



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

Karem Miléo Felício

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D NA
VARIABILIDADE GLICÊMICA EM PACIENTES COM
DIABETES MELLITUS TIPO 1**

BELÉM-PA

2016

Karem Miléo Felício

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D NA
VARIABILIDADE GLICÊMICA EM PACIENTES COM
DIABETES MELLITUS TIPO 1**

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

2016

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

Felício, Karem Miléo, 1964-

Influência da suplementação de vitamina d na variabilidade glicêmica em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 / Karem Miléo Felício; Orientador, Prof. Dr. João Soares Felício. — 2016.

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

Inclui bibliografias.

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Pará, Núcleo de Pesquisa em Oncologia, Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas, Belém, 2016.

1. Diabetes Mellitus Tipo 1. 2. Vitamina D. 3. Suplementação Dietética. I. Felício, João Soares, *orient.* II. Título.

CDD - 23. ed. 616.462

Karem Miléo Felício

Influência da suplementação de vitamina D na variabilidade glicêmica em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1.

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

Aprovado em: ___/___/___

Banca examinadora

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

Prof. Dra. Ândrea Kely C. Ribeiro dos Santos
Universidade Federal do Pará
Membro

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

Prof. Dr. Paulo Pimentel Assumpção
Universidade Federal do Pará
Membro

*Este trabalho é dedicado:
A você que tem sido incansável em me
fazer ver o meu melhor. Despertou-me
potenciais que hoje são realidade. Em
minha jornada acadêmica, tens sido meu
exemplo, não bastasse, és meu esposo,
amigo e orientador....
João Soares Felício, obrigada!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo privilégio de ser agraciada diariamente com um novo e abençoado recomeço, sempre cheio de possibilidades.

A minha amada mãe que, com “mãos de ferro”, firmeza nos valores da boa moral e, sobretudo, com muito amor e dedicação, preparou-me para enfrentar com dignidade os desafios da vida.

Aos meus filhos que enchem a minha vida de propósitos e emoções. Tenho a responsabilidade de ser um bom exemplo, e o João e o Henrique fazem-me tentar ser diariamente uma pessoa melhor.

Aos meus irmãos, sobrinhos, cunhadas, irmãs e meu afilhado Pedrão, que além de motivadores fortalecem a importância da família como uma base eterna de segurança.

Adélia e João Felício Abrahão, sogra e sogro queridos, obrigada principalmente pelo acolhimento em vossa família, e por todo apoio emocional e logístico ao longo desses anos.

Meus caríssimos pacientes, que como voluntários confiaram sua saúde a esse projeto. Muito respeitosamente vos agradeço pelo altruísmo.

Aos meus amigos, todos eles, de ontem e de hoje. Nosso convívio, de alguma forma, nos proporcionou mudanças e mesmo sem saber exatamente como e quando, certamente nos fortalecemos para dar o nosso melhor.

Minhas queridas, Ana Carolina e Franciane, médicas dedicadas e competentes, aprendo muito com vocês.

Aos parceiros do setor de pesquisa clínica do Hospital João de Barros Barreto, pois partilhamos juntos muita força tarefa. Ana Regina, Sheila, Lia, Priscila, Valéria, Danielle, Ana Paula, Melissa, Gleyce e Luana, obrigada pelo empenho e solicitude com que me ajudaram na realização de mais um trabalho juntos.

Aos meus alunos graduandos, internos, bolsistas, estagiários e residentes, as necessidades de aprendizado de vocês nunca me deixam esquecer de estudar.

Ao Fabrício Resende, Alana Ferreira, Amanda Peixoto, Carolina Carvalho, Thais Arbage, Henrique Miranda, João Felício Neto, Denisson Silva e Anna Elizabeth, que com habilidades individuais e retoques de preciosismo contribuíram para a execução e finalização desse trabalho.

Aos meus orientadores João Felício e Elizabeth Yamada, que me aceitaram e guiaram no conhecimento dentro dos princípios éticos.

Obrigada João Soares Felício, meu marido amado! É de conhecimento público tudo o que você representa na minha vida, mas não custa nada dizer o quanto você me faz feliz, inteligente, bonita e corajosa. Estar nessa jornada da vida com um companheiro como você fortalece e torna real todas as minhas empreitadas, esse Mestrado é um exemplo disso.

Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.

Carl Jung

RESUMO

Dados recentes têm sugerido que a variabilidade glicêmica (VG) poderia ser um fator independente do controle glicêmico (CG) avaliado pela hemoglobina glicada (HbA1c), para complicações do diabetes. A VG é a avaliação das flutuações diárias da glicose quantificadas através de cálculos numéricos específicos. A suplementação de vitamina D (VD), nos poucos estudos com Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1), tem demonstrado resultados controversos sobre o CG e não há dados sobre uma possível ação desta vitamina na VG nestes pacientes. O objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos da suplementação de VD na VG em pacientes com DM1. Realizamos um estudo prospectivo, controlado em 22 pacientes com DM1 que receberam 4.000 ou 10.000 UI/dia de colecalciferol por 12 semanas, de acordo com seus níveis prévios de VD. Os pacientes foram submetidos ao sistema de monitorização contínua de glicose (SMCG) com análise de 41.000 glicemias, avaliação dos níveis de VD e HbA1c antes e após o tratamento. Quando comparados os períodos pré e pós-tratamento não houve diferença em nenhuma das variáveis, exceto a melhora esperada nos níveis e no status de VD ($26,1 \pm 9,0$ vs. $44,4 \pm 24,7$ ng/mL; $p < 0,01$ e $1,00 \pm 0,76$ vs. $0,36 \pm 0,66$; $p < 0,01$), respectivamente. Foram encontradas correlações entre a variação percentual (Δ) do desvio padrão da glicemia (DPG), calculada a partir do SMCG, com o Δ da insulina basal ($r = 0,6$; $p < 0,01$) e com o Δ da insulina total ($r = 0,6$; $p < 0,01$). Encontramos, adicionalmente, correlações entre o status de VD com o Δ insulina prandial ($r = 0,5$; $p < 0,05$) e com o Δ insulina total ($r = 0,4$; $p < 0,05$), indicando que quanto melhor o status de VD ao final do estudo, menor a necessidade de insulina durante o tratamento. Para estudar melhor a VG, os pacientes foram divididos em dois grupos: aqueles que melhoraram (grupo 1, N= 12 (55%)) e aqueles que pioraram a VG (grupo 2, N= 10 (45%)) avaliada pelo Δ DPG. Os pacientes do grupo 1, quando comparados ao grupo 2, apresentaram menores necessidades de insulina (Δ insulina basal= $-8,0$ vs. $6,3\%$; $p < 0,05$) e menor frequência de hipoglicemias ao final do tratamento ($12/44$ (27%) vs. $21/33$ (64%) hipoglicemias/ dias verificados; $p < 0,01$). Nossos dados sugerem que a suplementação de VD em pacientes com DM1 poderia levar a uma melhora na variabilidade glicêmica associada a uma redução na necessidade de insulina em mais de 50% desses pacientes. A melhora da variabilidade glicêmica foi fortemente associada a uma redução na frequência de hipoglicemia. Entretanto, não foi possível demonstrar um efeito benéfico dessa vitamina sobre o controle glicêmico avaliado pela HbA1c.

Palavras-chave: Diabetes mellitus; Vitamina D; Variabilidade glicêmica.

ABSTRACT

Recent studies suggest that glycemic variability (GV) could influence the risk of complications in diabetes, independently from glycemic control (GC). GV is the evaluation of the daily fluctuations of glycemia through specific calculations. The few studies that have assessed the effects of supplementation with vitamin D (VD) in patients with diabetes type 1 (DM1) on GC are controversial and there is no data about a possible action of VD on GV in these patients. Our study aims to evaluate the effects of VD supplementation on GV in patients with DM1. We executed a prospective, controlled study with 22 patients with DM1. Doses of either 4.000 or 10.000 IU/day of cholecalciferol were administered for 12 weeks according to the patient's previous vitamin D serum levels. All patients were submitted to continuous glucose monitoring system (CGMS) with the analysis of 41.000 glycemic values, dosage of vitamin D and HbA1c before and after the treatment. When the pre and post treatment variables were compared, no differences were observed, except for the expected improvement of the levels and status of VD ($26,1 \pm 9,0$ vs $44,4 \pm 24,7$ ng/mL ; $p < 0,01$ e $1,00 \pm 0,76$ vs $0,36 \pm 0,66$; $p < 0,01$), respectively. Correlations were found between the percentage variation (Δ) of the glycemia standard deviation (Δ GSD), calculated using the CGMS, with Δ of the basal ($r = 0,6$; $p < 0,01$) and total insulin ($r = 0,6$; $p < 0,01$). Our study also found a correlation between the VD status after supplementation and Δ of the prandial ($r = 0,5$; $p < 0,05$) and total insulin ($r = 0,4$; $p < 0,05$), indicating that the better the vitamin D status, lower the doses of insulin needed by the patients. To efficiently study the GV, patients were divided in two groups: Patients in which the Δ GSD improved (group 1; N= 12 (55%)) and those in which the Δ GSD worsened (group 2; N= 10 (45%)). Group 1 when compared to group 2 showed lower needs of insulin (Δ basal insulin = $-8,0$ vs $6,3\%$; ($p < 0,05$)) and lower frequency of hypoglycemia (12/44 (27%) vs 21/33 (64%), hypoglycemic values / days evaluated ; $p < 0,01$). Our data suggests that supplementation of VD on patients with DM1 could improve the GV associated to a lower need of insulin in more than 50% of these patients. The improvement of GV was strongly associated with reduction in frequency of hypoglycaemia. However, it was not possible to demonstrate benefits of vitamin D on glycaemic control measured by the HbA1c.

Key-words: Diabetes mellitus; Vitamin D; Glycemic variability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Metabolismo da vitamina D.....	28
Figura 2 - Correlação entre o Δ insulina basal e o Δ DPG nos pacientes com DM1.....	50
Figura 3 - Correlação entre o Δ insulina total e o Δ DPG nos pacientes com DM1.....	50
Figura 4 - Correlação entre Δ insulina prandial e status de vitamina D no final do estudo.	51
Figura 5 - Correlação entre Δ insulina total e status de vitamina D no final do estudo.	51
Figura 6 - Variação percentual de insulina de acordo com a variabilidade glicêmica.	53
Figura 7 - Variação dos níveis de insulina e do DPG nos pacientes com Δ insulina total maior que 15%.	54
Figura 8 - Verificação de dias com hipoglicemia de acordo com a variabilidade glicêmica. ...	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Valores de glicose plasmática (em mg/dL) para diagnóstico de diabetes mellitus e seus estágios pré-clínicos.....	17
Tabela 2 - Características clínicas dos pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1.	49
Tabela 3 - Características laboratoriais dos pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1.	49
Tabela 4 - Características clínicas e laboratoriais de acordo com a variabilidade glicêmica...	52

LISTA DE ABREVIATURAS

1,25(OH)2D3.....	1,25 Dihidroxi vitamina D
7-DHC	7-dehidrocolesterol
8-iso-PGF2	F2 8-iso-prostaglandina
25(OH)D.....	25-hidroxi-vitamina D
25(OH)D2.....	25-hidroxi-vitamina D2
25(OH)D3.....	25-hidroxi-vitamina D3
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
ALT	Alanina aminotransferase
AMGC	automonitoramento domiciliar das glicemias capilares
ANOVA.....	Análise de variância
Anti-GAD 65	Antidescarboxilase do ácido glutâmico
AST.....	Aspartato aminotransferase
AVE.....	Acidente vascular encefálico
CEP.....	Comitê de Ética em Pesquisa
CG.....	Controle glicêmico
DBP	Proteína ligadora da vitamina D
DCCT	<i>Diabetes Control and Complications Trial</i>
DCV.....	Doenças cardiovasculares
DM	Diabetes Mellitus
DM1.....	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2.....	Diabetes Mellitus Tipo 2
DM1A.....	Diabetes Mellitus Tipo 1 A
DM1B	Diabetes Mellitus Tipo 1 B
DP	Desvio padrão
DPG	Desvio padrão de glicemia
EDIC.....	<i>Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications</i>
ERK	<i>Extracellular signal-related kinase</i>
FC	Frequência cardíaca
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FID.....	Federação Internacional de Diabetes
FSH.....	Hormônio folículo estimulante

GC..... Glicemia capilar
GJ..... Glicemia de jejum
GME Glicemia média estimada
HbA1c..... Hemoglobina glicada
HLA..... Antígeno Leucocitário Humano
HOMA-IR..... *Homeostasis Model Assessment*
HPLC..... do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*, Cromatografia líquida de alta performance
HUIBB Hospital universitário João de Barros Barreto
IA2/IA2B Antitirosina- fosfatases
IAA Anti-insulina
ICA Anti-ilhotas
IMC..... Índice de Massa Corpórea
IPEX Desregulação imune, poliendocrinopatia, enteropatia ligadas ao X
IR Receptores de insulina
JNK..... *c-Jun amino-terminal kinase*
LADA..... Diabetes autoimune latente em adultos
LADY Diabetes autoimune latente em jovens
LH..... Hormônio luteinizante
MAGE Amplitude média de excursões glicêmicas
NADPH *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase*
NFkB Fator nuclear *Kappalight-chain-enhancer* de células B ativadas
NPH *Neutral Protamine Hagedorn*
OMS Organização Mundial de Saúde
PA..... Pressão arterial
PAD Pressão arterial diastólica
pAkt Akt fosforilado
PAS..... Pressão arterial sistólica
pSer-IRS-1 Receptor de insulina 1 fosforilado nos resíduos serina
PCR..... Reação em cadeia mediada pela polimerase
PTH..... Paratormônio
PTPN22 *Protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22*
pTy-IRS-1 Receptor de insulina 1 fosforilado nos resíduos tirosina
RFLP..... *Restriction Fragment Length Polymorphism*

RIE.....	Radioimunoensaio
RXR.....	Receptor de ácido retinóico
SBD.....	Sociedade Brasileira de Diabetes
SMCG.....	Sistema de monitoramento contínuo de glicose
SNP.....	Polimorfismos de nucleótidos simples
SPA-1.....	Síndrome poliglandular autoimune do tipo 1
SPSS.....	<i>Statistical Package for Social Sciences.</i>
T4L.....	Tiroxina livre
TA.....	Termo de Assentimento
TCLE.....	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFG.....	Taxa de filtração glomerular
TGO.....	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP.....	Transaminase glutâmico pirúvica
TSH.....	Hormônio estimulante da tireóide
UVB.....	Ultravioleta B
VD.....	Vitamina D
VDR.....	Do inglês <i>vitamin D receptor</i> , receptor da vitamina D
VDRE.....	Elementos responsivos à vitamina D
VG.....	Variabilidade glicêmica
WHO.....	<i>World Health Organization</i>
Znt8A.....	Antitransportador de zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1.	DIABETES MELLITUS.	16
1.2.	AVALIAÇÃO DO CONTROLE GLICÊMICO NO DIABETES MELLITUS.	21
1.3.	VARIABILIDADE GLICÊMICA E CONTROLE DO DIABETES.....	22
1.4.	METABOLISMO DA VITAMINA D.	26
1.5.	VITAMINA D E DIABETES MELLITUS.	31
2	OBJETIVOS.....	35
2.1.	GERAL.....	35
2.2.	ESPECÍFICOS.	35
3	MÉTODO.....	36
3.1.	ENSAIO CLÍNICO.	36
3.1.1	Desenho do estudo.....	36
3.1.2	Pacientes.	36
3.1.3	Critérios de inclusão.	36
3.1.4	Critérios de exclusão.	37
3.1.5	Coleta de dados.....	38
3.1.6	Atividades das visitas do estudo:.....	43
3.1.6.1.	VISITA 1 (TRIAGEM) – APÊNDICE E.....	43
3.1.6.2.	VISITA 2 – APÊNDICE F.	44
3.1.6.3.	VISITA 3 – APÊNDICE G.	45
3.1.6.4.	VISITA 4 (FINAL) – APÊNDICE H.....	45
4	BIORREPOSITÓRIO.....	46
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
6	RESULTADOS.	48
7	DISCUSSÃO.....	56
8	CONCLUSÃO.....	61
	REFERÊNCIAS.....	62
	APÊNDICE A – TERMO DE CONCENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	71
	APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMETO.....	77
	APÊNDICE C – DIÁRIO DE GLICEMIA CAPILAR.....	84
	APÊNDICE D – DIÁRIO DE ALIMENTAÇÃO.....	85

APÊNDICE E – VISITA 1 - TRIAGEM	86
APÊNDICE F – VISITA 2	92
APÊNDICE G – VISITA 3	95
APÊNDICE H– VISITA 4 – FINAL.....	99
ANEXO A – EQUAÇÃO CKD-EPI.....	101
ANEXO B – APROVAÇÃO DO CEP	102
ANEXO C – AUTORIZAÇÃO PARA CRIAÇÃO DE BIORREPOSITÓRIO	103
ANEXO D – APROVAÇÃO DA EMENDA.....	105

1 INTRODUÇÃO.

1.1. DIABETES MELLITUS.

O Diabetes Mellitus (DM) é um conjunto de alterações metabólicas resultantes de insulino-deficiência, insulino-resistência ou ambas. A hiperglicemia persistente é um distúrbio metabólico comum no DM (ADA, 2013). Há alterações no metabolismo de carboidratos, proteínas e gorduras em função da secreção insuficiente, e/ou ausente de insulina, assim como por defeitos da sua ação nos tecidos-alvo como o fígado, o tecido adiposo e muscular (DELLA MANNA, 2007). O DM é na atualidade um dos mais sérios problemas de saúde. Estimativas de entidades como a Federação Internacional de Diabetes (FID), Organização Mundial de Saúde (OMS) e *American Diabetes Association* (ADA), referem que existem atualmente cerca de 285 milhões de diabéticos no mundo, cerca de 6,4% da população adulta em 2010. A previsão é que em 2030 haverá 439 milhões de pacientes adultos com DM (SHAW; SICREE; ZIMMET, 2010).

Atualmente, a classificação do DM proposta pela OMS e pela ADA baseia-se na etiologia e não no tipo de tratamento. A classificação proposta inclui quatro classes clínicas: Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1), Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), outros tipos específicos de DM e DM gestacional. Ainda há duas categorias referidas como pré-diabetes, que são a glicemia de jejum alterada e a tolerância à glicose diminuída. Essas categorias não são entidades clínicas, mas fatores de risco para o desenvolvimento de DM e doenças cardiovasculares (DCV) (ADA, 2013).

O diagnóstico do DM foi modificado em 1997 pela ADA, posteriormente aceito pela OMS e pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD). As modificações foram realizadas com a finalidade de prevenir de maneira eficaz as complicações micro e macrovasculares do DM (ADA, 2013).

Atualmente são três os critérios aceitos para o diagnóstico de DM com utilização da glicemia (Tabela 1).

Tabela 1- Valores de glicose plasmática (em mg/dL) para diagnóstico de diabetes mellitus e seus estágios pré-clínicos.

Categoria	Jejum*	2h após 75g de glicose	Casual**
Glicemia normal	<100	<140	
Tolerância à glicose diminuída	>100 a <126	≥140 a <200	
Diabetes mellitus	≥126	≥200	≥200 (com sintomas clássicos)***

* O jejum é definido como a falta de ingestão calórica por no mínimo 8 horas;

** glicemia plasmática casual é aquela realizada qualquer hora do dia, sem se observar o intervalo desde a última refeição;

***os sintomas clássicos de DM incluem poliúria, polidipsia e perda não explicada de peso.

Fonte: (SBD, 2014)

Nota: O diagnóstico de DM deve sempre ser confirmado pela repetição do teste em outro dia, a menos que haja hiperglicemia inequívoca com descompensação metabólica aguda, ou sintomas óbvios de DM.

Em janeiro de 2010, a ADA modificou o critério inicial e incluiu a hemoglobina glicada (HbA1c) como critério de diagnóstico adicional para o DM. As recomendações atuais são as seguintes:

- Diabetes - HbA1c \geq 6,5% a ser confirmada em outra coleta. Dispensável em caso de sintomas ou glicemia \geq 200 mg/dl.
- Indivíduos com alto risco para o desenvolvimento de diabetes - HbA1c entre 5,7% e 6,4% (ADA, 2013).

O DM1 é responsável por 90% dos casos de diabetes em crianças e adolescentes (CRAIG; HATTERSLEY; DONAGHUE, 2009). Classicamente estes pacientes apresentam história de cetoacidose e iniciam insulina no diagnóstico da doença e, ainda, mantém necessidades contínuas dessa medicação (CHEON et al., 2015). Classifica-se etiologicamente o DM1 como Diabetes Mellitus tipo 1 autoimune e Diabetes Mellitus tipo 1 idiopático.

O DM tipo 1 autoimune, também denominado DM1A, representa 5 a 10% de todos os casos diagnosticados de diabetes e mais de 95% dos casos de DM1. A doença pode se instalar em qualquer idade, mas predomina em jovens (REICHEL et al., 2004).

No DM1A há deficiência absoluta na produção de insulina que ocorre, na maioria, por destruição autoimune das células Beta das ilhotas de Langerhans pancreáticas. Acredita-se que haja fatores ambientais como infecções virais no processo de agressão das células Beta em indivíduos que apresentem suscetibilidade genética. O sistema antígeno leucocitário humano (HLA) é o mais implicado na suscetibilidade genética: cerca de 95% dos pacientes de

ascendência europeia com DM1 tem antígenos DR3 ou DR4, enquanto 55 a 60% tem ambos. Na maioria dos casos, a agressão inicial das células Beta ocorre indiretamente, ou seja, anticorpos produzidos contra antígenos virais acabam lesionando as células Beta devido ao mimetismo molecular entre antígenos virais e antígenos dessas células. A hiperglicemia permanente se manifesta quando 90% das ilhotas são destruídas (VON HERRATH, 2004). Os marcadores de autoimunidade, identificados como marcadores da destruição são os autoanticorpos: anti-insulina (IAA), anti-ilhotas (ICA), antidescarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD 65), antitirosina- fosfatases (IA2 e IA2B) e antitransportador de zinco (Znt8A). Esses anticorpos podem estar presentes meses ou anos antes do diagnóstico clínico, ou seja, na fase pré-clínica da doença, e em até 90% dos indivíduos quando se detecta hiperglicemia (PALMER et al., 1983; BAEKKESKOV et al., 1990). Os autoanticorpos podem persistir por até 10 anos ou mais, sobretudo o anti-GAD 65. Em crianças com menos de 10 anos de idade, os IAA podem preceder os demais anticorpos. Quanto maior o número de anticorpos presentes e quanto mais elevados forem os títulos, maior a chance de o indivíduo desenvolver a doença (VON HERRATH, 2004).

O DM1A pode ter herança monogênica ou, mais frequentemente, poligênica. A forma monogênica pode se apresentar isoladamente ou associada a duas raras condições: a síndrome poliglandular autoimune do tipo 1 (SPA-1), e a síndrome da desregulação imune, poliendocrinopatia, enteropatia ligadas ao X (IPEX). A forma poligênica do DM1A tem fortes associações com genes ligados ao HLA. Os alelos HLA DR e DQ são os principais determinantes da doença, seguidos por polimorfismos no gene da insulina e em terceiro lugar, por polimorfismo no gene de uma fosfatase específica dos linfócitos (PTPN22: *protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22*) (VON HERRATH, 2004; PUNALES; GEREMIA; MANDADORI, 2008).

O DM1 idiopático ou DM1B é responsável por 4 a 7% dos pacientes com DM1 recém-diagnosticados, e inclui casos de deficiência absoluta de insulina que não são imunomediadas, nem associadas ao HLA. A patogênese do DM1B não está bem estabelecida, entretanto, foi referido que mutações no gene da insulina podem ocasionalmente ser encontradas em crianças jovens (MOLVEN et al., 2008).

Há ainda o Diabetes autoimune latente em adultos (LADA), que é uma espécie de DM1 pelo qual a velocidade da destruição das células Beta pancreáticas é mais lenta do que o habitual. Em geral, surge geralmente entre 30 e 50 anos de idade e representa cerca de 10% dos casos de DM tipo 1 (NAIK; PALMER, 2003). O aumento da prevalência de obesidade na infância e adolescência e o diagnóstico mais precoce de DM1A têm levado ao aparecimento

de jovens com características de DM2 com autoimunidade pancreática e esses pacientes têm sido denominados por alguns autores como Diabetes autoimune latente em jovens (LADY). A incidência de DM1 na população infantil mostra ampla variação geográfica, variando de 0,1/100.000/ano no interior da China, e mais de 40/100.000/ano na Finlândia. Na Europa, a maior incidência está localizada na Finlândia, Sardenha e Suécia; e menor, nos países do leste europeu (REICHEL et al., 2004). No Brasil, variou entre 7,4/100.000/ano no estado de São Paulo, e 12/100.000/ano em Passo Fundo (RS), em estudos na década de 1990 (FERREIRA et al., 1993).

O objetivo do tratamento do portador de DM1 é a manutenção da qualidade de vida do paciente por meio de prevenção e redução das complicações agudas (cetoacidose diabética e hipoglicemia) e crônicas (nefropatia, retinopatia e neuropatia) associadas ao diabetes (DCCT RESEARCH GROUP, 1993).

Além de modificação no estilo de vida, o uso de insulinoterapia é imprescindível para DM1 e deve ser instituído assim que o diagnóstico for realizado (DCCT RESEARCH GROUP, 1993). O tratamento do DM1 e DM2 visa manter as glicemias ao longo do dia entre os limites da normalidade, evitando ao máximo ampla variabilidade glicêmica. O tratamento intensivo clássico é o que utiliza duas doses de insulina basal antes do café da manhã e antes do jantar, com três doses de insulina prandial (antes do café, almoço e jantar). Associado ao plano alimentar por contagem de carboidratos, torna-se possível que os pacientes com DM1 utilizem as doses de insulina rápida ou ultrarrápidas com base na ingestão alimentar de carboidrato (CONSENSUS STATEMENT ON THE WORLD WIDE STANDARDIZATION OF THE HEMOGLOBIN A1C, 2007).

Os autores do *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT), em um estudo prospectivo, multicêntrico, randomizado e controlado de longa duração que envolveu 1.441 pacientes com DM1, relataram que a redução da glicemia com terapia insulínica intensiva retardava o início e diminuía a progressão das complicações microvasculares. Pacientes de 29 centros médicos, com idade variável de 13 a 39 anos, foram divididos em dois grupos de estudo com número igual de indivíduos. Aproximadamente metade do grupo total não tinha complicações diabéticas detectáveis (grupo de prevenção primária), enquanto uma retinopatia leve estava presente na outra metade (grupo de prevenção secundária). Alguns pacientes no último grupo também tinham microalbuminúria discretamente elevada e neuropatia leve, mas nenhum com complicações diabéticas graves foi incluído. O estudo comparou o tratamento convencional – não mais que do que duas injeções de insulina – com insulinoterapia intensiva – múltiplas injeções de insulina (66%), ou bomba de insulina (34%), e os pacientes foram

treinados para ajustar a sua terapia conforme a monitorização frequente da glicose. O bem estar clínico era a meta, com nenhuma tentativa de modificar o manejo com base no resultado da hemoglobina glicada ou da glicose. Nos indivíduos tratados intensamente foi atingida a hemoglobina glicada média de 7,2% (normal <7%), e uma glicose sanguínea média de 155 mg/dL. No grupo tratado de forma convencional, a hemoglobina glicada foi em média 8,9%, e a glicose média 225 mg/dL. Durante o período do estudo, que foi em média 6,5 anos, houve redução aproximada de 60% no risco de retinopatia, nefropatia e neuropatia diabética com o tratamento intensivo. Os benefícios foram vistos nos grupos de prevenção primária e secundária. O grupo com tratamento intensivo também teve uma redução no risco de doença macrovascular de 41%. Os pacientes tratados intensivamente tiveram um risco três vezes maior de hipoglicemia grave, bem como maior tendência a ganho de peso, contudo, não houve mortes por hipoglicemia em nenhum indivíduo do DCCT, e nenhuma evidência de dano neurológico pós-hipoglicemia foi detectada (DCCT RESEARCH GROUP, 1993).

Dos indivíduos que participaram do estudo DCCT, 1.375 foram incluídos subsequentemente em um estudo observacional de acompanhamento *Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications* (EDIC). Embora as diferenças na hemoglobina glicada entre os grupos tenham diminuído em quatro anos, com média de 8% na hemoglobina glicada em ambos, o grupo designado para terapia intensiva teve um menor risco de retinopatia em quatro anos, e microalbuminúria em 7 a 8 anos de acompanhamento pós-estudo. Além disso, no final de 11 anos de acompanhamento, o grupo de terapia intensiva reduziu o risco de qualquer evento de doença cardiovascular em 42%. Assim, parece que os benefícios do bom controle da glicose persistem mesmo se deteriorar o controle posteriormente (DCCT RESEARCH GROUP; EDIC RESEARCH GROUP, 2000).

Embora a doença microvascular possa comprometer significativamente a qualidade de vida dos portadores de diabetes, a DCV é a causa de óbito mais comum entre esses pacientes. Durante o estudo DCCT não ficou claro o impacto da insulinoterapia intensiva sobre a doença macrovascular. Apesar de demonstrada a redução de 41% no risco relativo de complicações macrovasculares com insulinoterapia intensiva, essa diferença não foi estatisticamente significativa. No entanto, os autores do estudo EDIC demonstraram que durante os primeiros seis anos de estudo, o grupo com insulinoterapia intensiva apresentava redução do espessamento da camada íntima média da carótida, uma medida do processo de aterosclerose, quando em comparação com o grupo inicial de insulinoterapia convencional (NATHAN et al., 2003). Esses autores também evidenciaram que no seguimento de nove anos após o DCCT, os pacientes previamente randomizados para o grupo de insulinoterapia intensiva apresentaram

uma redução significativa de 57% no risco de infarto do miocárdio não fatal, autoimunidade, acidente vascular encefálico (AVE) ou óbito por DCV quando em comparação com os pacientes do grupo de insulinoterapia convencional (NATHAN et al., 2005). Adicionalmente, a contribuição mais recente do grupo de estudo do EDIC confirma que os benefícios do controle glicêmico intensivo persistem por décadas (NATHAN et al., 2009).

O consenso geral da ADA é que a terapia insulínica intensiva associada com amplo treinamento de automanejo deve se tornar a terapia padrão na maioria dos pacientes com DM1 após a puberdade. As exceções incluem aqueles com doença renal avançada e os idosos, porque os riscos prejudiciais de hipoglicemia superam os benefícios do controle rígido da glicemia. Em crianças abaixo de sete anos, o risco de desenvolvimento de dano cerebral por hipoglicemia contraindica a tentativa de controle rígido da glicose, particularmente porque as complicações diabéticas não parecem ocorrer até alguns anos após o início da puberdade (ADA, 2010).

1.2. AVALIAÇÃO DO CONTROLE GLICÊMICO NO DIABETES MELLITUS.

A avaliação do controle glicêmico é realizada através da verificação da glicemia de jejum (GJ), geralmente com jejum de pelo menos oito horas, mas sabe-se hoje que a GJ é insuficiente para acompanhamento e controle do DM, pois reflete apenas uma medida pontual no momento da coleta. A dosagem da glicemia pós-prandial, duas horas após a refeição, permite avaliar picos hiperglicêmicos pós-prandiais os quais foram associados a um maior risco cardiovascular e estresse oxidativo. Entretanto, a glicemia pós-prandial também representa uma medida pontual que não pode refletir o que ocorre nos demais dias e horários não avaliados (CHOI et al., 2008). A medida da HbA_{1c} é um método que permite a avaliação do controle glicêmico a longo prazo, pois avalia uma média das glicemias dos últimos três meses. (THE INTERNATIONAL EXPERT COMMITTEE, 2009). Tem sido proposta a utilização da glicemia média estimada (GME) como forma de traduzir melhor aos pacientes o significado da hemoglobina glicada (NATHAN et al., 2008; ADA, 2010). O desenvolvimento do automonitoramento domiciliar das glicemias capilares (AMGC), feito através de glicosímetros é bastante útil para a avaliação do controle glicêmico, e permite que os próprios pacientes verifiquem a glicemia capilar (GC) em diversos momentos do dia, tanto para correção de hiperglicemias, como para prevenção e tratamento das hipoglicemias (COSTER

et al., 2000). O Sistema de Monitoramento Contínuo da Glicose (SMCG) permite verificar continuamente a glicose no líquido intersticial, podendo identificar tendências do perfil glicêmico por até 6 dias consecutivos que não tenham sido identificadas pelo AMGC. Um sensor é inserido no subcutâneo e os dados obtidos são transferidos para um monitor com visor. As informações disponíveis são as médias de glicose exibidas a cada 5 minutos. Este sistema pode ser muito útil para melhora no controle glicêmico em pacientes com DM1 (GILLIAM; HIRSCH, 2009; FABIATO et al., 2009).

Os objetivos e metas de tratamento devem ser individualizados diferindo conforme a idade do paciente, suas comorbidades, expectativa de vida e grau de percepção de hipoglicemias. Diferentes sociedades médicas estabeleceram recomendações atuais para metas de controle glicêmico (ADA, 2010). De um modo geral, o alvo de HbA1c preconizado é <7%. Entretanto, em casos selecionados, a meta pode ser mais rígida (<6,5%), desde que isto seja seguro ao paciente e com baixa frequência de hipoglicemias (DCCT RESEARCH GROUP, 1993).

Recentemente tem sido reconhecida a importância da variabilidade da glicose em pacientes com DM. Estudos indicam que grandes variações da glicemia estão associadas ao desenvolvimento de estresse oxidativo e complicações crônicas da doença. Cálculos matemáticos baseados na amplitude de picos de hiperglicemia avaliam o desvio padrão (DP) das glicoses obtidas durante a realização do SMCG, ou das GCs obtidas com o AMGC, esses cálculos estão sendo avaliados como forma de medir essa variabilidade e, possivelmente, se tornarão parte dos objetivos do tratamento do DM nos próximos anos (KILPATRICK, 2009).

1.3. VARIABILIDADE GLICÊMICA E CONTROLE DO DIABETES.

Há atualmente evidências inequívocas de que melhorar o controle glicêmico em ambos diabetes tipo 1 e tipo 2 reduz a probabilidade de desenvolver as complicações micro e macrovasculares da doença. No entanto, ainda não está claro se um paciente com glicose muito variável difere em relação ao risco dessas complicações, com alguém que tem a mesma média de glicose, mas glicemia muito mais estável (KILPATRICK, 2009).

A variabilidade glicêmica tem sido fundamental para quantificar as contribuições relativas à hiperglicemia pré e pós-prandial na HbA1c de doentes com DM2. Eles descobriram que como HbA1c piora a partir de valores de glicemia normais, essa se dá principalmente como uma consequência da hiperglicemia pós-prandial (MONNIER;

LAPINSKI.; COLETTE, 2003; MONNIER et al., 2007). A predominância de hiperglicemia pós-prandial em HbA1c baixas, significa que estes indivíduos com DM2 são propensos a ter flutuações glicêmicas comparáveis com os doentes que são mais pobremente controlados. A variabilidade glicêmica, de fato, parece ter uma influência sobre o risco de complicações mesmo em pacientes com DM relativamente bem controlados (MONNIER; LAPINSKI; COLETTE, 2003; MONNIER et al., 2007). Para a maioria das pessoas, o termo variabilidade glicêmica descreveria as flutuações da glicose no sangue, hora-a-hora em um dia que uma pessoa com diabetes experimenta. No entanto, as mudanças marcantes na glicose no sangue também podem existir durante longos períodos de tempo (dia a dia, semana a semana, e mês a mês). Mesmo dentro de um dia, a instabilidade pode ser pelo efeito das refeições na glicose do sangue, representando alterações pré e pós-prandiais, ou pode não estar relacionada com as refeições. Esta distinção é relevante porque as alterações na glicemia pós-prandial, em particular, têm sido implicadas com um aumento do risco de desenvolvimento de complicações macrovasculares (KOVATCHEV et al., 2005; KOVATCHEV et al., 2006).

A HbA1c é a medida padrão de controle da média glicêmica (SVENDSEN et al., 1982), prevendo complicações do diabetes em pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2 (SANTIAGO, 1993; UKPDS, 1998). No entanto, além do estabelecimento da HbA1c, o DCCT concluiu que a HbA1c não é a expressão mais completa do grau de glicemia. Outras características do controle da glicose no diabético, que não são refletidas pela HbA1c, podem adicionar ou modificar o risco de complicações. Por exemplo, os riscos de complicações podem ser mais altamente dependentes da extensão das excursões glicêmicas pós-prandial (DCCT RESEARCH GROUP, 1995). Consequentemente, estudos contemporâneos investigam cada vez mais flutuações de glicose no sangue, especialmente hipoglicemia e elevação da glicemia pós-prandial.

Compreensivelmente, os estudos têm focado a atenção no uso de HbA1c como um marcador de glicemia, e mostrado a vantagem em reduzir a média de glicose para níveis próximos do normal em indivíduos com diabetes. No entanto, apesar destas conclusões, os investigadores do DCCT observaram que “a exposição glicêmica total” (HbA1c e duração do diabetes), explicou apenas cerca de 11% da variação no risco de retinopatia na *coorte* DCCT completa, o que significa que fatores independentes de HbA1c devem presumivelmente explicar o restante 89% (LACHIN et al., 2008). Entre fatores propostos, tais como a predisposição genética para complicações, tem sido sugerido que a instabilidade da glicose em torno do valor médio de um indivíduo, pode ser uma destas outras variáveis explanatórias.

O aumento da variabilidade da glicose colocaria um paciente em risco especialmente elevado, quer para complicações micro como macrovasculares (HIRSCH; BROWNLEE, 2005).

Uma das principais razões para prosseguir com a possibilidade da variabilidade glicêmica ser um fator de risco para complicações microvasculares, surgiu a partir de uma das análises originais dos dados do DCCT. Constatou-se que a taxa de complicações em um dado valor de HbA1c foi aparentemente mais elevada nos pacientes tratados convencionalmente, do que nos tratados intensivamente. A magnitude desta diferença era tal, que um paciente tratado convencionalmente com uma HbA1c de 8% tinha, pelo menos, o mesmo risco de retinopatia que um paciente com uma HbA1c de 9% tratado intensivamente. Isso levou à sugestão de que a discrepância poderia ser uma consequência de maiores excursões glicêmicas, no grupo de pacientes com menor número de injeções de insulina por dia (HIRSCH; BROWNLEE, 2005). Também em apoio a esta hipótese, houve um relatório observacional onde a incidência de retinopatia em um grupo de adolescentes com DM1, pareceu cair substancialmente entre 1990 e 2002, apesar dos níveis de HbA1c terem mudado pouco ao longo do período do estudo (MOHSIN et al., 2005). Foi novamente especulado que a transição a vários regimes de injeção durante o período pode ter contribuído para esta melhoria, reduzindo variações glicêmicas ao invés de média de glicose. Adicionalmente, outro estudo avaliou a variabilidade da glicemia de jejum com a mesma HbA1c, e estabeleceu que isso poderia prever de forma independente o desenvolvimento de retinopatia entre 130 pacientes com DM2 (MOHSIN et al., 2005). Mais recentemente, o DP de glicose no sangue foi estabelecido para prever, de forma independente, a neuropatia em 100 indivíduos com DM1 (BRAGD et al., 2008). Finalmente, voltando ao DCCT, uma reanálise do banco de dados fundamentou que a variabilidade da HbA1c, em vez de glicose, poderia prever o risco microvascular (KILPATRICK; RIGBY; ATKIN, 2008).

A hipoglicemia é comum no DM1. A HbA1c é um preditor pobre de episódios de hipoglicemia, representando uma estimativa em torno de 8% para futuras hipoglicemias severas (DCCT RESEARCH GROUP, 1997). Em contrapartida, medidas baseadas em variabilidades específicas são responsáveis por 40-50% da variância de futuras hipoglicemias significativas (KOVATCHEV et al., 1998; KOVATCHEV et al., 2003). Na verdade, a recente declaração de consenso da ADA sobre hipoglicemia concluiu que “a história de hipoglicemia grave e níveis baixos de HbA1c têm capacidade limitada em prever episódios adicionais” (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION WORKGROUP ON HYPOGLYCEMIA, 2005).

Vários estudos descobriram que a instabilidade da glicose pode causar um aumento acentuado na formação de marcadores de danos dos radicais livres. Talvez, o que teve maior

impacto recente é o trabalho feito por Monnier, que mede a produção do isoprostano urinária F2 8-iso-prostaglandina (8-iso-PGF2), um marcador reconhecido de estresse oxidativo, em 21 pacientes com DM2. Eles descobriram que a produção do isoprostano não foi muito influenciada pela glicose média de seus pacientes, estando mais associada com a sua variabilidade glicêmica avaliada pela amplitude média de excursões glicêmicas (MAGE) (MONNIER et al., 2006). Outros dados adicionais forneceram evidências circunstanciais de que excursões glicêmicas poderiam influenciar o desenvolvimento de complicações do diabetes (KILPATRICK, 2009).

Do alto da escala de glicose no sangue, fatores como a resistência à insulina, a insulina disponível inadequada, a ação da insulina retardada e a secreção de glucagon anormal contribuem para a elevação da glicemia pós-prandial mais alta e prolongada (BASU et al., 1996; ADA, 2001). Portanto, a interação complexa entre fisiologia e comportamento resulta em flutuações de glicose sanguíneas significantes, que têm um impacto prejudicial sobre a incidência de complicações agudas e crônicas. Assim, podemos concluir que a capacidade dos doentes para controlar firmemente suas variações da glicemia pode se tornar uma tarefa primordial de controle do diabetes. Na verdade, uma revisão recente concluiu que a variabilidade glicêmica, considerada em combinação com HbA1c, seja um indicador mais confiável de controle de glicose no sangue, e do risco de complicações a longo prazo do que a média da HbA1c isolada (HIRSCH; BROWNLEE, 2005). Portanto, torna-se essencial na prática clínica utilizar os melhores métodos disponíveis para a avaliação de variabilidade de glicose, a fim de fornecer o *feedback* mais relevante para melhorar o controle glicêmico. Em última análise, a avaliação de variabilidade de glicose no sangue deve ser preditivo para ambas as excursões, tanto as hipoglicêmicas como as hiperglicêmicas.

Um grande número de parâmetros para expressar a variabilidade glicêmica foi descrito, mas não existe padrão-ouro. O DP é um parâmetro de mensuração fácil, e mostrou ser fortemente relacionado com outros parâmetros em um grupo de pacientes DM1 e DM2, sobretudo os bem controlados DM1 e DM2, respectivamente. A variabilidade glicêmica é maior no DM1, quando comparada com DM2 em populações mistas com diferentes tratamentos. No estudo de Greven, o DP de 48 horas (DP total) foi altamente correlacionado com todos os outros parâmetros medidos de variabilidade glicêmica. O DP total é um parâmetro mensurável para expressar convenientemente a variabilidade da glicemia em pacientes com controle inadequado em uso de insulino terapia intensiva (GREVEN et al., 2010). Outra modalidade matemática muito apropriada de avaliação é a MAGE (KOVATCHEV et al., 2005; KOVATCHEV et al., 2006).

A maneira como a glicose é medida, afim de avaliar a instabilidade, também se alterou nos últimos anos. A monitorização contínua da glicose tornou-se mais difundida, oferecendo a oportunidade de estabelecer uma avaliação mais precisa das flutuações da glicose (KILPATRICK, 2009).

1.4. METABOLISMO DA VITAMINA D.

A vitamina D desempenha um papel importante no metabolismo ósseo através das vias conhecidas que regulam o cálcio e fósforo séricos (GIRGIS et al., 2013). Entretanto, além dos órgãos classicamente associados a esse metabolismo como ossos, fígado, rins e intestinos, há receptores de vitamina D (VDR, do inglês *vitamin D receptor*) expressos também em outros tecidos, incluindo células Beta pancreáticas, células do endotélio vascular, neurônios, células do sistema imunológico, osteoblastos e monócitos. A presença do VDR nesses tecidos sugere que a vitamina D possa exercer ação no metabolismo da glicose e lipídios (ROSEN et al., 2012).

A Vitamina D (calciferol) é um nome genérico para o grupo de esteroides de gordura do qual as duas maiores formas são a vitamina D2 (ergocalciferol) e a vitamina D3 (colecalciferol). Ambas as formas de vitamina D realizam metabolismo idêntico (DELUCA, 2004). O corpo produz vitamina D do colesterol 7-deidrocolesterol (7-DHC) através de processos desencadeados pela ação de raios solares ultravioleta B (UVB) na pele. Fatores como cor da pele, idade, tempo de exposição solar e localização geográfica afetam a produção dessa vitamina. Durante a exposição solar, os fótons UVB de alta energia penetram na epiderme e dão origem ao 9,10 seco-esterol (pré-colesterol). Esse processo ocorre em algumas horas. Segue-se uma isomerização que converte esse intermediário em vitamina D3 (ou colecalciferol) de forma lenta e espontânea, sendo necessário aproximadamente três dias para que esse composto se converta completamente em vitamina D3, e em cerca de sete dias já pode ser detectada na circulação (MACLAUGHLIN; ANDERSON; HOLICK, 1982).

O homem obtém a vitamina D através de alimentos como peixes gordos e seus óleos (vitamina D3 e vitamina D2), mas a maioria das pessoas adquire suas necessidades dessa vitamina através da ação metabólicas dos raios UVB na pele (vitamina D3). Após a síntese cutânea duas hidroxilações serão necessárias para ativar a vitamina D, a primeira no fígado e a segunda a nível renal (HOLICK, 2003). Na circulação, a vitamina D é transportada para o fígado unida à proteína ligadora da vitamina D (DBP). Cerca de 99% dos metabólitos da

vitamina D circulam ligados a albumina e a DBP. No fígado ocorre a primeira hidroxilação para a 25-hidroxivitamina D3 (25(OH)D3) ou CYP2R1, o calcidiol que será secretada no plasma. Continuando o processo, a nível renal a 25(OH)D3 é metabolizada pela enzima 1- α hidroxilase ou CYP27B1, sintetizando na forma ativa, a 1 α ,25- dihidroxi vitamina D3 (1 α ,25(OH)2D3 ou 1,25(OH)2D3). A concentração de paratormônio (PTH), cálcio e fósforo séricos regulam a produção da 1 α ,25(OH)2D3 (KIMBALL et al., 2008).

O sistema enzimático responsável pela 1- α hidroxilação da 25(OH)D3 está associado a mitocôndrias nos túbulos renais proximais. Trata-se de uma oxidase de função mista que requer oxigênio molecular e NADPH (*nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase*) como cofatores (SIEGEL; WONGSURAWAT; ARMBRECHT, 1986; REICHEL; KOEFLER; NORMAN, 1989). O mecanismo de ação da forma ativa da vitamina D é similar a dos outros hormônios esteroides, e é mediado pela sua ligação ao VDR. Esses receptores são encontrados na maioria dos tecidos e não apenas naqueles que participam das ações clássicas da vitamina D, tais como ossos, intestinos e rins. A enzima responsável pela conversão da 25(OH)D3 para 1 α ,25(OH)2D3 também é expressa em uma variedade de regiões extra renais, tais como células endoteliais, células Beta e células do sistema imunológico (BIKLE, 2009).

A forma 25(OH)D3 é o mais abundante metabólito circulante (MCKENNA, 1992), e tem meia-vida de aproximadamente 20 dias (CANTO-COSTA; KUNII; HAUACHE, 2006). A 25(OH)D3 reflete as concentrações séricas da vitamina D3 e vitamina D2, bem como representa a melhor mensuração clínica disponível do *status* sérico da vitamina D, sendo por isso, um indicador da biodisponibilidade de vitamina D (PARFITT, et al., 1982), e o hormônio principal, a 1 α ,25(OH)2D3, também denominado de calcitriol, que atua como ligante para o fator de transcrição nuclear VDR, regulando a transcrição gênica e a função celular em diversos tecidos. Há evidências de que 3% do genoma humano seja regulado pela 1 α ,25(OH)2D3 (BOUILLON et al., 2008). O receptor VDR pertence à superfamília dos receptores nucleares dos fatores reguladores da transcrição dos hormônios esteroide, ácido retinóico, hormônio tireoidiano e vitamina D. O calcitriol é carregado pela corrente sanguínea ligado a DBP até a célula-alvo, penetra na célula e liga-se ao seu receptor VDR dentro do núcleo, compõem heterodímeros com receptor do ácido retinóico (RXR), sofrendo modificações na sua conformação que possibilitam a ligação a sítios específicos no DNA (elementos responsivos a vitamina D – VDRE) (HOLICK; KRANE; POTTS, 1992 *apud* BRAUNWALD, et al., 1992; CANTO-COSTA; KUNII; HAUACHE, 2006).

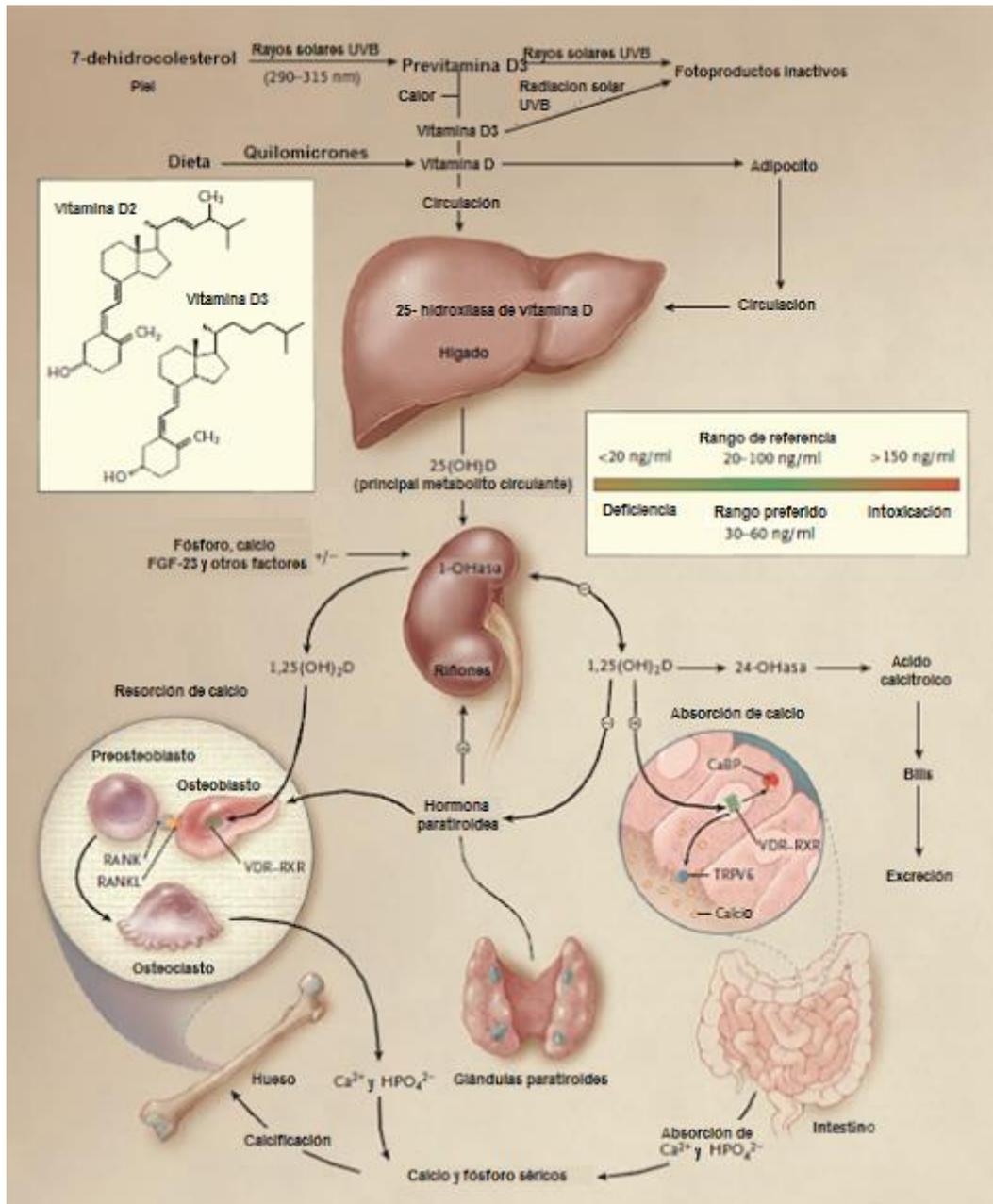


Figura 1 - Metabolismo da vitamina D.

Fonte: HOLICK, 2007

Como descrito, o calcitriol é um hormônio lipossolúvel, cujas ações clássicas ocorrem por intermédio de receptores genômicos, e estão relacionadas à homeostasia do cálcio e fosfato corporal, incluindo aumentar a absorção intestinal de cálcio e fosfato, estimular a mineralização óssea e inibir a síntese do PTH dentre outras (JONES; STRUGNELL; DELUCA, 1998). A meia-vida plasmática do calcitriol é estimada em 15 horas (JONES, 2008). Como sua síntese é estritamente regulada para manutenção da homeostase do cálcio, o calcitriol não pode ser utilizado para controle do *status* de vitamina D no organismo, pois tem sua produção aumentada ou diminuída de acordo com as necessidades imediatas deste. Além

disso, as concentrações de $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ são cerca de 1.000 vezes menores que a $25(\text{OH})\text{D}_3$ (MCKENNA, 1992).

A vitamina D e seus análogos exercem as suas ações através do VDR nuclear que é responsável pela cascata de interações moleculares que modulam a transcrição de genes específicos (NAGPAL; NA; RATHNACHALAM, 2005). Variações genéticas ocorrem em quase todos os genes do sistema vitamina D, mas a maioria das investigações têm sido realizadas no VDR. O gene VDR ocupa quase 100 kb no cromossomo 12. O gene CYP27B1 ou $1-\alpha$ hidroxilase é também encontrado no cromossomo 12. Enquanto mutações CYP27B1 causam raquitismo dependente de vitamina D, polimorfismos do gene são associados com DM1 e outras doenças do sistema endócrino. No gene VDR, foram identificados polimorfismos de nucleótidos simples (SNP): no exon 2 (FokI (C/T rs2228570)), intron 8 (BsmI ((A/G rs1544410), ApaI (C/T rs7975232)), e no exon 9 (TaqI (T/C rs731236)) a partir do corte com quatro enzimas de restrição específicas (RAMOS-LOPEZ et al., 2006). Os estudos associando variações alélicas de VDR e DM1 feito em muitos países, incluindo diferentes populações, produziram resultados conflitantes; alguns mostraram associação significativas, enquanto outros não conseguiram chegar a significância estatística. Estes resultados diferentes podem estar relacionados a diferenças na origem étnica das populações estudadas e com interações com outros fatores genéticos ou ambientais envolvidos na patogênese da DM1 (MOHAMMADNEJAD et al., 2015).

Entretanto, atualmente sabe-se que os VDRs estão presentes na maioria dos tecidos corporais, incluindo diversos relacionados a apoptose e imunomodulação, e inúmeros trabalhos clínicos e experimentais têm mostrado o papel da vitamina D em doenças diversas tais como câncer, doenças autoimunes, infecciosas e cardiovasculares (HOLICK, 2007; HYPONEN, 2010; HOLICK, 2011).

A hipovitaminose D tem se tornado endêmica devido a ingestão insuficiente da vitamina D em combinação com o uso de roupas e produtos com proteção solar. A prevalência de deficiência de vitamina D tem sido relatada com grande frequência em regiões ensolaradas do mundo. Estudos de prevalência de hipovitaminose D na Arábia Saudita, Austrália, Turquia, Emirados Árabes e Índia têm mostrado que 30 a 50% das crianças e adultos têm níveis de $25(\text{OH})\text{D}_3$ abaixo de 20 ng/mL (BANDEIRA; BANDEIRA; FREESE, 2003).

Atualmente, o conceito de ação ideal da vitamina D consiste em manter níveis constantes de $25(\text{OH})\text{D}_3$ iguais ou superiores a 30 ng/mL. Como existe variabilidade nos ensaios laboratoriais e pontos de corte, manter os níveis de $25(\text{OH})\text{D}_3$ em pelo menos 40

ng/mL garantiria este objetivo sem risco de toxicidade. Este é o racional para mantermos níveis de 25(OH)D3 entre 30 e 100 ng/mL, tentando proporcionar um melhor efeito sobre a glicemia sem riscos para os pacientes. Adicionalmente, a maioria dos estudos tem sugerido que os níveis de 25(OH)D3 precisam estar acima de 150 ng/mL para existir a preocupação de hipercalcemia. Portanto, um limite superior da 25(OH)D3 de 100 ng/mL promove uma grande margem de segurança, e um risco muito reduzido de hipercalcemia. Em julho de 2011, a Sociedade de Endocrinologia lançou sua diretriz sobre a avaliação, tratamento e prevenção de deficiência de vitamina D. Nessa diretriz, destacou-se que o valor de normalidade desse metabólito é de 30 ng/mL, considerando-se a insuficiência quando os valores estão entre 20 – 30 ng/mL (quando pode ser encontrado hiperparatiroidismo secundário), e deficiência quando os valores estão abaixo de 20 ng/mL – quando podem ser encontrados osteomalácia e hiperparatiroidismo secundário (HOLICK, 2011). Os resultados da vitamina D podem ser expressos em nanograma por mililitro (ng/mL), ou nanomol por litro (nmol/L). Basta multiplicar o valor expresso em ng/mL por 2,5 para obter o correspondente em nmol/L. Segundo Holick (2008), cerca de um bilhão de pessoas ao redor do mundo apresentam insuficiência ou deficiência de vitamina D.

A avaliação exata do conteúdo corporal baseia-se na medição do nível total de 25(OH)D3, 25-hidroxivitamina D2 (25(OH)D2) + 25-hidroxivitamina D3(25(OH)D3). Alguns imunoenaios são equipotentes na medição da 25(OH)D2 e 25(OH)D3, enquanto outros detectam preferencialmente uma das formas (BINKLEY; KRUEGER; LENSMEYER, 2009). Embora estes métodos permitam a medição simultânea da 25(OH)D2 e da 25(OH)D3, a harmonização do método é limitada e não há nenhuma preparação de referência ou calibrador consensual para a vitamina D (BEASTALL; RAINBOW, 2008). Desde 1985 existem ensaios que medem com precisão os níveis totais de 25(OH)D graças a anticorpos que são coespecíficos para a 25(OH)D2, e a 25(OH)D3. O radioimunoensaio (RIE) 125 I 25(OH)D3 definiu o padrão para o diagnóstico clínico da deficiência nutricional de vitamina D, e tem sido utilizado na maioria dos estudos correlacionando-o com o risco de desenvolver várias doenças (HOLLIS, 2008). O RIE foi o primeiro método aprovado para avaliação clínica da 25(OH)D pelo *Food and Drug Administration* (FDA) (JONGEN et al., 1982). A cromatografia líquida de alta performance (HPLC, do inglês *High Performance Liquide Chromatography*) é um outro método de análise da vitamina D (JONES, 1978). A dosagem por radioimunoensaio ou por quimioluminescência são os menos dispendiosos e oferecem como resultado a 25(OH)D total, sendo confiáveis e largamente utilizados na prática clínica (CASTRO, 2011). Uma queda de 30% em 1995, para 15% em 2011 foi observada na

variabilidade interlaboratorial dos testes, em geral para dosagem de 25(OH)D (CARTER, 2012). Este fato tem gerado uma boa perspectiva na investigação sobre a atividade desta vitamina.

1.5. VITAMINA D E DIABETES MELLITUS.

Estudos para avaliar a associação entre hipovitaminose D em pacientes com DM1 têm reportado grande prevalência da deficiência dessa vitamina quando comparado com a população normal (JANNER et al., 2010). Como a síntese cutânea é a maior fonte da vitamina D e a exposição solar é grandemente relacionada a latitude, estudos mostraram aumento na prevalência de DM1 em latitudes setentrionais (KRIEGEL; MANSON; COSTENBADER, 2011).

Reconhece-se atualmente que tanto fatores genéticos como ambientais estão envolvidos na patogenia do DM1, sendo que a deficiência de vitamina D surge como uma das principais candidatas como fator ambiental, possivelmente devido ao seu efeito modulador do sistema imunitário, e ao seu envolvimento na regulação da diferenciação e proliferação celulares (LUONG; NGUYEN; NGUYEN, 2005; MATHIEU; BADENHOOF, 2005). A prevalência da deficiência de vitamina D em diabéticos tipo 1 é de 15 a 90,6% (HOLICK, 2011).

A deficiência de vitamina D é atualmente um tema de imenso interesse, sendo muito prevalente em todas as idades, raças, regiões geográficas e *status* socioeconômico (HOLICK, 2004; BISCHOFF-FERRARI et al., 2004).

O papel da vitamina D na manutenção da homeostase do cálcio e fósforo é reconhecido há décadas. No entanto, a descoberta da existência de receptores de vitamina D em vários tecidos, assim como a capacidade destes para transformar 25(OH)D no metabólito mais ativo 1,25(OH)₂D₃, parece guiar esta molécula para um futuro promissor. Vários estudos demonstram a importância da vitamina D na prevenção de doenças autoimunes, entre as quais se encontra o DM1 (HOLICK, 2004).

Evidências sugerem uma associação de baixos níveis de vitamina D com a presença de disfunção nas células Beta pancreáticas e de resistência à insulina (CHIU et al., 2004). Adicionalmente, alguns dados tem sugerido que a reposição de vitamina D poderia melhorar o controle glicêmico e a sensibilidade insulínica de diabéticos tipo 1, diabéticos tipo 2 e indivíduos normais (BORISSOVA et al., 2003; CHIU et al., 2004; LUONG; NGUYEN; NGUYEN, 2005). Aljabri, Bokhari e Khan (2010) demonstraram uma melhora no controle

glicêmico de pacientes com DM1 e deficiência de vitamina D, após a reposição desta substância por um período de 3 meses. Entretanto, nesse estudo não houve controle sobre variações na dieta, na dose de insulina nem da variabilidade glicêmica destes pacientes. Recentemente atribuiu-se também à vitamina D um importante papel na prevenção de morte de células das ilhotas pancreáticas, na sobrevivência de enxertos de células das ilhotas e, conseqüentemente, na produção da insulina (ALJABRI; BOKHARI; KHAN, 2010).

A identificação dos receptores de 1,25(OH)₂D e a expressão da 1 alfa hidroxilase em células Beta pancreáticas concorre para a possibilidade de um papel da vitamina D na patogênese do DM (BLAND et al., 2004). Em humanos, a deficiência de vitamina D está relacionada a intolerância à glicose em DM2 (CHIU et al., 2004). Hipovitaminose D leva a deficiência na secreção de insulina e induz intolerância à glicose (CADE; NORMAN, 1986), enquanto que a reposição de vitamina D poderia restabelecer essas anormalidades (TANAKA et al., 1984).

A vitamina D afeta a função das células Beta de várias maneiras. A forma ativa de vitamina D exerce seu efeito pela ativação do VDR. A ligação da 1,25(OH)₂D ao receptor VDR leva a transcrição de genes regulados pela 1,25(OH)₂D. Os efeitos da vitamina D na síntese e secreção de insulina são evidenciados pela presença do VDRE no gene promotor de insulina humana, e ativação transcricional do gene da insulina humana causado pela 1,25(OH)₂D (MAESTRO et al., 2003). Um efeito indireto da vitamina D nas células beta pode ser mediado pela sua regulação na concentração extracelular de cálcio, e o influxo de cálcio pelas células Beta (SERGEEV; RHOTEN, 1995).

A vitamina D pode também afetar a resistência à insulina através do sistema renina-angiotensina-androsterona. Acredita-se que a angiotensina II contribui para o aumento da resistência à insulina pela inibição da ação da insulina no tecido vascular e músculo esquelético, levando ao decréscimo na captação de glicose (SOWERS et al., 2004). A suplementação de vitamina D poderia, então, interferir no controle glicêmico. Dados suportam o complexo vitamina D-VDR como um potencial regulador da atividade de renina em humanos, e o polimorfismo no gene VDR pode ser associado a patogênese do DM2 pela influência na resistência à insulina (CHIU; CHUANG; YOON, 2001).

A deficiência de vitamina D associa-se a um aumento dos marcadores inflamatórios em pacientes diabéticos (incluindo proteína C reativa, expressão de receptores 2 e 4 *tool-like* e fator nuclear κ B), o que poderia predizer um aumento de complicações microvasculares (CHAKHTOURA; AZAR, 2013). A prevalência de doenças cardiovasculares aumentou com

a diminuição dos níveis de 25(OH)D (LUONG; NGUYEN; NGUYEN, 2005), na população em geral não diabética no estudo de Judd e Tangpricha (2008).

O DM1 é uma doença autoimune caracterizada pela perda progressiva e insidiosa da auto-tolerância imunológica em relação às células Beta pancreáticas produtoras de insulina (WALDRON-LYNCH; HEROLD, 2011), resultando na degeneração dessas células e, conseqüente, insuficiência insulínica. 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 vitamina D seriam, portanto, fundamentais para impedir o desenvolvimento de reações autoimunes. Em consonância com esta hipótese, estudos observacionais demonstraram que crianças que receberam suplementação de vitamina D regularmente, tiveram um risco 88% menor de desenvolverem DM1, do que aquelas que não receberam (HYPPONEN et al., 2001).

Uma vez instalado o quadro clínico que leva ao diagnóstico de DM1, a destruição das células Beta já vem acontecendo há anos (WALDRON-LYNCH; HEROLD, 2011; TSAI et al., 2006), e um possível benefício da vitamina D não teria uma atuação preponderante na insulite. Porém, devido à terapia com insulina e/ou a presença de obesidade, um quadro de resistência à insulina pode vir a se instalar no paciente.

Do ponto de vista do mecanismo celular e molecular, ainda não está claro como a suplementação de vitamina D resultaria em melhoria na sensibilidade à insulina. Alguns estudos em ratos portadores de diabetes induzida por estreptozotocina demonstraram que o tratamento com calcitriol aumenta a expressão de receptores de insulina (IR) e transportadores de glicose (CALLE; MAESTRO; GARCIA-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 (MAESTRO et al., 2000). Todas essas ações são atribuídas à ativação de VDR genômicos.

Zhou et al. (2008), em um trabalho experimental, demonstraram que o uso de calcitriol melhora a resistência à insulina. Nesse estudo, os autores utilizaram o ácido palmítico para provocar a resistência à insulina em cultura de mioblastos de ratos. A resistência à insulina foi avaliada pelo grau de captação de 2-deoxiglicose tritiada. A melhoria na captação de glicose induzida por insulina foi verificada através de alterações em mediadores da cascata de sinalização intracelular da insulina. No modelo citado, a resistência à insulina provoca diminuição na captação de glicose, aumento no substrato do receptor de insulina 1 fosforilado nos resíduos serina (pSer-IRS-1), diminuição de IRS-1 fosforilado nos resíduos tirosina (pTy-IRS-1) e de Akt fosforilado (pAkt), e aumento nas formas fosforiladas das enzimas quinase

ERK (*extracellular signal-related kinase*) e JNK (c-Jun amino-terminal kinase). O tratamento com calcitriol melhorou todos esses parâmetros, exceto na proteína ERK.

Apesar das evidências citadas acima, o mecanismo e o papel da vitamina D no combate a resistência à insulina está longe de ser um conceito amplamente aceito e estabelecido. Existem autores que argumentam que o calcitriol contribuiria para o acúmulo de gordura corporal e, portanto, para a obesidade e também para a hipertensão através de ações não genômicas que estimulariam o aumento de cálcio intracelular, a modulação da ação glicocorticóide e de citocinas inflamatórias (ZEMEL; SUN, 2008). Segundo essa hipótese, hipertensão, obesidade e resistência à insulina seriam consequência do aumento de cálcio intracelular, e o calcitriol seria um dos mediadores desse aumento. Autores defendem que é a suplementação de cálcio na dieta que seria benéfica para melhorar tais condições, dentre outros mecanismos, por inibir os níveis de calcitriol, e assim diminuir o aumento de cálcio dentro da célula (ZEMEL 1998; ZEMEL 2001). A suplementação de cálcio também diminuiria os níveis de PTH, o qual tem sido associado ao aumento da resistência à insulina (CHANG; DONKIN; TEEGRADEN, 2009). Somando-se a isso, as ações não genômicas descritas para o calcitriol em células musculares não são compatíveis com ações de combate a resistência à insulina (BOLAND, 2011).

O DM1 pode cursar com alguns dos mecanismos de resistência à insulina, e que associados à insulinodeficiência promovem significativas elevações na glicose e como previamente exposto, estas condições podem aumentar o risco de doenças micro e macrovasculares. O bom controle glicêmico avaliado pela glicemia de jejum, glicemia pós-prandial, hemoglobina glicada e, particularmente, a variabilidade glicêmica é necessário para a prevenção dessas comorbidades relacionadas ao diabetes. Há citações que sugerem possibilidade da vitamina D interferir positivamente no controle glicêmico. Por todo o apresentado, a proposta deste projeto é avaliar o efeito da suplementação de vitamina D – monitorando os níveis de 25(OH)D3 – no controle glicêmico global, em particular sobre a variabilidade glicêmica em pacientes com diabetes mellitus tipo 1.

2 OBJETIVOS.

2.1. GERAL.

Avaliar os efeitos da suplementação de vitamina D na variabilidade glicêmica de pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1.

2.2. ESPECÍFICOS.

1- Avaliar a associação da variabilidade glicêmica com a frequência de hipoglicemias em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1.

2- Avaliar os efeitos da suplementação da vitamina D no controle glicêmico avaliado pela hemoglobina glicada em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1.

3 MÉTODO.

3.1. ENSAIO CLÍNICO.

3.1.1 Desenho do estudo.

Estudo prospectivo, controlado, de 12 semanas, comparativo, avaliando a variabilidade glicêmica de pacientes tratados com suplementação de vitamina D.

- Pacientes com insuficiência e/ou deficiência de vitamina D (níveis de 25(OH)D menores que 30 ng/mL), receberam 10.000 UI/dia de vitamina D (Depura/gotas - 200UI por gota) por 3 meses consecutivos, com objetivo de alcançar níveis séricos de pelo menos 30 ng/mL de 25(OH)D.
- Pacientes com níveis de vitamina D entre 30 e 60 ng/mL, receberam 4.000 UI/dia de vitamina D por 3 meses, com objetivo de manter níveis séricos superiores a 30 ng/mL e menores que 100 ng/mL de 25(OH)D.

3.1.2 Pacientes.

Os participantes do estudo foram recrutados do serviço ambulatorial de endocrinologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB) – UFPA. Participaram desta pesquisa 22 indivíduos portadores de Diabetes Mellitus tipo 1.

3.1.3 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 HbA1c $\geq 7\%$.
2. 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 e insulina detemir; e/ou insulinas ultra-rápidas: Aspart, glulisina e lispro; e/ou insulina rápida: insulina regular. Uma variação de até 10% da dose era permitida.

3. Puderam ser incluídos pacientes em uso de metformina desde que em dose estável há pelo menos 3 meses da visita 1.
4. O (a) paciente tinha que ter a intenção de aceitar manter o regime de dieta e exercício durante o estudo.
5. Capacidade e disposição para realizar a avaliação da glicemia através do SMCG.
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. Forneceram o consentimento através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e Termo de Assentimento (TA) (APÊNDICE A e B, respectivamente), esse último quando o paciente fosse menor de idade, obtido antes de qualquer procedimento do estudo.

3.1.4 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. Ter feito uso de vitamina D ou cálcio dentro dos últimos 3 meses da visita 1.
5. Pacientes que fizessem uso de bebida alcoólica que, na opinião do pesquisador, pudesse comprometer a segurança do paciente e os procedimentos do estudo.
6. Mulheres grávidas ou com intenção de engravidar.
7. Mulheres que estivessem amamentando.
8. Hipo ou hipertireoidismo descompensado.
9. Anemias que, na opinião do pesquisador, pudessem interferir no valor da hemoglobina glicada, evitado hemoglobina sérica ≤ 10 g/dL.
10. Pacientes que tivessem se submetido 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.

3.1.5 Coleta de dados.

A coleta dos dados ocorreu durante visitas previamente agendadas, em 22 pacientes do estudo, na fase pré-tratamento ou basal e na fase pós-tratamento ou final do estudo. Foram realizadas 3 a 4 visitas oficiais e visitas extras quando aplicáveis. Os participantes do estudo foram pacientes usualmente atendidos no serviço ambulatorial de endocrinologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto.

Antes de qualquer procedimento do estudo, os (as) pacientes forneceram duas vias originais do TCLE e/ou TA, esse último quando aplicável. Todas as dúvidas dos (as) pacientes foram esclarecidas pelo pesquisador responsável, uma via do TCLE foi entregue ao (a) paciente e a outra via ficou arquivada com o pesquisador do estudo. Os critérios de elegibilidade foram avaliados, os indivíduos que atenderam a todos os critérios de inclusão e não apresentaram nenhum critério de exclusão foram iniciados propriamente nos procedimentos do estudo.

Todos os pacientes apresentavam Diabetes Mellitus tipo 1, tinham autoanticorpos relacionados ao diabetes, história de cetoacidose, iniciaram insulina ao diagnóstico da doença e ainda mantêm necessidades contínuas dessa medicação (CHEON et al., 2015).

Na visita de triagem ou visita 1 havia uma janela de 14 a 21 dias, o (a) paciente foi submetido a uma anamnese detalhada sobre condições específicas da sua doença de base, o DM1, e também informações relevantes sobre sua história médica geral e estilo de vida. Para as pacientes do sexo feminino foram avaliadas as condições reprodutivas. Todas as medicações em uso corrente durante a visita 1 foram registradas com a posologia específica de cada uma delas, e também todas as medicações que o (a) paciente tinha feito dentro dos últimos 3 meses antes da visita 1.

Especificamente quanto as medicações anti-diabéticas, as doses de insulina basal e/ou ultra-rápida, e/ou rápida e/ou metformina, quando aplicáveis, deveriam ser mantidas, se possível, inalteradas. Caso o médico assistente do (a) paciente julgasse necessário modificar as doses dessas medicações, o (a) paciente deveria informar o médico do estudo sobre essa (s) alterações na próxima consulta agendada. Foi solicitado também que os (as) pacientes entrassem em contato com os pesquisadores desse estudo caso houvesse algum evento adverso quer relacionado ou não com o uso do colecalciferol.

Caso ocorressem hipoglicemias recorrentes (glicemias capilares <70mg/dL), e/ou hiperglicemias (glicemias capilares em jejum maiores ou iguais a 240 mg/dL em dias

consecutivos), os pacientes seriam orientados pelo médico do estudo, a critério de segurança, para reduzir ou aumentar respectivamente suas doses de insulina. As doses de insulinas prandiais, ultrarápidas ou rápidas permaneceram de acordo com a contagem de carboidratos realizada pelos pacientes, conforme orientação prévia do seu médico assistente. Todas as doses diárias de insulina basal e prandiais (ultrarápida, rápida) e metformina, bem como qualquer outra medicação de uso do (a) paciente foram devidamente registradas no prontuário do (a) paciente na visita 1, e em todas as visitas desse estudo.

Um exame físico completo de todos os sistemas foi realizado, algumas avaliações específicas incluindo peso e altura para cálculo do índice de massa corpórea (IMC). O peso corporal e a estatura foram medidos por meio de uma balança mecânica com estadiômetro acoplado¹. 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 IMC por meio da divisão do peso corporal (kg) pela estatura ao quadrado (m²). Foram considerados magros os indivíduos que apresentavam IMC $\leq 19,9$ kg/m², normais com IMC entre 20 e 24,9 kg/m², sobrepeso os indivíduos que apresentavam IMC entre 25 e 29,9 kg/m² e obesos aqueles com valor de IMC ≥ 30 kg/m².

A verificação da pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) ocorreram com o (a) paciente sentado (a), após pelo menos 5 minutos de repouso nessa posição, no braço eleito e com manguito adequado para a circunferência do braço. Foi utilizado um medidor de PA arterial de braço². Foram considerados hipertensos indivíduos com pressão arterial sistólica (PAS) ≥ 140 mmHg ou pressão arterial diastólica (PAD) ≥ 90 mmHg (JAMES et al., 2014).

Os pacientes foram submetidos a coletas de amostras de sangue e urina. Houve análise dos seguintes parâmetros laboratoriais: A hemoglobina glicada foi analisada pelo método HPLC (*high-performance liquid chromatography*) (NETTO, 2009). A 25OHD3 foi analisada por HPLC e imunoensaio (WAGNER; HANWELL; VIETH, 2009). Pelo método Colorimétrico/automatizado foram analisados a glicemia plasmática de jejum, magnésio, fósforo, cálcio total, ureia, albumina, colesterol total e frações (LDL, VLDL, HDL, não-HDL) e triglicerídeos. Pelo método Eletrodo seletivo foram analisados o cálcio total e iônico, sódio, potássio e cloreto. O método UV otimizado-enzimático/automático analisou o aspartato aminotransferase (AST ou TGO), e alanina aminotransferase (ALT ou TGP). Pelo método de quimioluminescência foram analisados: hormônio estimulante da tireoide (TSH), tiroxina

¹ Welmy modelo 110, Brasil.

² Omron digital automático.

livre (T4L), PTH, hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH), estradiol (para mulheres), testosterona total e livre (para homens), cortisol e prolactina. O método analisador automático CELL-DYN 3700 foi o utilizado para analisar o hemograma. A proteína C reativa – ultrasensível foi analisada por turbidimetria do ARCHITECT, e a creatinina pelo método cinético/automatizado. A microalbuminúria foi realizada por imunoturbidimetria (ADA, 2011). A taxa de filtração glomerular (TFG) foi calculada pela fórmula CKD-EPI (ANEXO A) (LEVEY et al., 2009). Quanto a albuminúria considera-se: normoalbuminúria (<30 mg/24h ou <30 mg/g de creatinina), microalbuminúria (≥ 30 mg/24h e <300 mg/24h, ou ≥ 30 e <300 mg/g de creatinina) e macroalbuminúria (≥ 300 mg/24h ou ≥ 300 mg/g de creatinina), sendo esta realizada por imunoturbidimetria (ADA, 2011).

Foram coletados 20 ml de sangue total para os exames supracitados e, adicionalmente, 30 ml de sangue total e 30 ml de urina foram coletados para armazenamento em biorrepositório para futuras avaliações.

Os (as) pacientes foram orientados que poderia haver necessidade de comparecerem ao centro da pesquisa caso houvesse necessidade de algum reteste de exames de laboratório, ou em caso de alerta de laboratório que na opinião do pesquisador pudesse comprometer a segurança do (a) paciente.

Para fins da análise dos dados, os valores de vitamina D foram avaliados nos seguintes intervalos: ≤ 20 ng/mL; 21-29 ng/mL e ≥ 30 ng/mL. Essa divisão segue a proposta de Holick (2011) que definiu valores iguais ou superiores a 30 ng/mL de 25(OH)D3 como normais; valor entre 21-29 ng/ml como insuficiência; e abaixo de 20 ng/ml como deficiência.

As amostras coletadas para biorrepositório foram congeladas em um freezer a -86° centígrados³. Após a coleta das amostras de laboratório, foi então instalado o SMCG utilizado, o equipamento Guardian® REAL-Time (*continuous glucose monitoring system*). Após lavagem das mãos do realizador do procedimento, o local a ser aplicado foi higienizado com álcool e o sensor foi introduzido em região com camada adiposa adequada (foi escolhida a região abdominal em todos os (as) pacientes desse estudo), com um dispositivo que contém agulha. Após a instalação, a agulha foi retirada, permanecendo apenas o sensor no subcutâneo e um transmissor foi acoplado externamente na pele. Um monitor que ficava preso à roupa do (a) paciente recebia as informações por um sinal de rádio.

A glicose do subcutâneo era então medida continuamente sob a forma de um sinal elétrico, cuja intensidade era proporcional à quantidade de glicose presente, não havendo

³ Indrel Ultra freezer- IULT 2005-D- Brasil.

necessidade de nenhum artefato entre o sensor e o monitor. Para calibrar o sensor foi necessário que o (a) paciente verificasse a glicemia capilar em horários específicos (2, 6 e 12 horas após a instalação, e a cada 12 horas nos dias subsequentes), o monitor avisava através de um sistema de alarme o horário dessas verificações. O valor obtido pela glicemia capilar era então adicionado no monitor. Após a instalação, o (a) paciente foi devidamente orientado sobre o manuseio do equipamento, sendo também entregue a este (a) um manual de instruções. Caso houvesse algum problema durante o uso do SMCG no domicílio, o (a) paciente foi incentivado a contatar o pesquisador do estudo para tentar resolver o problema, ou quando necessário, interromper o procedimento a critério de segurança e conforto do (a) paciente.

Um glicosímetro⁴ foi fornecido para o (a) paciente verificar as glicemias capilares a fim de calibrar o Guardian®, e para a realização adicional de um perfil de sete pontos da glicemia capilar (antes do café da manhã, 2 horas depois do café da manhã, antes do almoço, 2 horas após o almoço, antes do jantar, 2 horas depois do jantar e ao deitar). O (a) paciente foi orientado a registrar os resultados em diário próprio (APÊNDICE C) que foi entregue nessa visita e recolhido no dia da retirada do Guardian®. Um registro das principais refeições café da manhã, almoço e jantar foi solicitado para que anotassem o valor do carboidrato de cada refeição, essas informações foram registradas em diário próprio (APÊNDICE D) que foi entregue nessa visita e recolhido no dia da retirada do Guardian®.

Após todas as orientações, foi solicitado ao (a) paciente retornar ao centro dentro de 4 a 5 dias, ou antes, caso o (a) paciente referisse algum desconforto ou solicitasse a retirada do equipamento. O SMCG realiza cerca de 288 medidas de glicose por dia, 864 em 3 dias. Os pacientes ficaram em média 3 dias com o SMCG, o que significa que foram realizadas cerca de 41.000 coletas de dados de glicose, esse número de verificações confere um grande poder e confiabilidade a essa variável, mesmo quando avaliada em 22 pacientes. Cada paciente ficou com o SMCG em média 3 dias na fase basal e mais 3 dias ao final do estudo.

Os pacientes fizeram verificação adicional da glicemia capilar através da auto-monitorização da glicemia capilar (AMGC), realizando um perfil de sete pontos, significava verificar a glicemia capilar 7 vezes ao dia por 3 dias consecutivos antes e duas horas após café da manhã, almoço e jantar e outra ao deitar. Com esse método mais econômico também é possível avaliar a variabilidade glicêmica, mas o número de verificações da GC são insignificantes em relação aos números de glicoses verificados através do SMCG.

⁴ Accu-chek Active-ROCHE Diagnósticos, 2014.

A visita 2 ocorreu em até 21 dias após a visita de triagem e coincidia com a retirada do SMCG. Com os resultados dos exames realizados na visita 1, era feita uma revisão para avaliar se o (a) paciente apresenta todos os critérios de inclusão e nenhum critério de exclusão. Avaliava-se ainda se havia ocorrido alguma modificação no esquema terapêutico, e/ou introdução de alguma nova medicação. Nova tomada das medidas antropométricas: peso, estatura, bem como as aferições da PA e FC, e cálculo do IMC. Nessa visita houve a verificação adicional da circunferência da cintura e quadril. A relação cintura/estatura é calculada dividindo-se a circunferência da cintura (cm) pela medida do quadril. As circunferências são medidas de regiões do corpo que englobam ossos, músculos e tecido adiposo. Segundo a *World Health Organization* (WHO) o sujeito ficou em pé, com abdômen relaxado, braços estendidos e peso igualmente distribuído entre as pernas, com os pés próximos e paralelos. A região da cintura deve estar desprovida de roupa. A medida foi realizada ao final da expiração, tomando-se o cuidado para não comprimir a pele no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. A fita métrica era flexível e inelástica com precisão de 0,1 cm. Para localizar e marcar o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, solicitava-se ao indivíduo que inspirasse e segurasse a respiração por alguns segundos, apalpava-se lateralmente até encontrar a última costela. Em seguida, palpava-se o ilíaco até encontrar o ponto mais elevado deste osso. Mediu-se a distância entre os dois pontos e marcou-se o ponto médio. O antropometrista posicionou-se lateralmente ao indivíduo a ser medido, e verificou se a fita estava alinhada em um plano horizontal paralelo ao chão. A medida foi realizada colocando a fita horizontalmente ao redor da cintura sobre o ponto médio. Foi pedido para que a pessoa soltasse o ar e então se observava e se ajustava a fita. Para as medidas do quadril, os indivíduos continuaram na posição ortostática, sendo a fita posicionada no plano horizontal, ao nível do ponto de maior circunferência da região glútea.

Os dados antropométricos e de sinais vitais que foram registrados como pré-tratamento para fins de análise estatística foram os da visita 2.

Conferiu-se com o (a) paciente se houve alguma intercorrência ou evento adverso, e assim que confirmados que todos os procedimentos basais foram realizados, iniciou-se o uso da vitamina D.

Os pacientes foram tratados de acordo com seus níveis de 25(OH)D3 e instruídos a tomar a medicação diariamente, de preferência no mesmo horário. A primeira dose foi administrada pelo pesquisador no dia da visita 2.

Com base na diretriz de prática clínica da Sociedade de Endocrinologia sobre a avaliação, tratamento e prevenção da deficiência de vitamina D. A opção julgada eficiente e

segura foi que durante um período de 12 semanas, com janela de 4 a 21 dias, foram administrados por via oral 4.000 UI/dia de colecalciferol, para aqueles pacientes com a 25(OH)D3 entre 30 e 60 ng/mL, e 10.000 UI/dia para aqueles com a 25(OH)D3 menor que 30 ng/mL. (HOLICK, 2011).

O desfecho primário foi a comparação entre os níveis de hemoglobina glicada, variabilidade glicêmica e frequência de hipoglicemias antes e após 12 semanas de tratamento com vitamina D em cada grupo.

A vitamina D utilizada foi o colecalciferol (vitamina D3) Depura® gotas, frascos com 20 ml e 1 gota = 200 UI, produto da Sanofi Aventis Farmacêutica.

A visita 3 ocorreu pelo menos 12 semanas após o início do tratamento com uma janela de 14 a 21 dias. Avaliou-se houve algum evento adverso, modificação no esquema terapêutico e realizou-se os procedimentos como exame físico completo. Nesta visita, todos os procedimentos intervencionais realizados no período de pré-tratamento, nas visitas 1 e 2, foram repetidos com os mesmos métodos supramencionados. Enquanto o (a) paciente não houvesse realizado todos os procedimentos da visita 3, esse (a) mantinha o uso da vitamina D.

Após a realização de todos os procedimentos da visita 3, o (a) paciente retornava para a visita 4, ocorria a suspensão da vitamina D e o estudo se encerrava para o (a) paciente.

3.1.6 Atividades das visitas do estudo:

3.1.6.1. Visita 1 (Triagem) – Apêndice E.

Esta visita terá uma janela de 14 a 21 dias consecutivos.

1. Obtenção do TCLE.
2. Revisão dos critérios de inclusão e exclusão.
3. Avaliação dos dados demográficos do paciente (data de nascimento, idade, sexo, raça e etnia).
4. Condições reprodutivas (para mulheres).
5. Avaliar a procedência para o estudo e se há um médico cuidador do (a) paciente.
6. Realização da História Médica Geral e Específica do Diabetes.

7. Avaliação do estilo de vida do (a) paciente (sobre tabagismo, uso de bebida alcoólica, regime de dieta e exercício).
8. Avaliação das medicações prévias e em uso dentro dos últimos 3 meses da visita 1.
9. Exame físico completo.
10. Avaliação das medidas antropométricas: peso, estatura e cálculo do IMC.
11. Verificação dos sinais vitais: medida da PA e FC.
12. Coleta dos exames basais com o (a) paciente em jejum de pelo menos 10 horas.
13. Coleta de material (sangue total e urina) que será armazenado no biorrepositório para futuras análises.
14. Instalação do SMCG no (a) paciente do estudo e orientação sobre o uso para os próximos 4 a 5 dias.
15. Será realizado utilizando-se o aparelho Guardian ® (Medtronic).
16. Solicitar no período de realização da monitorização contínua de glicose a verificação da glicemia capilar no glicosímetro Acu-check Active.
17. Solicitar que no período de realização da monitorização contínua de glicose haja um recordatório alimentar.

3.1.6.2. Visita 2 – Apêndice F.

Ocorrerá até 21 dias após a visita de triagem. Poderá ou não coincidir com o dia da retirada do SMCG.

1. Com os resultados dos exames solicitados na visita 1, será feita a revisão para a confirmação de todos os critérios de inclusão e nenhum critério de exclusão.
2. Avaliar se houve alguma modificação no esquema terapêutico e/ou introdução de alguma nova medicação.
3. Avaliação das medidas antropométricas: peso, estatura, verificação da circunferência da cintura e quadril.
4. Verificação dos sinais vitais: medida da PA e FC, e cálculo do IMC.
5. Confirmar que todos os procedimentos basais tenham sido realizados.
6. Verificar se houve alguma intercorrência ou evento adverso.
7. Início do tratamento.

3.1.6.3. Visita 3 – Apêndice G.

Ocorrerá até 12 semanas após o início do tratamento, com uma janela de 14 dias.

1. Avaliar se houve algum evento adverso.
2. Avaliar se houve alguma modificação no esquema terapêutico e/ou introdução de alguma nova medicação.
3. Avaliação das medidas antropométricas: peso, estatura, verificação da circunferência da cintura e quadril.
4. Verificação dos sinais vitais: medida da PA e FC, e cálculo do IMC.
5. Coleta dos exames pós-tratamento, com o (a) paciente em jejum de pelo menos 10 horas. Todos os exames coletados na visita 1 deverão ser coletados na visita 3.
6. Instalação do SMCG no (a) paciente do estudo e orientação sobre o uso para os próximos 4 a 5 dias. Será realizado utilizando-se o aparelho Guardian® Medtronic.
7. Solicitar no período de realização da monitorização contínua de glicose a verificação da glicemia capilar no glicosímetro Acu-check Active.
8. Solicitar que no período de realização da monitorização contínua de glicose haja um recordatório alimentar.
9. Caso o (a) paciente tenha realizado todos os procedimentos pós-tratamento a vitamina será suspensa.

3.1.6.4. Visita 4 (Final) – Apêndice H.

Após a realização de todos os procedimentos da visita 3, o (a) paciente terá a vitamina D suspensa e o estudo se encerra para o (a) paciente.

4 BIORREPOSITÓRIO.

Após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e obtenção do TCLE, o soro dos pacientes incluídos no estudo será armazenado em um freezer a temperatura de -86 °C, localizado no Centro de Pesquisa em Endocrinologia do HUIBB/UFPA, cujos responsáveis são o Prof. Dr. João Soares Felício, orientador desse estudo, e Karem Miléo Felício, autora do mesmo. 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 biorrepositório será realizada sem prévia submissão e aceite do CEP dessa instituição, conforme resolução CNS Nº 441 de 12 de maio de 2011.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.

As variáveis categóricas foram descritas como frequência (porcentagem), as variáveis numéricas com distribuição normal foram descritas como média (desvio-padrão) e as demais como mediana (máximo-mínimo). Testes Qui-Quadrado, Fisher e McNemar foram utilizados para comparação das variáveis categóricas. Os testes t-Student e Man-Whitney foram utilizados para comparar dois grupos com variáveis numéricas com e sem distribuição normal respectivamente. Os testes t-Student pareado e Wilcoxon foram utilizados para comparar os dados dos grupos com variáveis numéricas com e sem distribuição normal no início e ao final do estudo respectivamente. Para estabelecer correlações entre variáveis, foram utilizados os testes de Pearson e Spearman. O teste de análise de variância (ANOVA) comparou mais de dois grupos com variáveis numéricas com distribuição normal, e o teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparar mais de dois grupos de variáveis numéricas sem distribuição normal.

Para fins estatísticos, padronizou-se em relação ao estágio de nefropatia que para os pacientes com normoalbuminúria, microalbuminúria, macroalbuminúria foram atribuídos os numerais 0, 1 e 2 respectivamente. Do mesmo modo, em relação aos níveis de vitamina D, sobre o *status*: normal, insuficiente e deficiente foram atribuídos como índices de vitamina D os numerais 0, 1 e 2, respectivamente. Para esclarecimento, o índice foi utilizado para possibilitar a análise estatística, a condição será descrita no estudo como *status* de vitamina D. A variabilidade glicêmica nomeada desvio padrão da glicemia (DPG).

Adicionalmente, os valores de albuminúria foram convertidos em log de base 10 (\log_{10}) para melhor análise dos dados.

A Variabilidade Glicêmica foi avaliada pelo Desvio Padrão da variabilidade glicêmica. Foram calculadas as variações percentuais de algumas variáveis: variação percentual de insulina total (Δ insulina total), variação percentual de insulina basal (Δ insulina basal), variação percentual da insulina prandial (Δ insulina prandial) e variação percentual do desvio padrão da glicemia (Δ desvio padrão da glicemia ou Δ DPG).

Interferências foram representadas por testes de hipótese com um nível de significância bilateral de 0,05.

Todas as informações foram armazenadas e processadas com os *softwares* SigmaStat (JandelScientific) versão 3.5 e SPSS (*StatisticalPackage for Social Sciences*) 21.0. (IBM).

6 RESULTADOS.

Nenhum paciente deste estudo entrou em contato com os pesquisadores para reportar ou para solicitar atendimento de evento adverso sério, não sério e nem por algum efeito colateral quanto ao uso da vitamina D.

Todos (as) os (as) pacientes na fase basal do estudo entraram em contato para esclarecer alguma dúvida sobre algum procedimento enquanto estiveram realizando o SMCG, o que não ocorreu na fase pós-tratamento.

Em todos (as) os (as) pacientes deste estudo, os valores de cálcio sérico total e iônico estavam normais no período basal e mantiveram-se dentro dos parâmetros de normalidade na análise ao final do estudo.

Com o cuidado de evitar qualquer falha na segurança dos pacientes, durante nosso estudo, apesar de fortemente orientados, nenhum paciente entrou em contato com os pesquisadores envolvidos no trabalho para reportar evento de hiperglicemia ou hipoglicemia, quer sintomática ou não. Ocorreram algumas alterações nas doses das insulinas, mas essas foram feitas pelo médico cuidador do (a) paciente ou pelo (a) próprio paciente, e as variações nas doses dessa medicação foram avaliadas estatisticamente. Não houve alteração na dose de metformina dos (as) pacientes que entraram no estudo com essa medicação em dose estável há pelo menos 3 meses, e não houve introdução de nenhum outro antidiabético à terapêutica dos pacientes durante o estudo.

Para os 22 pacientes do estudo, foram coletados dados de cerca de 41.000 glicemias para a análise do desvio padrão da variabilidade glicêmica, isso confere grande confiabilidade a esta variável.

As características clínicas e laboratoriais dos pacientes na fase basal e no final do estudo encontram-se descritas nas tabelas 2 e tabela 3 respectivamente. Vinte e dois pacientes completaram o estudo, sendo 11 homens e 11 mulheres com idade de $29,0 \pm 8,1$ anos e duração do diabetes de $11,3 \pm 7,2$ anos.

Tabela 2 - Características clínicas dos pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1.

Variáveis	Inicial (N= 22)	Final (N= 22)	P
PAS (mmHg)*	113,4 \pm 14,9	112,3 \pm 13,3	NS
PAD (mmHg)**	70,5 \pm 11,5	69,4 \pm 11,8	NS
IMC (Kg/m²)***	25,7 \pm 3,4	25,6 \pm 3,5	NS
Insulina Basal (UI)	44,2 \pm 20,1	42,6 \pm 19,2	NS
Insulina Prandial (UI)	22,0 \pm 12,6	20,8 \pm 11,9	NS
Insulina Total (UI)	65,2 \pm 29,9	62,4 \pm 27,1	NS

*PAS= Pressão Arterial Sistólica; **PAD= Pressão Arterial Diastólica; ***IMC = Índice de Massa Corpórea; NS= Não significante.

Tabela 3 - Características laboratoriais dos pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1.

Variáveis	Inicial (N= 22)	Final (N= 22)	P
HbA1c (%)*	9,3 \pm 2,7	9,3 \pm 2,3	NS
Desvio padrão da glicemia (DPG)	62,6 \pm 19,1	69,6 \pm 22,9	NS
Vitamina D (ng/mL)	26,1 \pm 9,0	44,4 \pm 24,7	<0,01
Status de Vitamina D	1,00 \pm 0,76	0,36 \pm 0,66	<0,01
Creatinina (mg/dL)	0,94 \pm 0,15	0,98 \pm 0,18	NS
TFG (mL/min/1,73m²)**	108,6 \pm 23,2	106,5 \pm 24,1	NS
Albuminúria (log₁₀mg/24h)***	1,72 \pm 0,51	1,65 \pm 0,37	NS
Índice de albuminúria	0,75 \pm 0,55	0,68 \pm 0,48	NS

*HbA1c= Hemoglobina glicada; **TFG= Taxa de Filtração Glomerular; ***=log₁₀ = transformação dos valores de albuminúria para log₁₀; NS= Não significante.

Quando se estudou a variabilidade glicêmica foi encontrada uma correlação entre o Δ DPG com o Δ insulina basal ($r= 0,6$; $p<0,01$) e o Δ insulina total ($r= 0,6$; $p<0,01$). Isso sugere

que à medida que há um aumento na dose de insulina durante o estudo, ocorre uma piora na variabilidade glicêmica (Figuras 2 e 3).

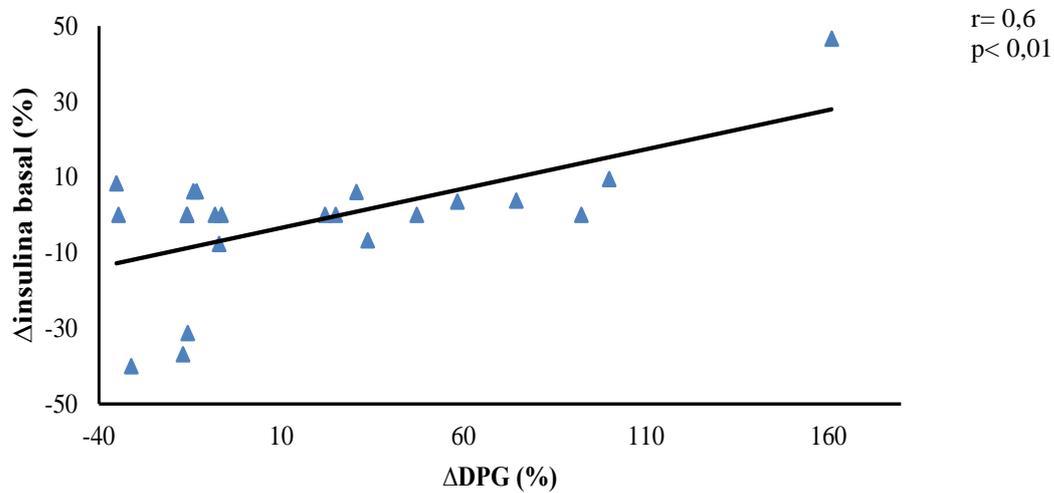


Figura 2 - Correlação entre o Δ insulina basal e o Δ DPG nos pacientes com DM1.

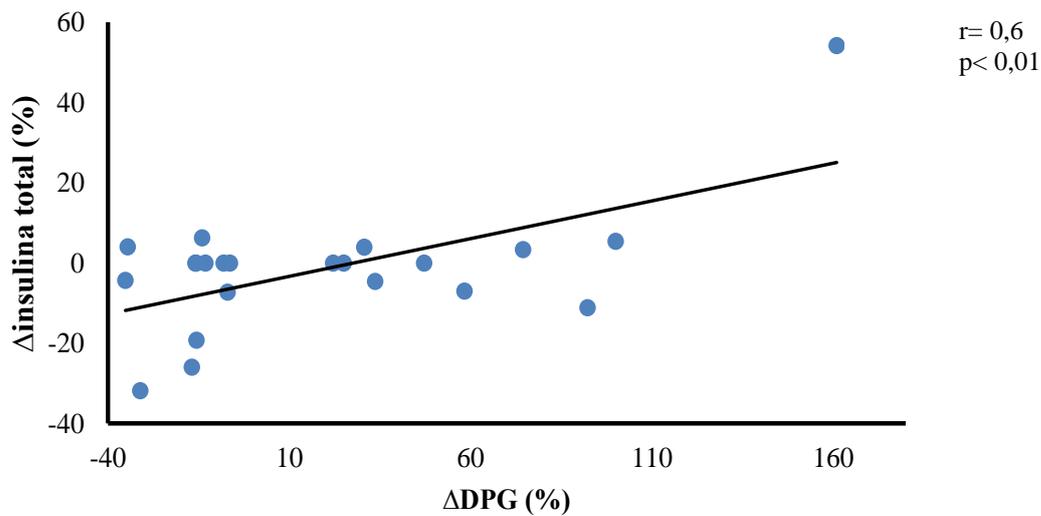


Figura 3 - Correlação entre o Δ insulina total e o Δ DPG nos pacientes com DM1.

Adicionalmente, encontramos uma correlação entre o *status* de vitamina D no final do estudo e o Δ insulina prandial ($r=0,5$; $p<0,05$) (Figura 4), com o Δ insulina total ($r=0,4$; $p<0,05$) (Figura 5), mostrando que quanto melhor o *status* da vitamina D pós-suplementação menor a elevação de insulina.

Tabela 4 - Características clínicas e laboratoriais de acordo com a variabilidade glicêmica.

Variáveis	Grupo 1 (N= 12)		Grupo 2 (N= 10)		p
	Inicial	Final	Inicial	Final	
IMC (Kg/m²)	26,0 ± 3,9	25,8 ± 4,2	25,3 ± 3,0	25,5 ± 2,8	NS
PAS (mmHg)	113,4 ± 12,6	112,7 ± 13,1	113,4 ± 18,0	111,9 ± 14,3	NS
PAD (mmHg)	71,9 ± 9,2	69,1 ± 12,9	68,8 ± 14,1	69,7 ± 10,8	NS
Insulina Basal (UI)	49,0 ± 22,8	44,6 ± 22,2	38,5 ± 15,4	40,1 ± 15,6	NS
Insulina Prandial (UI)	23,7 ± 13,9	22,3 ± 12,9	20,0 ± 11,4	19,1 ± 11,2	NS
Insulina Total (UI)	70,8 ± 33,4	65,0 ± 30,2	58,5 ± 25,1	59,2 ± 23,9	NS
Albuminúria (log₁₀mg/24h)	1,66 ± 0,47	1,58 ± 0,42	1,80 ± 0,58	1,74 ± 0,32	NS
Índice de albuminúria	0,73 ± 0,47	0,50 ± 0,53	0,78 ± 0,67	0,89 ± 0,34	NS
TFG (mL/min/1,73m²)	114,6 ± 21,6	108,4 ± 25,7	101,3 ± 23,9	104,6 ± 23,8	NS
Vitamina D (ng/mL)	23,8 ± 7,4	36,8 ± 18,4	28,8 ± 10,3	53,5 ± 29,0	<0,05
Status de Vitamina D	1,08 ± 0,79	0,50 ± 0,67	0,90 ± 0,74	0,20 ± 0,63	<0,05
HbA1c (%)	9,1 ± 2,9	9,2 ± 2,7	9,6 ± 2,6	9,5 ± 1,8	NS
DPG	68,5 ± 17,1	56,0 ± 15,3	55,5 ± 19,9	85,9 ± 19,9	<0,05

^{||} p<0,05 basal v.s. final nos dois grupos; NS= Não significante.

Quando comparamos a variação percentual de insulina basal durante o estudo nos grupos 1 e 2, encontramos uma queda nestes níveis no grupo em que houve redução da variabilidade glicêmica (Figura 6).

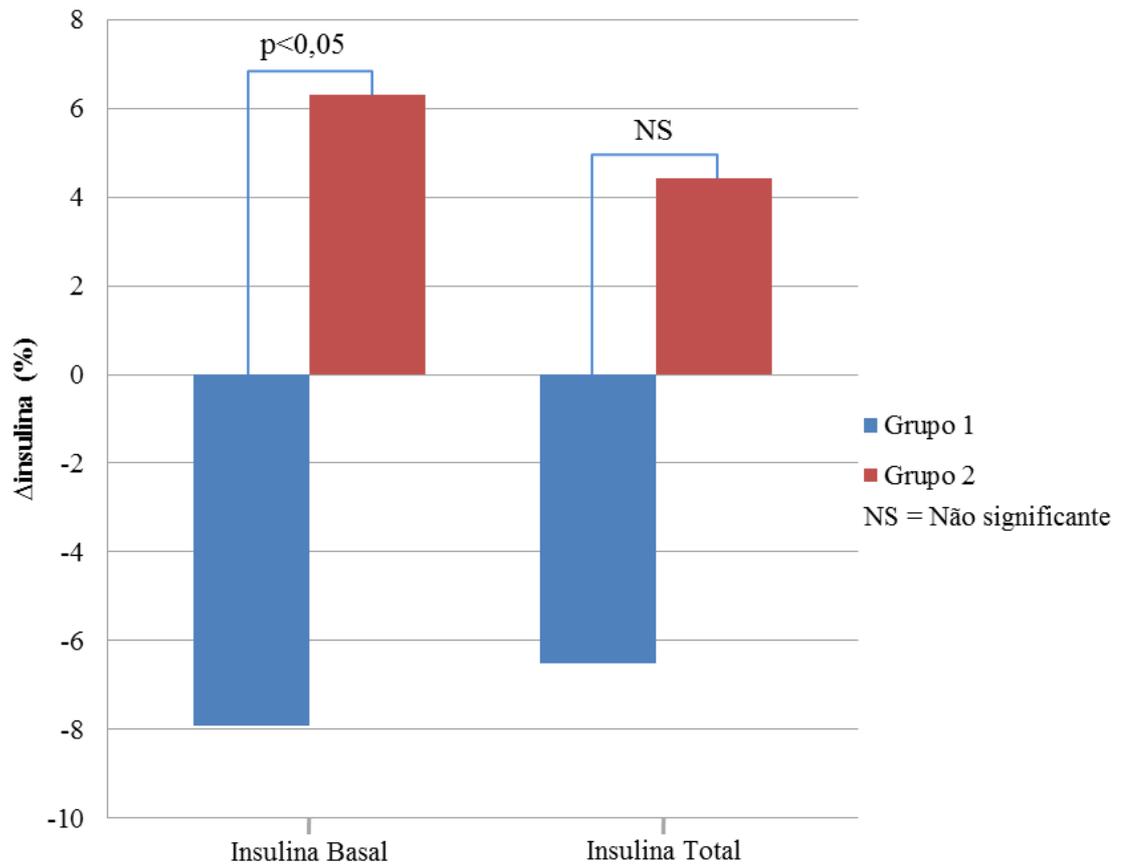


Figura 6 - Variação percentual de insulina de acordo com a variabilidade glicêmica.

A figura 7 ilustra o comportamento da variabilidade glicêmica através do DPG, e da variação absoluta dos níveis de insulina total apenas nos pacientes em que ocorreu variação percentual maior que 15% nos níveis de insulina durante o período de tratamento com vitamina D. Quatro pacientes apresentavam essas características, sendo que os três que mostraram perfil de queda nos níveis de insulina pertenciam ao grupo 1, e o paciente restante pertencia ao grupo 2.

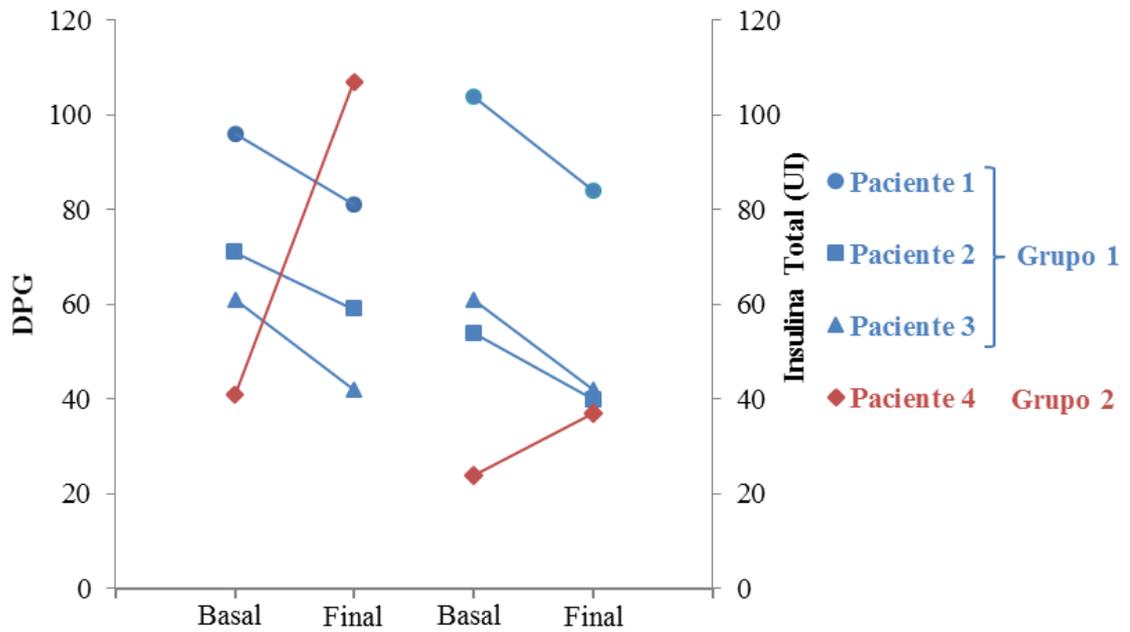


Figura 7 - Variação dos níveis de insulina e do DPG nos pacientes com Δ insulina total maior que 15%.

Avaliamos ainda somente o grupo 2, e encontramos uma forte correlação entre o Δ DPG e a duração do diabetes ($r = -0,7$; $p < 0,05$). Isso indicaria que neste subgrupo, quanto maior a duração do diabetes menor é a variabilidade glicêmica após suplementação com a vitamina D.

Finalmente, o número de dias nos quais os pacientes apresentavam hipoglicemias (glicemia < 70 mg/dL) avaliados pelo SMCG foi semelhante nos grupos 1 e 2 no período basal. Entretanto, no período final do estudo o grupo 2 apresentou uma maior frequência de hipoglicemia (risco relativo = 2; intervalo de confiança = 1,2 a 3,2; $p < 0,01$) (Figura 8).

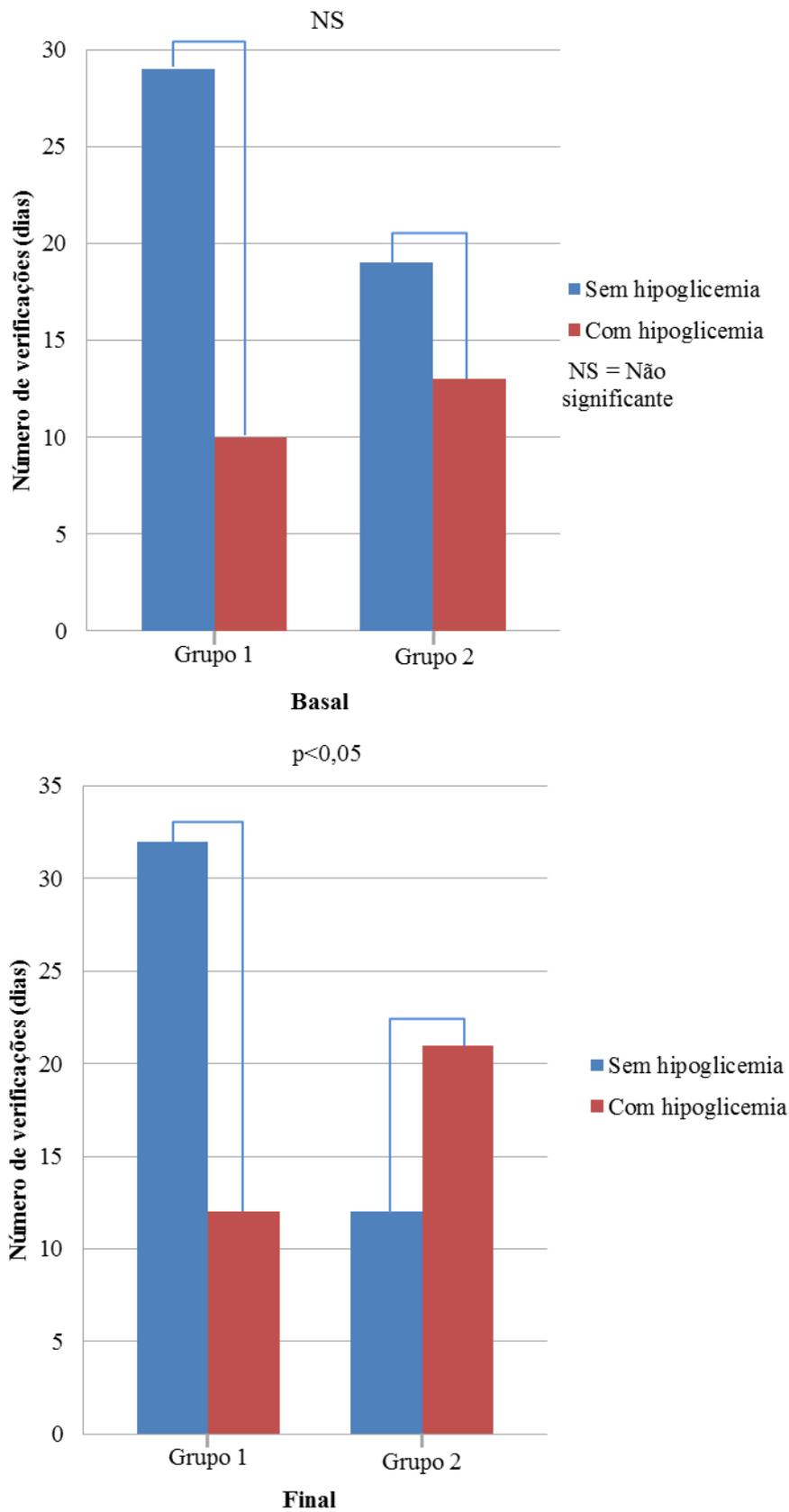


Figura 8 - Verificação de dias com hipoglicemia de acordo com a variabilidade glicêmica.

7 DISCUSSÃO.

Nossos dados sugerem que a suplementação de vitamina D em pacientes com diabetes mellitus tipo 1, poderia levar a uma melhora na variabilidade glicêmica associada a uma redução na necessidade de insulina em mais de cinquenta por cento desses pacientes. Adicionalmente, a melhora da variabilidade glicêmica foi fortemente associada a uma redução na frequência de hipoglicemia. Entretanto, não foi possível demonstrar um efeito benéfico dessa vitamina sobre o controle glicêmico avaliado pela hemoglobina glicada.

A hipoglicemia é comum no diabetes tipo 1 (DCCT RESEARCH GROUP, 1997), e sua maior frequência tem sido relacionada a um maior risco cardiovascular (MILLER et al., 2010). A HbA1c é um preditor pobre de episódios de hipoglicemia, representando uma estimativa em torno de 8% para futuras hipoglicemias severas (DCCT RESEARCH GROUP, 1997). Em contrapartida, medidas baseadas em variabilidades glicêmicas específicas são responsáveis por 40-50% da variância de futuras hipoglicemias significativas (KOVATCHEV et al., 1998; KOVATCHEV et al., 2003). Na verdade, a declaração de consenso da ADA sobre hipoglicemia concluiu que “a história de hipoglicemia grave e níveis baixos de HbA1c têm capacidade limitada em prever episódios adicionais” (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION WORKGROUP ON HYPOGLYCEMIA, 2005). Por conseguinte, o nosso subgrupo de pacientes em que ocorreu redução na variabilidade glicêmica, e apresentou menor frequência de hipoglicemia teria benefício direto na redução do risco de eventos cardiovasculares.

As elevações das glicemias pós-prandiais têm sido associadas a um maior risco de complicações crônicas do diabetes (DECODE, 2001; DCCT RESEARCH GROUP, 1995). A quantificação da variabilidade glicêmica nada mais é do que a avaliação das flutuações da glicose tanto para cima, como para baixo através de cálculos numéricos específicos (GREVEN et al., 2010; (KOVATCHEV et al., 2005; KOVATCHEV et al., 2006).

A hemoglobina glicada é a medida padrão de controle da média glicêmica (SVENDSEN et al., 1982), prevenindo complicações do diabetes em pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2 (SANTIAGO, 1993; UKPDS, 1998). No entanto, além do estabelecimento da HbA1c, o DCCT em 1995 concluiu que esta não é a expressão mais completa do grau de glicemia. Outras características do controle da glicose no diabético, que não são refletidos pela HbA1c, podem adicionar ou modificar o risco de complicações. Ainda, a partir de análises do estudo DCCT, um grupo de pacientes com valores mais elevados de hemoglobina

glicada apresentavam menor número de complicações microvasculares como retinopatia. Isto levou à sugestão de que a discrepância poderia ser uma consequência de maiores variações glicêmicas (HIRSH; BROWNLEE, 2005). Portanto, a redução que ocorreu na variabilidade glicêmica em mais da metade dos nossos pacientes, mesmo sem a melhora na hemoglobina glicada, sugere que a suplementação de vitamina D poderia exercer um efeito benéfico em uma parcela dos pacientes com DM1.

Estudos avaliando o efeito da reposição de vitamina D sobre o controle glicêmico em pacientes com DM1 são raros na literatura (PITOCCO et al., 2006; ALJABRI; BOKHARI; KHAN 2010; BIZZARRI et al., 2010; MOHAMMADIAN et al., 2015). Aljabri, Bokhari e Khan (2010) observaram em seu estudo uma melhora no controle glicêmico em pacientes com DM1 após suplementação de vitamina D. Entretanto, os autores avaliaram apenas oito pacientes e não descreveram o que ocorreu com as doses de insulina pré e pós-tratamento. Como a insulina é um fator determinante no controle da glicemia, o resultado não permite nenhuma conclusão. Adicionalmente, Mohammadian et al. (2015) avaliando o efeito da suplementação de vitamina D em 50 pacientes pediátricos com DM1 e deficiência dessa vitamina, encontraram também uma melhora no controle glicêmico. Todavia, a hemoglobina glicada não foi avaliada pelo método de HPLC, o qual é padrão-ouro internacional, sendo praticamente uma exigência na realização desse tipo de estudo. Novamente, os autores não reportam o comportamento da dose de insulina, o que inviabiliza completamente uma análise confiável dos dados. Em contrapartida, Pitocco et al. (2006), ao realizarem um estudo controlado com suplementação de vitamina D em 70 pacientes com quatro semanas de diagnóstico de DM1, mostraram não haver melhora no peptídeo-C e hemoglobina glicada. Entretanto, os autores evidenciaram o uso de doses significativamente menores de insulina. Bizzarri et al. (2010) realizaram um estudo semelhante com 34 pacientes, não evidenciando um efeito benéfico na HbA1c.

Nossos dados mostrando uma incapacidade da suplementação de vitamina D em promover uma redução na hemoglobina glicada devem ser analisados com cautela. O primeiro ponto a ser avaliado é o que diz respeito à variação da dose de insulina durante o seguimento. Considerando que nossos achados mostraram uma redução na dose de insulina no grupo em que ocorreu melhora na variabilidade glicêmica, poderia sugerir a hipótese de que caso esses pacientes mantivessem suas doses de insulina estáveis, poderia ter ocorrido uma redução na HbA1c. Entretanto, os pacientes com DM1 necessitam de doses basais e prandiais de insulina que são auto ajustadas com base nos valores diários da glicemia capilar. Portanto, manter doses fixas de insulina durante um período de três meses, poderia colocar em risco a

segurança desses pacientes. Para esclarecer se a suplementação de vitamina D poderia melhorar o controle glicêmico nos pacientes com DM1 seria necessário um número muito grande de pacientes, pois isso possibilitaria selecionar apenas aqueles que mantivessem doses estáveis de insulina. O número de pacientes do nosso estudo não permite esclarecer consistentemente a questão.

A diminuição na necessidade de insulina evidenciada em nosso estudo parece ser o mecanismo pelo qual a vitamina D reduziria a variabilidade glicêmica. Isso poderia decorrer de uma melhora na secreção e/ou na resistência à insulina.

A vitamina D pode interferir na função das células Beta pancreáticas por ação direta dessa vitamina no VDR. A ligação da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ao receptor VDR leva a transcrição de genes regulados por esse hormônio. Os efeitos da vitamina D na síntese e secreção de insulina são evidenciados pela presença do elemento responsivo de vitamina D (VDRE) na região promotora do gene de insulina humana e ativação transcricional causada pela $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (MAESTRO et al., 2003). A elevação do calcitriol e PTH aumentam o influxo de cálcio para dentro das células Beta pancreáticas, com consequente aumento na secreção da insulina (ZEMEL; SUN, 2008). Contudo, o mecanismo da vitamina D nas células Beta não parece ser o aspecto mais relevante para explicar a ação da vitamina D em nosso trabalho. Pelo fato de se tratarem de pacientes com DM1 com mais de um ano de doença, possivelmente não apresentariam secreção residual de insulina suficiente. Então, uma possível ação da vitamina D em células Beta residuais não poderia explicar a menor necessidade de insulina na maioria dos pacientes desse estudo.

A vitamina D pode atuar na resistência à insulina por estímulo direto dessa vitamina na expressão do receptor de insulina (MAESTRO et al., 2000). Do ponto de vista do mecanismo celular e molecular, ainda não está claro como a suplementação de vitamina D resultaria na melhora da sensibilidade à insulina. Alguns estudos em ratos portadores de diabetes induzida por estreptozotocina, demonstraram que o tratamento com calcitriol aumenta a expressão de receptores de insulina (IR) e transportadores de glicose (CALLE; MAESTRO; GARCIA-ARENCIBIA, 2008; KUMAR et al., 2011). Chiu et al. (2004) evidenciaram a relação da hipovitaminose D associada à resistência à insulina e disfunção de células Beta. Nesse trabalho foram avaliados 126 pacientes saudáveis quanto à sensibilidade à insulina e função de células Beta usando o *clamp* hiperglicêmico. Houve uma relação positiva entre a concentração da $25(\text{OH})\text{D}_3$ com a sensibilidade da insulina. Isto sugere que pacientes com hipovitaminose D são de alto risco para resistência à insulina e síndrome metabólica. No estudo intervencional de Al-Shahwan et al. (2015), quarenta e cinco pacientes com DM2,

virgens de tratamento, receberam vitamina D por 12 meses. Como resultado da suplementação de vitamina D houve melhora de vários parâmetros cardiometabólicos, incluindo pressão arterial sistólica e resistência à insulina pelo *Homeostasis Model Assessment* (HOMA-IR).

Existem vários possíveis mecanismos pelo quais a vitamina D poderia afetar a resistência à insulina (BIKLE, 2009; CHIU; CHUANG; YOON, 2001; CHAKHTOURA; AZAR, 2013; LIN; LI, 2016).

A deficiência de vitamina D tem importante papel imunomodulatório através dos receptores VDR presentes nas células pancreáticas e imunes (CHAKHTOURA; AZAR, 2013), e associa-se a um aumento dos marcadores inflamatórios em pacientes diabéticos, incluindo proteína C reativa. 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, consequentemente afetar a resistência à insulina (BIKLE, 2009).

Lin e Li (2016), em recente revisão, reportaram o papel da vitamina D na atividade anti-inflamatória. A expressão de muitos genes relacionados a inflamação é regulada pela vitamina D, através do receptor VDR em uma variedade de células como células dendríticas, macrófagos, linfócito T auxiliar, afetando a resposta imune inata e adaptativa. A vitamina D poderia também exercer seu efeito anti-inflamatório através da regulação da biossíntese de moléculas pró-inflamatórias na via da prostaglandina, ou através do fator nuclear *kappalight-chain-enhancer* de células B ativadas (NFkB) por afetar a produção de citocina. Adicionalmente, Lam e LeRoith (2015) entre outros (TSUKUMO et al., 2007; JIALAL et al., 2012), têm sugerido que a via inflamatória está intimamente relacionada com a resistência à insulina, o que explicaria o efeito benéfico que a vitamina D poderia exercer sobre esta última.

Polimorfismos no receptor de vitamina D também têm sido estudados em relação à resistência à insulina. O estudo de Chiu, Chuang e Yoon (2001) avaliou o polimorfismo no receptor de vitamina D no códon de iniciação da tradução como um fator de risco para resistência à insulina em 49 pacientes normais. A tolerância à glicose foi verificada com um teste padrão de 75 gramas de glicose oral, a função de células Beta e sensibilidade à insulina pelo HOMA - de células Beta e HOMA - IR, respectivamente. Os genótipos foram determinados por PCR-RFLP, que envolve a combinação de amplificação por PCR (reação em cadeia mediada pela polimerase), e digestão com endonucleases de restrição (RFLP, do inglês *Restriction Fragment Length Polymorphism*). Foi reportado que o polimorfismo Fok I, no *locus* do gene VDR é associado com sensibilidade à insulina, mas não tem influência sobre

a função das células Beta. Apesar desse polimorfismo afetar a ativação transcricional dependente de vitamina D, a base molecular da associação entre esse polimorfismo e a resistência à insulina ainda precisa ser determinada.

Apesar das evidências que sugerem um possível efeito da vitamina D sobre o metabolismo da glicose e a resistência à insulina, existem estudos com resultados conflitantes (ZEMEL; SUN, 2008; CHANG; DONKIN; TEEGRADEN, 2009; BOLAND, 2011; CALVO-ROMERO, 2015), sendo que este assunto ainda permanece controverso. A razão e o mecanismo pelo qual apenas um subgrupo dos nossos pacientes tiveram reduzidas suas necessidades de insulina com a suplementação de vitamina D poderá ser melhor investigado com a utilização das amostras mantidas em biorrepositório.

A aplicabilidade clínica do nosso estudo seria proporcionar uma terapia adicional para diminuir a variabilidade glicêmica através da ação da vitamina D. Uma ação na resistência à insulina estenderia o benefício a pacientes com DM1, DM2 e Síndrome Metabólica. Considerando-se que a variabilidade glicêmica pode estar associada a um maior risco de evento cardiovascular em pacientes com DM, a vitamina D poderia ser aplicada para prevenção dessas comorbidades.

Os resultados encontrados sugerem que a melhora do *status* de vitamina D diminui a variação percentual de insulina. O aumento na dose de insulina está associado à piora da variabilidade glicêmica ao final do estudo. Por conseguinte, a melhora do *status* da vitamina D poderia reduzir a variabilidade glicêmica através da diminuição do uso de insulina. Provavelmente, o mecanismo ocorreria através de uma redução da resistência à insulina mediada pela vitamina D.

Este foi um estudo piloto que sustenta a ideia da aplicabilidade da vitamina D na Variabilidade Glicêmica. Como houve coleta de material para biorrepositório antes e depois do uso dessa vitamina, a intenção a partir de então é o desenvolvimento de protocolos para aprofundarmos o mecanismo pelo qual isso ocorre.

8 CONCLUSÃO.

- 1- Nossos dados sugerem que a suplementação de vitamina D em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 poderia levar a uma melhora na variabilidade glicêmica, associada a uma redução na necessidade de insulina em mais de cinquenta por cento desses pacientes.
- 2- A redução das necessidades de insulina levanta a hipótese de uma possível ação na redução da resistência à insulina, ou melhora na sensibilidade à insulina.
- 3- Quanto melhor o *status* de vitamina D após a suplementação, menor a elevação nas doses das insulinas nos pacientes desse estudo.
- 4- A melhora da variabilidade glicêmica foi fortemente associada a uma diminuição na frequência de hipoglicemias.
- 5- Adicionalmente, em nosso estudo não foi possível demonstrar um efeito benéfico da vitamina D sobre o controle glicêmico.

REFERÊNCIAS

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**. 2010. 30(6):454-8.

AL-SHAHWAN, M. A.; et al. Effects of 12-month, 2000IU/day vitamin D supplementation on treatment naïve and vitamin D deficient Saudi type 2 diabetic patients. **Saudi Medical Journal**. 2015. 36(12):1432-8.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. ADA. Postprandial blood glucose: consensus statement. **Diabetes Care**. 2001. 24(4):775–8.

_____. Standards of medical care in diabetes – 2010. **Diabetes Care**. 2010. 33(1):S11-S61.

_____. Clinical Practice Recommendation. **Diabetes Care**. 2011. 31(1):11-61.

_____. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**. 2012. 35(1):S64-71.

_____. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**. 2013. 36(1):S11-74.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION WORKGROUP ON HYPOGLYCEMIA: Defining and reporting hypoglycemia in diabetes. **Diabetes Care**. 2005. 28(5):1245–9.

BAEKESKOV, S.; et al. Identification of the 64K auto antigen in insulin dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. **Nature**. 1990. 347:151-6.

BANDEIRA, F.; BANDEIRA, C.; FREESE, E. Occult vitamin D deficiency and its relationship with bone mineral density among postmenopausal women in Recife, Brazil. **Journal of Bone and Mineral Research**. 2003. 18(2):S407-9.

BASU, A.; et al. Effects of a change in the pattern of insulin delivery on carbohydrate tolerance in diabetic and non diabetic humans in the presence of differing degrees of insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**. 1996. 97(10):2351–61.

BEASTALL, G.; RAINBOW, S. Vitamin D reinvented: Implications for clinical chemistry. **Clinical Chemistry**. 2008. 54(4):630–2.

BIKLE, D. Non classic actions of vitamin D. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. 2009. 94(1):26-34.

BINKLEY, N.; KRUEGER, D.; LENSMEYER, G. 25-Hydroxyvitamin D measurement 2009: A review for clinicians. **Journal of Clinical Densitometry**. 2009. 12(4):417–27.

BISCHOFF-FERRARI, H. A.; et al. Effect of vitamin D on falls: a meta-analysis. **Journal of the American Medical Association**. 2004. 291(16):1999-2006.

BIZZARRI, C.; et al. No protective effect of calcitriol on beta-cell function in recent onset type 1 diabetes: the IMDIAB XIII trial. **Diabetes Care**. 2010. 33(9):1962-3.

BLAND R.; et al. Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in pancreatic islets. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**. 2004. 89-90(1-5):121-5.

BOLAND, R. L. VDR activation of intracellular signaling pathways in skeletal muscle. **Molecular and Cellular Endocrinology**. 2011. 347(1-2):11-6.

BORISSOVA, A. M.; et al. The effect of vitamin D3 on insulin secretion and peripheral insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. **International Journal of Clinical Practice**. 2003. 57(4):258-61.

BOUILLON, R.; et al. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor nullmice. **Endocrine Reviews**. 2008. 29(6):726-76.

BRAGD, J.; et al. Can glycaemic variability, as calculated from blood glucose self-monitoring, predict the development of complications in type 1 diabetes over a decade. **Diabetes & Metabolism**. 2008. 34(6):612-6.

CADE, C.; NORMAN, A. W. Vitamin D3 improves impaired glucose tolerance and insulin secretion in the vitamin D-deficient rat in vivo. **Endocrinology**. 1986. 119(1):84-90.

CALLE, C.; MAESTRO, B.; GARCIA-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**. 2008. 9(1):65.

CALVO-ROMERO, J. M.; RAMIRO-LOZANO, J. M. Metabolic effects of supplementation with vitamin D in type 2 diabetic patients with vitamin D deficiency. **Diabetes & Metabolic Syndrome**. 2015. S1871-4021(15):30034-5.

CANTO-COSTA, M. H.; KUNII, I.; HAUACHE, O. M. Body fat and cholecalciferol supplementation in elderly homebound individuals. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 2006. 39(1):91-8.

CARTER, G. D. 25-Hydroxyvitamin D: a difficult analyte. **Clinical Chemistry**. 2012. 58(3):486-8.

CASTRO, L. C. G. The vitamin D endocrine system. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia**. 2011. 55(8):566-75.

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**. 2013. ID148673.

CHANG, E.; DONKIN, S. S; TEEGRADEN, D. Parathyroid hormone suppresses insulin signaling in adipocytes. **Molecular and Cellular Endocrinology**. 2009. 307(1-2):77-82.

CHEON, C. K.; et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and type 1 diabetes mellitus in a Korean population. **Pediatrics International: official journal of the Japan Pediatric Society**. 2015. 57(5):870-4.

CHIU, K. C.; CHUANG, L. M.; YOON, C. The vitamin D receptor polymorphism in the translation initiation codon is a risk factor for insulin resistance in glucose tolerant Caucasians. **BMC Medical Genetics**. 2001. 2:2.

_____; et al. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. **American Journal of Clinical Nutrition**. 2004. 79(5):820-5.

CHOI, S. W.; et al. Acute hyperglycemia and oxidative stress: direct cause and effect? **Free Radical Biology & Medicine**. 2008. 44(7):1217-31.

CONSENSUS STATEMENT ON THE WORLDWIDE STANDARDIZATION OF THE HEMOGLOBIN A1C MEASUREMENT. The American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, and the International Diabetes Federation. **Diabetes Care**. 2007. 30(9):2399-400.

COSTER, S.; et al. Monitoring blood glucose control in diabetes mellitus: A systematic review. **Health Technology Assess**. 2000. 4(12): i-iv, 1-93.

CRAIG, M. E.; HATTERSLEY, A.; DONAGHUE, K. C. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. **Pediatric Diabetes**. 2009. 10(12):3-12.

DECODE STUDY GROUP. Glucose tolerance and cardiovascular mortality: comparison of fasting and 2-hour diagnostic criteria. **Archives of Internal Medicine**. 2001. 161(3):397-405.

DELLA MANNA, T. Not every diabetic child has type 1 diabetes mellitus. **Jornal de Pediatria**. 2007. 83(5):178-83.

DELUCA, H. F. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. **The American Journal of Clinical Nutrition**. 2004. 80(6):1689S-96S.

DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP. DCCT RESEARCH GROUP. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**. 1993. 329(14):977-86.

_____. The relationship of glycemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression of retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. **Diabetes**. 1995. 44(8):968-83.

_____. Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. **Diabetes**. 1997. 46(2):271-86.

_____.; EPIDEMIOLOGY OF DIABETES INTERVENTIONS AND COMPLICATIONS RESEARCH GROUP. EDIC RESEARCH GROUP. Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after trial of intensive therapy. **New England Journal of Medicine**. 2000. 342(6):381-9.

FABIATO, K.; et al. Clinical experience with continuous glucose monitoring in adults. **Diabetes Technology & Therapeutics**. 2009. 11(1):S93- S103.

FERREIRA, S. R.; et al. Population based incidence of IDDM in the state of São Paulo, Brazil. **Diabetes Care**. 1993. 16(5):701-4.

GILLIAM, L. K.; HIRSCH, I. B. Practical aspects of real-time continuous glucose monitoring. **Diabetes Technology & Therapeutics**. 2009. 11(1):S75-82.

GIRGIS, C. M.; et al. The roles of vitamin D in skeletal muscle: form, function, and metabolism. **Endocrine Reviews**. 2013. 34(1):33-83.

GREVEN, W. L; et al. Glycemic variability in inadequately controlled type 1 diabetes and type 2 diabetes on intensive insulin therapy: a cross-sectional, observational study. **Diabetes Technology & Therapeutics**. 2010. 12(9):695-9.

HIRSCH, I. B.; BROWNLEE, M. Should minimal blood glucose variability become the gold standard of glycemic control. **Journal of Diabetes and its Complications**. 2005. 19(3):178–81.

HOLICK, M. F.; KRANE, S. M.; POTTS, J. R. Metabolismo do cálcio, do fósforo e ósseo: hormônios reguladores do cálcio. *apud* BRAUNWALD, E.; et al. In **Harrison: medicina interna**. 12^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 12, 244-9, 1992.

HOLICK, M. F. Vitamin D: A millenium perspective. **Journal of Cellular Biochemistry**. 2003. 88(2):296-307.

_____. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. **American Journal of Clinical Nutrition**. 2004. 79(3):362-71.

_____. Vitamin D Deficiency. **New England Journal of Medicine**. 2007. 357(3):266-81.

_____. Vitamin D: a D-Lightful health perspective. **Nutrition Reviews**. 2008. 66(2):S182-S194.

_____. Vitamin D deficiency in 2010: health benefits of vitamin D and sunlight: a D-bate. **Nature Reviews Endocrinology**. 2011. 7(2):73-5.

HOLLIS, B. W. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: Challenges and needs. **American Journal of Clinical Nutrition**. 2008. 88(2):507S–10S.

HYPPONEN, E.; et al. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. **Lancet**. 2001. 358:1500-3.

_____. Vitamin D and increasing incidence of type 1 diabetes-evidence for an association? **Diabetes Obesity Metabolism**. 2010. 12(9):737-43.

JAMES, P. A.; et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). **Journal of the American Medical Association**. 2014. 311(5):507-20.

JANNER, M.; et al. High prevalence of vitamin D deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes. **Swiss Medical Weekly**. 2010. 140:w13091.

JIALAL, L.; et al. Increased toll-like receptor activity in patients with metabolic syndrome. **Diabetes Care**. 2012. 35(4):900-4.

JONGEN, M. J.; et al. Interlaboratory variation of vitamin D(1) metabolite measurements. **Journal of Clinical Biochemistry**. 1982. 20(10):753-6.

JONES G. Assay of vitaminS D2 and D3, and 25-hydroxyvitaminD2 and D3 in human plasma by high-performance liquid chromatography. **Journal of Clinical Biochemistry**. 1978. 24(2):287-98.

_____; STRUGNELL, S. A.; DELUCA, H. F. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. **Physiological Reviews**. 1998. 78(4):1193-1231.

_____. Pharmacokinetics of vitamin D toxicit. **American Journal of Clinical Nutrition**. 2008. 88(2): 582S-6S.

JUDD, S.; TANGPRICHA, V. Vitamin D deficiency and risk for cardiovascular disease. **Circulation**. 2008. 117(4):503-11.

KILPATRICK, E. S. Arguments for and against the role of glucose variability in the development of diabetes complications. **Journal of Diabetes Science and Technology**. 2009. 3(4):649-55.

_____; RIGBY, A. S.; ATKIN, S. L. A1C variability and the risk of microvascular complications in type 1 diabetes: data from the Diabetes Control and Complications Trial. **Diabetes Care**. 2008. 31(11):2198-202.

KIMBALL, S.; FULEIHAN, GEL-H.; VIETH, R. Vitamin D: a growing perspective. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**. 2008. 45(4):339-414.

KOVATCHEV, B. P.; et al. Assessment of risk for severe hypoglycemia among adults with IDDM: validation of the low blood glucose index. **Diabetes Care**. 1998. 21(11):1870-5.

_____; et al. Algorithmic evaluation of metabolic control and risk of severe hypoglycemia in type 1 and type 2 diabetes using self-monitoring blood glucose (SMBG) data. **Diabetes Technology & Therapeutics**. 2003. 5(5):817-28.

_____; et al. Quantifying temporal glucose variability in diabetes via continuous glucose monitoring: mathematical methods and clinical application. **Diabetes Technology & Therapeutics**. 2005. 7(6):849-62.

_____; et al. Evaluation of a new measure of blood glucose variability in diabetes. **Diabetes Care**. 2006. 29(11):2433–8.

KRIEGEL, M. A.; MANSON, J. E.; COSTENBADER, K. H. Does vitamin D affect risk of developing autoimmune disease?: a systematic review. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**. June 2011. 40(6):512-31.

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**. 2011. 22(5):418-25.

LACHIN, J. M.; et al. The effect of glycemic exposure on the risk of microvascular complications in the diabetes control and complications trial–revisited. **Diabetes**. 2008. 57(4):995–1001.

LAM, D. W.; LEROITH, D. Metabolic Syndrome. **Endotext**. South Dartmouth: 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278936>.

LEVEY, A. S.; et al. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. **Annals of Internal Medicine**. 2009. 150(9):604-12.

LIN, Z.; LI, W. The Roles of Vitamin D and Its Analogs in Inflammatory Diseases. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. 2016. 16(11):1242-61.

LUONG, K. V.; NGUYEN, L. T.; NGUYEN, D. N. The role of vitamin D in protecting type 1 diabetes mellitus. **Diabetes Metabolism Research and Reviews**. 2005. 21(4):338-46.

MACLAUGHLIN, J. A.; ANDERSON, R. R.; HOLICK, M. F. Spectral character of sun modulates photosynthesis of previtamin D, and its photoisomers in human skin. **Science**. 1982. 216(4549):1001-3.

MAESTRO, B.; et al. Stimulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3 of insulin receptor expression and insulin responsiveness for glucose transport in U-937 human promonocytic cells. **Endocrinology Journal**. 2000. 47(4):383-91.

_____; et al. Identification of a vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**. 2003. 84(2-3):223-30.

MATHIEU, C.; BADENHOOP, K. Vitamin D and type 1 diabetes mellitus: state of the art. **Trends in Endocrinology and Metabolism**. 2005. 16(6):261-6.

MCKENNA, M. J. Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. **American Journal of Medicine**. 1992. 93(1):69-77.

MILLER, M. E.; et al. The effects of baseline characteristics, glycaemia treatment approach, and glycated haemoglobin concentration on the risk of severe hypoglycaemia: post hoc

epidemiological analysis of the ACCORD study. **British Medical Journal**. 2010. 340: b5444.

MOHAMMADIAN, S.; et al. Effect of vitamin d3 supplement in glycemic control of pediatrics with type 1 diabetes mellitus and vitamin d deficiency. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. 2015. 9(3):SC05-7.

MOHSIN, F.; et al. Discordant trends in microvascular complications in adolescents with type 1 diabetes from 1990 to 2002. **Diabetes Care**. 2005. 28(8):1974–80.

MOLVEN, A.; et al. Mutations in the insulin gene can cause MODY and autoantibody-negative type 1 diabetes. **Diabetes**. 2008. 57(4):1131-5.

MONNIER, L.; LAPINSKI, H.; COLETTE, C. Contributions of fasting and postprandial plasma glucose increments to the overall diurnal hyperglycemia of type 2 diabetic patients: variations with increasing levels of HbA1c. **Diabetes Care**. 2003. 26(3):881–5.

_____; et al. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. **Journal of the American Medical Association**. 2006. 295(14):1681–7.

_____; et al. The loss of postprandial glycemic control precedes stepwise deterioration of fasting with worsening diabetes. **Diabetes Care**. 2007. 30(2):263-9.

NAGPAL, S.; NA, S.; RATHNACHALAM, R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. **Endocrine Reviews**. 2005. 26(5):662-87.

NAIK, R. G.; PALMER, J. P. Latent autoimmune diabetes in adults (LADA). **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**. 2003. 4(3):233-41.

NATHAN, D. M.; et al. Intensive diabetes therapy and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**. 2003. 348(23):2294-303.

_____; et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. **New England Journal of Medicine**. 2005. 353(25):2643-53.

_____; et al. Translating the A1c assay into estimated average glucose values. **Diabetes Care**. 2008. 31(8):1473-8.

_____; et al. Modern-day clinical course of type 1 diabetes mellitus after 30 years' duration: the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventional and Complications and Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications experience (1983-2005). **Archives International Medicine**. 2009. 169(14):1307-16.

NETTO, A. P.; et al. Atualização sobre hemoglobina glicada (HbA1C) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. 2009. 45(1):31-48.

PALMER, J. P.; et al. Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. **Science**. 1983. 222(4630):1337-9.

PARFITT, A. M.; et al. Vitamin D and bone health in the elderly. **American Journal of Clinical Nutrition**. 1982. 36(5):1014-31.

PITOCO, D.; et al. The effects of calcitriol and nicotinamide on residual pancreatic beta-cell function in patients with recent-onset Type 1 diabetes (IMDIAB XI). **Diabetic Medicine**. 2006. 23(8):920-3.

PUNALES, M. K. C.; GEREMIA, C. R.; MONDADORI, P. Como a Monitorização Contínua de Glicose Subcutânea Pode Colaborar na Interpretação dos Valores da HbA1c no Diabetes Melito Tipo 1? **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. 2008. 52(2):299-306.

RAMOS-LOPEZ, E.; et al. Protection from type 1 diabetes by vitamin D receptor haplotypes. **Annals of the New York Academy of Sciences**. 2006. 1079:327-34.

REICHEL, H.; KOEFLER, H. P.; NORMAN, A. W. The role of the vitamin D endocrine system in health and disease. **New England Journal of Medicine**. 1989. 320(15):980-91.

REICHEL, H.; et al. Epidemiology of type 1 diabetes mellitus. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. 2004. 552:219-46.

ROSEN, C. J. et al. The non-skeletal effects of vitamin D: an Endocrine Society scientific statement. **Endocrine Reviews**. 2012. 33(3):456-92.

SANTIAGO, J. V. Lessons from the Diabetes Control and Complications Trial. **Diabetes**. 1993. 42(11):1549-54.

SERGEEV, I. N.; RHOTEN, W. B. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ evokes oscillations of intracellular calcium in a pancreatic beta-cell line. **Endocrinology**. 1995. 136(7):2852-61.

SHAW, J. E.; SICREE, R. A.; ZIMMET, P. T. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. **Diabetes Research and Clinical Practice**. 2010. 87(1):4-14.

SIEGEL, N.; WONGSURAWAT, N.; ARMBRECHT, H. J. Parathyroid hormone stimulates dephosphorylation of the reduced component of the 25-hydroxyvitamin D₃-1 alpha-hydroxylase from rat renal cortex. **Journal of Biological Chemistry**. 1986. 261(36):16998-7003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. SBD. **Diretrizes** Rio de Janeiro: AC Farmacêutica, p. 09. 2014.

SOWERS, J. R. Insulin resistance and hypertension. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**. 2004. 286(5):H1597-602.

SVENDSEN, P. A.; et al. Glycosylated hemoglobin and steady-state mean blood glucose concentration in type 1 (insulin-dependent) diabetes. **Diabetologia**. 1982. 23(5):403-5.

TANAKA, Y.; et al. Effect of vitamin D₃ on the pancreatic secretion of insulin and somatostatin. **Acta Endocrinologica (Copenhagen)**. 1984. 105(4):528-33.

THE INTERNATIONAL EXPERT COMMITTEE. International Expert Committee Report on the Role of the A1C Assay in the Diagnosis of Diabetes. **Diabetes Care**. 2009. 32(7):1327-34.

TSAI, E. B.; et al. The rise and fall of insulin secretion in type 1 diabetes mellitus. **Diabetologia**. 2006. 49(2):261-70.

TSUKUMO, D. M.; et al. Loss-of-function mutation in Toll-like receptor 4 prevents diet-induced obesity and insulin resistance. **Diabetes**. 2007. 56(8):1986-98

UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY GROUP. UKPDS. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. **Lancet**. 1998. 352(9131):837-53.

VON HERRATH, M. G. Pathogenesis of type 1 diabetes: a viewpoint. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. 2004. 552:317-21.

WAGNER, D.; HANWELL H. E.; VIETH, R. An evaluation of automated methods for measurement of serum 25-hydroxyvitamin D. **Clinical Biochemistry**. 2009. 42(15):1549-56.

WALDRON-LYNCH, F.; HEROLD, K. C. Immunomodulatory therapy to preserve pancreatic beta-cell function in type 1 diabetes. **Nature Reviews Drug Discovery**. 2011. 10(6):439-52.

ZEMEL, M. B. Nutritional and endocrine modulation of intracellular calcium: implications in obesity, insulin resistance and hypertension. **Molecular and Cellular Biochemistry**. 1998. 188(1-2):129-36.

_____. Calcium modulation of hypertension and obesity: mechanisms and implications. **Journal of the American College of Nutrition**. Discussion 440. 2001. 20(5):440S-442S.

_____; SUN, X. Calcitriol and energy metabolism. **Nutrition Reviews**. 2008. 66(2):S139-46.

ZHOU, Q. G.; et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D improved the free fatty-acid-induced insulin resistance in cultured C2C12 cells. **Diabetes Metabolism Research and Reviews**. 2008. 24(6):459-64.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.

Título: Influência da suplementação de vitamina D no controle e variabilidade glicêmica em pacientes com Diabetes tipo 1.

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. Alguns estudos demonstram melhora nos níveis de hemoglobina glicada em pacientes diabéticos tratados da deficiência de vitamina D, contudo existem poucos estudos sobre a influência da suplementação de vitamina D no controle glicêmico 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.

POR QUE FUI ESCOLHIDO? QUANTAS PESSOAS PARTICIPARÃO DESTA 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.

Iniciais do (a) Paciente: _____

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?

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.

Iniciais do (a) Paciente: _____

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 na 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 ultra-sensível, 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 50ml) 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.

Iniciais do (a) Paciente: _____

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 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.

Iniciais do (a) Paciente: _____

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 (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.

Iniciais do (a) Paciente: _____

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)

Iniciais do (a) Paciente: _____

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: ___/___/___

Iniciais do (a) Paciente: _____

APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMENTO

TERMO DE ASSENTIMENTO – INFORMAÇÕES PARA CRIANÇAS ALFABETIZADAS

Título: Influência da suplementação de vitamina D no controle e variabilidade glicêmica em pacientes com Diabetes tipo 1.

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. Alguns estudos demonstram melhora nos níveis de hemoglobina glicada em pacientes diabéticos tratados da deficiência de vitamina D, contudo existem poucos estudos sobre a influência da suplementação de vitamina D no controle glicêmico 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.

POR QUE FUI ESCOLHIDO? QUANTAS PESSOAS PARTICIPARÃO DESTE 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.

Iniciais do (a) Paciente: _____

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?

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.

Iniciais do(a) Paciente: _____

Na visita 4, doze semanas após a visita 3, você será entrevistado, sua medicação do estudo (colecalférol) será retirada 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 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 ultra-sensível, 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 colecalférol e realizará a visita 4. Na visita 4 será coletado sangue (total 50ml) 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.

Iniciais do(a) Paciente: _____

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 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.

Iniciais do(a) Paciente: _____

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 (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.

Iniciais do (a) Paciente: _____

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

Nome da criança (em letras de forma): _____

Data: ___/___/___

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): _____

Data: ___/___/___

Assinatura da pessoa que conduziu o consentimento: _____

Data: ___/___/___

Nome da testemunha (em letras de forma): _____

Data: ___/___/___

Assinatura da testemunha: _____

Data: ___/___/___

Iniciais do (a) Paciente: _____

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)

Data: ___/___/___

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): _____

Data: ___/___/___

Assinatura da pessoa que conduziu o consentimento _____

Data: ___/___/___

Nome da testemunha (em letras de forma) _____

Data: ___/___/___

Assinatura da testemunha: _____

Data: ___/___/___

Iniciais do (a) Paciente: _____

APÊNDICE D – DIÁRIO DE ALIMENTAÇÃO

Tabela de Refeição			
Refeição	Data/Hora	O que comeu em detalhes. Ex: um copo de leite, colher de arroz?	Contagem de carboidrato
Desjejum			
Refeição	Data/Hora	O que comeu em detalhes. Ex: um copo de leite, colher de arroz?	Contagem de carboidrato
Almoço			
Refeição	Data/Hora	O que comeu em detalhes. Ex: um copo de leite, colher de arroz?	Contagem de carboidrato
Jantar			

Nome do (a) Paciente: _____

APÊNDICE E – 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. _____

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 SMCG (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 F – VISITA 2



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO

DATA: _____

VISITA 2

ÁS: _____

PROTÓCOLO: 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 (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 biorepositório	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 G – VISITA 3



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO

DATA: _____

VISITA 3

ÀS: _____

PROCOLO: 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(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 SMCG (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 H- 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 – EQUAÇÃO CKD-EPI

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

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

$$\text{TFG (mL/min/1.73 m}^2\text{)} = 141 \times \min(\text{Cr/k}, 1)^\alpha \times \max(\text{Cr/k}, 1)^{-1.209} \times 0,993^{\text{Idade}} \times 1,018$$

[mulher] x 1,159 [negro]

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

ANEXO B – 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 Saúde Pública
Especialista em Doenças Tropicais
e Parasitárias

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

Hospital Universitário João de Barros Barreto – Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/HUJBB/UFGPA
Rua dos Mundurucus, 4457 - Guamá CEP. 66.073-000 Belém / Pará - Brasil Fone/Fax: (91)3201 6754/ PABX:
(91)3201 6690 Ramal: 6754 E-mail: cephu@hujbb.ufpa.br @blogger: www.cephuujbb.blogspot.com.br

ANEXO C – AUTORIZAÇÃO PARA CRIAÇÃO DE BIORREPOSITÓRIO

AUTORIZAÇÃO DA INSTITUIÇÃO PARA CRIAÇÃO DE BIORREPOSITÓRIO

TÍTULO DO ESTUDO: “Influência da suplementação de vitamina D no controle glicêmico de diabéticos tipo 1”

PESQUISADORES RESPONSÁVEIS: Prof. Dr. João Soares Felício
Ana Carolina Contente Braga de Souza.

BIORREPOSITÓRIO

Sumário

Após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e obtenção de TCLE o soro dos pacientes incluídos no estudo será armazenado em freezer a temperatura -70 °C no Centro de Pesquisa em Endocrinologia do HUIBB/UFPB, cujo responsável é o Prof. Dr. João Soares Felício, investigador principal. As amostras serão armazenadas por um período de 10 anos, com a finalidade de utilizá-las caso surjam novos marcadores relacionados ao DM1 e deficiência/insuficiência de vitamina D. Nenhuma pesquisa futura que envolva o biorrepositório será realizada sem prévia submissão e aceite do CEP dessa instituição, conforme resolução CNS Nº 441 de 12 de maio de 2011.

Justificativa:

Necessidade de utilização das amostras de soro coletadas em futuras pesquisas para esclarecer a fisiopatologia e o efeito da terapia com vitamina D em diabéticos tipo 1.

Consentimento:

Será obtido consentimento do sujeito da pesquisa autorizando a utilização do material biológico armazenado para pesquisas futuras de acordo com o TCLE.

Submissão:

Toda nova pesquisa será submetida ao Comitê de Ética da instituição responsável.

Regulamento:

O material será armazenado e o sigilo do paciente será garantido. A identificação das amostras será realizada pelas iniciais e número de prontuários dos sujeitos com os dados respectivos. Será realizado log de temperatura 2 vezes ao dia, diariamente, para garantir a conservação das amostras. O material será armazenado no Centro de Pesquisa em Endocrinologia do HUIBB/UFPB, cujo responsável é o Prof. Dr. João Soares Felício, investigador principal, e ficará disponível a inspeção dos órgãos competentes. O TCLE promoverá ao sujeito da pesquisa garantia de acesso aos dados e resultados obtidos com a utilização do material biológico e acordo com a resolução CNS Nº 441 de 12 de maio de 2011 fica estabelecido que as amostras estocadas durante o período de 10 anos neste biorrepositório poderão ser avaliadas sem necessidade de obtenção de novo TCLE.

Transferência:

Caso necessário, a transferência de material biológico humano armazenado entre biorrepositórios, da própria e de outra instituição, será comunicada ao sujeito da



pesquisa, sempre que possível ou, na impossibilidade, será apresentada justificativa no CEP da instituição.

Perda ou destruição das amostras:

O sujeito da pesquisa será informado em caso de perda ou destruição de suas amostras biológicas, bem como do encerramento do biorrepositório, quando for o caso. Também será informado que o material biológico humano armazenado é do sujeito da pesquisa, permanecendo a guarda deste sob a responsabilidade da instituição.

Retirada do consentimento:

O sujeito da pesquisa, ou seu representante legal, a qualquer tempo sem ônus ou prejuízos, pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado no biorrepositório.

Data:

Autorização da Instituição
Dr. Eduardo Celso Maia
Diretor-Geral - 110380
CRM / PA - 1997

ANEXO D – 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/UJPA



Carta nº. 10/2013/CEP/HUJBB
Protocolo: 005/2012

Belém, 12 de novembro de 2013.

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 2 de 06 de novembro de 2013, na reunião de 12 de novembro de 2013, referente ao 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 de dia 05.01.2012. O título do estudo foi modificado para **Influência da Suplementação de vitamina D no controle e variabilidade glicêmica em pacientes com diabetes tipo 1** e foi modificado o autor principal para Dra. Karen Mileo Felício. Outras alterações foram realizadas e estão descritas na emenda. Por estar de acordo com a Resolução nº 466/12 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.

Situação: **Aprovado.**

Belém, 12 de novembro de 2013.

P/ Joiceane Trindade Leão de Azeite

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