes. A proposta deste projeto é avaliar o impacto da suplementação de vitamina D no controle e variabilidade glicêmica de pacientes diabéticos tipo 1, demonstrando se existem benefícios nos níveis de hemoglobina glicada, na sensibilidade insulínica e nos testes de neuropatia autonômica cardiovascular.

POR QUE FUI ESCOLHIDO? QUANTAS PESSOAS PARTICIPARÃO DESTE ESTUDO?

Você foi escolhido por ter diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 1 e idade superior a 18 anos, além de fazer uso de insulina glargina ou detemir e/ou insulina regular e/ou ultra-rápida em dose estável. O estudo será conduzido em 30 pessoas de ambos os sexos.

EU SOU OBRIGADO (A) PARTICIPAR?

Sua participação é voluntária e você tem o direito de se retirar deste estudo a qualquer momento.

QUAIS SÃO AS MINHAS RESPONSABILIDADES?

Iniciais do (a) Paciente: _____

Permitir que a equipe do estudo tenha acesso aos meus dados médicos e permitir realização de exames complementares incluindo coleta de sangue.

O QUE ACONTECERÁ COMIGO SE EU DECIDIR PARTICIPAR?

Se você decidir participar do estudo, você deverá assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes que quaisquer atividades relacionadas ao estudo sejam realizadas.

Na visita 1 você será entrevistado e instruído a realizar durante 3 dias consecutivos o perfil de glicose de 7 pontos, que são medidas da glicemia capilar (ponta de dedo) antes do café da manhã, 2 horas após café da manhã, antes do almoço, 2 horas após o almoço, antes do jantar, 2 horas após o jantar, na hora de dormir e as 3 horas da manhã, e será submetido ao exame de monitorização contínua da glicose nas 24 horas, monitorização pressórica nas 24 horas, testes de neuropatia autonômica cardiovascular e periférica, dosagens de microalbuminúria nas 24 horas para avaliar o seu rim e coletas de sangue e urina.

Na visita 2, sete a quatorze dias após a visita 1, você será orientado a realizar glicemia capilar em jejum diariamente e contatar a equipe do estudo e /ou seu médico se houver glicemia capilar em jejum maior que 240 mg/dL em 2 dias consecutivos ou hipoglicemias recorrentes. Uma nova amostra de sangue será coletada e você receberá colecalciferol (vitamina D) 4000 UI ou 10000UI/dia, de acordo com os seus níveis de vitamina no sangue e será instruído a tomar 20gotas ou 50 gotas diariamente por um período de 12 semanas, e não modificar as doses das insulinas sem contato prévio com a equipe do estudo ou seu médico usual.

Na visita 3, doze semanas após a visita 2, você será entrevistado e será submetido a nova coleta de sangue e aos mesmos exames realizados na visita 1. Se os seus níveis de 25(OH)D estiverem menores que 40 ng/mL você poderá optar em participar de um período de extensão por mais 12 semanas em uso de colecalciferol.

Na visita 4, doze semanas após a visita 3, você será entrevistado, sua medicação do estudo (colecalciferol) será retida pela equipe do estudo e você será submetido a coleta de sangue, e novamente aos exames realizados na visita 1.

COMO SERÃO COLETAS AS AMOSTRAS DE SANGUE?

Duas amostras de sangue (total 50 mL) serão colhidas em um intervalo de 14 dias nas Iniciais do (a) Paciente: _____ visitas 1 e 2, e mais duas amostras de sangue (total 50 mL) serão coletadas após 3 meses em um intervalo de 14 dias na visita 3 para avaliar seus níveis de hemoglobina glicada, glicemia de jejum, cálcio total, cálcio ionizado, albumina, fósforo, 25-hidroxi-vitamina D, proteína C reativa (PCR) ultra-sensível, perfil lipídico e bioquímica. Ou seja, no total você fornecerá 100 mL de sangue durante o estudo. Caso você ainda esteja com seus níveis de 25(OH)D menores que 40 ng/mL você poderá optar por participar de uma fase de extensão do estudo de mais 3 meses em uso de colecalciferol e realizará a visita 4. Na visita 4 será coletado sangue (total 50 mL) em um intervalo de 14 dias. Para avaliar os mesmos exames da visita 1. Estas avaliações requerem que você esteja em jejum, portanto você não deve comer ou beber nada além de água por no mínimo 8 horas antes de sua visita à clínica.

É possível que ocorra algum desconforto ou hematoma quando as amostras de sangue forem colhidas. No entanto, será tomado todo o cuidado para que estes riscos sejam mínimos.

Duas ou três (caso você participe da fase de extensão) amostras sanguíneas suas serão armazenadas, por um período de 10 anos, no Centro de Pesquisa de Endocrinologia do HUIBB/UFPA, sobre a responsabilidade do Prof. Dr. João Soares Felício, com a finalidade de utilizá-las caso surjam novos marcadores relacionados ao Diabetes Mellitus tipo 1 e deficiência/insuficiência de vitamina D. Você será comunicado caso sua amostra seja transferida dentro da instituição ou para outra instituição, ou se for perdida, ou destruída.

O QUE É CGMS?

É um sistema de monitoramento contínuo de glicose, usado para identificar níveis não saudáveis de açúcar no sangue (glicose) em pessoas com diabetes, permitindo assim que o médico possa identificar as alterações desses níveis e juntamente com o paciente possam aperfeiçoar o tratamento. O CGMS utiliza um sensor de glicose, que é colocado sob a pele, e também um monitor externo com o tamanho de um *Pager* que armazena as leituras contínuas de glicose. É usado num período de um a três dias e mede os níveis de glicose a cada 10 segundos e armazena a média destas leituras a cada intervalo de 5 minutos.

QUAIS SÃO OS PRINCIPAIS BENEFÍCIOS DA MINHA PARTICIPAÇÃO?

Neste estudo, você terá uma avaliação clínica que possibilitará a detecção precoce de Iniciais do (a) Paciente: _____
deficiência de vitamina D e aprenderá a realizar a auto-monitorização do controle glicêmico.

E QUANTO À CONFIDENCIALIDADE?

O sigilo dos dados será garantido de acordo com as normas brasileiras. Sua identidade pessoal, ou seja, seu nome, endereço e outros dados que possam identificá-lo permanecerão em sigilo. Para isso, você será identificado por meio de um código, data de nascimento, sexo e iniciais do seu nome. Além disso, os dados coletados serão utilizados apenas para esta pesquisa.

QUEM REVISOU ESTE ESTUDO?

O estudo foi revisado pelo Dr. João Soares Felício e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto.

EU VOU TER ALGUM CUSTO?

Não haverá nenhum custo para você, para a consulta e exames relacionados ao estudo. A equipe do estudo arcará com as despesas relacionadas ao transporte no dia das consultas.

COMO SEREI INFORMADO SOBRE OS RESULTADOS DO ESTUDO?

Os resultados publicados do estudo estarão disponíveis em periódicos médicos (jornais e revistas especializadas).

INCONVENIÊNCIAS RAZOAVELMENTE PREVISÍVEIS:

Participar de um estudo clínico pode acrescentar uma responsabilidade em sua vida. Por favor, considere os compromissos do estudo e as suas responsabilidades.

CONTATO DA EQUIPE DO ESTUDO

Em qualquer momento do estudo, para esclarecimento de dúvidas, os pacientes, seus responsáveis e familiares terão acesso aos pesquisadores, que são: Karem Miléo Felício

Iniciais do (a) Paciente: _____

(telefone: 32239721 / 99824773) e o professor orientador Dr. João Soares Felício (telefone: 32291329 / 99882972). O estudo será realizado no Hospital Universitário João de Barros Barreto, cujo endereço é Rua dos Mundurucus, 4487, Guamá, Belém – PA (telefone: 3201-6600).

DECLARAÇÃO

Declaro que compreendi as informações do que li ou que me foram explicadas sobre o trabalho em questão.

A equipe do estudo forneceu todas as explicações sobre esse estudo clínico e as minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente, ficando claros para mim quais são os propósitos da pesquisa, os procedimentos a serem realizados, os possíveis desconfortos e riscos e as garantias de confidencialidade. Ficou claro também que minha participação não tem despesas.

Concordo em participar desse estudo clínico. Entendo que minha participação é voluntária e que posso me recusar a participar ou sair do estudo a qualquer momento e que não serei penalizado de nenhuma forma.

Receberei uma via deste termo assinada e rubricada em todas as páginas pela pessoa responsável pela obtenção deste documento.

Nome do (a) Paciente: _____
(A ser preenchido pelo paciente ou responsável legal ou testemunha, se aplicáveis).

Assinatura do (a) Paciente: _____

Data: ___/___/___
(ou digital do paciente) (datado pelo paciente)

Assinatura da Testemunha Imparcial: _____

Data: ___/___/___
(Apenas se aplicável) (datado pela testemunha)

Assinatura do (a) representante legal: _____

Data: ___/___/___

(Apenas se aplicável) (datado pelo representante legal)

Confirmo que expliquei pessoalmente a natureza, o propósito, duração e riscos previsíveis do estudo ao paciente supra mencionado.

Nome do responsável pela condução da discussão sobre o Termo de Consentimento

Livre e Esclarecido: _____

Assinatura: _____

Data: ___/___/___

APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMENTO

TERMO DE ASSENTIMENTO – INFORMAÇÕES PARA CRIANÇAS ALFABETIZADAS

Título: Avaliação da neuropatia autonômica cardiovascular após suplementação de vitamina D em paciente diabéticos tipo I.

Você está sendo convidado a participar de um estudo clínico. É importante que você leia esse termo de assentimento cuidadosamente e leve o tempo que precisar. Seus pais/responsável e o médico do estudo responderão a todas as suas dúvidas. Se concordar em participar deste estudo, você deverá seguir todas as orientações que o médico do estudo der a você.

QUAL É O OBJETIVO DO ESTUDO?

O Diabetes Mellitus tipo 1 é a doença endócrina mais comum em indivíduos jovens em países desenvolvidos e em desenvolvimento, representando cerca de 10 % de todos os casos de diabetes. Até 90 % dos pacientes com diabetes tipo 1 apresentam ao longo da vida neuropatia autonômica cardiovascular, que se trata de uma complicação que afeta os nervos do coração e dos grandes vasos e a sua presença aumenta a chance de morte nestes pacientes. Alguns estudos demonstram melhora nos níveis de hemoglobina glicada da neuropatia autonômica em pacientes diabéticos tratados da deficiência de vitamina D, contudo existem poucos estudos sobre a influência da suplementação de vitamina D no controle glicêmico e dos parâmetros desta neuropatia específica de diabéticos não deficientes. A proposta deste projeto é avaliar o impacto da suplementação de vitamina D no controle e variabilidade glicêmica de pacientes diabéticos tipo 1, demonstrando se existem benefícios nos níveis de hemoglobina glicada e na sensibilidade insulínica e nos testes de neuropatia autonômica cardiovascular.

POR QUE FUI ESCOLHIDO? QUANTAS PESSOAS PARTICIPARÃO DESTA ESTUDO?

Você foi escolhido por ter diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 1 e idade superior a 12 anos, além de fazer uso de insulina em dose estável. O estudo será conduzido em 40 pessoas de ambos os sexos.

EU SOU OBRIGADO (A) PARTICIPAR?

Sua participação é voluntária e você tem o direito de se retirar deste estudo a qualquer momento

Iniciais do (a) Paciente: _____

QUAIS SÃO AS MINHAS RESPONSABILIDADES?

Permitir que a equipe do estudo tenha acesso aos meus dados médicos e permitir realização de exames complementares incluindo coleta de sangue.

O QUE ACONTECERÁ COMIGO SE EU DECIDIR PARTICIPAR?

Se você decidir participar do estudo, você deverá assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes que quaisquer atividades relacionadas ao estudo sejam realizadas.

Na visita 1 você será entrevistado e instruído a realizar durante 3 dias consecutivos o perfil de glicose de 7 pontos, que são medidas da glicemia capilar (ponta de dedo) antes do café da manhã, 2 horas após café da manhã, antes do almoço, 2 horas após o almoço, antes do jantar, 2 horas após o jantar, na hora de dormir e as 3 horas da manhã, e será submetido ao exame de monitorização contínua da glicose nas 24 horas, monitorização pressórica nas 24 horas, testes de neuropatia autonômica cardiovascular e periférica, dosagens de microalbuminúria nas 24 horas para avaliar o seu rim e coletas de sangue e urina.

Na visita 2, sete a quatorze dias após a visita 1, você será orientado a realizar glicemia capilar em jejum diariamente e contatar a equipe do estudo e /ou seu médico se houver glicemia capilar em jejum maior que 240 mg/dL em 2 dias consecutivos ou hipoglicemias recorrentes. Uma nova amostra de sangue será coletada e você receberá colecalciferol (vitamina D) 4000 UI ou 10000UI/dia, de acordo com os seus níveis de vitamina no sangue e será instruído a tomar 20gotas ou 50 gotas diariamente por um período de 12 semanas, e não modificar as doses das insulinas sem contato prévio com a equipe do estudo ou seu médico usual.

Na visita 3, doze semanas após a visita 2, você será entrevistado e será submetido a nova coleta de sangue e aos mesmos exames realizados na visita 1. Se os seus níveis de 25(OH)D estiverem menores que 40 ng/mL você poderá optar em participar de um período de extensão por mais 12 semanas em uso de colecalciferol.

Na visita 4, doze semanas após a visita 3, você será entrevistado, sua medicação do estudo (colecalciferol) será retida pela equipe do estudo e você será submetido a coleta de sangue, e novamente aos exames realizados na visita 1.

Iniciais do (a) Paciente: _____

COMO SERÃO COLETAS AS AMOSTRAS DE SANGUE?

Duas amostras de sangue (total 50 mL) serão colhidas em um intervalo de 14 dias nas visitas 1 e 2, e mais duas amostras de sangue (total 50 mL) serão coletadas após 3 meses em um intervalo de 14 dias na visita 3 para avaliar seus níveis de hemoglobina glicada, glicemia de jejum, cálcio total, cálcio ionizado, albumina, fósforo, 25-hidroxi-vitamina D, proteína C reativa (PCR) ultrasensível, perfil lipídico e bioquímica. Ou seja, no total você fornecerá 100 mL de sangue durante o estudo. Caso você ainda esteja com seus níveis de 25(OH)D menores que 40 ng/mL você poderá optar por participar de uma fase de extensão do estudo de mais 3 meses em uso de colecalciferol e realizará a visita 4. Na visita 4 será coletado sangue (total 50 mL) em um intervalo de 14 dias. Para avaliar os mesmos exames da visita 1. Estas avaliações requerem que você esteja em jejum, portanto você não deve comer ou beber nada além de água por no mínimo 8 horas antes de sua visita à clínica.

É possível que ocorra algum desconforto ou hematoma quando as amostras de sangue forem colhidas. No entanto, será tomado todo o cuidado para que estes riscos sejam mínimos.

Duas ou três (caso você participe da fase de extensão) amostras sanguíneas suas serão armazenadas, por um período de 10 anos, no Centro de Pesquisa de Endocrinologia do HUIBB/UFPA, sobre a responsabilidade do Prof. Dr. João Soares Felício, com a finalidade de utilizá-las caso surjam novos marcadores relacionados ao Diabetes Mellitus tipo 1 e deficiência/insuficiência de vitamina D. Você será comunicado caso sua amostra seja transferida dentro da instituição ou para outra instituição, ou se for perdida, ou destruída.

O QUE É CGMS?

É um sistema de monitoramento contínuo de glicose, usado para identificar níveis não saudáveis de açúcar no sangue (glicose) em pessoas com diabetes, permitindo assim que o médico possa identificar as alterações desses níveis e juntamente com o paciente possam aperfeiçoar o tratamento. O CGMS utiliza um sensor de glicose, que é colocado sob a pele, e também um monitor externo com o tamanho de um Pager que armazena as leituras contínuas de glicose. É usado num período de um a três dias e mede os níveis de glicose a cada 10 segundos e armazena a média destas leituras a cada intervalo de 5 minutos.

Iniciais do (a) Paciente: _____

QUAIS SÃO OS PRINCIPAIS BENEFÍCIOS DA MINHA PARTICIPAÇÃO?

Neste estudo, você terá uma avaliação clínica que possibilitará a detecção precoce de deficiência de vitamina D e aprenderá a realizar a auto-monitorização do controle glicêmico.

E QUANTO À CONFIDENCIALIDADE?

O sigilo dos dados será garantido de acordo com as normas brasileiras. Sua identidade pessoal, ou seja, seu nome, endereço e outros dados que possam identificá-lo permanecerão em sigilo. Para isso, você será identificado por meio de um código, data de nascimento, sexo e iniciais do seu nome. Além disso, os dados coletados serão utilizados apenas para esta pesquisa.

QUEM REVISOU ESTE ESTUDO?

O estudo foi revisado pelo Dr. João Soares Felício e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto.

EU VOU TER ALGUM CUSTO?

Não haverá nenhum custo para você, para a consulta e exames relacionados ao estudo. A equipe do estudo arcará com as despesas relacionadas ao transporte no dia das consultas.

COMO SEREI INFORMADO SOBRE OS RESULTADOS DO ESTUDO?

Os resultados publicados do estudo estarão disponíveis em periódicos médicos (jornais e revistas especializadas).

INCONVENIÊNCIAS RAZOAVELMENTE PREVISÍVEIS:

Participar de um estudo clínico pode acrescentar uma responsabilidade em sua vida. Por favor, considere os compromissos do estudo e as suas responsabilidades.

CONTATO DA EQUIPE DO ESTUDO

Iniciais do (a) Paciente: _____

Em qualquer momento do estudo, para esclarecimento de dúvidas, os pacientes, seus responsáveis e familiares terão acesso aos pesquisadores, que são: Karem Miléo Felício (telefone: 32239721 / 99824773) e o professor orientador Dr. João Soares Felício (telefone: 32291329 / 99882972). O estudo será realizado no Hospital Universitário João de Barros Barreto, cujo endereço é Rua dos Mundurucus, 4487, Guamá, Belém – PA (telefone: 3201-6600).

DECLARAÇÃO

Declaro que compreendi as informações do que li ou que me foram explicadas sobre o trabalho em questão.

A equipe do estudo forneceu todas as explicações sobre esse estudo clínico e as minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente, ficando claros para mim quais são os propósitos da pesquisa, os procedimentos a serem realizados, os possíveis desconfortos e riscos e as garantias de confidencialidade. Ficou claro também que minha participação não tem despesas.

Concordo em participar desse estudo clínico. Entendo que minha participação é voluntária e que posso me recusar a participar ou sair do estudo a qualquer momento e que não serei penalizado de nenhuma forma.

Receberei uma via deste termo assinada e rubricada em todas as páginas pela pessoa responsável pela obtenção deste documento.

Recebi explicações do meu médico e eu gostaria de participar do estudo.

Nome da criança (em letras de forma): _____

Assinatura da criança: _____

Data: ___/___/___

Nome do pai/mãe/representante legal: _____

(em letras de forma)

Assinatura do pai/mãe/representante legal: _____

Data: ___/___/___

Nome do pai/mãe/representante legal: _____

(em letras de forma)

Assinatura do pai/mãe/representante legal: _____

Data: ___/___/___

Nome da pessoa que conduziu o consentimento (em letras de forma): _____

Assinatura da pessoa que conduziu o consentimento: _____

Data: ___/___/___

Nome da testemunha (em letras de forma): _____

Assinatura da testemunha: _____ **Data:** ___/___/___

OU

_____ (nome da <<Criança>> em letras de forma) é incapaz de apresentar o consentimento pelo(s) seguinte(s) motivo(s):

(Inserir motivo(s)) e eu, pai/mãe/representante legal, concordo com a participação de _____ (nome da <<Criança>> em letras de forma)

neste estudo.

Nome do pai/mãe/representante legal: _____

(em letras de forma)

Assinatura do pai/mãe/representante legal: _____

Data: ___/___/___

Nome do pai/mãe/representante legal: _____

(em letras de forma)

Assinatura do pai/mãe/representante legal: _____

Data: ___/___/___

Nome da pessoa que conduziu o consentimento (em letras de forma): _____

Assinatura da pessoa que conduziu o consentimento: _____

Data: ___/___/___

Nome da testemunha (em letras de forma) _____

Assinatura da testemunha: _____ **Data:** ___/___/___

APÊNDICE C – VISITA 1 – TRIAGEM



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO**

DATA: _____

VISITA 1 TRIAGEM

ÁS: _____

PROTOCOLO: Mestrado

ORIENTADOR: Prof. Dr. João Felício

INICIAIS DO (A) PACIENTE: _____ N° _____

Matricula a instituição: _____

Atualização do contato: _____

1 - OBTENÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO (TCLE)-
obrigatório.

1.1 Data da Obtenção do TCLE: _____

1.2 Versão do TCLE obtido: _____

1.3 Foi obtido Termo de Assentimento (em caso de paciente menor alfabetizado)? SIM ou
NÃO . Caso sim especifique.

2 - DEMOGRAFIA.

2.1 Data de Nascimento: _____ 2.2 Idade: _____

2.3 Sexo: _____

2.4 Raça: _____ 2.5 Etnia: _____

3 - CONDIÇÕES REPRODUTIVAS (apenas para mulheres).

G _P_ _A_ _____

3.1 Com base no exposto acima, descreva se há ou não potencial para gravidez para essa
paciente: _____

3.2 A paciente está amamentando? _____

4 - QUAL A PROCEDÊNCIA DESSE (A) PACIENTE PARA ESSE ESTUDO?

5 - HISTÓRIA DO DIABETES.

5.1 Data do início do diabetes: _____

5.2 Há história de retinopatia diabética? SIM ou NÃO . Caso sim especifique.

5.3 Há história de nefropatia diabética? SIM ou NÃO . Caso sim especifique.

5.4 Há história de neuropatia diabética? SIM ou NÃO . Caso sim especifique.

5.5 Há história de pé diabético? SIM ou NÃO . Caso sim especifique.

5.6 Há doença arterial coronariana conhecida? SIM ou NÃO . Caso sim especifique.

5.7 Há história de doença arterial periférica oclusiva? SIM ou NÃO . Caso sim, especifique.

5.8 Há história de doença cerebrovascular (AVC)? SIM ou NÃO . Caso sim, especifique.

5.9 Há história de hipertensão? SIM ou NÃO , caso sim, especifique.

5.10 O (a) paciente tem experiência em auto-monitorização com outro glicosímetro, há pelo menos 6 meses? SIM ou NÃO . Caso não especifique.

5.11 Há história de dislipidemia? SIM ou NÃO , caso sim, especifique.

6 - HISTÓRIA CIRÚRGICA E MÉDICA GERAL– DOENÇAS CONCOMITANTES -TODOS OS SISTEMAS DEVEM SER CHECADOS.

6.1 CABEÇA: _____

6.2 NARIZ: _____

6.3 OUVIDO: _____

6.4 GARGANTA: _____

6.5 OLHOS: _____

6.6 DERMATOLÓGICO: _____

6.7 CARDIOVASCULAR: _____

– Há história de hipertensão? SIM ou NÃO , caso sim, especifique.

6.8 RESPIRATÓRIO: _____

6.9 VASCULAR PERIFÉRICO: _____

6.10 HEMATOLINFÁTICO: _____

6.11 GASTROINTESTINAL: _____

6.12 HEPATOBILIAR: _____

6.13 RENAL: _____

6.14 GENITOURINÁRIO: _____

6.15 NEUROLÓGICO: _____

6.16 PSIQUIÁTRICO: _____

6.17 MUSCULOESQUELÉTICO: _____

6.18 ENDOCRINOLÓGICO: _____

6.19 ONCOLÓGICO: _____

6.20 PROCTOLÓGICO: _____

6.21 INFECTO-CONTAGIOSO: _____

Adicionar nos espaços abaixo, identificando a qual subitem de sistema se aplica, caso os espaços acima não sejam suficientes para reportar alguma condição médica.

7 - ESTILO DE VIDA

7.1 Sobre tabagismo: especifique número de cigarros, se aplicável.

7.2 Sobre o uso de bebida alcoólica: especificar se houve ou se há abuso, número de drinks por ocasião.

7.3 Sobre o uso de drogas ilícitas:

7.4 Adere a dieta com restrição de carboidrato? SIM ou NÃO , caso não, especifique.

7.5 Pratica algum tipo de atividade física? Especifique

8 - MEDICAÇÕES PRÉVIAS E CONCOMITANTES (últimos 3 meses). Especificar o nome das medicações, data de início e fim se aplicável, e a indicação do uso. Cite o período do dia, se aplicável, ou horário de tomada das medicações.

8.1 MEDICAÇÕES PARA TRATAMENTO DO DIABETES (últimos 3 meses). Tipo e regime de insulina, doses diárias totais de insulina, duração do regime atual de insulina (pelo menos 3 meses)

9 - SINAIS VITAIS

– Medidas de Pressão Arterial (PA) e Pulso (FC)

Braço Direito

Braço Esquerdo

PA _____ mmHg Hora ____:____ PA _____ mmHg Hora ____:____

Braço eleito para se verificar a PA durante esse estudo: _____

Peso: _____ Kg. Estatura: _____ cm IMC: _____

10 - EXAME FÍSICO GERAL

Adicionar com os caracteres de intensidade, se possível. Mesmo que não haja alteração, o sistema examinado deve ser citado como, por exemplo: sem alteração.

As condições verificadas no exame físico as quais o paciente não tenha referido como história médica terão como data de início a data do exame físico.

10.1 EXAME NEURÓLOGICO: SIM ou NÃO , caso sim, especifique. _____

10.2 TESTE DE NEUROPATIA AUTONÔMICA

Paciente posicionado em decúbito dorsal, com a cabeceira elevada a 45°, sem nenhum objeto metálico, após repouso de 5 minutos. Deve-se colocar os eletrodos em membros inferiores e superiores e conectar ao sistema VNS-MICRO.

10.2.1: ECG DE REPOUSO 5 MIN

10.2.1: MANOBRA DE INSPIRAÇÃO/EXPIRAÇÃO PROFUNDAS: realizar 3X, com intervalo de 1 min entre cada manobra

10.2.3: MANOBRA DE VALSALVA: Solicitar que o paciente realize um esforço expiratório até que atinja uma pressão de 40mmHg e então registrar o ECG durante 15 segundos, solicitar que paciente interrompa o esforço e continuar registrando o traçado até 45 segundos. Realizar esta manobra 2X, com 5 minutos de intervalo entre cada uma dela.

10.2.4: MANOBRA DE ORTOSTATISMO: Verificar a pressão arterial do paciente ainda em decúbito dorsal e solicitar que o mesmo fique em pé. Registrar o ECG desde o primeiro movimento para a mudança de posição e verificar novamente a pressão arterial após 1 e 3 min, quando se encerra o teste.

11 - QUANTO AOS CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE?

11.1 O (a) paciente apresenta todos os critérios de elegibilidade para esse estudo, ou seja, apresenta todos os critérios de inclusão e não apresenta nenhum critério de exclusão? SIM ou NÃO . Caso não especifique:

12 - FOI COLETADO O PAINEL BASAL DE LABORATÓRIO PREVISTO? SIM ou NÃO . Caso não especifique: _____

12.1 Foi coletada vitamina D para a análise por HPLC? SIM ou NÃO . Caso não, providenciar antes da randomização (são validos os exames dos últimos 3 meses)

12.2 O paciente apresenta duas amostra de microalbuminuria em urina 24h? SIM ou NÃO . Caso não especifique:

13 - SOBRE O CGMS (GUARDIAN®)

13.1 Foi instalado o GUARDIAN® no (a) paciente?

DIA E HORA DA INSTALAÇÃO: _____

DIA E HORA DA RETIRADA _____

14 - COMENTÁRIOS ADICIONAIS

15 - CONDUTA MÉDICA:

Assinatura, carimbo e data.

APÊNDICE D – VISITA 2



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO**

DATA: _____

VISITA 2

ÁS: _____

PROTOCOLO: Mestrado

ORIENTADOR: Prof. Dr. João Felício

INICIAIS DO (A) PACIENTE: _____ Nº _____

Matricula a instituição: _____

Atualização do contato _____

1 - HIPÓTESES DIAGNÓSTICAS:

2 - SOBRE MEDICAÇÕES:

2.1 MEDICAÇÕES (não insulínicas) EM USO:

2.2 MEDICAÇÕES (insulínicas) PARA TRATAMENTO DO DIABETES.

_____2.3 HOUVE MEDICAÇÃO (S) CONCOMITANTE (S) ADICIONAL (AIS): **SIM** **ou**
NÃO , se SIM, especificar:_____

3 - SOBRE EVENTO ADVERSO:

3.1 O (a) paciente relatou algum evento adverso? **SIM** **ou** **NÃO** , se SIM, especificar:

3.2 O (a) paciente relatou algum evento de hipoglicemia confirmado pelo glicosímetro
(glicemia \leq 70 mg/dL)? **SIM** **ou** **NÃO** , se SIM, especificar:_____
_____3.3 Algum destes episódios foi de hipoglicemia grave (glicemia \leq 36 mg/dL e
comprometimento do nível de consciência ou necessidade de ajuda para se recupera)? **SIM**
ou **NÃO** , se SIM, especificar:_____

4 - SINAIS VITAIS

– Medidas de Pressão Arterial (PA) e Pulso (FC)

Braço eleito para se verificar a PA durante esse estudo _____

Peso: _____ Kg.

Circunferência da cintura: _____

Circunferência do quadril: _____ Rc/q : _____

5 - SOBRE O CONROLE GLICÊMICO:

5.1 Realizou perfil de 7 pontos? **SIM** **ou NÃO** , se SIM, **anexar**.

5.2 Foi realizado perfil glicêmico com Guardian? **SIM** **ou NÃO** , se SIM, **anexar**.

6 - CHECAR SE TODOS OS PROCEDIMENTOS BASAIS FORAM REALIZADOS ANTES DE INICIAR A MEDICAÇÃO DO ESTUDO:

Laboratório Basal	Coleta de biorepósito	Vitamina D	Guardian

6.1 Todos os laboratórios basais foram devidamente checados, incluindo o valor da vitamina D? **SIM** **ou NÃO** se não, especifique:

7 - SOBRE A DOSE DE VITAMINA D: _____

7.1 Qual o grupo elegível para este paciente?

Grupo 1 – 10.000UI/Vit D:

Grupo 2 – 4.000UI/Vit D:

8 - COMENTÁRIOS ADICIONAIS

9 - CONDUTA MÉDICA: PRESCRIÇÃO

10 - EXAMES SOLICITADOS Á CRITÉRIO CLÍNICO: _____

11 - DATA DO RETORNO: _____

Data, assinatura e carimbo

APÊNDICE E – VISITA 3



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO**

DATA: _____

VISITA 3

ÀS: _____

PROTOCOLO: Mestrado

ORIENTADOR: Prof. Dr. João Felício

INICIAIS DO (A) PACIENTE: _____ N° _____

Matricula a instituição _____

Atualização do contato

1 - HIPÓTESES DIAGNÓSTICAS:

2 - SOBRE MEDICAÇÕES:

2.1 MEDICAÇÕES (não insulínicas) EM USO:

2.2 MEDICAÇÕES (insulínicas) PARA TRATAMENTO DO DIABETES.

2.3 HOUVE MEDICAÇÃO(S) CONCOMITANTE (S) ADICIONAL(S): SIM ou NÃO , se SIM, especificar:

3 - SOBRE EVENTO ADVERSO:

3.1 O (a) paciente relatou algum evento adverso? SIM ou NÃO , se SIM, especificar:

3.2 O (a) paciente relatou algum evento de hipoglicemia confirmado pelo glicosímetro (glicemia \leq 70 mg/dL)? SIM ou NÃO , se SIM, especificar:

3.3 Algum destes episódios foi de hipoglicemia grave (glicemia \leq 36 mg/dL e comprometimento do nível de consciência ou necessidade de ajuda para se recupera)? SIM ou NÃO , se SIM, especificar:

4 - SINAIS VITAIS.

– Medidas de Pressão Arterial (PA) e Pulso (FC)

Braço eleito para se verificar a PA durante esse estudo: _____

Peso: _____ Kg.

Circunferência da cintura: _____

Circunferência do quadril: _____ Rc/q: _____

5 - EXAME FÍSICO.

6 - SOBRE O CONROLE GLICÊMICO:

6.1 Realizou perfil de 7 pontos e anotou no diário de glicemia? **SIM** **ou NÃO** , se SIM, **anexar**.

6.2 Foi realizado perfil glicêmico com Guardian? **SIM** **ou NÃO** , se SIM, **anexar**.

6.3 Foi entregue o diário de recordatório alimentar para contagem de carboidrato? **SIM** **ou NÃO** , se SIM, **anexar**.

7 - FOI COLETADO DE LABORATÓRIO

7.1 Foi coletado o painel pós-tratamento? **SIM** **ou NÃO** . Caso não, especifique:

7.2- Foi coletado vitamina D para a análise por HPLC? **SIM** **ou NÃO** . Caso não, providenciar antes da randomização (são validos os exames dos últimos 3 meses).

8 - SOBRE O CGMS (GUARDIAN®).

8.1 Foi instalado o GUARDIAN® no (a) paciente? **SIM** **ou NÃO** . Caso não, especifique:

DIA E HORA DA INSTALAÇÃO: _____

DIA E HORA DA RETIRADA: _____

9 - CHECAR SE TODOS OS PROCEDIMENTOS PÓS-TRATAMENTO FORAM REALIZADOS ANTES DE SUSPENDER A MEDICAÇÃO DO ESTUDO:

Laboratório Basal	Coleta de biorepositório	Vitamina D	Guardian

9.1 Todos os laboratórios pós-tratamento foram devidamente checados, incluindo o valor da vitamina D? **SIM** **ou NÃO** se não, especifique:

10 - COMENTÁRIOS ADICIONAIS.

11 - CONDUTA MÉDICA: PRESCRIÇÃO:

12 - EXAMES SOLICITADOS Á CRITÉRIO CLÍNICO:

13 - DATA DO RETORNO: apenas se não tiver realizado todos os procedimentos

Data, assinatura e carimbo

APÊNDICE F – VISITA 4 – FINAL



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO**

DATA _____

VISITA 4

ÁS: _____

PROTOCOLO: Mestrado

ORIENTADOR: Prof. Dr. João Felício

INICIAIS DO (A) PACIENTE: _____ N° _____

Matricula a instituição _____

Atualização do contato: _____

1 - O (A) PACIENTE REALIZOU TODOS OS PROCEDIMENTOS PÓS-TRATAMENTO PREVISTOS NO PROTOCOLO? **SIM** **ou NÃO** , se NÃO, especificar:

1.1 CHECAR TODOS OS PROCEDIMENTOS

2 - SOBRE A MEDICAÇÃO DO ESTUDO:

2.1 A medicação do estudo foi suspensa? **SIM** **ou NÃO**

2.2 O (a) paciente necessitou manter a vitamina D? **SIM** **ou NÃO** , se SIM, especificar:

3 - COMENTÁRIOS E/OU PROCEDIMENTOS ADICIONAIS

Assinatura, carimbo e data

ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEP



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 "Influência da Suplementação de vitamina D no controle glicêmico de diabéticos tipo 1", protocolo nº. 005/12 sob a responsabilidade da pesquisadora Ana Carolina Contente Braga de Souza, orientação da Profa. Dra. Elizabeth Sumi Yamada e do Prof. Dr. João Soares Felício, obtendo **APROVAÇÃO** na reunião do dia 13.01.2012, por estar de acordo com a Resolução nº196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde do Brasil. Ressaltamos também que o protocolo fará uso de Biorrepositório, conforme a Resolução do CNS nº441, de 12 de maio de 2011.

Declaramos que o Prof. Dr. João Soares Felício, como coordenador efetivo deste Comitê, não participou da aprovação do projeto de pesquisa.

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: maio/2012
Prazo para envio de relatório final: janeiro/2013.

Situação: **Aprovado.**

Belém, 13 de Janeiro de 2012.

Prof. Dr. João Soares Felício
Ana Calabria
Mestre em
Epidemiologia e Serviços Tropicais
UFPA - Belém - PA

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

Hospital Universitário João de Barros Barreto – Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/HUIBB/UFPA
Rua dos Mundurucus, 4487 - Guamá CEP. 66.073-000 Belém / Pará - Brasil Fone/Fax: (91)3201 6754/ PABX:
(91)3201 8600 Ramal: 6754 E-mail: cephujbb@yahoo.com.br @logger: www.cephujbb.blogspot.com.br

ANEXO B – APROVAÇÃO DA EMENDA



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



Carta nº. 003/2015/CEP/HUJBB

Belém, 25 de agosto de 2015.

Protocolo: 005/2012

Assunto: Aprovação de Emenda a Protocolo de Pesquisa.

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário João de Barros Barreto da Universidade Federal do Pará analisou a **Emenda Versão 3.0** de 24 de agosto de 2015, referente ao projeto de pesquisa intitulado "**Influência da Suplementação de vitamina D no controle e variabilidade glicêmica em pacientes com diabéticos tipo 1**", sob a responsabilidade dos pesquisadores Ana Carolina Contente Braga de Souza, *Profa. Dra.* Elizabeth Sumi Yamada, *Profa.* Karem Miléo Felício e do *Prof. Dr.* João Soares Felício. Esta Emenda informa que surgiram da pesquisa os seguintes subprojetos "*Variabilidade glicêmica e níveis de vitamina D em pacientes com diabetes mellitus tipo 1*", de autoria de Henrique da Costa Miranda e João Felício Abrahão Neto; e "*Influência da vitamina D na variabilidade pressórica em pacientes diabetes mellitus tipo 1*", de autoria de Amanda Soares Peixoto e Alana Ferreira de Oliveira. Tal emenda solicita a análise e aprovação para tais subprojetos com a inclusão de seus respectivos autores. Por estar de acordo com a Resolução nº 466/12 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde do Brasil, este Colegiado manifesta-se pela **Aprovação da Emenda**.


Ressaltamos também que o protocolo fará uso de Biorrepositório, conforme a Resolução do CNS nº441, de 12 de maio de 2011.

Declaramos que o *Prof. Dr.* João Soares Felício, como coordenador efetivo deste Comitê, não participou da aprovação do projeto de pesquisa.

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.

Belém, 25 de agosto de 2015


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

Hospital Universitário João de Barros Barreto – Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/HUJBB/UFGA
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