

Camila Rech

**VITAMINA D E SUA RELAÇÃO COM A RESISTÊNCIA À  
AÇÃO DA INSULINA EM PORTADORES DE DIABETES  
MELLITUS TIPO 2**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Nutrição.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Sônia Maria de Medeiros Batista, Dra.

Florianópolis  
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Rech, Camila

Vitamina D e sua relação com a resistência à ação da insulina em portadores de Diabetes Mellitus tipo 2 / Camila Rech ; orientadora, Sônia Maria de Medeiros Batista - Florianópolis, SC, 2014.  
132 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição.

Inclui referências

1. Nutrição. 2. Diabetes Mellitus tipo 2. 3. Vitamina D. 4. 25 hidroxivitamina D3. 5. Resistência à insulina. I. Batista, Sônia Maria de Medeiros. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.

Camila Rech

**VITAMINA D E SUA RELAÇÃO COM A RESISTÊNCIA À  
AÇÃO DA INSULINA EM PORTADORES DE DIABETES  
MELLITUS TIPO 2**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Nutrição” e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 25 de julho de 2014.

---

Prof.<sup>a</sup> Yara Maria Franco Moreno, Dr.<sup>a</sup>.  
Coordenadora do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup> Sônia Maria de Medeiros Batista, Dr.<sup>a</sup>  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Luciane Coutinho de Azevedo, Dr.<sup>a</sup>  
Universidade do Vale do Itajaí

---

Prof.<sup>a</sup> Elisabeth Wazlawik, Dr.<sup>a</sup>  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Francilene Gracieli Kunradi Vieira, Dr.<sup>a</sup>  
Universidade Federal de Santa Catarina



*Dedico este trabalho aos meus pais, exemplos de vida, amor, sabedoria  
e por terem  
me ensinado as coisas mais belas e essenciais da vida.*



## **Agradecimentos**

À DEUS, por me guiar nesta caminhada e pela oportunidade.

À minha querida orientadora SÔNIA MARIA DE MEDEIROS BATISTA, pelos ensinamentos e contribuições. Obrigada pela confiança, atenção e pelo carinho especial durante esses dois anos de estudo.

Aos meus PAIS, por serem meus maiores exemplos de vida, responsabilidade, honestidade e sabedoria. Obrigada pela educação, pelo apoio e pelas palavras de carinho e motivação.

Ao meu noivo PAULO, pelo amor, incentivo e companheirismo. Obrigada por compreender tantos momentos de ausência, pelas palavras de motivação e conforto que sempre foram fundamentais.

Às minhas queridas irmãs BÁRBARA, CARINE e PATRÍCIA, sem vocês nós não seríamos as quatro estações.

Aos meus AMIGOS, obrigada por me apoiarem, entenderem os momentos de ausência e tornarem nossos momentos juntos sempre especiais. Em especial as amigas que fiz durante esses dois anos de estudos, CRISTHIANE TOZZO, PRISCILLA SCHRAMM GONSALEZ, DANIELA HAUSCHILD E GISELE D'AVILLA.

A UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA e aos PROFESSORES do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, por promoverem o aprendizado e o crescimento profissional.

Aos professores ELISABETH WAZLAWIK, LUCIANE COUTINHO DE AZEVEDO e FRANCILENE GRACIELI KUNRADI VIEIRA, por aceitarem o convite de fazer parte da banca de defesa de dissertação e por todas as contribuições sugeridas.

Aos VOLUNTÁRIOS que participaram desta pesquisa, pela disposição e compreensão.

Aos PROFISSIONAIS do ambulatório e laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário – UFSC, pelo auxílio e dedicação.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Enfim, a todos que contribuíram para que a pesquisa fosse possível e para que eu chegasse até aqui, meu eterno agradecimento!





*“Por vezes sentimos que aquilo que  
fazemos não é senão uma gota de  
água no mar. Mas o mar seria menor  
se lhe faltasse uma gota”.*  
*(Madre Teresa de Calcutá)*



## RESUMO

RECH, Camila. **Vitamina D e sua relação com a resistência à ação da insulina em portadores de Diabetes Mellitus tipo 2**. Florianópolis, 2014. Dissertação (Mestrado em Nutrição). Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2014.

**Objetivo:** Avaliar a relação entre a concentração sérica e o consumo alimentar de vitamina D com a resistência à insulina em portadores de Diabetes Mellitus (DM) tipo 2.

**Métodos:** Estudo transversal com indivíduos portadores de DM tipo 2, com até 6 anos de diagnóstico, idade entre 18 e 70 anos, sem uso de insulina. Avaliou-se consumo de vitamina D através do recordatório de 4 horas e as concentrações sanguíneas de 25-hidroxivitamina D3 (25(OH)D), glicemia e insulinemia em jejum, hemoglobina glicada e *Homeostasis Model Assessment* (HOMA). Para as análises utilizou-se a correlação de Pearson e regressão linear simples, adotou-se o nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ). Avaliou-se a presença de modificação de efeito para sexo nas análises de associação entre 25(OH)D e consumo de vitamina D com o HOMA.

**Resultados:** Foram avaliados 29 indivíduos. A mediana de consumo de vitamina D foi de 3,9 (3,3;5,2) mcg por dia e a média de 25(OH)D de  $32,5 \pm 7,9$  ng/mL, não houve associação significativa entre as variáveis. O consumo de vitamina D esteve associado significativamente com hemoglobina glicada ( $r=0,58$ ;  $p=0,001$ ). Não houve correlação entre 25(OH)D ( $r=-0,22$ ;  $p=0,248$ ) e consumo de vitamina D ( $r=-0,01$ ;  $p=0,956$ ) com HOMA. Observou-se modificação de efeito para sexo na associação entre 25(OH)D e HOMA ( $p=0,096$ ) e entre consumo de vitamina D e HOMA ( $p=0,163$ ).

**Conclusão:** Consumo de vitamina D e 25(OH)D não estiveram associados com HOMA. Porém, observou-se que o sexo exerce modificação de efeito em ambas as análises.

**Palavras-chave:** 25-hidroxivitamina D3. Resistência à insulina. Diabetes Mellitus tipo 2. Vitamina D.



## ABSTRACT

RECH, Camila. **Vitamin D and their relationship with resistance insulin in patients with type 2 Diabetes Mellitus**. Florianópolis, 2014. Dissertation (Master in Nutrition). Post Graduation Program in Nutrition, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

**Objective:** To evaluate the relationship between serum concentration and dietary intake of vitamin D with insulin resistance in patients with type 2 Diabetes Mellitus (DM).

**Methods:** Cross-sectional study with individuals with type 2 DM, with up to 6 years of diagnosis, age between 18 and 70 years, without insulin. We assessed vitamin D intake by 24-hour recall and blood concentrations of 25-hydroxivitamin D (25(OH)D), fasting glucose and insulin, glycated hemoglobin and Homeostasis Model Assessment (HOMA). For the analyzes we used the Pearson correlation and linear regression, we adopted the significance level of 95% ( $p < 0,05$ ). We evaluated the presence of effect modification of the analyzes for gender association between 25(OH)D and vitamin D intake with HOMA.

**Results:** Were evaluated 29 subjects. The median vitamin D intake was 3,9 (3,3;5,2) mcg per day and the mean of 25(OH)D  $32,5 \pm 7,9$  ng/mL, there was no significant association between variables. The vitamin D intake was significantly associated with glycated hemoglobin ( $r = -0,58$ ;  $p = 0,001$ ). There was no correlation between 25(OH)D ( $r = -0,22$ ;  $p = 0,248$ ) and vitamin D intake ( $r = -0,01$ ,  $p = 0,956$ ) with HOMA. Observed effect modification for gender in the association between 25(OH)D and HOMA ( $p = 0,096$ ) and between vitamin D intake and HOMA ( $p = 0,163$ ).

**Conclusion:** Consumption of vitamin D and 25(OH)D were not associated with HOMA. However, it was observed that sex exerts effect modification in both analyzes.

**Keywords:** 25-Hydroxyvitamin D. Insulin Resistance. Type 2 Diabetes Mellitus. Vitamin D.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Funções autócrinas e endócrinas da vitamina D .....	39
Figura 2 – Representação esquemática da ação genômica da 1,25(OH) <sub>2</sub> D .....	40





## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 - Relação de estudos, autores, amostra, desenho, parâmetros avaliados e resultados.....	45
Quadro 2 - Pontos de corte do Critério de Classificação Econômica Brasil.....	52



## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Quantidade de vitamina D nos alimentos .....	41
Tabela 2 – Recomendações dietéticas de vitamina D para indivíduos em diferentes estágios da vida.....	42
Tabela 3 – Modelo de análise .....	59



## LISTA DE ABREVIATURAS

ABEP	Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
CCEB	Critério de Classificação Econômica Brasil
CEPSH	Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
DM	<i>Diabetes Mellitus</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EASD	<i>European Association for the Study of Diabetes</i>
EAR	<i>Estimated Average Requirement</i>
GLUT 4	<i>Glucose Transporter type 4</i>
HDL-c	<i>High Density Lipoprotein-Cholesterol</i>
HOMA	<i>Homeostasis Model Assessment</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IMC	Índice de Massa Corporal
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
HU	Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago <i>Low Density Lipoprotein-Cholesterol</i>
LDL-c	<i>Parathormone</i>
PTH	Resistência à Insulina
RI	<i>Recommended Dietary Allowance</i>
RDA	<i>Ribonucleic Acid</i>
RNA	Sociedade Brasileira de Diabetes
SBD	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TCLE	Universidade Federal de Santa Catarina
UFSC	<i>Ultra Violet Burn</i>
UVB	<i>United States Department of Agriculture</i>
USDA	<i>Vitamin D Receptor</i>
VDR	Valor Energético Total
VET	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças
VIGITEL	Crônicas por Inquérito Telefônico <i>World Health Organization</i>
WHO	1,25-dihidroxi-vitamina D3
1,25(OH) <sub>2</sub> D	25-hidroxivitamina D3
25(OH)D	



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	
1.1.1 Objetivo geral	26
1.1.2 Objetivos específicos	26
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b>	
2.1 DIABETES MELLITUS TIPO 2	
2.1.1 Epidemiologia	30
2.1.2 Aspectos fisiopatológicos	31
2.1.3 Resistência à Insulina	32
2.1.4 Diagnóstico	33
2.1.5 Prevenção	34
2.1.6 Terapia Nutricional	35
2.2 VITAMINA D	
2.2.1 Aspectos metabólicos e fisiológicos	37
2.2.2 Funções	39
2.2.3 Recomendação de ingestão e exposição solar	41
2.2.4 Hipovitaminose D	43
2.3 VITAMINA D E DIABETES TIPO 2	
<b>3 MÉTODO</b>	
3.1 DESENHO DO ESTUDO	
3.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO	
3.3 PROTOCOLO DE ESTUDO	
3.4 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS	
3.4.1 Caracterização dos participantes	52
3.4.2 Avaliação antropométrica	53
3.4.3 Avaliação do consumo alimentar	54
3.4.4 Avaliação bioquímica	56
3.4.5 Vitamina D: Concentrações e fatores determinantes	58
3.5 MODELO DE ANÁLISE	
3.6 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS	
3.7 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA	
<b>4 RESULTADOS</b>	
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	
<b>REFERÊNCIAS</b>	

<b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO .....</b>	
<b>APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO.....</b>	
<b>APÊNDICE C – RECORDATÓRIO 24 HORAS .....</b>	
<b>APÊNDICE D – NOTA DE IMPRENSA.....</b>	
<b>ANEXO A – CRITÉRIO DE CLASSIFICAÇÃO ECONÔMICA BRASIL.....</b>	
<b>ANEXO B – PARECER COMITÊ DE ÉTICA .....</b>	
<b>ANEXO C – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO.....</b>	







## 1 INTRODUÇÃO

O Diabetes *Mellitus* (DM) do tipo 2 é uma doença crônica não transmissível, onde o pâncreas é capaz de produzir insulina, porém, em quantidades insuficientes às necessidades ou, quando o organismo não responde aos seus efeitos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2014). Em 2013, cerca de 382 milhões de pessoas apresentavam algum tipo de DM em todo o mundo, sendo o tipo 2 predominante (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2013). Segundo a *American Diabetes Association* (ADA, 2014), o tratamento do DM requer cuidados contínuos e, alterações nos hábitos de vida dos pacientes, para o adequado controle glicêmico. Por sua vez, a não adesão ao tratamento e as complicações decorrentes do DM são importante causa de morbidade e mortalidade no mundo.

Sabe-se que o número de pessoas com a doença vem aumentando gradativamente devido ao crescimento demográfico, ao envelhecimento, a urbanização e, principalmente, a má alimentação, ao aumento da prevalência da obesidade e da inatividade física. Estimativas para o ano de 2030, sugerem que, mesmo que a prevalência da obesidade permanecesse estável, o que parece ser improvável, o número de portadores de DM aumentaria mais do que o dobro, em relação ao ano 2000 (WILD et al., 2004). Intervenções, incluindo mudanças na dieta e no exercício físico são fundamentais para reduzir a prevalência da doença e/ou auxiliar no tratamento, porém, perspectivas imediatas que objetivam modificar o ambiente para inverter os níveis de obesidade não são promissoras, e existe uma necessidade de considerar outras opções para a prevenção e o tratamento do DM (SGRAGG, 2008).

Alterações na função das células  $\beta$  pancreáticas e resistência à ação da insulina (RI) estão envolvidos no desenvolvimento e na evolução do DM tipo 2 (ADA, 2014). Recentemente, têm sido observado associação entre a RI e os níveis séricos de vitamina D (FOROUHI et al., 2012). A vitamina D parece ter efeitos pleiotrópicos, que vão além do metabolismo do cálcio e da formação óssea, com possível papel na patogênese de diversas doenças, uma vez que têm sido encontrado receptores desta vitamina em diversos tecidos, incluindo cérebro, próstata, mama, cólon, células do sistema imune e pâncreas (SUNG et al., 2012). A vitamina D parece atuar em mecanismos que levam ao DM, em virtude da presença de receptores da vitamina D, *Vitamin D Receptor* (VDR) e de proteínas ligadoras de cálcio dependentes de vitamina D no tecido pancreático. Possivelmente, indivíduos com hipovitaminose D estão em maior risco de

desenvolverem RI e intolerância à glicose (TAI et al., 2007; FOROUHI et al., 2008).

Redução da sensibilidade à insulina, disfunção das células  $\beta$  pancreáticas e inflamação sistêmica estão frequentemente presentes na intolerância à glicose e no DM tipo 2. Há evidências que indicam efeito protetor da vitamina D nesses mecanismos, o que pode explicar sua associação com o DM tipo 2 (PITTAS et al., 2007). Estudos mostram que pacientes com glicemia alterada apresentaram uma correlação positiva e independente entre as concentrações sanguíneas de 25-hidroxivitamina D3 (25(OH)D) e a sensibilidade à insulina (SCHUCH; GARCIA; MARTIN, 2009; LIU et al., 2009).

Sabe-se que a prevalência de deficiência de vitamina D em humanos é ampla e crescente, mesmo em países onde a exposição solar é considerada alta, como é o caso do Brasil (MITHAL et al., 2009). Alguns fatores podem influenciar as concentrações séricas da vitamina D, além da ingestão e exposição solar, como a época do ano, latitude, pigmentação da pele, idade e o uso de filtro solares (BANDEIRA et al., 2006).

Considerando o exposto, propõe-se a realização de um estudo que avalie a relação da vitamina D com a RI de portadores de DM, buscando responder a seguinte pergunta de partida: qual a relação entre a concentração sérica e o consumo alimentar de vitamina D com a RI em portadores de DM tipo 2?

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo geral**

Avaliar a relação entre a concentração sérica e o consumo alimentar de vitamina D com a RI em portadores de DM tipo 2.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

Avaliar o consumo alimentar atual de vitamina D;  
Avaliar as concentrações séricas de 25(OH)D, glicose em jejum, insulina em jejum e hemoglobina glicada;  
Analisar a RI pelo método de HOMA;  
Relacionar o consumo alimentar atual de vitamina D com a glicose em jejum, insulina em jejum, hemoglobina glicada, concentração sérica de 25(OH)D e HOMA;

Relacionar a concentração sérica de 25(OH)D com o glicose em jejum, insulina em jejum, hemoglobina glicada e HOMA;

Verificar se há modificação de efeito entre a relação de concentração sérica de 25(OH)D e HOMA e entre a relação de consumo alimentar atual de vitamina D e HOMA, de acordo com o sexo.



## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 DIABETES MELLITUS TIPO 2

Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2014), o DM não é uma única doença, mas um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresentam em comum a hiperglicemia, a qual é resultado de defeitos na ação e na secreção da insulina ou em ambas. O tipo 2, comum em pacientes com sobrepeso e obesidade, ocorre em 90 a 95% dos casos (ADA, 2014; SBD, 2014).

O DM tipo 2 é considerado um problema de saúde pública, uma vez que a incidência aumenta progressivamente em todo o mundo devido ao crescimento e ao envelhecimento populacional, à urbanização e ao aumento da obesidade e do sedentarismo (WILD et al., 2004). Esta enfermidade representa um considerável encargo econômico tanto para o indivíduo quanto para a sociedade, especialmente quando não há controle. Suas complicações são as principais responsáveis pela maior parte dos custos diretos, levando a um maior comprometimento da produtividade, da qualidade de vida e da sobrevivência dos indivíduos, que, muitas vezes, poderiam ser minimizadas ou evitadas (MCLELLAN et al., 2006). Devido à progressiva ascensão das doenças crônicas, bem como do DM, há necessidade de uma revisão das práticas dos serviços de saúde que incluam estratégias de redução de risco e controle da doença (PORTERO; MOTTA; CAMPINO, 2003; PORTERO; CATALINI, 2005). Pelo impacto social e econômico que tem ocasionado, o DM vem sendo reconhecido, em vários países, como problema de saúde pública com reflexos sociais importantes. Suas manifestações crônicas são ainda causas comuns de hospitalização e absenteísmo ao trabalho (ORTIZ; ZANETTI, 2001). Retinopatia diabética, doenças cardiovasculares, neuropatia e nefropatia são as principais complicações crônicas da doença, desenvolvidas em longo prazo devido às alterações micro e macrovasculares, que levam à disfunção, ao dano e à falência de vários órgãos (SBD, 2014). Além disso, devido à presença de hiperglicemia crônica, frequentemente esta doença está acompanhada de dislipidemia e obesidade abdominal. Como consequência, ocorre aumento de morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares (MCLELLAN et al., 2007; SBD, 2014).

### 2.1.1 Epidemiologia

O número de indivíduos portadores de DM vem aumentando, atingindo proporções epidêmicas (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2013), devido ao crescimento e envelhecimento populacional, à maior urbanização, à crescente prevalência de obesidade e sedentarismo, bem como à maior sobrevivência de pacientes com DM (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002). Em 1985 haviam 30 milhões de adultos com a doença no mundo, passando para 135 milhões em 1995, 173 milhões em 2002 (WILD et al., 2004) e 382 milhões em 2013 (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2013). Segundo a *International Diabetes Federation* (IDF, 2013), o Brasil está na quarta posição de maior prevalência de DM no mundo, totalizando 11,9 milhões de portadores, sendo a China, a Índia e os Estados Unidos da América os países com maiores números, em ordem crescente.

Nota-se que, de modo geral, há maior prevalência de DM em homens, apesar de haver mais mulheres com a doença. Tal fato pode ser explicado pelo maior número de mulheres idosas, na maioria da população, sendo o aumento da idade uma explicação provável para esta observação. Em países em desenvolvimento, a maioria das pessoas com DM está na faixa etária entre 45 e 64 anos de idade, já em países desenvolvidos, a maioria se encontra acima de 64 anos de idade (WILD et al., 2004).

Tem-se uma dificuldade em determinar a incidência do DM tipo 2 em grandes populações, pois envolve seguimento durante alguns anos, com medições periódicas de parâmetros bioquímicos (SBD, 2014). Além disso, frequentemente, na declaração de óbito não se menciona DM como causa, pelo fato de serem suas complicações, principalmente cardiovasculares e cerebrovasculares, as principais responsáveis pelo óbito. No início do século XXI, estimou-se que se atribuíram 5,2% de todos os óbitos no mundo ao DM, tornando esta doença a quinta principal causa de morte (ROGLIC et al., 2005).

De acordo com a IDF (2013), a prevalência mundial de DM em 2011 era de 8,3%, totalizando 366 milhões de pessoas. Projeções para 2030 indicam que esse número crescerá para 552 milhões. Dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) (BRASIL, 2012), realizado nas 26 capitais brasileiras e no Distrito Federal, revelaram que 5,6% da população declararam ser portadores de DM. Em homens o percentual foi de 5,2% e em mulheres, de 6,0%. A capital de Santa Catarina, Florianópolis, apresentou uma frequência total de 5,9%. A frequência de



adultos que informaram ter DM variou entre 2,7% em Palmas e 7,3% em Fortaleza.

### 2.1.2 Aspectos fisiopatológicos

O DM tipo 2 é uma doença metabólica complexa caracterizada por diminuição da secreção pancreática de insulina e redução da ação da insulina ou RI nos órgãos periféricos (FORD; GILES; DIETZ, 2002; MCLELLAN et al., 2007), resultando em hiperglicemia e glicotoxicidade. Esta última é responsável por um estresse oxidativo crônico ao nível tecidual, tendo papel importante na gênese das complicações crônicas da doença. O principal mecanismo fisiopatológico do DM tipo 2 é a RI, que é observada inicialmente no tecido muscular, onde uma concentração crescente de insulina é necessária para permitir a captação de glicose pelo miócito (MARCONDES, 2003).

Em indivíduos predispostos geneticamente, a combinação de excesso de ingestão calórica e redução na prática de exercício físico, com consequência provável a obesidade, pode induzir um estado de RI (CERIELLO; MOTZ, 2004). O sobrepeso e o sedentarismo levam ao aumento de glicose e ácidos graxos livres nas células, quando metabolizados e transformados em energia são acompanhados de um aumento na formação de radicais livres (estresse oxidativo). Como proteção, as células musculares e os adipócitos desenvolvem RI com o objetivo de reduzir a entrada de glicose e ácidos graxos livres nas células. Porém, como as células  $\beta$  pancreáticas e as do endotélio não são dependentes de insulina, a sobrecarga de glicose e ácidos graxos livres provoca estresse oxidativo, que induz a disfunção endotelial e das células  $\beta$ . A disfunção nas células  $\beta$  é responsável pela alteração na secreção de insulina e a disfunção endotelial pelo desenvolvimento de doenças vasculares. A inadequada secreção de insulina se agrava com RI, já que há maior requerimento secretório de insulina para a manutenção das concentrações plasmáticas de glicose (MCLELLAN et al., 2007).

A hiperglicemia está associada a RI e, ambas, à disfunção das células  $\beta$  pancreáticas. Porém, alguns grupos têm sugerido que a RI é a anormalidade primária e a disfunção das células  $\beta$  é um acontecimento tardio, que surge pelo aumento da secreção da insulina, em consequência da RI (DEFRONZO; MUHAMMAD, 2011). Para Kahn (2003), uma vez que a homeostase da glicose é dada pela presença de um sistema de *feedback*, regulado pelas células  $\beta$  e os tecidos sensíveis à

insulina, torna-se claro que a redução da sensibilidade insulínica e a redução da função das células  $\beta$  estão presentes desde o início do desenvolvimento do DM tipo 2.

A evolução do DM tipo 2 ocorre em um período de tempo variável, passando por estágios intermediários, os quais são denominados glicemia de jejum alterada e tolerância à glicose diminuída, consequentes da RI e da disfunção das células  $\beta$  (ADA, 2014). Dentre os principais riscos para o desenvolvimento do DM tipo 2 encontram-se obesidade ou excesso de peso, sedentarismo, etnia, histórico de DM gestacional, má nutrição durante a gravidez, hipertensão arterial sistêmica, hábitos alimentares inadequados, elevado índice de triglicérides, baixos níveis de HDL-c (*High Density Lipoprotein*), intolerância à glicose, além do histórico familiar de DM (WILSON et al., 2007; IDF, 2012).

### **2.1.3 Resistência à Insulina**

Segundo a SBD (2014), a RI, definida como uma resposta biológica subnormal a uma determinada concentração deste hormônio, é uma condição fisiopatológica de grande repercussão clínica. Estudos demonstram que indivíduos que apresentam RI têm maiores chances de desenvolver DM tipo 2, dislipidemias, hipertensão arterial, esteatose hepática não alcoólica, doenças neurodegenerativas e neoplasias. Além disso, apresentam risco cardiovascular aumentado em duas a quatro vezes. Esse fenômeno refere-se à diminuição da ação da insulina endógena em seus tecidos-alvo, principalmente, músculos e tecido adiposo (MCLELLAN et al., 2007; KAHN, 2003).

O desenvolvimento e o aumento da incidência de obesidade levam a um aumento importante de indivíduos com sensibilidade insulínica diminuída, que na presença de uma propensão genética para disfunção das células  $\beta$ , apresentam grandes chances para o desenvolvimento de DM (CERIELLO; MOTZ, 2004). A hiperinsulinemia pode compensar a RI, resultando em tolerância normal à glicose, mas quando a RI excede a capacidade funcional e adaptativa das células  $\beta$ , instaura-se a redução da tolerância à glicose, que pode culminar com o DM tipo 2 (SBD, 2014; DEFRONZO, 2009). O tecido adiposo apresenta uma relação direta com a RI, uma vez que secreta substâncias com efeitos biológicos importantes, em nível local e sistêmico. Dentre as substâncias secretadas estão: leptina, resistina, peptídeo inibidor do ativador de plasminogênio, fator de necrose tumoral alfa, interleucina-6, peptídeo estimulador de acilação e

adiponectina. Todas as substâncias são produzidas em maior quantidade com o aumento do tecido adiposo, exceto a adiponectina, que atua aumentando a sensibilidade insulínica, cuja produção é diminuída com o aumento da adiposidade (FLIER, 2001; ESPOSITO et al., 2003).

A sensibilidade à insulina pode ser influenciada por uma série de diferentes fatores, tais como genética (BARROSO et al., 1999), idade (CHEN et al., 1995), exercício físico agudo (PRIGEON; KAHN; PORTE, 1995), aptidão física (KAHN et al., 1990), nutrientes da dieta (CHEN; HALTER; PORTE, 1987), medicamentos (KAHN et al., 1989), obesidade e distribuição de gordura corporal (CNOP et al., 2002).

Mutações genéticas conhecidas e associadas à RI são raras, desta forma, parece ser improvável que apenas a alteração genética seja responsável pelo grande número de casos de RI (BARROSO et al., 1999). Por sua vez, o envelhecimento está tipicamente relacionado com a menor sensibilidade insulínica (CHEN et al., 1995). Um estudo que comparou a sensibilidade à insulina em dois grupos de homens: jovens, com idade entre 18 e 36 anos e idosos, com idade entre 65 e 82 anos, verificou que quando os participantes realizavam uma refeição *ad libitum*, a RI era maior no grupo de indivíduos com idades superiores (CHEN; BERGMAN; PORTE, 1988). Além disso, o exercício físico apresenta efeitos agudos e crônicos, capazes de melhorar a sensibilidade à insulina (KAHN et al., 1990; PRIGEON; KAHN; PORTE, 1995). Kahn et al. (1990), ao avaliarem idosos antes e após seis meses de exercício físico intenso, observaram um aumento da sensibilidade insulínica. No entanto, o efeito diminuiu significativamente após a interrupção do exercício regular.

A dieta ocidental, geralmente associada a uma alta ingestão de gordura saturada e trans, também parece propiciar na redução da sensibilidade à insulina (PURNELL; BRUNZELL, 1997). Finalmente, alguns medicamentos e substâncias podem influenciar a RI, incluindo glicocorticóides, hormônio de crescimento e ácido nicotínico (BEARD et al., 1984; RIZZA; MANDARINO; GERICH, 1982; KAHN et al., 1989).

#### **2.1.4 Diagnóstico**

O diagnóstico do DM, durante décadas, considerou como critério, apenas a glicose plasmática em jejum e o teste de tolerância oral de glicose, com a determinação da glicemia de 2 horas após sobrecarga de 75 g de glicose. Porém, em 2009 um comitê internacional, incluindo representantes da ADA, do IDF e da *European Association for the Study*

of *Diabetes* (EASD), recomendou, ainda, o uso do teste de hemoglobina glicada para diagnosticar o DM, com limiar de diagnóstico  $\geq 6,5\%$ . Além disso, glicose em jejum  $\geq 126$  mg/dL, um teste de tolerância oral a glicose  $\geq 200$  mg/dL ou pacientes com sintomas de hiperglicemia e uma glicemia plasmática aleatória  $\geq 200$  mg/dL, são característicos de portadores de DM (ADA, 2014; SBD, 2014).

Vale ressaltar que os níveis de glicose em jejum entre 100 a 125 mg/dL, o teste de tolerância à glicose de 140 a 199 mg/dL ou hemoglobina glicada entre 5,7% e 6,4% são característicos de indivíduos classificados com o pré-diabetes (ADA, 2014; SBD, 2014).

Os sinais e sintomas não são formas de diagnóstico do DM, porém, podem auxiliar os profissionais da saúde. Alguns sinais comumente encontrados incluem: micção frequente, sede excessiva, aumento do apetite, perda de peso, cansaço, falta de interesse e concentração, sensação de formigamento ou dormência de membros, visão turva, infecções frequentes, vômitos, dor de estômago e cicatrização lenta de feridas (IDF, 2012).

### **2.1.5 Prevenção**

Segundo a SBD (2014), a prevenção pode ocorrer mediante o início da doença (prevenção primária) ou de suas complicações agudas ou crônicas (prevenção secundária). A prevenção primária deve reduzir a susceptibilidade ao desenvolvimento da doença, por meio do estilo de vida, com ênfase na alimentação adequada às necessidades individuais e a prática de exercício físico, que propiciarão o peso corporal adequado. A prevenção secundária visa o controle metabólico da doença, com o objetivo de prevenir o surgimento ou a progressão de complicações crônicas.

Por sua vez, sendo evitado o excesso de peso corporal, obesidade, hipertensão arterial e dislipidemias é minimizada a manifestação do DM e das doenças vasculares, reduzindo a mortalidade. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002; SBD, 2014). Assim, os programas de prevenção primária baseiam-se em intervenções no estilo de vida, principalmente na dieta e na prática de exercício físico. (KNOWLER et al., 2002; FERREIRA et al., 2005). A prática de exercício físico é um dos principais pilares na prevenção da doença já que é importante para a manutenção da perda de peso, está ligada à redução da pressão sanguínea e frequência cardíaca de repouso, aumento da sensibilidade à insulina, melhora da composição corporal e bem estar psicológico. Outros comportamentos a serem considerados incluem o hábito de

fumar, estresse e depressão, além da qualidade do sono, tanto a curta quanto a longa duração podem estar associadas a maior risco de desenvolver DM tipo 2 (IDF, 2012).

Em um estudo longitudinal com 84.941 enfermeiras e seguimento de 16 anos, a dieta habitual, o exercício físico, o tabagismo e o excesso de peso, estiveram associados com redução de 91% na incidência da doença (HU et al., 2001). Em 2001, foram divulgados os resultados de um estudo americano com indivíduos com tolerância a glicose diminuída, submetidos a dois tipos de intervenção: mudanças no estilo de vida, incluindo orientação dietética e prática de exercício físico, ou uso de metformina. Concluiu-se que as mudanças no estilo de vida foram responsáveis por uma redução na incidência de DM em 58%, em três anos, quando comparado ao controle. Além disso, essa redução de incidência foi superior à obtida com o uso de metformina, de 31% (TUOMILEHTO et al., 2001). Os resultados destes estudos são consistentes e encorajadores no sentido de se investir em programas de estilo de vida saudável, já que são capazes de reduzir de modo substancial os riscos de progressão do DM.

Segundo a *World Health Organization* (WHO, 2002), algumas medidas são importantes na prevenção secundária, destacando o tratamento da hipertensão arterial e das dislipidemias, o que reduz substancialmente o risco de complicações cardiovasculares, prevenção de ulcerações nos pés e amputações de membros inferiores, rastreamento para diagnóstico precoce de retinopatia, rastreamento para microalbuminúria, que é recomendável para prevenir ou retardar doenças renais, além da redução ou isenção do consumo de cigarro.

Segundo a ADA (2014), pacientes com glicemia de jejum alterada, tolerância à glicose diminuída ou hemoglobina glicada de 5,7 a 6,4% devem ser submetidos a um programa de apoio visando perda de 7% do peso corporal, quando há excesso de peso, e aumento do exercício físico, no mínimo 150 minutos por semana. Além disso, deve-se considerar o uso da metformina para pacientes com as alterações relatadas anteriormente, especialmente se associadas com Índice de Massa Corporal (IMC) > 35 kg/m<sup>2</sup>, idade > 60 anos ou DM gestacional prévia, objetivando a prevenção desta doença. Outra indicação é a monitoração anual de pacientes com pré-diabetes.

### **2.1.6 Terapia Nutricional**

A educação nutricional e o estabelecimento de dieta para controlar pacientes portadores de DM em associação a mudanças no

estilo de vida, incluindo a perda de peso, quando necessário e a prática de exercício físico, são considerados terapias de primeira escolha. Podendo levar a melhora na sensibilidade à insulina, redução nos níveis plasmáticos de glicose, redução da circunferência abdominal e da gordura visceral, bem como melhora do perfil metabólico, através da redução nos níveis de LDL-c (*Low Density Lipoprotein*) e triglicerídeos, além do aumento do HDL-c (ADA, 2014; WHO, 2003; SBD, 2014).

A conduta nutricional deverá ter como foco a individualização, considerando todas as fases da vida, diagnóstico nutricional, hábitos alimentares e socioculturais, não diferindo de parâmetros estabelecidos para a população em geral, considerando também o perfil metabólico e o uso de fármacos (ADA, 2014).

A prática de exercício físico (mínimo 150 minutos por semana) deve ser encorajada nesses pacientes, uma vez que auxilia na perda de peso (ADA, 2014). Estudos têm demonstrado que a perda de peso moderada (5% do peso corporal) está associada com a diminuição da RI, melhora nos níveis glicêmicos e lipídicos e redução da pressão arterial (KLEIN et al., 2004).

A alimentação de indivíduos portadores de DM, de forma geral, exceto a exclusão ou restrição de sacarose e glicose, segue os mesmos critérios da população saudável. Desta forma, é indicado o consumo regular de fibras alimentares, no mínimo 20 g por dia ou 14 g para cada 1000 Kcal de dieta, alimentos que contenham grãos integrais, bem como a redução do consumo de bebidas açucaradas (refrigerantes, sucos e achocolatados, por exemplo). O valor energético total (VET) deve ser baseado nas necessidades individuais, de acordo com sexo e faixa etária. As recomendações dietéticas no DM incluem: consumo de carboidratos de 45 a 60% do VET e não inferior a 130 g por dia, sendo até 10% do VET de sacarose. O consumo de gordura total deve ser de até 30% do VET, sendo menos de 7% do VET em gordura saturada e até 10% do VET de gordura poli-insaturada. A gordura monoinsaturada deve ser indicada de forma individualizada, já o consumo de gordura trans não deve ultrapassar 2 g por dia. A ingestão de proteínas deve ser de 0,8 a 1,0 g/kg/peso ou 15 a 20% do VET, já o consumo de álcool deve ser limitado. A ingestão de colesterol deve ser <200 mg por dia. O consumo de vitaminas e minerais deve seguir a recomendação da população não portadora de DM e de sódio deve ser de até 2400 mg por dia (ADA, 2014; SBD, 2014, KLEIN et al., 2004; ADA, 2002; WHO, 2003, SARTORELLI et al., 2004).

Para atingir as necessidades diárias de vitaminas e minerais, deve haver um plano alimentar variado com o consumo mínimo de duas a

quatro porções de frutas, sendo pelo menos uma rica em vitamina C (frutas cítricas) e de três a cinco porções de hortaliças cruas e cozidas. A deficiência de vitamina D comum em portadores de DM está relacionada com o mau controle glicêmico. Os efeitos positivos da vitamina D podem estar relacionados a secreção e sensibilidade à insulina, bem como a diminuição do estado inflamatório. Todavia, não há evidências suficientes quanto ao benefício da suplementação de vitaminas e minerais em portadores de diabetes que não possuem deficiência destes nutrientes (CHAGAS et al., 2012; SBD, 2014).

Estudos têm demonstrado que mudanças na alimentação em pacientes portadores de DM tipo 2, tais como o consumo de alimentos com baixo índice glicêmico e ricos em fibras alimentares, induzem a um menor aumento nos níveis séricos de glicose e insulina no período pós-prandial (ANDERSON et al., 2004). Um trabalho realizado por Carvalho et al. (2012) mostrou que o consumo de 20 g ou mais de fibras alimentares ao dia, acompanhado de educação nutricional intensiva de curto prazo e adoção de hábitos alimentares adequados, levou a um maior controle glicêmico em portadores de DM e parece ser mais eficaz que o tratamento convencional, com o uso de hipoglicemiantes orais. De acordo com tais evidências, parece que conscientizar o paciente sobre a importância da adesão ao tratamento é de extrema importância para um melhor controle da doença.

## 2.2 VITAMINA D

### 2.2.1 Aspectos metabólicos e fisiológicos

A vitamina D foi reconhecida no século XX, como um regulador da homeostase dos ossos e do metabolismo mineral, devido a sua influência no equilíbrio do cálcio e na prevenção do raquitismo (SUNG et al., 2012). Nessa época, o raquitismo estava presente em aproximadamente 80% das crianças residentes nas cidades industrializadas da Europa e dos Estados Unidos (HOLICK, 2006; RAJAKUMAR et al., 2007). No início de 1900, a vitamina D foi reconhecida por Fiesen, ao observar que a exposição solar era extremamente eficaz no tratamento não apenas do raquitismo, mas também de algumas doenças de pele, como o *Lupus Vulgaris*. Já em 1915, Hoffman comparou a mortalidade por câncer com a latitude das cidades e verificou que quanto maior a distância do Equador, maior a taxa de mortalidade pela doença. Com o passar dos anos percebeu-se,

através de diversos estudos, a possibilidade de efeitos extra-ósseos desta vitamina (HOLICK, 2010).

A vitamina D é um esteróide lipossolúvel, considerado vitamina por também ser obtido por fonte dietética. Porém, na realidade é um hormônio esteróide, por possuir receptor nuclear e capacidade de regulação da expressão gênica (HICKEY; GORDON, 2004). Pode ser encontrada em duas formas: como ergocalciferol (vitamina D<sub>2</sub>), produzida pelas plantas e fungos e como colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>), produzida pelo tecido animal e pela síntese cutânea sob ação da luz ultravioleta (290-310nm) no 7-dehidrocolesterol (pró-vitamina D<sub>3</sub>), presente na pele humana (HOLICK, 2007). Quando proveniente da alimentação, a vitamina D é absorvida juntamente com as gorduras no intestino delgado, auxiliada pela bile. Após a absorção intestinal, é incorporada nos quilomicrons e transportada através do sistema linfático. A partir deste momento, o metabolismo é semelhante ao da vitamina D<sub>3</sub> endógena, sintetizada pela pele (HOLICK, 2004). Estima-se que cerca de 80 a 90% da vitamina D corporal seja obtida pela síntese cutânea e o restante pela ingestão alimentar (HOLICK, 1999).

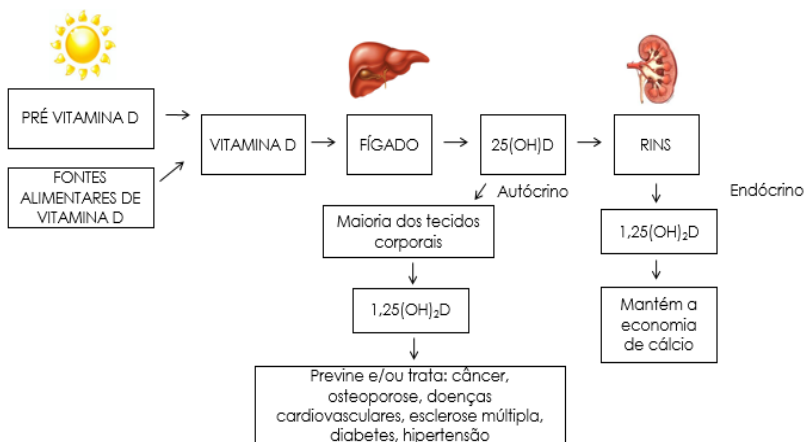
Todavia, esta vitamina, ingerida ou sintetizada na pele, não é biologicamente ativa. Após ser absorvida ou sintetizada nas células da epiderme, a vitamina se liga a uma proteína transportadora de vitamina D, uma proteína com uma meia-vida longa que pode estar reduzida na doença hepática, na síndrome nefrótica e na desnutrição (DUSSO; BROWN; SLATOPOLSKY, 2005). No fígado, a vitamina D é hidroxilada pela enzima 25-hidroxilase, formando 25(OH)D, também denominada calcidiol (JONES, 2007). Posteriormente, para se tornar ativa, a 25(OH)D sofre nova hidroxilação pela enzima 1 $\alpha$  hidroxilase, presente principalmente nos rins, resultando na formação da 1,25-dihidroxi-vitamina D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D), denominada calcitriol (LEHNINGER, COX, 2011; GRUDTNER; WEINGRILL; FERNANDES, 1997). Esses processos estão ilustrados na figura 1.

A produção cutânea de vitamina D pode ser influenciada por alguns fatores: o uso de filtro solar, já que o fator 8 de proteção solar pode reduzir a produção em 97,5% (MATSUOKA et al., 1987); a melanina, pois ela compete com o 7-dehidrocolesterol por fótons de ultravioleta; a latitude, a síntese cutânea de vitamina D é maior em regiões de baixa latitude devido à maior exposição aos raios ultravioleta (WEEB; KLINE; HOLICK, 1988; LIPS et al., 2001; HOLICK, 2005; MAEDA et al., 2010); a estação do ano, o ângulo de incidência dos raios solares e o período do dia podem influenciar, contudo, reduzidas concentrações de vitamina D são observadas também em países



ensolarados; o sexo, apesar de não haver explicações fisiológicas bem estabelecidas, as mulheres normalmente apresentam menores níveis de vitamina D e a idade, já que idosos apresentam uma redução na concentração de pró-vitamina D3 na pele. Todavia, a exposição solar é a maneira mais efetiva de produção da vitamina D (HICKEY; GORDON, 2004). Além disso, a vitamina D pode ser influenciada por outros fatores como a obesidade, uma vez que, por ser uma substância lipossolúvel, é facilmente “sequestrada” e estocada no tecido adiposo, sendo sua liberação, em situações de necessidade, muito lenta (HOLICK, 2007).

Figura 1 - Funções autócrinas e endócrinas da vitamina D



Fonte: Adaptado de Cannell e Hollis (2008).

### 2.2.2 Funções

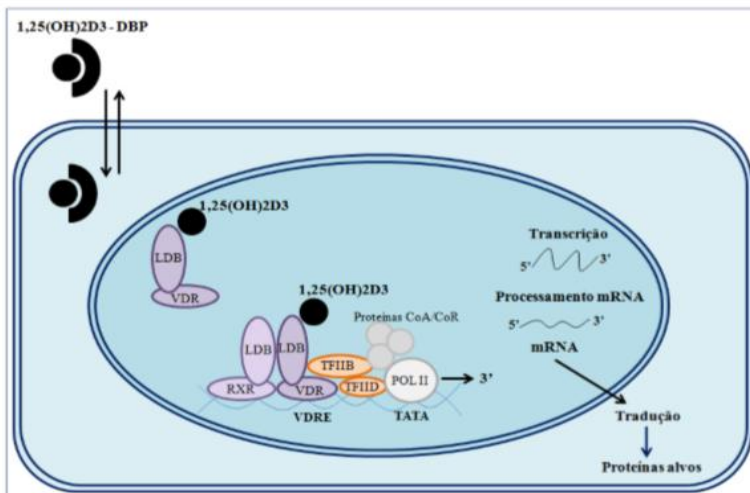
A função clássica da vitamina D no organismo está relacionada com o metabolismo mineral, na ausência desta vitamina apenas 10 a 15% do cálcio e 60% do fósforo dietético são absorvidos, sendo que a ligação da  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  com o VDR no enterócito aumenta a eficiência de absorção intestinal do cálcio para 30 a 40% e do fósforo para 80% (HOLICK, 2007). No tecido ósseo há duas diferentes vias de ação, uma direta nos osteoblastos, estimulando a formação óssea e outra indireta nos osteoclastos, aumentando a reabsorção óssea (HOLICK, 2005). A  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  atua também nas células paratireoidianas, através dos receptores, alterando a síntese e secreção do PTH (*Parathormone*) (SILVER; RUSSEL; SHERWOOD, 1985).

A  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  parece ter uma multiplicidade de outras funções fisiológicas não relacionadas ao metabolismo ósseo. Desta forma, esta vitamina pode exercer ações endócrinas, autócrinas e parácrinas (HOLICK, 2005). Dentre os trabalhos divulgados sobre os efeitos da vitamina D, evidenciou-se ação sobre neoplasias (GIOVANNUCCI, 2005), sistema imunológico (HOLICK, 2005; 2007; DUSSO; BROWN; SLATOPOLSKY, 2005), hipertensão (LI, 2003), inflamação (ZITTERMANN et al., 2003), DM (HYPPONEN et al., 2001), psoríase e esclerose múltipla (GRANT, 2006).

Os receptores da  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  foram primeiramente descritos por Brumbaugh e Haussler em 1973 (NISHII; OKANO, 2001) e posteriormente, Stumpf et al (1979) demonstraram que além das células do rim e do intestino, metabólitos ativos da vitamina D estão presentes em outras células, como as da pele, do cólon, do cérebro e do pâncreas, o que os levaram a concluir que estas células também expressavam VDR.

A vitamina D realiza suas funções biológicas por meio da sua ligação a receptores nucleares (VDR), que regulam a transcrição do *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) e *Ribonucleic Acid* (RNA), semelhante aos receptores para esteróides e hormônios tireoidianos. Desta forma, após se dissociar da proteína transportadora, a vitamina D atravessa a membrana celular por difusão simples e interage no núcleo celular com VDR, formando um complexo receptor-esteróide (RXR-VDR). A formação deste complexo possibilita a interação com genes responsivos à vitamina D, os quais se ligam na região 5'flanqueadora do promotor ativando a transcrição do gene VDR, ou na modulação de sua própria expressão gênica (HOLICK, 2005), conforme apresenta a figura 2.

Figura 2 - Representação esquemática da ação genômica da  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$



Fonte: Adaptado Schuch, 2011

Vale ressaltar que a concentração do VDR diminui com a idade, o que pode contribuir para a resistência a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ , comprometendo, por exemplo, a absorção de cálcio. Esses receptores são expressos em outros tipos de células, além do epitélio do intestino delgado, tubular renal, osteoblastos, osteoclastos, células hematopoiéticas, linfócitos, células epidérmicas, células pancreáticas, miócitos e neurônios (MITHAL et al., 2009; MARQUES et al., 2010).

### 2.2.3 Recomendação de ingestão e exposição solar

Conforme citado anteriormente, a vitamina D pode provir da exposição da pele à luz solar ou através dos alimentos. Os principais alimentos que contêm vitamina D são: peixes com um teor maior de gordura, incluindo peixes como salmão, atum, sardinha, cavala, arenque, além de óleo de fígado de bacalhau, ovos, leite e derivados (HOLICK, 2007). A tabela 1 apresenta a quantidade de vitamina D em alguns alimentos.

Tabela 1 - Quantidade de vitamina D nos alimentos

Alimentos (100g)	Vitamina D (UI)
Arenque cru	1628
Atum cru	216
Bacalhau seco	204
Camarão cozido	144

Linguado cru	60
Merluza crua	40
Salmão cozido	120
Ostra crua	320
Cogumelo seco – shitake	1660
Leite integral	40
Leite desnatado	40
Manteiga	56
Ovo	52

Fonte: Tabela de Composição de alimentos: suporte para decisão nutricional (PHILIPPI, 2002).

Recentemente, novas recomendações foram publicadas pelo *Institute of Medicine* (IOM, 2011), para a ingestão dietética de vitamina D. Os novos valores estabelecidos para a *Estimated Average Requirement* (EAR) e *Recommended Dietary Allowance* (RDA) se apresentam descritos na tabela 2.

Tabela 2 - Recomendações dietéticas de vitamina D para indivíduos nos diferentes estágios da vida.

<b>Estágio de vida</b>	<b>EAR (UI/dia)</b>	<b>RDA (UI/dia)</b>	<b>UL (UI/dia)</b>
<b>0 a 6 meses</b>	*	*	1000
<b>6 a 12 meses</b>	*	*	1500
<b>1 a 3 anos</b>	400	600	2500
<b>4 a 8 anos</b>	400	600	3000
<b>9 a 13 anos</b>	400	600	4000
<b>14 a 18 anos</b>	400	600	4000
<b>19 a 30 anos</b>	400	600	4000
<b>31 a 50 anos</b>	400	600	4000
<b>Homens</b>			
<b>51 a 70 anos</b>	400	600	4000
<b>Mulheres</b>			
<b>&gt;70 anos</b>	400	800	4000
<b>14 a 18 anos</b>	400	600	4000
<b>Lactantes/gestantes</b>			
<b>19 a 50 anos</b>	400	600	4000
<b>Lactantes/gestantes</b>			

\* Para crianças a dose adequada é de 400 UI/dia para 0 a 6 meses de idade e 400 UI/dia durante 6 a 12 meses de idade. EAR: *Estimated Average Requirement*; RDA: *Recommended Dietary Allowance*; UL: *Tolerable Upper Intake Levels*.  
Fonte: IOM, 2011

O IOM justifica que os novos valores de referência são baseados em estudos publicados em revistas científicas sobre a importância da vitamina D, não apenas no metabolismo ósseo, mas também em hipertensão, câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, síndrome metabólica, doenças auto imunes, funcionamento neuropsicológico e desempenho físico. Porém, salienta-se que os benefícios da vitamina D, além dos efeitos extra-ósseos, são inconclusivos sendo necessário novos estudos que comprovem tais desfechos. Especialistas da área acreditam que os novos valores sejam ainda insuficientes, e que dose diária atenderia somente 40% das necessidades totais. Sendo sugerido que 1000 UI seja a recomendação adequada para manter a concentração sérica de  $25(\text{OH})\text{D} \geq 30\text{ng/mL}$ , o qual tem sido considerado o valor ideal e seguro (HEANEY; HOLICK, 2011).

Estudos realizados no Brasil mostram que o consumo alimentar de vitamina D é insuficiente quando comparado a recomendação proposta pelo IOM, principalmente na população idosa. A ingestão média da vitamina D em adultos brasileiros de ambos os sexos, com idade superior a 40 anos, foi de 1,86 mcg/dia (aproximadamente 75UI/dia) (PINHEIRO et al., 2009). Peters et al. (2011) analisaram 160 adolescentes e adultos entre 16 e 20 anos, observaram que a média de ingestão foi de 3,6 mcg/dia (aproximadamente 144 UI/dia) e que nenhum dos participantes atingiu a recomendação diária.

Em relação a exposição solar, sabe-se que a pele produz vitamina D em uma rapidez extraordinária. A produção após alguns minutos de exposição solar excede facilmente as fontes alimentares. Pode haver uma produção de 20000 UI de vitamina D em 30 minutos de exposição, o equivalente a 200 copos de leite (LI, 2003; CANNEL; HOLLIS, 2008).

#### **2.2.4 Hipovitaminose D**

Além da baixa ingestão de alimentos que contém vitamina D, a exposição inadequada ao sol, a disfunção hepática ou renal e a função intestinal comprometida poderão ocasionar deficiências na forma ativa desta vitamina (BURKIEVCZ et al., 2012). Determinados grupos populacionais como os de crianças e idosos ou aqueles que trabalham ao

abrigo da luz também poderão apresentar níveis séricos baixos da vitamina (PETERS et al., 2009).

Dentre os principais sinais e sintomas relacionados com a hipovitaminose D estão dores musculares, fraqueza generalizada, depressão e psoríase (MITHAL et al., 2009; KENNEL et al., 2010). O conhecimento do nível sérico de 25(OH)D talvez possa auxiliar a estimar as reservas corporais da vitamina, a identificar a necessidade de suplementação e determinar a dose a ser utilizada como terapia, vale ressaltar que a medição de 25(OH)D é considerada o melhor teste para avaliar as reservas corporais da vitamina D. Embora as concentrações ótimas ainda estejam em debate, tem-se considerado válido adotar valores menores que 30 ng/mL para insuficiência de vitamina D e valores menores que 20 ng/ml para deficiência de vitamina D (KENNEL et al., 2010). Hollis (2005), considera que concentrações ótimas de vitamina D seriam aquelas necessárias para manter o PTH em concentrações normais, o que para vários estudos é próximo a 30 ng/mL, visto que a deficiência de vitamina D leva a diminuição do cálcio sérico e, conseqüentemente estimula as glândulas paratireoides a liberar o PTH, a fim de aumentar a reabsorção renal e óssea do cálcio (HEANEY, 2004; VIETH; LADAK; WALFISH, 2003).

As concentrações séricas de vitamina D variam conforme a região geográfica, sendo dependente da latitude, da estação do ano, dos hábitos de exposição ao sol, da pigmentação da pele, do envelhecimento, do uso de protetor solar e do local de trabalho (KENNEL et al., 2010). Alguns indivíduos estão, ainda mais, vulneráveis à hipovitaminose D, na presença de fatores de risco como: reduzida exposição à luz *Ultra Violet Burn* (UVB), diminuição da capacidade de sintetizar a vitamina pela pele ou doenças que alteram o metabolismo desta vitamina (PREMAOR; FERLANETTO, 2006). Considerando esses fatores, além da raça e da idade do indivíduo, cerca de 20 minutos de exposição solar podem produzir até 20.000 unidades de vitamina D, quantidade suficiente para suprir as necessidades de um adulto durante aproximadamente 25 dias (CANNELL; HOLLIS, 2008).

Outro fator importante que diminui esta síntese é a melanina, sabe-se que ela compete com o 7-dehidroxicolesterol por fótons ultravioletas. A melanina humana surgiu como um fator de proteção para a produção excessiva de vitamina D3. Sendo um fator evidenciado principalmente em negros (SNIDJER; DAM; VISSER, 2005).

### 2.3 VITAMINA D E DIABETES TIPO 2

A literatura sugere de forma crescente que a concentração de vitamina D está relacionada com várias condições crônicas, dentre elas doenças auto-imune, diabetes e doenças cardiovasculares (BORGES; MARTINI; ROGERO, 2011). Entre as diversas atividades extra esquelito desta vitamina, talvez a mais provável ação seja na RI (KAVIANI et al., 2012).

No desenvolvimento do DM tipo 2, alterações na função das células  $\beta$  pancreáticas, redução da sensibilidade à insulina e inflamação sistêmica são bastante comuns. A vitamina D parece atuar nas células  $\beta$  do pâncreas facilitando a secreção de insulina a partir da ligação de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  ao receptor VDR, nessas células (PITTAS et al., 2007). Além disso, a secreção de insulina é um processo dependente de cálcio, portanto, o aumento da  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  e do PTH, devido a insuficiência de  $25(\text{OH})\text{D}$ , leva a maior influxo de cálcio para as células. Alterações no fluxo de cálcio, influenciadas pelas concentrações de  $25(\text{OH})\text{D}$ , podem ter efeitos adversos sobre a função secretora da célula  $\beta$  (ZEMEL, 2003; ISMAIL; NAMALA, 2000). Estudos apresentam relação inversa entre hipovitaminose D e a liberação de insulina (LIU et al., 2009; MATTILA et al., 2007). Adicionalmente, a deficiência de  $25(\text{OH})\text{D}$  parece dificultar a capacidade das células- $\beta$  na conversão da pró-insulina à insulina (BOURLON; BILLAUDEL; FAURE-DUSSERT, 1999; AYESHA et al., 2001). De acordo com Palomer et al. (2007), demonstrou-se *in vitro* e *in vivo* que a vitamina D é essencial na liberação normal de insulina em resposta à glicose e para a manutenção da tolerância à glicose.

A vitamina D pode ter efeito benéfico sobre a ação da insulina, diretamente, através da estimulação da expressão do receptor de insulina e, assim, melhorar a capacidade de resposta à insulina para o transporte de glicose (MAESTRO et al., 2000), ou indiretamente, através da regulação de cálcio extracelular (SUNG et al., 2012), assegurando o normal influxo de cálcio, através das membranas celulares e adequado cálcio intracelular. O cálcio é essencial para os processos intracelulares mediados por insulina, em tecidos que respondem a esse hormônio, tais como o músculo esquelético e tecido adiposo. Assim, alterações nas concentrações de cálcio podem levar à RI, a partir da redução da transdução de sinal na atividade do *Glucose Transporter type 4* (GLUT 4) (PITTAS et al., 2007; HOLLICK, 2006; DAWSON-HUGHES et al., 2005). Estudos têm demonstrado relação inversa entre o estado de vitamina D e RI (PITTAS et al., 2007; SCHUCH; GARCIA; MARTIN, 2009), conforme mostra quadro 1. Alguns estudos têm verificado associação positiva entre a ingestão de vitamina D e a sensibilidade à

insulina, independente da idade, da gordura corporal total e do consumo de energia (FOROUHI et al., 2008; LIU et al., 2009; ALVAREZ et al., 2010).

Quadro 1 - Relação de estudos, autores, amostra, desenho, parâmetros avaliados e resultados. (continua)

<b>Autores</b>	<b>Amostra</b>	<b>Desenho</b>	<b>Parâmetros analisados</b>	<b>Resultados</b>
Chiu et al., 2004	Adultos não portadores de DM	Transversal	Glicose e insulina em jejum, 25(OH)D, perfil lipídico, índice de sensibilidade à insulina	Correlação positiva entre 25(OH)D e índice de sensibilidade à insulina. Correlação negativa

Quadro 1 - Relação de estudos, autores, amostra, desenho, parâmetros avaliados e resultados. (continuação)

<b>Autores</b>	<b>Amostra</b>	<b>Desenho</b>	<b>Parâmetros analisados</b>	<b>Resultados</b>
				entre 25(OH)D e glicose em jejum.
Huang et al., 2013	Adultos não portadores de DM	Coorte	Glicose e insulina em jejum, teste de tolerância oral a glicose, colesterol e frações, HOMA e 25(OH)D	Indivíduos deficientes de vitamina D apresentaram 1,91 e 2,06 vezes mais chances de desenvolverem RI e DM tipo 2. 25(OH)D foi inversamente associado com HOMA e DM tipo 2.



Karnchanasorn; Chiu, 2012	Adultos não portadores de DM	Transversal	Glicose e insulina em jejum, resistência à insulina, função das células $\beta$ pancreáticas	25(OH)D esteve associada com a resistência à insulina e função das células $\beta$ pancreáticas
Talaei, Mohamadi, Adgi, 2013	Adultos portadores de DM tipo 2	Intervenção 50000UI de vitamina D3 por semana durante 8 semanas	Glicose e insulina em jejum, hemoglobina glicada, 25(OH)D, HOMA	Redução da glicose, insulina em jejum e HOMA após o tratamento

Quadro 1 - Relação de estudos, autores, amostra, desenho, parâmetros avaliados e resultados. (conclusão)

<b>Autores</b>	<b>Amostra</b>	<b>Desenho</b>	<b>Parâmetros analisados</b>	<b>Resultados</b>
Alvarez et al., 2010	Adultos não portadores de DM tipo 2	Transversal	Ingestão de vitamina D, HOMA, glicose e insulina em jejum, índice de sensibilidade à insulina	Associação positiva entre a ingestão de vitamina D e o índice de sensibilidade à insulina.
Liu et al., 2009	Adultos não portadores de DM tipo 2	Transversal	25(OH)D, glicose e insulina em jejum, teste de tolerância oral a glicose, HOMA, índice de sensibilidade	25(OH)D foi inversamente associado com glicose em jejum, insulina em jejum e HOMA.

			à insulina	
--	--	--	------------	--

DM: Diabetes Mellitus; 25(OH)D: 25-hidroxivitaminaD3; HOMA: *Homeostasis Model Assessment*; RI: Resistência à insulina.

Reconhece-se que o DM tipo 2 está associado com inflamação sistêmica, esta, por sua vez tem sido associada, principalmente, à RI e disfunção das células  $\beta$  pancreáticas, devido ao aumento de citocinas (HU et al., 2004). A vitamina D pode melhorar a sensibilidade à insulina e promover a sobrevivência das células  $\beta$  pancreáticas, diretamente por modulação na produção e nos efeitos de citocinas. Porém, os dados disponíveis na literatura sobre esta temática são limitados e conflitantes (PITTAS et al., 2007).

Relação inversa foi identificada entre concentrações de 25(OH)D e prevalência de síndrome metabólica em adultos americanos, onde foi observada prevalência de síndrome metabólica de 27,5% em pacientes com concentração de 25(OH)D  $<19,4$  ng/mL e de 13,5% naqueles com concentrações  $\geq 38,6$  ng/mL (FORD et al., 2005).

Segundo Borissova et al. (2013), a suplementação de vitamina D por 1 mês foi capaz de reduzir em 21,4% a RI em pacientes portadores de DM tipo 2. Além disso, a suplementação de 50000 UI de vitamina D3 por semana, durante 8 semanas, em portadores de DM tipo 2, foi capaz de reduzir a glicose e a insulina em jejum, além da RI, avaliada pelo método de *Homeostasis Model Assessment* (HOMA) (TALAEI; MOHAMADI; ADGI, 2013). Em ratos Wistar obesos com DM tipo 2, a suplementação de vitamina D3 também reduziu significativamente as concentrações de glicose no plasma em aproximadamente 40% (SANTOS; VIANNA, 2005). Estudos transversais verificaram correlação negativa entre concentrações séricas de 25(OH)D e RI, ao avaliarem adultos saudáveis (CHIU et al., 2004; KARCHANASORN; CHIU, 2012). Uma coorte realizada com indivíduos saudáveis verificou que indivíduos deficientes de vitamina D apresentaram 1,85 e 1,65 vezes mais chances de desenvolverem RI e DM tipo 2, respectivamente (HUANG et al., 2013).

Os resultados de um estudo caso-controle mostraram que as concentrações de 25(OH)D eram significativamente mais baixas ( $p < 0,01$ ) em indivíduos recém diagnosticados com DM tipo 2, quando comparado com o grupo controle, formado por indivíduos saudáveis. Do mesmo modo, os níveis de insulina e a RI, calculada pelo método de HOMA, bem como a glicose em jejum eram significativamente elevadas nos casos de DM tipo 2. Foi encontrada correlação negativa entre os níveis de 25(OH)D e RI ( $r = -0,92$ ,  $p < 0,01$ ) e entre 25(OH)D e insulina

em jejum ( $r=-0,66$ ,  $p<0,01$ ) no grupo DM tipo 2, desta forma, uma redução na concentração de vitamina D foi associada com o aumento da RI (GANDHE; JAIN; GANDHE, 2013). Chiu et al. (2001), descobriram que indivíduos normoglicêmicos saudáveis com hipovitaminose D apresentam maior prevalência de síndrome metabólica do que indivíduos sem hipovitaminose D. Eles também encontraram uma correlação positiva entre 25(OH)D e sensibilidade à insulina, além de verificar que a hipovitaminose D estava associada com uma alteração na função das células  $\beta$  pancreáticas. Sugerindo que a hipovitaminose D pode ser um fator de risco independente para RI, DM tipo 2 e síndrome metabólica.

Apesar das evidências citadas anteriormente na literatura ainda citam-se incógnitas a serem exploradas a respeito da relação entre vitamina D, DM tipo 2 e RI. Estudos observacionais e randomizados sobre a concentração ou ingestão de vitamina D e o os efeitos no DM tipo 2 têm sido contraditórios, em geral sugere-se que a hipovitaminose D esteja associada com diminuição da secreção de insulina e aumento da RI, e que a concentração mais elevada e maior consumo de vitamina D parece estar associada com menor risco de desenvolvimento de DM tipo 2 (AFZAL et al, 2013). Apesar disso, não está clara qual a concentração ideal de vitamina D para a manutenção da homeostase da glicose (ALVAREZ; ASHRAF, 2010). Alguns estudos não encontraram associação entre os níveis séricos de 25(OH)D e parâmetros de ação da insulina (GULSETH et al., 2010). Em uma meta-análise que avaliou os efeitos da vitamina, nenhum dos seis estudos revisados foi capaz de demonstrar uma mudança significativa na intolerância à glicose (PITTAS et al., 2007). Em contra partida, os ensaios clínicos randomizados com a suplementação de vitamina D são, geralmente, de curta duração, com pequeno número de pacientes e pequenas doses de suplementação de vitamina D, não permitindo conclusões definitivas.



### 3 MÉTODO

#### 3.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal, realizado no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (HU), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Campus Universitário, Florianópolis – SC. A pesquisa foi desenvolvida com portadores de DM tipo 2, acompanhados pelo serviço ambulatorial no período entre agosto de 2013 e abril de 2014.

#### 3.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Foram convidados a participar da pesquisa os pacientes que procuraram acompanhamento nutricional ou médico para o tratamento do DM tipo 2, no referido hospital. A amostra coletada foi não probabilística, por conveniência, determinada por saturação temporal.

Aceitou-se como critérios de inclusão da pesquisa pacientes com diagnóstico de DM tipo 2, de ambos os sexos, em seguimento clínico no ambulatório do HU, com idade entre 18 e 70 anos, com até 6 anos de diagnóstico da doença, fazendo uso ou não de hipoglicemiantes orais, que aceitaram participar da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Atribuiu-se como critérios de exclusão da pesquisa pacientes que apresentaram incapacidade de entendimento e comunicação, complicações renais, hipo/hiperparatireoidismo, gestantes e nutrizes, indivíduos em uso de insulina atual, suplementos de vitamina D e/ou medicamentos que pudessem causar depleção desta vitamina, tais como: colestiramina, anticonvulsivantes, corticosteroides, isonizidida, rifampina, antagonistas de receptor H2 e óleo mineral (PASCHOAL et al., 2009). Para avaliar a função renal foram analisados os parâmetros bioquímicos de creatinina e uréia, os critérios de exclusão foram indivíduos com valores acima ou abaixo dos valores de referência do laboratório: uréia entre 15 e 39 mg/dL, creatinina para homens entre 0,8 a 1,3 mg/dL e para mulheres entre 0,6 a 1,0 mg/dL (GADSDEN; PHELPS, 1978).

O recrutamento ocorreu mediante a convite oral ou telefônico à todos os pacientes atendidos por médicos endocrinologistas ou nutricionistas no ambulatório do HU. É oportuno citar que o número de pacientes atendidos no ambulatório do HU por ambos os profissionais e a aceitação ao convite para a participação da pesquisa foram altos,

porém o número de indivíduos elegíveis a pesquisa foi reduzido, devido especialmente aos critérios de exclusão. Vale ressaltar que são atendidos no ambulatório do HU principalmente, pacientes após período de internação, oriundos da emergência, encaminhados por médicos clínicos de outras cidades de Santa Catarina ou da cidade de Florianópolis que não possuem assistência especializada em sua unidade de base.

### 3.3 PROTOCOLO DE ESTUDO

Inicialmente, os pacientes foram esclarecidos sobre o estudo e a participação voluntária na pesquisa. Em caso de aceite, os pacientes assinaram o TCLE (Apêndice A).

Foi aplicado um questionário com dados clínicos, sócio-demográficos e sócio-econômicos, além da coleta de parâmetros antropométricos e bioquímicos, análise de consumo alimentar e de fatores determinantes da vitamina D. A coleta de amostra biológica de sangue e as análises bioquímicas foram realizadas por profissionais capacitados do Laboratório de Análises Clínicas do HU. O consumo alimentar foi avaliado em dois momentos, a fim de analisar a ingestão atual de vitamina D.

### 3.4 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS

#### 3.4.1 Caracterização dos participantes

A fim de satisfazer os objetivos do estudo, foi aplicado por meio de entrevista, um questionário para coleta de dados (APÊNDICE B), com dados pessoais, sócio demográficos, antropométricos e clínicos. Os dados pessoais constituintes do formulário foram: nome, data de nascimento, endereço e contato telefônico. Além destes, foram coletados dados referentes a estação do ano da coleta de dados, estado civil, sexo, idade, cor de pele, escolaridade, classe social e ocupação profissional. Dados referentes ao DM, como o tempo de diagnóstico da doença, uso de hipoglicemiantes orais, medicamentos e/ou suplementos, complicações e doenças associadas, também foram observados. A fim de caracterizar a população estudada, questionou-se sobre o tempo diário ao ar livre, tabagismo e exercício físico. A coleta de dados abrangeu ainda, variáveis antropométricas, como peso, altura, percentual de gordura e circunferência da cintura, variáveis bioquímicas, como glicose e insulina em jejum, hemoglobina glicada, 25(OH)D, creatinina e uréia, além de dois recordatórios de 24 horas.

Foram coletados dados relacionados a frequência e ao tempo de prática de exercício físico. Indivíduos que praticavam 150 minutos ou mais de exercício físico semanal foram classificados como ativos (WHO, 2010).

Para avaliar o nível socioeconômico, adotou-se como metodologia o Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB) da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP, 2012) (ANEXO A). Para cada item, o participante recebeu uma pontuação, a partir do somatório dos pontos obtidos classificou-se em uma das oito categorias de classes sociais, apresentadas no quadro 2. A fim de caracterizar a população estudada, as oito categorias de classes sociais foram subdivididas em dois grupos: A1, A2, B1, B2 e C1, C2, D, E.

Quadro 2 – Pontos de corte do Critério de Classificação Econômica Brasil

<b>Classe</b>	<b>Pontos</b>
A1	42 a 46
A2	35 a 41
B1	29 a 34
B2	23 a 28
C1	18 a 22
C2	14 a 17
D	8 a 13
E	0 a 7

Fonte: ABEP, 2012.

### 3.4.2 Avaliação antropométrica

As variáveis antropométricas foram avaliadas pela pesquisadora. Para aferição do peso utilizou-se balança digital de marca Tanita TBF – 683W<sup>®</sup> (Tanita Corporation of America Inc<sup>®</sup>, Arlington Heights, Illinois, Estados Unidos da América) com capacidade máxima de 150 kg e sensibilidade de 0,1 kg. O peso foi aferido com o indivíduo descalço ou com meias finas, utilizando roupas leves, permanecendo de pé, parado, no centro da plataforma, com o peso do corpo distribuído uniformemente entre os pés. O peso foi quantificado em quilos (kg) e gramas (g), com precisão de 100 g (WHO, 1995).

A altura foi aferida através de estadiômetro de marca Alturaexata<sup>®</sup> (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), que possui escala de precisão de 0,1 cm e capacidade de 0,35 a 2,13 m, com o indivíduo descalço ou com meias finas, usando poucas roupas, com o peso

distribuído em ambos os pés, sobre uma superfície plana, com calcanhares e cabeça posicionados de forma que a linha de visão fosse perpendicular ao corpo, braços soltos ao lado do corpo, cabeça, costas, nádegas e calcanhares encostados na tábua vertical de medida, com o indivíduo respirando profundamente. Após o indivíduo respirar profundamente e em apnéia respiratória realizou-se a aferição, de modo que a parte superior da cabeceira móvel do estadiômetro foi elevada ao ponto mais alto da cabeça com pressão suficiente para comprimir o cabelo. A altura foi gravada a 0,1 cm (WHO, 1995).

A partir das medidas de peso e estatura realizou-se o cálculo do IMC, que é definido como peso em quilogramas dividido pelo quadrado da altura em metros (WHO, 1995).

Para a medida de circunferência da cintura o avaliado foi posicionado de pé, com abdômen relaxado, peso do corpo distribuído igualmente entre os pés, braços estendidos ao longo do corpo e fita colocada horizontalmente no ponto médio entre a borda inferior da última costela e a crista ilíaca. As medidas foram realizadas com fita métrica inelástica, flexível, com precisão de 0,1 cm (WHO, 1987).

O percentual de gordura corporal foi analisado através de Impedância Bioelétrica (BIA) de marca Tanita TBF – 683W<sup>®</sup> (Tanita Corporation of America Inc<sup>®</sup>, Arlington Heights, Illinois, Estados Unidos da América), com plataforma, tipo portátil. O método é seguro, prático e não invasivo em que os eletrodos de aço são montados na plataforma da balança, em forma de dois pés. Cada pé é dividido em duas partes, anterior e posterior, formando dois eletrodos separados. A mensuração da impedância por meio das extremidades inferiores utiliza uma frequência de 50 kHz e uma corrente de 800  $\mu$ A (NIHTACS, 1994). Indivíduos portadores de marca-passo foram avaliados, conforme recomendação do fabricante do equipamento. Para a realização da medida foi registrado e armazenado na balança os dados de sexo, altura e idade, com o indivíduo posicionado sobre a plataforma, com os calcanhares e pontas dos pés alinhados aos eletrodos, em posição ereta.

### **3.4.3 Avaliação do consumo alimentar**

A análise do consumo alimentar foi realizada em dois momentos, pela mesma pesquisadora, com o objetivo de quantificar o consumo atual de vitamina D. Deste modo, utilizou-se o recordatório de 24 horas como método de coleta. A coleta dos dados foi realizada pela pesquisadora com experiência clínica do método.



O método de análise do consumo alimentar através do recordatório de 24 horas (APÊNDICE C) requer que os indivíduos sejam orientados a relatar com o máximo de detalhes o consumo alimentar do dia anterior, destacando horário, refeição, tipo de alimento, forma de preparo, quantidade em medidas caseiras tanto para alimentos quanto para bebidas. O pesquisador, ao final da entrevista, procederá a revisão dos alimentos e quantidades relatadas e registradas com o entrevistado. O método pode ser aplicado por entrevistadores pessoalmente ou por telefone (WILLET, 1998; THOMPSON; BYERS, 1994).

Foram realizados dois recordatórios de 24 horas, considerando um dia de final de semana. O primeiro recordatório 24 horas ocorreu no momento da entrevista, após a aplicação do questionário, já o segundo recordatório foi realizado via telefone, durante a mesma semana.

Após a realização do recordatório de 24 horas realizou-se uma revisão dos principais alimentos que contém vitamina D, a fim de evitar o esquecimento de registro destes. A lista considerou os principais alimentos que contém vitamina D, descritos nas tabelas de composição de alimentos de Philippi (2002) e de *United States Department of Agriculture* (USDA, 2001). Fizeram parte desta lista: leite e derivados, peixes, gema de ovo, fígado de animais, óleo de fígado de bacalhau e cogumelos.

Os alimentos e bebidas foram relatados em medidas caseiras e convertidos em peso ou volume, através da tabela de equivalência de medidas caseiras de Pinheiro et al. (2002). Para a análise do consumo de vitamina D e de calorias utilizou-se a tabela de composição de alimentos proposta por Philippi (2002) e, caso algum alimento ou bebida não constasse nessa base de dados, foi utilizada a tabela proposta pela USDA (2001).

Como ponto de corte para avaliação do consumo de vitamina D utilizou-se a EAR, que é o nível de ingestão diária do nutriente que atende às necessidades de metade dos indivíduos saudáveis em um determinado estágio de vida (IOM, 2001). Para a realização deste método algumas premissas são necessárias, entre elas o conhecimento da EAR para o nutriente estudado e avaliação do consumo alimentar, no mínimo em dois momentos. A EAR de vitamina D foi descrita recentemente (IOM, 2011), sendo 400 UI, para indivíduos de 19 a 70 anos. Além disso, alguns outros fatores devem ser considerados: necessidade e ingestão do nutriente devem ser variáveis independentes, distribuição das necessidades deve ser simétrica em torno da EAR, variância de ingestão deve ser maior que a variância das necessidades e

deve-se ter conhecimento da variância intrapessoal e interpessoal do consumo.

Esse método leva em consideração a variabilidade no consumo dos nutrientes na mesma pessoa (intrapessoal) e entre as pessoas (interpessoal), para obter esses componentes é necessário utilizar a análise de variância (ANOVA). A partir destes dados pode-se calcular a variância total e, posteriormente, a média e o desvio padrão ajustados (IOM, 2001).

Posteriormente ao ajuste para variabilidade intra e interpessoal realizou-se ajuste para calorias, usando o método residual a fim de corrigir as estimativas de nutrientes pela ingestão de energia total, conforme metodologia descrita por Willet, Howe e Kushi (1997). Estas análises foram realizadas no programa estatístico STATA versão 11.0 (StataCorp, College Station, TX, EUA).

### **3.4.4 Avaliação bioquímica**

#### **3.4.4.1 Coleta e preparo de material biológico**

O sangue venoso periférico foi coletado de todos os indivíduos participantes do estudo em até 3 semanas após a aplicação do questionário, considerando a meia-vida da 25 (OH)D (SHILS, 2009).

Foram coletados 10 mL de sangue por profissional capacitado, de acordo com técnica padronizada (WHO, 2010), na região cubital do antebraço de cada paciente em um único momento. As seringas plásticas para coleta eram descartáveis e as agulhas de aço inoxidável, estéreis e descartáveis. O sangue coletado foi distribuído em tubos distintos, um contendo EDTA (sistema Vacutainer<sup>®</sup> BD Biosciences - Abingdon, UK) para dosagem de hemoglobina glicada, e outros três tubos secos com gel separador (sistema Vacutainer<sup>®</sup> BD Biosciences - Abingdon, UK), para análise de 25(OH)D, glicose e insulina. Os tubos foram centrifugados a 4400 rpm por 10 minutos para a separação do plasma. As coletas foram realizadas pela manhã, após um período de jejum de 12 horas.

A determinação dos parâmetros bioquímicos foi realizada por profissionais do Laboratório de Análises Clínicas do HU.

#### **3.4.4.2 Determinação de glicemia em jejum**

Para determinação dos níveis de glicose em jejum foi utilizado o kit *Dimension*<sup>®</sup> (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, Estado Unidos da América). O método GLUC é utilizado no sistema de

química clínica deste kit, é um teste de diagnóstico *in vitro* para a determinação quantitativa de glicose no soro, plasma, urina e líquido cefalorraquidiano humano. É uma adaptação do método da hexoquinase-glicose-6-fosfato desidrogenase, apresentado por Kunst e Ziegenhorn (1983), que é o método referência para medição de glicose. O princípio do procedimento baseia-se no seguinte descrito: a hexoquinase catalisa a fosforilação da glicose na presença de adenosina-5'-trifosfato (ATP) e magnésio, formando glicose-6-fosfato (G-6-P) e adenosinadifosfato (ADP). A G-6-P é então oxidada pela glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH) na presença de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) para produzir 6-fosfogliconato e NADH. Uma mole de NAD é reduzida para uma mole de NADH para cada mole de glicose presente. A absorbância devida ao NADH (e, deste modo a concentração de glicose) é determinada utilizando uma técnica bicromática de ponto final (340 a 383 nm).

O instrumento calcula e imprime automaticamente a concentração de glicose em mg/dL.

#### 3.4.4.3 Determinação da Insulinemia em Jejum

Para a dosagem de insulina foi utilizado o kit *Immulite 2000 systems*<sup>®</sup> (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, Estado Unidos da América). Esse é um ensaio imunométrico por quimioluminescência com enzima marcada em fase sólida. A fase sólida (esfera) é revestida com anticorpo monoclonal murino anti-insulina. A fase líquida é constituída por fosfatase alcalina (intestino de vitela) conjugada com anticorpo policlonal de ovelha anti-insulina e fosfatase alcalina conjugada com anticorpo monoclonal murino anti-insulina. A amostra do paciente e o reagente são incubados em conjunto com esferas revestidas durante 60 minutos. Durante este tempo, a insulina na amostra forma um complexo de anticorpos em *sandwich* com o anticorpo monoclonal murino anti-insulina na esfera, enzima conjugada com anticorpo policlonal de ovelha anti-insulina e enzima conjugada com anticorpo monoclonal murino anti-insulina no reagente. Amostra do paciente não ligada e a enzima conjugada são removidas através de lavagens por centrifugação. Finalmente, o substrato quimioluminescente é adicionado ao tubo de reação que contém as esferas e o sinal é gerado em proporção à quantidade de enzima ligada.

Valores de referência de insulina para indivíduos saudáveis estão entre 3,5-25,0  $\mu\text{UI/mL}$  (ADA, 2014).

#### 3.4.4.4 Determinação da Hemoglobina Glicada

Para dosagem da hemoglobina glicada foi utilizado o teste e equipamento *D-10 Hemoglobin A<sub>1c</sub>* da BIO-RAD® (Bio-Rad Laboratories, Estados Unidos da América). O programa deste teste baseia-se nos princípios da *High Performance Liquide Chromatography* (HPLC), descritos por Piel (1966). As amostras são diluídas automaticamente no equipamento e injetado para dentro do cartucho analítico. Um relatório de amostra e um cromatograma são gerados pelo equipamento para cada amostra.

A hemoglobina glicada é descrita em percentual (%).

#### 3.4.4.5 HOMA-IR

O HOMA é um modelo matemático proposto por Matthews et al. (1985) para determinar e avaliar a sensibilidade ou RI e a função das células  $\beta$  pancreáticas, a partir das concentrações de insulina e glicose em jejum, utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Resistência à insulina (RI)} = \frac{\text{insulina } (\mu\text{IU/mL}) \times \text{glicose } (\text{mmol/L})}{22,5}$$

As medidas de glicose foram transformadas de mg/dL para mmol/L.

Os valores de HOMA determinam a eficácia dos níveis de insulina de jejum em equilíbrio para regular a glicose sanguínea. Valores acima de 2,71 indicam um quadro de RI (MATTHEWS et al., 1985).

### 3.4.5 Vitamina D: Concentrações e fatores determinantes

A principal forma de armazenamento e dosagem da vitamina D é a 25(OH)D, que está presente no sangue numa concentração de até 1000 vezes maior do que a 1,25(OH)<sub>2</sub>D, forma biologicamente ativa, que apresenta uma meia vida de apenas 4 horas. A determinação de 25(OH)D foi realizada segundo o método de quimioluminescência, através do equipamento *Architect System*® (Abbott, Illinois, Estados Unidos da América) (BAEYENS et al., 1998; CAVALIER et al., 2012).

O ensaio *Architect 25-OH Vitamin D*® é um imunoenensaio de um passo atrasado, que inclui um pré-tratamento da amostra, para a determinação quantitativa da vitamina D em plasma humano. A amostra

e o reagente de pré-tratamento são combinados. Uma alíquota de amostra pré-tratada é combinada com o diluente de ensaio e as micro partículas paramagnéticas revestidas de anticorpos anti-vitamina D para criar uma mistura de reação. A vitamina D presente na amostra liga-se às micropartículas revestidas de anticorpos anti-vitamina D. Após a incubação, um complexo de conjugado de anticorpos anti-biotina com vitamina D biotinilada marcado com acridínio é adicionado à mistura de reação, ligando-se aos locais de ligação não ocupados nas micro partículas revestidas de anticorpos anti-vitamina D. Após a lavagem, as soluções pré-ativadora e ativadora são adicionadas à mistura de reação. A reação quimioluminescente resultante é medida em unidades de luz relativas (RLUs). Há uma relação indireta entre a quantidade de vitamina D na amostra e as RLUs detectadas pela ótica do sistema *Architect*<sup>®</sup>. A unidade de resultado padrão do ensaio *Architect 25-OH Vitamin D*<sup>®</sup> é ng/mL.

Além da concentração de 25 (OH)D foram coletados dados relacionados à exposição diária ao ar livre, como média de tempo diário ao ar livre entre o nascer e o pôr do sol e estação do ano da coleta de dados. Para isso, os entrevistados foram questionados sobre quanto tempo ficam expostos ao ar livre entre os horários: 07:00 - 09:00, 09:00 - 11:00, 11:00 - 13:00, 13:00 - 15:00, 15:00 - 17:00, 17:00 - 19:00, de acordo com esses dados foi possível calcular a média de exposição diária, conforme McCarty (2008).

### 3.5 MODELO DE ANÁLISE

Com base na pergunta de partida e nos objetivos propostos, foram construídas as variáveis da pesquisa, apresentadas na tabela 3.

Tabela 3 – Modelo de Análise (continua)

<b>Variável</b>	<b>Tipo de variável</b>	<b>Indicadores</b>
Idade	Independente e numérica discreta	Anos
Sexo	Independente e categórica dicotômica	Masculino Feminino
Estado civil	Independente e categórica nominal	Solteiro/ Casado/ Divorciado/ Viúvo/ Amasiado
Escolaridade	Independente e categórica ordinal	0 – 8 anos 9 – 11 anos

Cor de pele	Independente e categórica nominal	$\geq 12$ anos Outras Branca
-------------	-----------------------------------	------------------------------------

Tabela 3 – Modelo de análise (continuação)

<b>Variável</b>	<b>Tipo de variável</b>	<b>Indicadores</b>
Tabagismo	Independente e categórica dicotômica	Não fumante/ Ex fumante Fumante
Classe econômica	Independente e categórica dicotômica	A e B C, D e E
Tempo de diagnóstico de diabetes	Independente e numérica discreta	Anos
Tempo de Exercício Físico	Independente e categórica dicotômica	Não ativo <150 min por semana Ativo $\geq 150$ minutos por semana
Estação do ano	Independente e categórica dicotômica	Inverno e Primavera Verão e Outono
Peso	Independente e numérica contínua	Quilos (kg)
Altura	Independente e numérica contínua	Metros (m)
IMC	Independente e numérica contínua	kg/m <sup>2</sup>
Circunferência da Cintura	Independente e numérica contínua	Centímetros (cm)
Gordura corporal	Independente e numérica contínua	Percentual (%)
Glicemia em jejum	Dependente e numérica contínua	mg/dL
Insulinemia em jejum	Dependente e numérica contínua	miU/mL
Hemoglobina Glicada	Dependente e numérica contínua	Percentual (%)
25 OH D	Dependente/Independente e numérica contínua	ng/mL

Consumo alimentar médio de vitamina D	Independente e numérica contínua	mcg
---	-------------------------------------	-----

Tabela 3 - Modelo de análise (conclusão)

Variável	Tipo de variável	Indicadores
Uso de hipoglicemiantes	Independente e categórica dicotômica	Sim Não
Tempo diário ao ar livre	Independente e categórica dicotômica	< 60 minutos ≥ 60 minutos
HOMA	Dependente e numérica contínua	-

Fonte: Elaborado pelo autor

### 3.6 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram coletados em formulário impresso, organizados e registrados no programa Microsoft Office Excel 2010<sup>®</sup> (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA). Os dados foram posteriormente transferidos mediante o software STAT-TRANSFER<sup>®</sup> (Circle Systems, Seattle, WA, EUA), para posterior análise estatística no programa estatístico STATA<sup>®</sup> versão 11.0 para Windows (StataCorp, College Station, TX, EUA).

Considerou-se como variáveis dependentes o HOMA, glicose em jejum, insulina em jejum e a hemoglobina glicada. Como variáveis independentes o consumo atual de vitamina D e a concentração de 25(OH)D. Adicionalmente, foi avaliado se o consumo atual de vitamina D esteve relacionado com a concentração de 25(OH)D.

Previamente a análise estatística, foram aplicados testes de normalidade dos dados e de homogeneidade das variâncias. As variáveis contínuas foram expressas em média e desvio padrão da média, quando a distribuição foi simétrica ou mediana e intervalo interquartil, quando distribuição assimétrica. As variáveis categóricas foram descritas em categorias de frequência e intervalo de confiança 95%. Embora tenha sido coletado os dados de todos os indivíduos portadores de DM tipo 2 elegíveis para o estudo, utilizou-se o intervalo de confiança 95% para ser possível de extrapolar os dados para anos posteriores.

Para as análises de associação foram utilizadas as correlações de Pearson e regressão linear simples. Para as análises de diferença de

médias, foi utilizado o Teste T. As variáveis assimétricas foram normalizadas, utilizando logaritmo natural ou inverso, para que pudessem ser usados testes paramétricos na análise de associação. Para todos os testes, adotou-se o nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ).

Avaliou-se a presença de modificação de efeito para sexo na análise de associação entre o HOMA e 25(OH)D e entre HOMA e o consumo alimentar atual de vitamina D, embora normalmente se utilize o valor  $p < 0,1$ , considerou-se evidência positiva de modificação de efeito o valor  $p < 0,2$  (FLETCHER, 2007).

### 3.7 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O projeto de pesquisa foi registrado na base nacional de pesquisa Plataforma Brasil e encaminhado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da UFSC, sob o protocolo CAAE - 13742913.0.0000.0121 (ANEXO C).

Os pacientes foram esclarecidos sobre a pesquisa e avaliações. Após assinarem o TCLE foram convidados e incluídos no estudo. Destaca-se que a pesquisa não expôs os participantes à riscos, os mesmos poderiam sentir apenas desconforto na coleta de sangue. Não houve nenhuma compensação material ou financeira aos participantes. A sensibilização para a adesão à pesquisa foi feita apenas pelo esclarecimento dos seus objetivos e pelos seus benefícios potenciais.

Os instrumentos de coleta de dados foram arquivados e o acesso será permitido apenas a pesquisadores envolvidos. Os resultados finais divulgados preservam o anonimato dos sujeitos envolvidos.



## 4 RESULTADOS

### Artigo Original

#### VITAMINA D E SUA RELAÇÃO COM A RESISTÊNCIA À AÇÃO DA INSULINA EM PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 2

Camila Rech<sup>a</sup>

Sônia Maria de Medeiros Batista<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-graduação em Nutrição. Campus Universitário Trindade. 88040-900, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Telefone: 55 (48) 91816797

Correspondência para: [camilarech@live.com](mailto:camilarech@live.com)

<sup>b</sup> Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição. Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. 55 (48) 32336458

[sonia.maria@ufsc.br](mailto:sonia.maria@ufsc.br)

#### Resumo

##### Objetivo

Avaliar a relação entre a concentração sérica e o consumo alimentar de vitamina D com a resistência à insulina em portadores de Diabetes Mellitus (DM) tipo 2.

##### Métodos

Estudo transversal com indivíduos portadores de DM tipo 2, com até 6 anos de diagnóstico, idade entre 18 e 70 anos, sem uso de insulina. Avaliou-se consumo de vitamina D através do recordatório de 4 horas e as concentrações sanguíneas de 25-hidroxivitamina D3 (25(OH)D), glicemia e insulinemia em jejum, hemoglobina glicada e *Homeostasis Model Assessment* (HOMA). Para as análises utilizou-se a correlação de Pearson e regressão linear simples, adotou-se o nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ). Avaliou-se a presença de modificação de efeito para sexo nas análises de associação entre 25(OH)D e consumo de vitamina D com o HOMA.

## Resultados

Foram avaliados 29 indivíduos. A mediana de consumo de vitamina D foi de 3,9 (3,3;5,2) mcg por dia e a média de 25(OH)D de 32,5±7,9 ng/mL, não houve associação significativa entre as variáveis. O consumo de vitamina D esteve associado significativamente com hemoglobina glicada ( $r=0,58$ ;  $p=0,001$ ). Não houve correlação entre 25(OH)D ( $r=-0,22$ ;  $p=0,248$ ) e consumo de vitamina D ( $r=-0,01$ ;  $p=0,956$ ) com HOMA. Observou-se modificação de efeito para sexo na associação entre 25(OH)D e HOMA ( $p=0,096$ ) e entre consumo de vitamina D e HOMA ( $p=0,163$ ).

## Conclusão

Consumo de vitamina D e 25(OH)D não estiveram associados com HOMA. Porém, observou-se que o sexo exerce modificação de efeito em ambas as análises.

Palavras-chave: 25-hidoxivitamina D3. Resistência à insulina. Diabetes Mellitus tipo 2. Vitamina D.

## Abreviações

DM, Diabetes Mellitus; 25(OH)D, 25-Hidroxivitamina D; VDR, *Vitamin D Receptor*; UFSC, Universidade Federal de Santa Catarina; IMC, Índice de Massa Corporal; EAR, *Estimated Average Requirement*; HPLC, *Performance Liquid Chromatography*; HOMA, *Homeostasis Model Assessment*.

## 1 Introdução

O número de pessoas portadoras de Diabetes Mellitus (DM) mais do que duplicou em todo o mundo ao longo das últimas três décadas, devido ao envelhecimento populacional, à urbanização e às mudanças de estilo de vida, principalmente associadas ao aumento da obesidade e do sedentarismo [1] [2]. Em 2010, um número estimado de 285 milhões de pessoas em todo o mundo eram portadores de DM, dos quais 90% apresentavam o DM tipo 2 [3]. Em 2013 este número aumentou para 382 milhões, havendo projeção para 592 milhões em 2035. O maior número de portadores da doença apresentam entre 40 e 59 anos de idade. Sendo estimado o número de 5,1 milhões de óbitos e gastos com saúde em torno de 548 milhões de dólares em todo o mundo, em 2013 [4].

O aumento da obesidade em todas as faixas etárias, que entre outros fatores reduz a sensibilidade à insulina, contribui para o aumento da prevalência de DM tipo 2 [5]. Estratégias visando uma dieta adequada e a promoção do exercício físico contribuem para a redução da prevalência da doença, além de serem fundamentais para o tratamento. Porém, perspectivas imediatas que objetivam modificar o ambiente para inverter os níveis de obesidade não são promissoras, já que são difíceis de serem implementadas e aderidas, por isso existe necessidade de considerar outras opções para a prevenção e o tratamento desta doença [6] [7]. Tem sido sugerido que o aumento da concentração de 25-Hidroxivitamina D (25(OH)D), indicador do estado nutricional da vitamina D, pode ser uma alternativa para a prevenção e para o tratamento do DM tipo 2 [7].

A vitamina D parece ter efeitos pleiotrópicos, que vão além do metabolismo do cálcio e da formação óssea, com possível papel na patogênese de diversas doenças, sendo encontrados receptores desta vitamina, *Vitamin D Receptor* (VDR), em diversos tecidos, incluindo o pâncreas [8]. A vitamina D pode ter efeito benéfico sobre a ação da insulina, diretamente, através da estimulação da expressão do receptor de insulina e, assim, melhora da capacidade de resposta à insulina para o transporte de glicose ou, indiretamente, através da regulação de cálcio extracelular, assegurando o normal influxo de cálcio, através das membranas celulares e adequado cálcio intracelular. O cálcio é essencial para os processos intracelulares mediados por insulina, em tecidos que respondem a este hormônio, assim alterações nas concentrações teciduais podem contribuir para a resistência periférica à insulina [9]. Estudos têm demonstrado relação inversa entre vitamina D e resistência à insulina [9] [10]. Alguns estudos têm verificado associação positiva entre a ingestão de vitamina D e a sensibilidade à insulina, independente da idade, da gordura corporal total e do consumo de energia [7] [11] [12].

Portanto, o objetivo deste trabalho foi de avaliar a associação entre a concentração sérica de 25(OH)D e o consumo de vitamina D com a resistência à ação da insulina em portadores de DM tipo 2.

## 2 Material e métodos

### 2.1 Desenho do estudo e participantes

Trata-se de um estudo transversal, realizado com portadores de DM tipo 2 atendidos no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), cidade de Florianópolis, Brasil.

A coleta de dados foi realizada com indivíduos em acompanhamento médico ou nutricional, no serviço ambulatorial do hospital, entre o período de agosto de 2013 e abril de 2014. O recrutamento ocorreu mediante convite oral ou telefônico. Foram incluídos no estudo pacientes com diagnóstico de DM tipo 2 [13], de ambos os sexos, idade entre 18 e 70 anos, até 6 anos de diagnóstico da doença, utilizando ou não hipoglicemiantes orais. Foram excluídos do estudo pacientes com incapacidade de entendimento e comunicação, complicações renais, hipoparatiroidismo ou hiperparatiroidismo, gestantes, nutrízes e indivíduos em uso de insulina atual, suplementos de vitamina D ou medicamentos que pudessem causar a depleção desta vitamina.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC, sob o protocolo CAAE - 13742913.0.0000.0121. Os pacientes foram esclarecidos sobre a pesquisa e, no caso de concordância, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, sendo incluídos no estudo.

## 2.2 Antropometria

O peso (kg) foi coletado através da balança Tanita TBF – 683W<sup>®</sup> (Tanita Corporation of America Inc<sup>®</sup>, Arlington Heights, Illinois, Estados Unidos da América) com capacidade máxima de 150 kg e sensibilidade de 0,1 kg. A estatura (m) foi mensurada, através de estadiômetro de marca Alturaexata<sup>®</sup> (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), que possui escala de precisão de 0,1 cm e capacidade de 0,35 a 2,13 m. A partir destes dados calculou-se o Índice de Massa Corporal (IMC) [14]. Avaliou-se ainda a medida da circunferência da cintura [15] e o percentual de gordura corporal, através de Impedância Bioelétrica, marca Tanita TBF – 683W<sup>®</sup> (Tanita Corporation of America Inc<sup>®</sup>, Arlington Heights, Illinois, Estados Unidos da América).

## 2.3 Consumo alimentar

Realizou-se dois recordatórios de 24 horas, um ocorreu no momento da coleta de dados e outro via telefone, durante a mesma semana. Os entrevistados foram orientados a relatar o máximo de

detalhes sobre o consumo alimentar do dia anterior, destacando horário, refeição, tipo de alimento, quantidade em medidas caseiras tanto para alimentos quanto para bebidas. Os alimentos e bebidas relatados em medidas caseiras foram convertidos em peso ou volume, por meio de uma tabela de equivalência de medidas caseiras [16]. Para a análise do consumo de vitamina D e de calorias utilizou-se uma tabela de composição de alimentos [17] e, caso algum alimento ou bebida não constasse nesta base de dados, foi utilizada uma segunda tabela [18].

Como ponto de corte para avaliação do consumo de vitamina D utilizou-se a *Estimated Average Requirement* (EAR) [19], sendo 400 UI para indivíduos de 19 a 70 anos [20]. Considerou-se a variabilidade intrapessoal e interpessoal, para a obtenção destes dados utilizou-se a análise de variância (ANOVA). A partir destes dados pode-se calcular a variância total e posteriormente, a média e o desvio padrão ajustados [19]. Posteriormente ao ajuste para variabilidade intra e interpessoal, realizou-se o ajuste para calorias, usando o método residual a fim de corrigir as estimativas de nutrientes pela ingestão de energia total [21]. As análises foram realizadas no programa estatístico STATA versão 11.0 (StataCorp, College Station, TX, EUA).

## 2.4 Análises bioquímicas

A coleta de sangue venoso ocorreu em até três semanas após a aplicação da coleta de dados, considerando a meia vida da 25(OH)D. Coletou-se 10mL de sangue, que foi distribuído em tubos distintos, contendo EDTA (sistema Vacutainer<sup>®</sup> BD Biosciences - Abingdon, UK) para dosagem de hemoglobina glicada e gel separador (sistema Vacutainer<sup>®</sup> BD Biosciences - Abingdon, UK), para análise de 25(OH)D, glicose e insulina. Os tubos foram centrifugados a 4400 rpm por 10 minutos para a separação do plasma. As coletas foram realizadas pela manhã, após um período de jejum de 12 horas.

Para determinação dos níveis de glicemia em jejum utilizou-se o kit *Dimension*<sup>®</sup> (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, Estado Unidos da América), que utiliza o método GLUC, uma adaptação do método da hexoquinase-glicose-6-fosfato desidrogenase. O instrumento calcula e imprime automaticamente a concentração de glicose em mg/dL. A dosagem de insulina foi realizada utilizando o kit *Immulite 2000 systems*<sup>®</sup> (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, Estado Unidos da América), que é um ensaio imunométrico por quimioluminescência com enzima marcada em fase sólida, a unidade de medida utilizada é a uUI/mL. Para dosagem da hemoglobina glicada foi

utilizado o teste e equipamento *D-10 Hemoglobin A<sub>1c</sub>* da BIO-RAD® (Bio-Rad Laboratories, Estados Unidos da América), que baseia-se nos princípios da *High Performance Liquide Chromatography* (HPLC). A hemoglobina glicada é descrita em percentual (%).

## 2.5 HOMA

Para análise de resistência à insulina utilizou-se o método de *Homeostasis Model Assessment* (HOMA) [22], a partir das concentrações de insulina e glicose em jejum. HOMA é calculado através de:  $[\text{insulina } (\mu\text{IU/mL}) * \text{glicose (mmol/L)}] / 22,5$ .

## 2.6 25(OH)D e fatores determinantes

A determinação de 25(OH)D foi realizada segundo o método de quimioluminescência, através do equipamento *Architect System*® (Abbott, Illinois, Estados Unidos da América). A unidade de resultado padrão do ensaio *Architect 25-OH Vitamin D*® é ng/mL.

Além da concentração de 25(OH)D foram coletados dados relacionados à exposição ao ar livre, como média de tempo diário ao ar livre entre o nascer e o pôr do sol [23], categorizada em <60 minutos ou ≥ 60 minutos por dia e estação do ano da coleta de dados, categorizada em primavera e verão ou outono e inverno.

## 2.7 Outras variáveis

Utilizou-se um questionário para a coleta de dados pessoais, sócio demográficos, antropométricos e clínicos. Foram coletados dados relacionados a frequência e ao tempo da prática de exercício físico, indivíduos que praticavam 150 minutos ou mais de exercício físico semanal foram classificados como ativos [24]. O tabagismo foi categorizado em fumantes ou ex fumantes e não fumantes. Quanto ao uso de hipoglicemiantes orais, categorizou-se como sim e não. A cor de pele foi categorizada em cor branca ou não branca. Para avaliar o nível socioeconômico adotou-se como metodologia o Critério de Classificação Econômica Brasil da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa [25]. Para cada item do questionário, o participante recebeu uma pontuação, a partir do somatório dos pontos obtidos classificou-se em uma das oito categorias de classes sociais. A fim de caracterizar a população estudada, as oito categorias de classes sociais foram

subdivididas em dois grupos: A B e C D E. O estado civil foi categorizado em solteiro, casado, divorciado, viúvo e amasiado.

## 2.8 Análise estatística

Os dados foram coletados, organizados e registrados no programa Microsoft Office Excel 2010<sup>®</sup> (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA) e posteriormente transferidos, mediante o software STAT-TRANSFER<sup>®</sup> (Circle Systems, Seattle, WA, EUA), para posterior análise estatística no programa estatístico STATA<sup>®</sup> versão 11.0 para Windows (StataCorp, College Station, TX, EUA).

Consideraram-se como variáveis dependentes HOMA, glicose em jejum, insulina em jejum e hemoglobina glicada e como variáveis independentes consumo de vitamina D e concentração de 25(OH)D. Adicionalmente, foi avaliado se o consumo de vitamina D esteve relacionado com a concentração de 25(OH)D.

Previamente a análise estatística, foram aplicados testes de normalidade dos dados e de homogeneidade das variâncias. As variáveis contínuas foram expressas em média e desvio padrão da média, quando distribuição simétrica ou mediana e intervalo interquartil, quando distribuição assimétrica. As variáveis categóricas foram descritas em categorias de frequência e intervalo de confiança 95%. Embora tenha sido coletado os dados de todos os indivíduos portadores de DM tipo 2 elegíveis para o estudo, utilizou-se o intervalo de confiança 95% para ser possível a extrapolação dos dados para anos posteriores.

Para as análises de associação foram utilizadas correlações de Pearson e regressão linear simples. Para as análises de diferença de médias, foi utilizado Teste T. As variáveis assimétricas foram normalizadas, utilizando logaritmo natural ou inverso, para que pudessem ser usados testes paramétricos na análise de associação. Para todos os testes, adotou-se o nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ).

Avaliou-se a presença de modificação de efeito para sexo na análise de associação entre 25 (OH)D e o HOMA e entre o consumo alimentar de vitamina D e o HOMA, embora normalmente se utilize o valor  $p < 0,1$ , considerou-se evidência positiva de modificação de efeito o valor  $p < 0,2$  [26].

## 3 Resultados

De todos os pacientes convidados para participar do estudo, um total de 29 preencheram os critérios de inclusão e foram recrutados, sendo a maioria do sexo feminino (82,8%), com idade média de  $58,6 \pm 6,6$  anos e tempo de diagnóstico do DM tipo 2 de 3 (1;5) anos. A maior parte dos participantes apresentou escolaridade entre 0 e 8 anos (69%) e classe econômica mais baixa (58,6%). Algumas características que podem influenciar nas concentrações de 25(OH)D foram coletadas, observou-se maior predomínio de participantes de pele branca (86,2%), com tempo diário de exposição ao ar livre superior a 60 minutos (62,1%) e com consumo alimentar diário de vitamina D de 3,9 (3,3; 5,2) mcg ou 156 UI. Salienta-se que na maior parte dos indivíduos a coleta de dados ocorreu nas estações do ano de verão e primavera. A concentração média de 25(OH)D foi de  $32,5 \pm 7,9$  ng/mL, não houve diferença estatisticamente significativa ( $p=0,475$ ) entre a média de concentração sérica de 25(OH)D no outono/inverno e primavera/verão,  $34,6 \pm 3,2$  e  $32 \pm 1,7$  ng/mL, respectivamente. Da mesma forma, a média de 25(OH)D não diferiu estatisticamente ( $p=0,733$ ) entre o tempo diário de exposição ao ar livre menor ( $31,9 \pm 2,6$ ) ou maior ( $32,9 \pm 1,8$ ) que 60 minutos. A média de peso foi de  $78,1 \pm 18$  kg e de IMC  $31,0 \pm 6,8$  kg/m<sup>2</sup>, indicando uma população com características de sobrepeso e obesidade. Corroborando com estes resultados, a média de circunferência da cintura foi de  $100,4 \pm 14,8$  cm e de percentual de gordura de  $36 \pm 8,1$ %. A maior parte dos participantes (72,4%) eram sedentários, pois apresentavam um tempo semanal de exercício físico inferior a 150 minutos. Quanto as variáveis bioquímicas, a média de glicemia em jejum foi de  $133,2 \pm 40,4$  mg/dL, a mediana de insulinemia em jejum de 12,3 (7,9;17,2) uU/mL e a média de hemoglobina glicada de  $6,8 \pm 1,3$ %. A média de HOMA, que define a sensibilidade à insulina, foi de  $4,2 \pm 2,2$  (Tabela 1).

A concentrações de 25(OH)D e o consumo de vitamina D foram correlacionadas com variáveis bioquímicas e com a resistência à insulina, calculada pelo HOMA (Tabela 2). A análise de regressão linear simples não apresentou associações significativas entre as variáveis, exceto entre o consumo de vitamina D e a hemoglobina glicada. Não houve correlação entre a concentração de 25(OH)D e a glicose em jejum ( $r=-0,21$ ;  $p=0,268$ ), o consumo de vitamina D e a insulina em jejum ( $r=-0,17$ ;  $p=0,377$ ), a concentração de 25(OH)D e a hemoglobina glicada ( $r=-0,16$ ;  $p=0,396$ ), o consumo de vitamina D e a glicose em jejum ( $r=0,32$ ;  $p=0,008$ ) e entre a concentração de 25(OH)D e a insulina em jejum ( $r=0,00$ ;  $p=0,975$ ). Houve correlação positiva média significativa entre o consumo de vitamina D e hemoglobina glicada ( $r=0,58$ ;



$p=0,001$ ). O consumo de vitamina D não esteve associado com as concentrações de 25(OH)D ( $p=0,972$ ).

Quanto ao desfecho principal, a resistência à insulina, não se verificou correlação entre a concentração de 25(OH)D e o HOMA ( $r=-0,22$ ;  $p=0,248$ ) e entre o consumo de vitamina D e o HOMA ( $r=-0,01$ ;  $p=0,956$ ). Porém, observou-se que o sexo exerce modificação de efeito sobre a associação entre 25(OH)D e HOMA ( $p=0,096$ ) (Gráfico 1) e entre consumo alimentar de vitamina D e HOMA ( $p=0,163$ ) (Gráfico 2). Na análise de associação entre 25(OH)D e HOMA, os homens apresentaram resultado positivo ( $r=0,53$ ;  $p=0,357$ ), não significativa. Por outro lado, as mulheres apresentaram resultado negativo ( $r=-0,38$ ;  $p=0,070$ ), não significativo. Da mesma forma, na análise de associação entre consumo de vitamina D e HOMA, os homens apresentaram resultado positivo ( $r=0,66$ ;  $p=0,227$ ), enquanto que as mulheres apresentaram resultado negativo ( $r=-0,08$ ;  $p=0,724$ ).

#### 4 Discussão

Observamos um baixo consumo de vitamina D através da alimentação e uma concentração suficiente de 25(OH)D na população estudada. Além disso, houve uma correlação média significativa entre o consumo de vitamina D e a hemoglobina glicada. Não houve associação significativa entre o consumo de vitamina D com a glicose em jejum e insulina em jejum, no mesmo sentido, não houve associação entre a concentração de 25(OH)D e a glicose em jejum, insulina em jejum e hemoglobina glicada. Não foi encontrada correlação entre o HOMA com a concentração de 25(OH)D, porém, ao avaliarmos essa correlação de acordo com o sexo, pudemos perceber que há um resultado positivo entre 25(OH)D e HOMA, em homens, enquanto há um resultado negativo em mulheres. Da mesma forma, o sexo foi modificador de efeito na análise de associação entre o consumo de vitamina D e o HOMA.

A mediana de ingestão diária de vitamina D nos participantes deste estudo atingiu 3,9 mcg ou 156 UI. De acordo com valores estabelecidos para a EAR, de 10 mcg ou 400UI por dia [20], verifica-se que houve uma insuficiente ingestão desta vitamina. Em geral, as fontes de vitamina D são limitadas, o que pode explicar tal resultado, os principais alimentos que contém esta vitamina são peixes, que incluem o salmão, cavala e arenque, óleo de fígado de bacalhau, cogumelos, ovos, além de leites e derivados, especialmente quando fortificados [27]. Tem sido sugerido que estes valores recomendados para vitamina D sejam

ainda insuficientes, e esta dose diária atenderia somente 40% das necessidades totais. Foi proposta a recomendação diária de 1000 UI no intuito de manter a concentração sérica de 25(OH)D  $\geq 30$  ng/mL, o qual tem sido considerado o valor ideal e seguro [28]. A média de concentração de 25(OH)D em nosso estudo foi de  $32,5 \pm 7,9$  ng/mL, segundo alguns trabalhos as concentrações mais vantajosas para os efeitos extra ósseos desta vitamina iniciam a partir de 30 ng/mL e os melhores resultados são encontrados a partir de 36 a 40 ng/mL [29]. As concentrações normais de 25(OH)D incluem valores entre 32 a 100 ng/mL, um nível ideal ainda não foi determinado e possivelmente, pode diferir de acordo com os processos fisiológicos [30]. Além disso, em nosso estudo o consumo de vitamina D não esteve associado a concentração de 25(OH)D, mesmo diante do baixo consumo de vitamina D a concentração de 25(OH)D prevaleceu normal, tal fato pode ser explicado pela estimativa de que cerca de 80 a 90% da vitamina D corporal seja obtida pela síntese cutânea, e o restante pela ingestão alimentar [31]. Da mesma forma, com o objetivo de avaliar se o consumo alimentar de vitamina D está associado com a concentração de 25(OH)D, pesquisadores avaliaram 140 idosos alemães, com 60 anos ou mais e observaram consumo alimentar médio diário de 3 mcg e média de concentração de 25(OH)D de 25,7 ng/mL, corroborando com os resultados do nosso estudo, não houve associação entre as variáveis estudadas [32].

No presente estudo, o consumo alimentar de vitamina D esteve associado significativamente com a hemoglobina glicada, mostrando que um maior consumo de vitamina D está relacionado com um menor controle glicêmico. Embora tenha sido encontrado uma correlação positiva entre as duas variáveis, demais estudos tem mostrado resultados inversos ou nulos. Uma correlação negativa ( $r = -0,29$ ;  $p < 0,01$ ) foi encontrada em um estudo realizado com adolescentes entre 10 e 18 anos, portadores de DM do tipo 1 e 2, em uso de insulina, com uma média de 4,6 anos de diagnóstico da doença e uma média diária de ingestão de vitamina D, avaliada através de um recordatório de 24 horas, de  $102 \pm 64,4$  UI [33]. Segundo uma meta-análise, após a suplementação de vitamina D, em pacientes com intolerância à glicose ou DM, não houve redução da hemoglobina glicada, em comparação ao placebo, da mesma forma, não houve redução da glicemia em jejum de indivíduos com valores basais normais, porém, houve uma pequena, mas significativa redução, naqueles com intolerância à glicose [34]. Além disso, estudos prospectivos que testaram a associação entre o consumo alimentar de vitamina D e o risco de desenvolvimento de DM tipo 2,

verificaram que há ausência de associação significativa entre as variáveis [35].

A média de HOMA dos participantes deste estudo foi de  $4,2 \pm 2,2$ , valores acima de 2,71 indicam um quadro de resistência à insulina [22]. Em nosso estudo, a 25(OH)D e o consumo de vitamina D, não estiveram associados ao HOMA, porém, verificou-se uma modificação de efeito em ambas as associações, de acordo com o sexo. Em um estudo transversal, com 1538 indivíduos, que avaliou a associação entre a concentração de 25(OH)D e diversos parâmetros bioquímicos segundo o sexo, observou-se associações inversas fortes entre 25(OH)D e o DM tipo 2, insulina plasmática e o HOMA, apenas em mulheres, enquanto que nenhuma ou apenas associações modestas foram observadas em homens. Além disso, apenas em mulheres as concentrações de 25(OH)D menores que 15 ng/mL foram relacionadas de forma independente ao diagnóstico recente de DM tipo 2 [36]. É importante destacar que em nosso estudo, houve um resultado negativo entre o consumo alimentar de vitamina D e a concentração de 25(OH)D com o HOMA, apenas em mulheres. Os dados disponíveis não permitem conclusões definitivas sobre a diferença dos gêneros na análise, no entanto, há evidências de que interações entre hormônios esteroides e 25(OH)D, podem ser relevantes. Tem sido sugerido que os estrógenos podem aumentar a quantidade desta vitamina na concentração celular, juntamente com o seu receptor nuclear em células epiteliais do cólon, aumentando a eficácia biológica da vitamina D e, possivelmente, reduzindo a taxa de câncer de cólon em mulheres em terapia de reposição hormonal [37]. Ao avaliarem 1408 pacientes chineses portadores de DM tipo 2, verificou-se diferença significativa entre as médias de hemoglobina glicada ( $p=0,01$ ) e glicose em jejum ( $p=0,01$ ) de indivíduos com concentração de 25(OH)D  $<20$  ng/mL quando comparados com  $\geq 20$  ng/mL, enquanto que a insulina em jejum e o HOMA não mostraram diferenças estatisticamente significativas [38]. Estudos observacionais e randomizados sobre a concentração ou ingestão de vitamina D e os efeitos no DM tipo 2 têm sido contraditórios, em geral sugere-se que a hipovitaminose D esteja associada com a diminuição da secreção de insulina e aumento da resistência à insulina, além disso, a concentração mais elevada e maior consumo de vitamina D parece estar associada com menor risco de desenvolvimento de DM tipo 2 [39].

Vários estudos sustentam que a suplementação de vitamina D pode afetar a homeostase da glicose ou melhorar a resistência à insulina [8]. A suplementação de 4000UI de vitamina D por 6 meses foi eficaz em mulheres resistentes à insulina, melhorando a sensibilidade à

insulina. Tal resultado foi encontrado quando os níveis de 25(OH)D alcançaram valores superiores à 32 ng/mL [40]. Além disso, uma intervenção de 50000 UI de vitamina D3 por semana durante 8 semanas, em portadores de DM tipo 2, foi capaz de reduzir a glicose e insulina em jejum, além da resistência à insulina, avaliada pelo método de HOMA [41].

O potencial efeito da vitamina D sobre a glicemia parece ser mediado por efeitos diretos e indiretos na secreção da insulina, sensibilidade à insulina e inflamação sistêmica [42]. Um efeito direto da vitamina D sobre a secreção da insulina pode ser mediado pela ativação de receptores de vitamina D nas células  $\beta$  pancreáticas. Além disso, a síntese de insulina é sustentada pela presença de um elemento de resposta de vitamina D no promotor do gene de insulina humana [43] [44]. As células  $\beta$  pancreáticas são capazes de gerar 1,25(OH)<sub>2</sub>D, o que permite efeito parácrino da vitamina D. Um efeito direto da vitamina D na sensibilidade à insulina pode ser mediado pela estimulação da expressão de receptores de insulina nas células. Além disso, a insuficiência de vitamina D está associada com o aumento de gordura corporal, o que pode contribuir para a redução da ação da insulina. A vitamina D pode reduzir os efeitos da inflamação sistêmica, importante na patogênese do DM tipo 2, modulando a expressão e atividade de citocinas e imuno-moduladores. Como a secreção e a sensibilidade à insulina são cálcio dependentes, a vitamina D pode afetar ambos os caminhos indiretamente, através da alteração da concentração de cálcio [42] [9].

No entanto, nosso estudo também teve algumas limitações. Nossas associações foram obtidas através de análise transversal, devido a isso, não podemos excluir completamente a possibilidade de causalidade reversa. O número de participantes elegíveis ao estudo foi relativamente baixo, porém, somente desta forma foi capaz de se obter uma população comparável. Fortalecendo nosso trabalho, obtivemos dados de consumo alimentar de vitamina e exposição ao ar livre, ambos fatores associados às concentrações de 25(OH)D. Além disso, nosso estudo verificou uma modificação de efeito para sexo, na análise de associação entre 25(OH)D e consumo de vitamina D com o HOMA.

Em conclusão, nosso estudo não apresentou associação entre 25(OH)D e consumo de vitamina D com variáveis biológicas de glicose e insulina em jejum e hemoglobina glicada, porém observamos uma modificação de efeito para sexo nas análises de associação entre 25(OH)D e HOMA e entre consumo alimentar de vitamina D e HOMA

na população estudada, onde houve resultado positivo em homens e negativo em mulheres, porém, não houve significância estatística.

#### Contribuições dos autores

CR coletou, analisou os dados e elaborou o manuscrito. SMMB foi responsável pelo desenho do estudo, contribuiu para a discussão e revisou o manuscrito.

#### Financiamento

Esta pesquisa não recebeu qualquer subsídio a partir de qualquer agência de financiamento do setor público, privado ou de instituições sem fins lucrativos.

#### Conflito de interesse

Os autores declaram que não há conflito de interesse.

#### Agradecimentos

Agradecemos aos funcionários do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e todos que contribuíram para esta pesquisa.

#### Referências

[1] Chen L.; Magliano D.J.; Zimmet P.Z. **The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus—present and future perspectives.** *Nat Rev Endocrinol.* 2011; 8: 228-236.

[2] Wild, S.; Roglic, G.; Green, A.; Sicree, R.; King, H. **Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030.** *Diabetes Care.* 2004; 27: 1047-1053.

[3] Shaw, J.E.; Sicree, R.A.; Zimmet, P.Z. **Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030.** *Diabetes Res Clin Pract.* 2010; 87: 4-14.

[4] International Diabetes Federation. **IDF Diabetes Atlas – Sixth edition.** 2013. Disponível em: < <http://www.idf.org/diabetesatlas>>. Acesso em 20 maio. 2014.

- [5] Rosenbloom, A.; Joe, J.; Young, R.; Winter, W. **Emerging epidemic of type 2 diabetes in youth.** *Diabetes Care.* 1999; 22: 345-354.
- [6] Sragg, R. **Vitamin D and Type 2 Diabetes: Are we ready for a prevention trial?** *Diabetes.* 2008; 57: 2565-2566.
- [7] Forouhi, N.G.; Luan, J.; Cooper, A.; Boucher, B.J.; Wareham, N.J. **Baseline serum 25-hydroxy vitamin D is predictive of future glycemic status and insulin resistance. The medical research council ely prospective study 1990-2000.** *Diabetes.* 2008; 57: 2619-2625.
- [8] Sung, C.; Liao, M.; Lu, K.; Wu, C. **Role of vitamin D in insulin resistance.** *J Biomed and Biotechnol.* 2012; 2012:1-11.
- [9] Pittas, A.G.; Lau, J.; Hu, F.B.; Dawson-Hughes, B. **The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis.** *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 2017-2029.
- [10] Schuch, N.J; Garcia, V.C; Martin, L.A. **Vitamina D e doenças endocrinometabólicas.** *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2009; 53: 625-633.
- [11] Liu, E.; Meigs, J.; Pittas, A.; Mckeown, N. Economos, C.; Booth, S. Jacques, P. **Plasma 25-Hydroxyvitamin D Is Associated with Markers of the Insulin Resistant Phenotype in Nondiabetic Adults.** *J Nutr.* 2009; 139: 329-334.
- [12] Alvarez, J.A.; Bush, N.C.; Choquette, S.S.; Hunter, G.R.; Darnell, B.E.; Oster, R.A.; Gower, B. **Vitamin D intake is associated with insulin sensitivity in African American, but not European American, women.** *Nutr Metab (Lond).* 2010; 28: 1-7.
- [13] American Diabetes Association. **Standards of Medical Care in Diabetes – 2014.** *Diabetes Care.* 2014; 37: 14-80.
- [14] World Health Organization. **Expert committee on physical status: the use and interpretation of anthropometry.** Physical status: the use and interpretation of anthropometry: report of a WHO expert committee. Geneva: 1995.

[15] World Health Organization. **Measuring obesity – Classification and description of anthropometric data.** Geneva: 1987.

[16] Pinheiro, A.V.B.; Lacerda, E.M.A.; Benzecry, E.H.; Gomes, M.C.S.; Costa, V.M. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras.** 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2002.

[17] Philippi, S.T. **Tabela de composição de Alimentos: suporte para decisão nutricional.** 2 ed. São Paulo: Coronario; 2002.

[18] United States Department of Agriculture (USDA). **Nutrient Database for standard Reference.** 2001. Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/>>. Acesso em 10 de abril de 2014.

[19] Institute Of Medicine. **Dietary Reference intake: application in Dietary Assessment.** Washington (DC): National Academic Press; 2001.

[20] Institute Of Medicine. **Dietary Reference Intakes for calcio and vitamin D.** Washington (DC): National Academic Press; 2011.

[21] Willett W.C., Howe G.R., Kushi L.W. **Adjustmentfor total energyintakein epidemiologic studies.** *Am J Clin Nutr.* 1997; 65: 1220-1228.

[22] Matthews Dr, Hosker Jp, Rudenski As, Naylor Ba, Treacher Df, Turner Rc. **Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man.** *Diabetologia.* 1985; 28: 412-419.

[23] Mccarty, C. **Sunlight exposure assessment: can we accurately assess vitamin D exposure from sunlight questionnaires?** *Am J Clin Nutr.* 2008; 87: 1997-1101.

[24] World Health Organization. **Global recommendations on physical activity for health.** 2010

[25] Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa . **Critério de classificação econômica Brasil.** Disponível em: <<http://www.abep.org/novo/Content.aspx?ContentID=301>>. Acesso em: 10 dez. 2012.

- [26] Fletcher, J. **What is heterogeneity and is it important?** *B M J.* 2007; 334: 94-96.
- [27] Holick, M. F. **Vitamin D: Extraskelatal health.** *Endocrinol Metab Clin North Am.*2010; 39: 2010.
- [28] Heaney, R.; Holick, M. **Why the IOM recommendations for vitamin D are deficient.** *J Bone Miner Res.* 2011; 26: 455-457.
- [29] Bischoff-Ferrari, H.A.; Giovannucci, E.; Willet, W.C.; Dietrich, T.; Dawson-Hughes, B. **Estimation of optimal sérum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes.** *Am J Clin Nutr.* 2006; 84: 18-28.
- [30] Hollis, M.F. **Assessment of vitamin D status and definition of a normal circulating range of 25-hydroxyvitamin D.** *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2008; 15: 489-494.
- [31] Holick, M.F. **Vitamin D: physiology, molecular biology, and clinical applications.** 1 ed. Totowa: Humana; 1999.
- [32] Jungert, A.; Neuhauser-Bethold, M. **Dietary vitamin D intake is not associated with 25-hydroxyvitamin D3 or parathyroid hormone in elderly subjects, whereas the calcium-to-phosphate ratio affects parathyroid hormone.** *Nutr Res.* 2013; 33: 661-667.
- [33] Janisse, H. C.; Cakan, N.; Ellis, D.; Brogan, K. **Dietary vitamin D intake among high risk adolescents with insulin dependent diabetes.** *Diabetes Educ.* 2011; 37: 222-226.
- [34] George, P.S.; Pearson, E.R.; Witham, M.D. **Effect of vitamin D supplementation on glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis.** *Diabet Med.* 2012; 29: 142-150.
- [35] Li-Min, Z.; Xiao-Qin, T.; Jia-Pu, G.; Yan-Cheng, X. **Vitamin D intake and type 2 diabetes risk: a meta-analysis of prospective cohort studies.** *Afr Health Sci.* 2013; 13: 1130-1138.
- [36] Stadlmayr, A.; Aigner, E.; Huber-Schonauer, D.; Niederseer, D.; Zwerina, J.; Husar-Memmer, E.; et al. **Relations of vitamin D status,**



**gender and type 2 diabetes in middle-aged caucasians.** *Acta Diabetol.* 2014.

[37] Barzi, A.; Lenz, A.M.; Labonte, M.J., Lenz, H.J. **Molecular pathways: estrogen pathway in colorectal cancer.** *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2013; 21: 5842–5848.

[38] Cai, X.; Hu, Z.; Chen, L.; Han, X. Ji, L. **Analysis of the associations between vitamin D and albuminuria or  $\beta$ -cell function in chinese type 2 diabetes.** *Biomed Res Int.* 2014; 1-5.

[39] Afzal, S.; Bojesen, S.E.; Nordestgaard, G. **Low 25-Hydroxyvitamin D and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study and metaanalysis.** *Clin Chem.* 2013; 59: 381-391.

[40] Hurst, P.R.; Welma, S.; Coad, J. **Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient – a randomised, placebo-controlled trial.** *Brit J Nut.* 2010; 103: 549-555.

[41] Talaei, A.; Mohamadi, M.; Adgi, Z. **The effect of vitamin D on insulin resistance in patients with type 2 diabetes.** *Diabetol Metab Syndr.* 2013; v.5.

[42] Muscogiuri, G.; Mitri, J.; Chantal, M.; Klaus, B.; Gonca, T.; Orio, F. et al. **Vitamin D as a potencial contributor in endocrine health and disease.** *Eur J Endocrinol.* 2014; 140-158.

[43] Zeitz, U.; Weber, K.; Soegiarto, D.W.; Wolf, E.; Balling, R.; Erben, R.G. **Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor.** *Faseb J.* 2003; 17: 509-511.

[43] Maestro, B.; Davila, N.; Carranza, M.C.; Calle, C. **Identification of a Vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter.** *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2003;84: 223-230.

Tabela 1. Caracterização da amostra. Portadores de Diabetes Mellitus do tipo 2, atendidos no ambulatório do Hospital Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis. (n=29) (continua)

<b>Variáveis</b>	<b>%</b>	<b>IC95%</b>
<b>Sexo</b>		
Feminino	82,8	68,1;97,4
<b>Idade (anos)<sup>a</sup></b>	58,6±6,6	56,1; 61,2
<b>Escolaridade</b>		
0 – 8 anos	69,0	51,1;86,9
9 – 11 anos	17,2	2,6;31,9
≥12 anos	13,8	0,4;27,1
<b>Cor da pele</b>		
Branca	86,2	72,9;99,6
<b>Classe econômica</b>		
C - E	58,6	39,6;77,7
<b>Estado Civil</b>		
Solteiro	17,2	2,6;31,9
Casado	65,5	47,1;83,9
Divorciado	6,9	0,0;16,7
Viúvo	10,3	0,0;22,1
<b>Estação do ano da coleta dos dados</b>		
Verão/Primavera	79,3	63,6;95,0
<b>Tempo de diagnóstico do diabetes mellitus tipo 2 (anos)<sup>b</sup></b>	3 (1;5)	-
<b>Uso de hipoglicemiantes orais</b>		
Sim	89,7	77,9;101,4
<b>Tabagismo</b>		
Não fumante	93,1	83,3;102,9
<b>Peso (kg)<sup>a</sup></b>	78,1±18,0	71,3; 84,9
<b>Índice de Massa Corporal (kg/m<sup>2</sup>)<sup>a</sup></b>	31,0±6,8	28,4; 33,5

<b>Percentual de Gordura (%)<sup>a</sup></b>	36,0±8,1	33,0; 39,1
<b>Circunferência da Cintura (cm)<sup>a</sup></b>	100,4±14,8	94,8; 106,0
<b>Tempo diário gasto ao ar livre</b>		
≥ 60 minutos	62,1	43,3;80,9
<b>Exercício físico</b>		
Não ativo (<150 minutos)	72,4	51,1;89,7
<b>Consumo alimentar de vitamina D (mcg)<sup>b c d</sup></b>	3,8 (3,2; 4,6)	-

Tabela 1. Caracterização da amostra. Portadores de Diabetes Mellitus do tipo 2, atendidos no ambulatório do Hospital Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis. (n=29) (conclusão)

<b>Variáveis</b>	<b>%</b>	<b>IC95%</b>
<b>Glicose em jejum (mg/dL)<sup>a</sup></b>	133,2±40,4	117,8; 148,6
<b>Insulina em jejum (uU/mL)<sup>b</sup></b>	12,3 (7,9;17,2)	-
<b>Hemoglobina glicada (%)<sup>a</sup></b>	6,8 (1,3)	6,3;7,3
<b>Concentração sérica de 25 hidroxivitamina D3 (ng/dL)<sup>a</sup></b>	32,5 (7,9)	29,5;35,5
<b>HOMA<sup>a</sup></b>	4,2 (2,2)	3,3;5,0

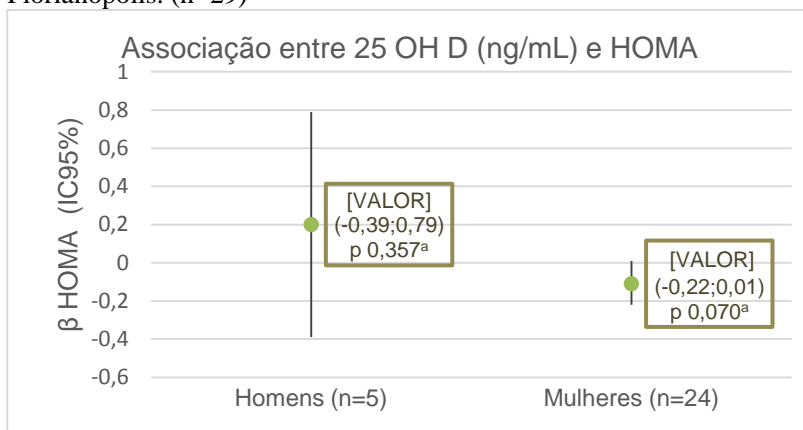
%: prevalência; IC95%: Intervalo de Confiança 95%; <sup>a</sup> Média e Desvio Padrão; <sup>b</sup> Mediana e Intervalo Interquartil; <sup>c</sup> Ajustado para a variabilidade intraindividual e interindividual; <sup>d</sup> Variável com dois valores ignorados.

Tabela 2. Análise da associação entre a concentração sérica de 25 hidroxivitamina D3 e o consumo alimentar de vitamina D com variáveis biológicas de portadores de Diabetes Mellitus do tipo 2, atendidos no ambulatório do Hospital Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis. (n=29)

Variáveis de desfecho	Variáveis de exposição					
	25 OH D (ng/mL)			Consumo alimentar de vitamina D (mcg) <sup>ab</sup>		
	r <sup>2</sup> %	β(IC95%)	Valor p <sup>c</sup>	r <sup>2</sup> %	β(IC95%)	Valor p <sup>c</sup>
<b>HOMA</b>	4,9	-0,06 (-0,17;0,46)	0,248	0,01	-0,25 (-9,3;8,8)	0,956
<b>Glicose em jejum (mg/dL)</b>	4,5	-1,09 (-3,06;0,88)	0,268	10,4	133,6 (-21,4;288,6)	0,088
<b>Insulina em jejum (uU/mL)<sup>d</sup></b>	0,0	0,004 (-0,03;0,03)	0,975	2,9	-0,97 (-3,2;1,2)	0,377
<b>Hb A1c (%)</b>	2,7	-0,03 (-0,09;0,04)	0,396	33,5	7,79 (3,5;12,1)	0,001
<b>25 OH D (ng/mL)</b>	-	-	-	0,0	-0,54 (-32,6;31,5)	0,972

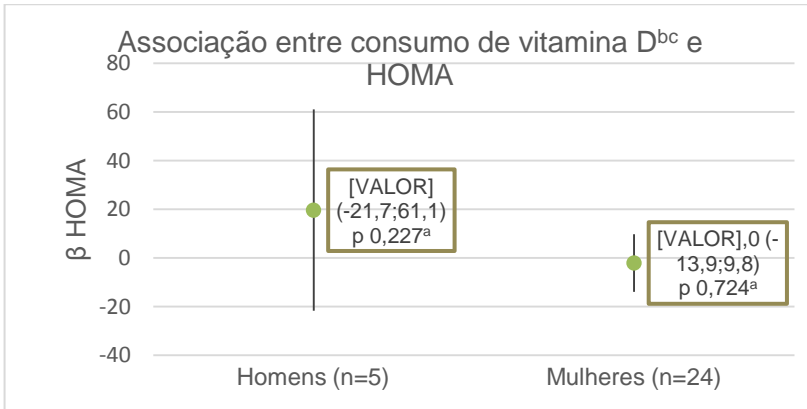
<sup>a</sup> Variável com dois dados ignorados; <sup>b</sup> Inverso ; <sup>c</sup> Teste de Wald; <sup>d</sup> Logaritmo Natural; r<sup>2</sup>: coeficiente de determinação; β: coeficiente de regressão; IC95%: intervalo de confiança de 95%; Hb A1c: Hemoglobina Glicada.

Gráfico 1. Associação entre a concentração de 25 hidroxivitamina D3 e o HOMA de portadores de Diabetes Mellitus do tipo 2 segundo o sexo, atendidos no ambulatório do Hospital Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis. (n=29)



<sup>a</sup>Teste de Wald; β: coeficiente de regressão; IC95%: Intervalo de Confiança de 95%

Gráfico 2. Associação entre o consumo de vitamina D e o HOMA de portadores de diabetes mellitus do tipo 2 segundo o sexo, atendidos no ambulatório universitário do Hospital Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis. (n=29)



<sup>a</sup> Teste de Wald; <sup>b</sup> Inverso; <sup>c</sup> Variável com dois dados ignorados;  $\beta$ : coeficiente de regressão; IC95%: intervalo de confiança de 95%

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente dissertação teve como objetivo avaliar a associação entre as concentrações séricas de 25(OH)D e o consumo alimentar de vitamina D com a resistência à ação da insulina, avaliada pelo HOMA, em portadores de DM tipo 2.

A média de concentração sérica de 25(OH)D na população estudada encontrava-se suficiente, de acordo com a literatura, já o consumo alimentar de vitamina D estava abaixo da EAR proposta. De qualquer forma, o consumo alimentar de vitamina D não foi associado com a concentração de 25(OH)D. Além disso, não houve diferença de média de 25(OH)D em indivíduos com tempo diário gasto ao ar livre superior a 60 minutos.

O consumo alimentar de vitamina D não esteve associado significativamente com glicemia e insulinemia em jejum, porém, houve uma associação significativa com a hemoglobina glicada, apesar de outros estudos mostrarem resultados inversos ou nulos. A 25(OH)D não apresentou correlação significativa com glicemia e insulinemia em jejum e hemoglobina glicada.

O consumo alimentar de vitamina D e 25(OH)D não estiveram associados significativamente com o HOMA, porém, observou-se que o sexo exerce modificação de efeito em ambas as análises, os homens apresentam resultado positivo enquanto que as mulheres negativo, no entanto, estas associações não foram estatisticamente significativas.

Considerando os resultados deste trabalho, sugere-se estudos adicionais para verificar os efeitos da vitamina D em doenças crônicas, especialmente no DM tipo 2, uma vez que os resultados de diferentes trabalhos são inconclusivos e contraditórios.



## REFERÊNCIAS

AFZAL, S.; BOJESEN, S.E.; NORDESTGAARD, G. Low 25-Hydroxyvitamin D and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study and metaanalysis. **Clinical Chemistry**. v.59, p. 381-391, 2013.

ALVAREZ, J.A.; ASHRAF, A. Role of vitamin D in insulin secretion and insulin sensitivity for glucose homeostasis. **International Journal of Endocrinology**. v. 2010. p. 1-18, 2010.

ALVAREZ, J.A.; BUSH, N.C.; CHOQUETTE, S.S.; HUNTER, G.R.; DARNELL, B.E.; OSTER, R.A.; GOWER, B. Vitamin D intake is associated with insulin sensitivity in African American, but not European American, women. **Nutrition & Metabolism**, v.28, n.7, p.1-7, 2010.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care in Diabetes – 2014. **Diabetes Care**, v.37, p. 14-80. 2014.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Evidence-based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications. **Diabetes Care**. v.25, n. 1, p.202-212, 2002.

ANDERSON, J.; RANDLES, K.; KENDALL, C. JENKINS, D. Carbohydrate and Fiber Recommendations for Individuals with Diabetes: A Quantitative Assessment and Meta-Analysis of the Evidence. **Journal of the American College of Nutrition**. v. 23, n. 1, p.5–17, 2004.

**ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA** . 2012. Critério de classificação econômica Brasil. Disponível em: <<http://www.abep.org/novo/Content.aspx?ContentID=301>>. Acesso em: 10 dez. 2012.

AYESHA, I.; BALA, T.S.; REDDY, C.V.; RAGHURAMULU, N. Vitamin D deficiency reduces insulin secretion and turnover in rats. **Diabetes, nutrition & metabolism**. v.14, n. 2, p. 78-84, 2001.

BAEYENS, W.R; SCHULMAN, S.G; CALOKERINOS, A.C.; ZHAO, Y.; GARCIA, C.A.; NAKASHIMA, K.; KEUKELEIRE, D.

Chemiluminescence-based detection: principles and analytical applications in flowing streams and in immunoassays. **Journal of Pharmaceutical and biomedical analysis.**, v 17, n. 6, p. 941-953, 1998.

BANDEIRA, F.; GRIZ, L.; DREYER, P.; EUFRAZINO, C.; BANDEIRA, C.; FREESE, E. Vitamin D deficiency: A global perspective. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia.** v.50, n.4, p. 640-646, 2006.

BARROSO, I. GURNELL, M.; CROWLEY, V.; AGOSTINI, M.; SCHWABE, J.W. SOOS, M.A.; MASLEN, G.L.; WILLIAMS, T.D.; LEWIS, H.; SCHAFFER, A.J.; CHATTERJEE, V.K.; O'RAHILLY, S. Dominant negative mutations in human PPAR $\gamma$  associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension. **Nature.** v.402, p. 880-883, 1999.

BEARD J.C.; HALTER, J.B.; BEST, J.D.; PFEIFER, M.A.; PORTE, D. Dexamethasone-induced insulin resistance enhances B-cell responsiveness to glucose level in normal men. **The American Journal of physiology.** v.247, n.5, p.592-596, 1984.

BORGES, M.; MARTINI, L.A; ROGERO, M.M. Current perspectives on vitamin D, immune system, and chronic diseases. **Nutrition.** v. 27, p. 399-404, 2011.

BORISSOVA, A.; TANKOVA, T.; KIRILOV, G.; DAKOVSKA, L.; KOVACHENA, R. The effect of vitamin D3 on insulin secretion and peripheral insulin sensitivity in type 2 diabetes patients. **International Journal of Clinical Practice.** v. 57, n.4, p. 258-261, 2003.

BOURLON, P.M.; BILLAUDEL, B.; FAURE-DUSSERT, A. Influence of vitamin D3 deficiency and 1,25 dihydroxyvitamin D3 on de novo insulin biosynthesis in the islets of the rat endocrine pancreas. **The Journal of Endocrinology.** v.160, n.1, p.87-95, 1999.

BRASIL. VIGITEL Brasil 2011: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2012, 134p.

BURKIEVCZ, C.; SKARE, T.; MALAFAIA, O.; NASSIF, P.; RIBAS, C.; SANTOS, L. Prevalência de deficiência de vitamina D em pacientes com úlceras de perna de etiologia venosa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**. v. 39, n. 1, p. 60-63, 2012.

CANNELL, J.; HOLLIS, B. Use of vitamin D in clinical practice. **Alternative Medicine Review: a journal of clinical therapeutics**. v. 13, n. 1, p. 6-20, 2008.

CARVALHO, F. S.; PIMAZONI, A.N.; ZACH, P.; SACHS, A.; ZANELLA, M.T. Importância da orientação nutricional e o teor de fibras da dieta no controle glicêmico de pacientes diabéticos tipo 2 sob intervenção nutricional educativa. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. v. 56, n. 2, p. 110-119, 2012.

CAVALIER, E.; CARLISI, A.; BEKAERT, A.C.; ROUSSELLE, O.; CHAPELLE, J.P.; SOUBERBIELLE, J.C. Analytical evaluation of the new Abbott Architect 25-OH vitamin D assay. **Clinical Biochemistry**. v. 45, n. 6, p. 505-508, 2012.

CERIELLO, A.; MOTZ, E. Is Oxidative Stress the Pathogenic Mechanism Underlying Insulin Resistance, Diabetes, and Cardiovascular Disease? The Common Soil Hypothesis Revisited. **Arteriosclerosis Thrombosis, and vascular biology**. v.24, n.5 p. 816-823, 2004.

CHAGAS, C.E.; BORGES, M.C.; MARTINI, L.A.; ROGERO, M.M. Focus on vitamin D, inflammation and type 2 diabetes. **Nutrients**. v. 4, p. 52-67, 2012.

CHEN, M.; BERGMAN, R.N.; PACINI, G.; PORTE, D. Pathogenesis of age-related glucose intolerance in man: insulin resistance and decreased  $\beta$ -cell function. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 60, n. 1, p. 13-20, 1995.

CHEN, M.; BERGMAN, R.N.; PORTE, D. Insulin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction in aging: the importance of dietary carbohydrate. **The Journal of Clinical endocrinology and metabolism**. V. 67, n. 5, p. 951-957, 1988.

CHEN, M.; HALTER, J.; PORTE, D. The role of dietary carbohydrate in the decreased glucose tolerance of the elderly. **Journal of the American Geriatrics Society**. v, 35, n.5, p. 417-424, 1987.

CHIU, K.; CHU, A.; GO, V.; SAAD, M. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and  $\beta$  cell dysfunction. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v.79, n.5, p.820-825. 2004.

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

CNOP, M.; LANDCHILD, MJ.; VIDAL, J.; HAVEL, P.J.; KNOWLES, N.G.; CARR, D.R.; WANG, F.; HULL, R.L.; BOYKO, E.J.; RETZLAFF, B.M.; WALDEN, C.E.; KNOPP, R.H.; KAHN, S.E. The concurrent accumulation of intra-abdominal and subcutaneous fat explains the association between insulin resistance and plasma leptin concentrations: distinct metabolic effects of two fat compartments. **Diabetes**. v. 51, n.4, p. 1005–1015, 2002.

DAWSON-HUGHES, B.; HEANEANEY, R.P.; HOLICK, M.F.; et. Al. Estimates of optimal vitamin D status. **Osteoporosis International**. v.16, p. 713-716, 2005.

DEFRONZO, R,A. From the Triumvirate to the Ominous Octet: A new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. **Diabetes**. v. 58, p. 773-795, 2009.

DEFRONZO, R.A.; MUHAMMAD A.G. Type 2 diabetes can be prevented with early pharmacological intervention. **Diabetes care**. v.34, p. 202-209, 2011.

DUSSO, A.; BROWN, A.; SLATOPOLSKY. Vitamin D. **American Journal of Physiology. Renal Physiology**. v. 289, p. 8-28, 2005.

ESPOSITO, K.; PONTILLO, A.; PALO, C.; GIULIANO, G.; MASELLA, M.; MARFELLA, R.; GIUGLIANO, D. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women. **The Journal of the American Medical Association**. v. 289, n.14, p.1799-804, 2003.

FERREIRA, S.; ALMEIDA, B. SIQUEIRA, A. KHAWALI, C. Intervenções na prevenção do diabetes mellitus tipo 2: É viável um programa populacional em nosso meio? **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. v. 49, n. 4, p. 479-484, 2005.

FLETCHER, J. What is heterogeneity and is it important? **British Medical Journal**. v.334, p 94-96, 2007.

FLIER, J. Diabetes: The missing link with obesity? **Nature**. v. 409, n. 6818, p. 292-993, 2001.

FORD, E.S.; AJANI, U.A.; MCGUIRE, L.C.; LIU, S. Concentrations of serum vitamin D and the metabolic syndrome among US adults. **Diabetes Care**. v.28, p.1228-1230, 2005.

FORD, E.S.; GILES, W.H., DIETZ, W.H. Prevalence os the metabolic syndrome among US adults. Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **The Journal of the American Medical Association**. v.287, n.3, p. 356-359, 2002.

FOROUHI, N.G.; LUAN, J.; COOPER, A.; BOUCHER, B.J.; WAREHAM, N.J. Baseline serum 25-hydroxy vitamin D is predictive of future glycemic status and insulin resistance. The medical research council ely prospective study 1990-2000. **Diabetes**, v.57, n. 10, p.2619-2625, 2008.

FOROUHI N.G.; YE, Z.; RICKARD, A.P. et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D concentration and the risk of type 2 diabetes: results from the European Prospective Investigation into Cancer (EPIC)-Norfolk cohort and updated meta-analysis of prospective studies. **Diabetologia**. v. 55, p. 2173-2181, 2012.

GADSDEN, R.H.; PHELPS, C.A. **A normal range study of amylase and urine and serum on the aca**. Du Pont Compnay, Wilmington, DE. 1978.

GANDHE, M. B.; JAIN, K.; GANDHE, S. M. Evaluation of 25(OH) Vitamin D3 with reference to magnesium status and insulin resistance in T2DM. **J Clin Diagn Res**. v. 7, n. 11, p. 2438-2441, 2013.

GIOVANNUCCI, E. The epidemiology of vitamin D cancer incidence and mortality: A review. **Cancer Causes & Control**. v. 16, n. 2, p. 83-95, 2005.

GRANT, W. Lower vitamin-D production from solar ultraviolet-B Irradiance may explain some differences in cancer survival rates. **Journal of the National Medical Association**. v. 98, n. 3, p. 357-364, 2006.

GRANT, W.; HOLICK, M.F. Benefits and Requirements of vitamin D for Optimal Health: A review. **Alternative Medicine Review**. v.10, n.2, p. 94-111, 2005.

GRUDTNER, V.S.; WEINGRILL, P.; FERNANDES, A.L. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Revista Brasileira de Reumatologia**. v.37, n.3, p. 143-151, 1997.

GULSETH, H.L.; GJELSTAD, I.M.; TIERNEY, A.C.; LOVEGROVE, J.A.; DEFOORT, C.; BLAAK, E.E. et al. Serum vitamin D concentration does not predict insulin action or secretion in European subjects with the metabolic syndrome. **Diabetes Care**. v. 33, n.4, p. 923-925, 2010.

HEANEY, R. Functional índices of vitamin D status and ramifications of vitamin D deficiency. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 80, n. 6, p. 1706-1709, 2004.

HEANEY, R.; HOLICK, M. Why the IOM recommendations for vitamin D are deficient. **Journal of Bone and Mineral Research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**. v.26, n. 3, p. 455-457, 2011.

HICKEY, L.; GORDON, C.M. Vitamin D deficiency: new perspectives on an old disease. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**. v. 11, n. 18, p. 18-25, 2004.

HOLICK, M.F. Calcium plus vitamin D and the risk of colorectal cancer in women. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**. v. 13, p.1502-1508, 2004.

HOLICK, M.F. **Vitamin D: physiology, molecular biology, and clinical applications.** 1 ed. Totowa: Humana; 1999.

HOLICK, M.F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. **The Journal of Clinical Investigation.** v. 116, n. 8, p. 2062–2072, 2006.

HOLICK, M.F. Vitamin D deficiency. **The New England Journal of Medicine.** v.357, n.3, p. 266-281, 2007.

HOLICK, M. The vitamin D epidemic and its health consequences. **The Journal of Nutrition.** v. 135, n. 11, p. 2739-2748, 2005.

HOLICK, M. F. Vitamin D: Extraskelatal health. **Endocrinology Metabolism Clinical North America.** v. 39, n. 2, p. 381-400, 2010.

HOLLIS, B. Circulating 25-Hydroxyvitamin D Levels Indicative of Vitamin D Sufficiency: Implications for Establishing a New Effective Dietary Intake Recommendation for Vitamin D. **The Journal of Nutrition.** v.135, n.2, p. 317-322, 2005.

HU, E.; MANSON, J. STAMPER, M.; COLDITZ, G; LIU, S.; SOLOMON, C.; WILLET, W.C. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. **The New England Journal of Medicine.** v. 345, n.11, p. 790-797, 2001.

HU, F.B.; MEIGS, J.B.; LI, T.Y.; RIFAI, N.; MANSON, J.E. Inflammatory markers and risk of developing type 2 diabetes in woman. **Diabetes.** v.53, p. 693-700, 2004.

HUANG, Y.; WANG, M.; NING, A.L.; LI, Y.; SUN, C. Lipoprotein lipase links vitamin D, insulin resistance, and type 2 diabetes: cross-sectional epidemiological study. **Cardiovascular diabetology.** v.16, n. 12, p. 17, 2013.

HYPONEN, E.; LAARA, E.; REUNANEM, E.; JARVELIN, M.; VIRTANEM, S. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. **Lancet.** v. 358, n.9292, p.1500-1503, 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference intake: application in Dietary Assessment.** Washington (DC): National Academic Press; 2001. 285p.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for calcio and vitamin D**. Washington (DC): National Academic Press; 2011. 662p.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas Update 2012**. IDF, 2012. Disponível em: <<http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/Update2012>>. Acesso em 20 jan. 2013.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas – Sixth edition**. IDF, 2013. Disponível em: <<http://www.idf.org/diabetesatlas>>. Acesso em 20 maio. 2014.

ISMAIL, A.; NAMALA, R. Impaired glucose tolerance in vitamin D deficiency can be corrected by calcium. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. v.11, n.5, p.170–175, 2000.

JONES, G. Expanding role for vitamin D in chronic kidney disease: importance of blood 25-OH-D levels and extra-renal 1 alfa-hydroxylase in the classical and nonclassical actions of 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D3. **Seminars in dialysis**. v. 20, n. 4, p. 316-324, 2007.

KAHN, S. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to The pathophysiology of Type 2 diabetes. **Diabetologia**. v. 46, n. 1, p, 3-19, 2003.

KAHN, S.; LARSON, V.; BEARD, J.; CAIN, K.C.; FELLINGHAM, G.W.; SCHWARTZ, R.S.; VEITH, R.C.; STRATTON, J.R.; CERQUEIRA, M.D.; ABRASS, I.B. Effect of exercise on insulin action, glucose tolerance and insulin secretion in aging. **The American Journal of the Physiology**. v. 258, n. 6, p.937–943, 1990.

KAHN, S.; BEARD, J.; SCHWARTZ, M.; WARD, W.K.; DING, H.L.; BERGMAN, R.N.; TABORSKY, G.J.; PORTE, D. Increased  $\beta$ -cell secretory capacity as mechanism for islet adaptation to nicotinic acid-induced insulin resistance. **Diabetes**. v.38, n. 5p.562–568, 1989.

KARCHANASORN, R.; CHIU, K.C. Plasma 25-hydroxyvitamin D levels are favorably associated with  $\beta$ -cell function. **Pancreas**.v.41, n. 6, p. 863-868, 2012.



KAVIANI, M.; ABDOLLAHIAN, M.; ALMASI, V.; AMINI, M.; YAMINI, A.A. Effects of vitamin D on insulin resistance in nursing home residents: an interventional study. **Endokrynologia Polska**. v. 63, p. 191-195, 2012.

KENNEL, K.; MATTHEW, T.; DRAKE, M.; HURLEY, D. Vitamin D Deficiency in Adults: When to Test and How to Treat. **Mayo Clinic Proceedings**. v. 85, n. 8, p. 752-758, 2010.

KLEIN, S.; SHEARD, N.; PI-SUNYER, X.; DALY, A.; WYLIE-ROSETT, J.; KULKARNI, K.; CLARK, N.G. Weight management through lifestyle modification for the prevention and management of type 2 diabetes: rationale and strategies: a statement of the American Diabetes Association, the North American Association for the Study of Obesity, and the American Society for Clinical Nutrition. **Diabetes Care**. v. 80, n. 2 p. 257-263, 2004.

KNOWLER, W.C.; BARRET-CONNOR, E.; FOWLER, S.E.; HAMMAN, R.F.; LACHIN, J.M.; WALKER, E.A.; NATHAN, D.M.. Reduction of the incidence of type 2 diabetes with the life style intervention of metmorfin. **The New England Journal of Medicine**. v. 346, n.6, p. 393-403, 2002.

KUNST, D. B; ZIEGENHORN, J. UV methods with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase, **Methods of enzymatic analysis**. 1983, p. 163-172.

LEHNINGER, N. COX, M. **Lehninger – Princípios de Bioquímica**. 5ed. São Paulo: Sarvier, 2011.

LI, Y. Vitamin D regulation of the rennin-angiotensin system. **Journal of Cellular Biochemistry**. v. 88, n. 2, p. 327-331, 2003.

LIPS, P.; DUONG, T.; OLEKSIK, A; PRETO, D.; CUMMINGS, S.; COX, D.; NICKELSEN, T. A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: baseline data from the multiple outcomes of raloxifene clinical trial. **The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**. v.86, p. 1212-1221, 2001.

LIU, E.; MEIGS, J.; PITTAS, A.; MCKEOWN, N. ECONOMOS, C.; BOOTH, S. JACQUES, P. Plasma 25-Hydroxyvitamin D Is Associated with Markers of the Insulin Resistant Phenotype in Nondiabetic Adults. **Journal of Nutrition.** v.139, n.2, p. 329-334, 2009.

MAEDA, E.M.; KUNII, I.S.; HAYASHI, L.F.; LAZARETTI-CASTRO, M. Increases in summer serum 25-hydroxyvitamin D (25OHD) concentrations in elderly subjects in São Paulo, Brazil vary with age, gender and ethnicity. **BMC Endocrine Disorders**, v.10, 2010.

MAESTRO, B.; CAMPION, J.; DAVILA, N; CALLE, C. Stimulation by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> of insulin receptor expression and insulin responsiveness for glucose transport in U-937 human promonocytic cells. **Endocrin Journal.** v.47, n.4, p. 383-391, 2000.

MARCONDES, J. A. M. Diabete Melito: Fisiopatologia e tratamento. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba.** v.5, n.1, p.18-26, 2003.

MARQUES, C.D.; DANTAS, A.T.; FRAGOSO, T.S.; DUARTE, A.L. A importância dos níveis de vitamina D nas doenças autoimunes. **Revista Brasileira de Reumatologia.**, v.50, n.1, p.67-80, 2010.

MATSUOKA, L.Y.; IDE, L.; MACLAUGHLIN, J.A.; HOLICK, M.F. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D<sub>3</sub> synthesis. **The Journal of Clinical endocrinology and metabolism.** v.64, n. 6, p. 1165-1168, 1987.

MATTHEWS DR, HOSKER JP, RUDENSKI AS, NAYLOR BA, TREACHER DF, TURNER RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia.** v.28, n.7, p.412-9, 1985.

MATTILA, C.; KNEKT, P.; MÄNNISTÖ, S.; RISSANEN, H.; LAAKSONEN, M.; MONTONEN, J.; REUNANEN, A. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration and subsequent risk of type 2 diabetes. **Diabetes Care.** v. 30, n. 10, p.2569-70, 2007.

MCCARTY, C. Sunlight exposure assessment: can we accurately assess vitamin D exposure from sunlight questionnaires? **The American Journal of Clinical Nutrition.** v. 87, n.4, p.1997-1101, 2008.

MCLELLAN, K.; BARBALHO, S.; CATALLINI, M.; LERARIO, A. Diabetes mellitus do tipo 2, síndrome metabólica e modificação no estilo de vida. **Revista de Nutrição**. v.20, n.5, p. 515-24, 2007.

MCLELLAN, K.; MOTTA, D.; LERARIO, A; CAMPINO, A. Custo do atendimento ambulatorial e gasto hospitalar do *Diabetes Mellitus* tipo2. **Saúde em Revista**. v.8, n.20, p. 37-45, 2006.

MITHAL, A.; WAHL, D.; BONJOUR, J.; BURCKHARDT, P.; DAWSON-HUGHES, B.; EISMAN, J.; EL-HAJJ, F.G.; JOSSE, R.G.; LIPS, P.; MORALES-TORRES, J. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. **Osteoporosis International**. v.20, n.11. p.1807-1820, 2009.

NIHTACS (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH TECHNOLOGY ASSESMENT CONFERENCE STATEMENT). Bioelectrical impedance analysis in body composition measurement. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 64, n.3, p. 524-532, 1994.

NISHII, Y. OKANO, T. History of the development of new vitamin D analogy: Studies on 22-oxacalcitriol (OCT) and 2beta-(3-hydroxypropoxy)calcitriol (ED-71). **Steroids**, v.66, p. 137-146, 2001.

ORTIZ, M.; ZANETTI, M. Levantamento dos fatores de risco para diabetes mellitus tipo 2 em uma instituição de ensino superior. **Revista Latino Americana de Enfermagem**. v. 9, n. 3. p. 58-63, 2001.

PALOMER, S.C.; MCGREGOR, D.O.; MACASKILL, P. CRAIG, J.C.; ELDER, G.J.; STRIPPOLI, G.F. Meta-analysis: vitamin D compounds in chronic kidney disease. **Annals of internal medicine**. v.147, p. 840-853, 2007.

PASCHOAL, V.; MARQUES, N.; BRIMBERG, P.; DINIZ, S. **Suplementação funcional magistral: dos nutrientes aos compostos bioativos**. 1 ed. São Paulo: VP editora, 2008. 495p.

PETERS, B.S.E.; SANTOS, L.C.; FISBERG, M.; WOOD, R.J.; MARTINI, L.A. Prevalence of vitamin D insufficiency in Brazilian adolescents. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v.54, n.1, p.15-21, 2009.

PETERS, B.S.E.; VERLY, E. MARCHIONI, D.M.; FISBERG, M.; MARTINI, L.A. The influence of breakfast and dairy products on dietary calcium and vitamin D intake in postpubertal adolescents and young adults. **Journal of Human Nutrition Dietetics**. v.25, n. 1, p. 69-74, 2011.

PHILIPPI, S.T. **Tabela de composição de Alimentos: suporte para decisão nutricional**. 2. ed. São Paulo: Coronario, 2002. 135p.

PIEL, E. Accelerated microparticulate bed liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, 1966.

PINHEIRO, A.V.B.; LACERDA, E.M.A.; BENZECRY, E.H.; GOMES, M.C.S.; COSTA, V.M. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 131p.

PINHEIRO M.M.; SHUCH, N.J.; GENARO, P.S.; CICONELLI, R.M.; FERRAZ, M.B.; MARTINI, L.A. Nutrient intakes related to osteoporotic fractures in men and woman – The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). **Nutrition Journal**. v.8, p.1-8, 2009.

PITTAS, A.G.; LAU, J.; HU, F.B.; DAWSON-HUGHES, B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v.92, n.6, p.2017-2029, 2007.

PORTERO, K; CATTALINI, M. Mudanças no estilo de vida para prevenção e tratamento do Diabetes Mellitus tipo 2. **Saúde em Revista**. v.7, n.16, p. 63-69, 2005.

PORTERO, K.; MOTTA, D.; CAMPINO, A. Abordagem econômicoica e fluxograma do atendimento a pessoas com Diabetes Mellitus tipo 2 na rede pública de saúde de um município paulista. **Saúde em Revista**. v.5, n.11, p. 35-42, 2003.

PREMAOR, M. O.; FURLANETTO, T.W. Hipovitaminose D em adultos: Entendendo melhor a apresentação de uma velha doença. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabolismo**. v.50, n. 1, p. 25-37, 2006.

PRIGEON, R.; KAHN, S.; PORTE, D. Changes in insulin sensitivity, glucose effectiveness, and B-cell function in regularly exercising subjects. **Metabolism: Clinical and Experimental**. v. 44, n.10, p.1259–1263, 1995.

PURNELL, J. Q.; BRUNZELL, J. D. The central role of dietary fat, not carbohydrate, in the insulin resistance syndrome. **Current Opinion in Lipidology**. v. 8, n. 1. p. 17-22, 1997.

RAJAKUMAR, K.; GREENSPAN, S.; THOMAS, S.; HOLICK, M.F. Solar ultraviolet radiation and vitamin D. A historical perspective. **American Journal of Public Health**. v. 97, n. 10, p.1746–1748, 2007.

RIZZA, R.A.; MANDARINO, L.J.; GERICH, J.E. Effects of growth hormone on insulin action in man. Mechanisms of insulin resistance, impaired suppression of glucose production, and impaired stimulation of glucose utilization. **Diabetes**. v.31, n.8, p. 663-669, 1982.

ROGLIC, G.; UNWIN, N.; BENNETT, PH.; MATHERS, C.; TUOMILEHTO, J.; NAG, S. CONNOLLY, V.; KING, H. The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000. **Diabetes Care**. v. 28, n.9, p. 2130-2135, 2005.

SANTOS, S.R.; VIANNA, L.M. Effect of cholecalciferol supplementation on blood glucose in an experimental model of type 2 diabetes mellitus in spontaneously hypertensive rats and wistar rats. **Clinica Chimica Acta**. v.358, p.146-150, 2005.

SARTORELLI, D.; SCIARRA, E.; FRANCO, L. CARDOSO, M. Primary prevention of type 2 diabetes through nutritional counseling. **Diabetes Care**. v. 27, n. 12, p.3019, 2004.

SCHUCH, Natielen Jacques. **Relação entre a concentração sérica de vitamina D, polimorfismo no gene VDR e síndrome metabólica em indivíduos adultos**. 2011. 104 f. Tese (Doutorado) - Curso de Nutrição, Departamento de Centro de Ciência da Saúde, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

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

SGRAGG, R. Vitamin D and Type 2 Diabetes: Are we ready for a prevention trial? **Diabetes**. v.57, n.10, p. 2565-2566, 2008.

SHILS, Maurice E. **Nutrição moderna na saúde e na doença**. 2. ed. Barueri: Manole, 2009. 2222p.

SILVER, J.; RUSSEL, J.; SHERWOOD, L. Regulation by vitamin D metabolites of messenger ribonucleic acid for preproparathyroid hormone in isolate bovine parathyroid cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 82, n.12, p. 4270-4273, 1985.

SNIDJER, M.; DAM, R.; VISSER, M. Adiposity in relation to vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 90, n. 7, p. 4119-4123, 2005.

**SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES**. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2014. 365 p.

SUNG, C.; LIAO, M.; LU, K.; WU, C. Role of Vitamin D in Insulin Resistance. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. v. 2012, p. 1-9, 2012.

STUMPF, W.E.; SAR, M.; REID, F.A.; Target cells for 1,25-dihydroxvitamin D3 in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary and parathyroid. **Science**. v.206, p. 1188-1190, 1979.

TAI, K.; NEED, A.G.; HOROWITZ, M.; CHAPMAN, I.M. Vitamin D, glucose, insulin and insulin sensitivity. **Nutrition**. v.24, p.279-285, 2007.

TALAEI, A.; MOHAMADI, M.; ADGI, Z. The effect of vitamin D on insulin resistance in patients with type 2 diabetes. **Diabetology & Metabolic Syndrome**. v.5, n.8. 2013.

THOMPSON, F.E.; BYERS, T. Dietary assessment resource manual. **Journal of Nutrition**. v. 124, n. 11, p. 2245-2317, 1994.

TUOMILEHTO, J.; LINDSTROM, J.; ERIKSSON, J.; VALLE, T.T.; HAMALAINEN, H. ILANNE-PARIKKA, P.; KEINANEN-KIUKAANNIEMI, S.; LAAKSO, M.; LOUHERANTA, A.; RASTAS, M.; SALMINEN, V.; UUSITUPA, M. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. **The New England Journal of Medicine**. v. 344, n. 18, p.1343–1350, 2001.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Nutrient Database for standard Reference**. 2001. Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/>>. Acesso em 10 de abril de 2014.

VIETH, R.; LADAK, Y.; WALFISH, P. Age-related changes in the 25-hydroxyvitamin D versus parathyroid hormone relationship suggest a different reason why older adults require more vitamin D. **The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**. v. 88, n. 1, p. 185-191, 2003.

WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN, A.; SICREE, R.; KING, H. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**. v.27, n.5, p. 1047-1053. 2004.

WEEB, A.R.; KLINE, I.; HOLICK, M.F. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D<sub>3</sub>: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D<sub>3</sub> synthesis in human skin. **The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**. v. 67, p. 373-378, 1988.

WILSON, P. W. F.; MEIGS, J. B.; SULLIVAN, L.; FOX, C. S. NATHAN, D. M.; D'AGOSTINO, R. B. Prediction of incident Diabetes Mellitus in middle aged adults: Tha Framingham Offspring Study. **The Journal of the American Medical Association**. v. 167, n. 10, p. 1068-1074, 2007.

WILLETT, W. **Nutritional Epidemiology**. 2 ed. New York: Oxford University Press; 1998, 514p.

WILLET, W.C.; HOWE, G.R.; KUSHI, L.W. Adjustmentfor total energyintakein epidemiologic studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v.65, p. 1220-1228, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases.** Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation. Geneva: Technical Report Series 916, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Expert committee on physical status: the use and interpretation of anthropometry.** Physical status: the use and interpretation of anthropometry: report of a WHO expert committee. WHO technical report series, 854. Geneva: WHO, 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global recommendations on physical activity for health.** 2010

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Measuring obesity – Classification and description of anthropometric data.** 1987.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy.** 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The World Health Organization Report 2002:** reducing risks, promoting healthy life. Geneva, WHO, 2002. 230 p.

ZEMEL, M.B. Mechanisms of dairy modulation of adiposity. **The Journal of Nutrition.** v.133, n. 1, p. 252-256, 2003.

ZITTERMANN, A.; SCHLEITHOFF, S.; TENDERICH, G.; BERTHOLD, H.K.; KORFER, R.; STEHLE, P. Low vitamin D status: a contributing factor in the pathogenesis of congestive heart failure? **Journal of the American College of Cardiology.** v. 41, n. 1, p. 105–112, 2003.



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

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

### **Termo de Consentimento Livre Esclarecido**

A Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), através das pesquisadoras **Sônia Maria de Medeiros Batista**, professora do Departamento de Nutrição e **Camila Rech**, aluna do Programa de Pós Graduação em Nutrição, está desenvolvendo a pesquisa intitulada como **“VITAMINA D E SUA RELAÇÃO COM A RESISTÊNCIA À AÇÃO DA INSULINA EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2”**.

Neste estudo pretende-se analisar se há uma relação entre a concentração sérica de vitamina D e a resistência à ação da insulina em adultos diabéticos tipo 2.

Será realizada uma entrevista com o objetivo de verificar características pessoais, clínicas, socioeconômicas, alimentares, bioquímicas, além de medidas corporais (peso, altura, circunferências e percentual de gordura). O consumo alimentar será avaliado em dois momentos, através de uma entrevista onde o senhor(a) deverá relatar o que consumiu no dia anterior. Se preciso, serão consultados os prontuários para a complementação de informações necessárias para a pesquisa. Para análise bioquímica será realizada uma coleta de sangue de 10 mL, em jejum de 10 horas, por profissional da área de enfermagem, a fim de analisar a glicose em jejum, insulina em jejum, vitamina D e hemoglobina glicada.

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC e trará apenas o desconforto das coletas de sangue, que serão realizadas através de materiais descartáveis. Esperamos, entretanto, que esse estudo traga benefícios, tal como a possibilidade de conhecimento da relação entre baixas concentrações de vitamina D e a redução da sensibilidade à insulina em pacientes diabéticos tipo 2.

Esta pesquisa não tem fins lucrativos e é confidencial. Os resultados do estudo poderão ser publicados em revistas científicas, apresentados em congressos ou eventos científicos, sem que seu nome seja mencionado em parte alguma.

Cabe ao senhor(a) decidir se irá ou não participar. Sua participação é voluntária, podendo desistir desta pesquisa em qualquer momento, sendo que não receberá qualquer tipo de indenização pela participação. Caso tenha alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, pode entrar em contato com o pesquisador responsável: Sônia Maria de Medeiros Batista, através do telefone (48) 32336458 ou e-mail sbatista@ccs.ufsc.br. Se você estiver de acordo em participar, garantimos que as informações obtidas e o material coletado serão confidenciais e só serão utilizados neste trabalho.

Eu,

---

\_\_\_\_\_, fui esclarecido (a) sobre a pesquisa “VITAMINA D E SUA RELAÇÃO COM A RESISTÊNCIA À AÇÃO DA INSULINA EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2” e aceito participar livremente da mesma.

Eu, voluntariamente, concordo em participar deste estudo.

Ao assinar este termo de consentimento, estou de pleno acordo com os dados a serem coletados, podendo os mesmos ser utilizados conforme descrito neste termo de consentimento. Entendo que receberei uma cópia assinada deste termo de consentimento.

---

Assinatura do pesquisador

Assinatura do

participante

Florianópolis, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2013.

**APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO**Questionário

Data da entrevista: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Participante Nº |\_|\_|\_|\_|

Estação do ano:

Número de prontuário: \_\_\_\_\_

**Identificação:**

Nome:

\_\_\_\_\_

Sexo:  masculino  feminino

Estado civil:  solteiro  casado  divorciado  viúvo  amasiado

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_

Cor de pele:  branca  negra/mulata  amarelo/índigena

Escolaridade em anos: \_\_\_\_\_

Classe social: \_\_\_\_\_

Endereço:

\_\_\_\_\_

N \_\_\_\_\_

Complemento:

\_\_\_\_\_

Bairro: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_

Estado: \_\_\_\_\_ CEP: \_\_\_\_\_ Telefone:

(\_\_\_\_) \_\_\_\_\_ Celular (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_

E-mail:

\_\_\_\_\_

Ocupação

profissional: \_\_\_\_\_

Tempo de diagnóstico de diabetes (anos): \_\_\_\_\_

Uso de hipoglicemiantes orais:  sim  não

Tipo de Hipoglicemiante:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Outros

Medicamentos:

---

---

---

---

---

Suplementos

nutricionais:

---

---

---

Complicações

do

diabetes:

---

---

Doenças associadas:

---

---

---

Exposição solar

Tempo gasto ao ar livre entre o nascer e o pôr do sol (horas/dia):

Horário de exposição:

07:00 – 09:00

Tempo:

Atividade:

09:00 – 11:00

Tempo:

Atividade:

11:00 – 13:00

Tempo:

Atividade:

13:00 – 15:00

Tempo:

Atividade:

15:00 – 17:00

Tempo:

Atividade:

17:00 – 19:00

Tempo:

Atividade:

Tabagista:  sim  não

Número de cigarros por dia: \_\_\_\_\_

Há quanto tempo: \_\_\_\_\_

Ex-fumante:  sim  não Parou há: \_\_\_\_\_

Exercício Físico:  Sim  Não

Qual o tipo de exercício físico? \_\_\_\_\_

Quantas vezes na semana? \_\_\_\_\_

Quanto tempo por vez? \_\_\_\_\_

### **Avaliação antropométrica**

Peso: \_\_\_\_\_ kg

Estatura: \_\_\_\_\_ m

IMC: \_\_\_\_\_ kg/m<sup>2</sup>

Classificação do estado nutricional segundo IMC:

\_\_\_\_\_ cm

Circunferência da cintura: \_\_\_\_\_ cm

Gordura corporal: \_\_\_\_\_ %

### **Avaliação Bioquímica**

**Data** / /

Glicose em jejum: \_\_\_\_\_

Insulina em jejum: \_\_\_\_\_

Hemoglobina glicada: \_\_\_\_\_

25-Hidroxicolecalciferol: \_\_\_\_\_

Creatinina: \_\_\_\_\_

Uréia: \_\_\_\_\_

HOMA: \_\_\_\_\_









## APÊNDICE D – NOTA DE IMPRENSA

O Diabetes Mellitus é uma doença que acomete cerca de 382 milhões de pessoas em todo o mundo, sendo o tipo 2 predominante. O envelhecimento populacional, a urbanização e as mudanças de estilo de vida, associadas ao aumento da obesidade e do sedentarismo contribuem para a manifestação da doença. O maior número de portadores desta doença estão entre 40 e 59 anos de idade. Além disso, é um importante contribuinte nos custos da saúde pública em todo o mundo, cerca de 548 milhões de dólares foram gastos em 2013.

O crescente aumento da obesidade em todas as faixas etárias é responsável pela redução da sensibilidade à insulina. A insulina é um hormônio fundamental para o controle da glicose no sangue. Mudanças na dieta e a prática de exercício físico regular, são formas de prevenção e o tratamento desta doença, uma vez que contribuem para a redução da prevalência da obesidade. Além disso, estudos têm sugerido que o aumento na concentração de vitamina D sanguínea, pode estar relacionada com um melhor controle da glicose sanguínea e até mesmo com a prevenção do diabetes.

Desta forma, a nutricionista e mestrandia Camila Rech, do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, sob a orientação da professora Dra. Sônia Maria de Medeiros Batista, realizou um estudo para investigar se indivíduos portadores de Diabetes Mellitus do tipo 2 com maiores concentrações de vitamina D sanguíneas apresentavam um melhor controle da glicose. A pesquisa foi realizada entre os meses de agosto de 2013 e abril de 2014 com 29 pacientes portadores de Diabetes Mellitus do tipo 2, atendidos no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago.

Os resultados do estudo indicam que a população estudada apresentava um baixo consumo de vitamina D. Os principais alimentos que contêm vitamina D são: leite e derivados, peixes, gema de ovo, fígado de animais, óleo de fígado de bacalhau e cogumelos. Além disso, observou-se que a concentração sanguínea de vitamina D na população estudada estava adequada. Verificou-se uma tendência a redução da resistência à insulina (que geralmente está aumentada em pacientes com diabetes), com uma maior concentração sanguínea e também com um maior consumo de vitamina D, especialmente em mulheres.

Tem se estudado os efeitos da vitamina D em diversas doenças, inclusive em relação ao diabetes. Os resultados de diversos estudos ainda são inconclusivos, porém, da mesma forma, deve-se buscar um consumo e uma concentração sanguínea adequada de vitamina D.



## ANEXO A – CRITÉRIO DE CLASSIFICAÇÃO ECONÔMICA BRASIL



**CRITÉRIO**  
DE CLASSIFICAÇÃO ECONÔMICA  
**BRASIL**

**ABEP**  
associação brasileira de empresas de pesquisa

O Critério de Classificação Econômica Brasil, enfatiza sua função de estimar o poder de compra das pessoas e famílias urbanas, abandonando a pretensão de classificar a população em termos de “classes sociais”. A divisão de mercado definida abaixo é de **classes econômicas**.

### SISTEMA DE PONTOS

#### Posse de itens

	Quantidade de Itens				
	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	4	5	6	7
Automóvel	0	4	7	9	9
Empregada mensalista	0	3	4	4	4
Máquina de lavar	0	2	2	2	2
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0	2	2	2	2

#### Grau de Instrução do chefe de família

Nomenclatura Antiga	Nomenclatura Atual	
Analfabeto/ Primário incompleto	Analfabeto/ Fundamental 1 Incompleto	0
Primário completo/ Ginasial incompleto	Fundamental 1 Completo / Fundamental 2 Incompleto	1
Ginasial completo/ Colegial incompleto	Fundamental 2 Completo/ Médio Incompleto	2
Colegial completo/ Superior incompleto	Médio Completo/ Superior Incompleto	4
Superior completo	Superior Completo	8

### CORTES DO CRITÉRIO BRASIL

Classe	Pontos
A1	42 - 46
A2	35 - 41
B1	29 - 34
B2	23 - 28
C1	18 - 22
C2	14 - 17
D	8 - 13
E	0 - 7

### **PROCEDIMENTO NA COLETA DOS ITENS**

É importante e necessário que o critério seja aplicado de forma uniforme e precisa. Para tanto, é fundamental atender integralmente as definições e procedimentos citados a seguir.

Para aparelhos domésticos em geral devemos:

Considerar os seguintes casos  
 Bem alugado em caráter permanente  
 Bem emprestado de outro domicílio há mais de 6 meses  
 Bem quebrado há menos de 6 meses

Não considerar os seguintes casos  
 Bem emprestado para outro domicílio há mais de 6 meses  
 Bem quebrado há mais de 6 meses  
 Bem alugado em caráter eventual  
 Bem de propriedade de empregados ou pensionistas

### **Televisores**

Considerar apenas os televisores em cores. Televisores de uso de empregados domésticos (declaração espontânea) só devem ser considerados caso tenha(m) sido adquirido(s) pela família empregadora.

### **Rádio**

Considerar qualquer tipo de rádio no domicílio, mesmo que esteja incorporado a outro equipamento de som ou televisor. Rádios tipo walkman, conjunto 3 em 1 ou microsystems devem ser considerados, desde que possam sintonizar as emissoras de rádio convencionais. Não pode ser considerado o rádio de automóvel.

### **Banheiro**

O que define o banheiro é a existência de vaso sanitário. Considerar todos os banheiros e lavabos com vaso sanitário, incluindo os de empregada, os localizados fora de casa e os da(s) suite(s). Para ser considerado, o banheiro tem que ser privativo do domicílio. Banheiros coletivos (que servem a mais de uma habitação) não devem ser considerados.

### **Automóvel**

Não considerar táxis, vans ou pick-ups usados para fretes, ou qualquer veículo usado para atividades profissionais. Veículos de uso misto (lazer e profissional) não devem ser considerados.

### **Empregado doméstico**

Considerar apenas os empregados mensalistas, isto é, aqueles que trabalham pelo menos 5 dias por semana, durmam ou não no emprego. Não esquecer de incluir babás, motoristas, cozinheiras, copeiras, arrumadeiras, considerando sempre os mensalistas.

Note bem: o termo empregados mensalistas se refere aos empregados que trabalham no domicílio de forma permanente e/ou contínua, pelo menos 5 dias por semana, e não ao regime de pagamento do salário.

### **Máquina de Lavar**

Considerar máquina de lavar roupa, somente as máquinas automáticas e/ou semiautomática  
 O tanquinho NÃO deve ser considerado.

### **Videocassete e/ou DVD**

Verificar presença de qualquer tipo de vídeo cassete ou aparelho de DVD.

### **Geladeira e Freezer**

No quadro de pontuação há duas linhas independentes para assinalar a posse de geladeira e freezer respectivamente. A pontuação será aplicada de forma independente:

Havendo geladeira no domicílio, independente da quantidade, serão atribuídos os pontos (4) correspondentes a posse de geladeira;  
 Se a geladeira tiver um freezer incorporado – 2ª, porta – ou houver no domicílio um freezer independente serão atribuídos os pontos (2) correspondentes ao freezer.

As possibilidades são:

Não possui geladeira nem freezer	0 pt
Possui geladeira simples (não duplex) e não possui freezer	4 pts
Possui geladeira de duas portas e não possui freezer	6 pts
Possui geladeira de duas portas e freezer	6 pts
Possui freezer mas não geladeira (caso raro mas aceitável)	2 pt

### **OBSERVAÇÕES IMPORTANTES**

Este critério foi construído para definir grandes classes que atendam às necessidades de segmentação (por poder aquisitivo) da grande maioria das empresas. Não pode, entretanto, como qualquer outro critério, satisfazer todos os usuários em todas as circunstâncias. Certamente há muitos casos em que o universo a ser pesquisado é de pessoas, digamos, com renda pessoal mensal acima de US\$ 30.000. Em casos como esse, o pesquisador deve procurar outros critérios de seleção que não o CCEB.

A outra observação é que o CCEB, como os seus antecessores, foi construído com a utilização de técnicas estatísticas que, como se sabe, sempre se baseiam em coletivos. Em uma determinada amostra, de determinado tamanho, temos uma determinada probabilidade de classificação correta, (que, esperamos, seja alta) e uma probabilidade de erro de classificação (que, esperamos, seja baixa). O que esperamos é que os casos incorretamente classificados sejam pouco numerosos, de modo a não distorcer significativamente os resultados de nossa investigação.

Nenhum critério, entretanto, tem validade sob uma análise individual. Afirmações freqüentes do tipo "... conheço um sujeito que é obviamente classe D, mas

*pele critério é classe B...*" não invalidam o critério que é feito para funcionar estatisticamente. Servem porém, para nos alertar, quando trabalhamos na análise individual, ou quase individual, de comportamentos e atitudes (entrevistas em profundidade e discussões em grupo respectivamente). Numa discussão em grupo um único caso de má classificação pode pôr a perder todo o grupo. No caso de entrevista em profundidade os prejuízos são ainda mais óbvios. Além disso, numa pesquisa qualitativa, raramente uma definição de classe exclusivamente econômica será satisfatória.

Portanto, é de fundamental importância que todo o mercado tenha ciência de que o CCEB, ou qualquer outro critério econômico, não é suficiente para uma boa classificação em pesquisas qualitativas. Nesses casos deve-se obter além do CCEB, o máximo de informações (possível, viável, razoável) sobre os respondentes, incluindo então seus comportamentos de compra, preferências e interesses, lazer e hobbies e até características de personalidade.

Uma comprovação adicional da conveniência do Critério de Classificação Econômica Brasil é sua discriminação efetiva do poder de compra entre as diversas regiões brasileiras, revelando importantes diferenças entre elas

### **RENDA FAMILIAR POR CLASSES**

Classe	Pontos	Renda média familiar (Valor Bruto em R\$)
		2010
A1	42 a 46	12.926
A2	35 a 41	8.418
B1	29 a 34	4.418
B2	23 a 28	2.565
C1	18 a 22	1.541
C2	14 a 17	1.024
D	8 a 13	714
E	0 a 7	477



## ANEXO B – PARECER COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** VITAMINA D E SUA RELAÇÃO COM A RESISTÊNCIA À AÇÃO DA INSULINA EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2.

**Pesquisador:** Sônia Maria de Medeiros Batista

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 13742913.0.0000.0121

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Santa Catarina

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 313.963

**Data da Relatoria:** 24/06/2013

#### Apresentação do Projeto:

Estudo de Rech, orientado por Batista, que pretende avaliar com questionários, exames laboratoriais, e análise de prontuário 200 pacientes diabéticos tipo 2 do ambulatório do HU.

#### Objetivo da Pesquisa:

Segundo os autores o objetivo é avaliar a relação entre a concentração sérica de vitamina D e a resistência à ação da insulina em adultos diabéticos tipo 2.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequado.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pode contribuir sobre o conhecimento generalizável sobre o tema.

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

#### Recomendações:

Não há.

#### Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pela aprovação.

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima  
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-900  
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS  
 Telefone: (48)3721-9206 Fax: (48)3721-9696 E-mail: cep@reitoria.ufsc.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 213.952

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

FLORIANOPOLIS, 24 de Junho de 2013

---

Assinador por:  
Washington Portela de Souza  
(Coordenador)

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima  
Bairro: Trindade CEP: 88.040-900  
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS  
Telefone: (48)3721-9206 Fax: (48)3721-9696 E-mail: cep@reitoria.ufsc.br

## ANEXO C – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO



**METABOLISM**  
Clinical and Experimental

## AUTHOR INFORMATION PACK

## TABLE OF CONTENTS

ISSN: 0026-0495

•	<b>Description</b>	<b>p.1</b>
•	<b>Audience</b>	<b>p.1</b>
•	<b>Impact Factor</b>	<b>p.1</b>
•	<b>Abstracting and Indexing</b>	<b>p.1</b>
•	<b>Editorial Board</b>	<b>p.2</b>
•	<b>Guide for Authors</b>	<b>p.4</b>

## DESCRIPTION

*Metabolism* promotes excellence in research by publishing high-quality original research papers, fast-tracking cutting-edge papers, research brief reports, mini-reviews, and other special articles related to all aspects of **human metabolism**. Work considered for publication in *Metabolism* includes studies in humans, animal and cellular models. Work with strong translational potential is prioritized. *Metabolism* will consider papers for publication in any aspect of translational and clinical metabolic research, including (but not limited to): **Energy Expenditure** and **Obesity Metabolic Syndrome** and **Diabetes Nutrition, Exercise**, and the **Environment Genetics, Proteomics**, and **Metabolomics Carbohydrate, Lipid**, and **Protein Metabolism Endocrinology** and **Hypertension Mineral** and **Bone Metabolism Cardiovascular Diseases** and **Malignancies**

**Benefits to authors**

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our support pages: <http://support.elsevier.com>

## AUDIENCE

Sponsored Articles: *Metabolism* offers authors or their institutions the option to sponsor non-subscriber access to their articles on Elsevier's electronic publishing platforms. For more information please click <http://www.elsevier.com/wps/find/authorshome.authors/ymetahere>.

## IMPACT FACTOR

2012: 3.096 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2013

## ABSTRACTING AND INDEXING

MEDLINE®  
Science Citation Index  
Scopus

## EDITORIAL BOARD

---

### *Editor-in-Chief*

**Christos S. Mantzoros, MD, DSC, PhD h.c.**, Boston, MA, USA

### *Editor Emeritus*

**James B. Field**, Hilton Head, SC, USA

### *Associate Editors*

**Per-Olof Hasselgren**, Boston, MA, USA

**Young-Bum Kim**, Boston, Massachusetts, USA

**Stergios A. Polyzos**, Thessaloniki, Greece

**Anand Vaidya**, Boston, Massachusetts, USA

**Jonathan Williams**, Boston, Massachusetts, USA

### *Consulting Editors*

**George Bray**, Baton Rouge, Louisiana, USA

**C Ronald Kahn**, Boston, Massachusetts, USA

**Maria New**, New York, New York, USA

### *Editorial Board*

**Jun-Ichi Abe**, Rochester, New York, USA

**Carlos A Aguilar Salinas**, Mexico City, Mexico

**Salman Azhar**, Palo Alto, California, USA

**Rene Baudrand**, Santiago, Chile

**Per-Olof Berggren**, Stockholm, Sweden

**Gerard T Berry**, Boston, Massachusetts, USA

**Susann Blüher**, Leipzig, Germany

**V Daniel Castracane**, Odessa, TX, USA

**George Chrousos**, Athens, Greece

**Theodore Ciaraldi**, San Diego, USA

**Maria Dalamaga**, Athens, Greece

**Styliani Stella Daskalopoulou**, Montreal, Quebec, Canada

**Jean-Pierre Després**, Quebec City, Quebec, Canada

**Louis J Elsas II**, Miami, FL, USA

**John N Fain**, Memphis, Tennessee, USA

**Gregory Freund**, Urbana, Illinois, USA

**Ghada El-Hajj Fuleihan**

**Henry Ginsberg**, New York, NY, USA

**Julie Glowacki**, Boston, MA, USA

**Charles Glueck**, Cincinnati, Ohio, USA

**Luigi Gnudi**, London, UK

**Catherine M Gordon**, Providence, RI, USA

**Steven Heymsfield**, Baton Rouge, LA, USA

**Jane Hoover-Plow**, Cleveland, Ohio, USA

**Linda Jaffe**, Boston, Massachusetts, USA

**Linong Ji**, Beijing, China

**Madhu Kalia**, Philadelphia, Pennsylvania, USA

**Eun Seok Kang**, Seoul, South Korea

**Abbas Kitabchi**, Memphis, TN, USA

**Fredric Kraemer**, Stanford, California, USA

**Robert Kraemer**, Hammond, Louisiana, USA

**Faidon Magkos**, St. Louis, Montana, USA

**Hiroaki Masuzaki**, Okinawa, Japan

**Giuseppe Matarese**, Salerno, Italy

**Viswanathan Mohan**, Seattle, Washington, USA

**Kazuwa Nakao**, Kyoto, Japan

**Michael Pagliassotti**, Fort Collins, Colorado, USA

**Kyong Soo Park**, Seoul, South Korea

**Vera Popović-Brkić**, Belgrade, Serbia

**Catherine Postic**, Paris, France

**Kumaravel Rajakumar**, Pittsburgh, PA, USA

**Alan Robinson**, Los Angeles, California, USA

**Emilio Ros**, Barcelona, Spain

**Clifford J Rosen**, Scarborough, Maine, USA

**Neil B Ruderman**, Boston, Massachusetts, USA

**Mario J A Saad**, Campinas, Brazil

**Despina Sanoudou**, Athens, Greece  
**Peter Schwarz**  
**James R. Sowers**, Columbia, USA  
**Peter W Stacpoole**, Gainesville, Florida, USA  
**Günter K Stalla**, Munich, Germany  
**Yu-Hua Tseng**, Boston, Massachusetts, USA  
**Robert Tuttle**, New York, New York, USA  
**Theodore VanItallie**, New York, New York, USA  
**Bernardo Leo Wajchenberg**, São Paulo, Brazil  
**Gerald Watts**, Crawley, WA, Australia  
**Mary Yannakoulia**, Athens, Greece

***Metabolism Editorial Office***  
**Editorial Office**

## GUIDE FOR AUTHORS

---

### **AIMS AND SCOPE**

Metabolism promotes excellence in research by publishing high-quality original research papers, fast-tracking cutting-edge papers, research brief reports, mini-reviews, and other special articles related to all aspects of human metabolism. Work considered for publication in Metabolism includes studies in humans, animal and cellular models. Work with strong translational potential is prioritized. Metabolism will consider papers for publication in any aspect of translational and clinical metabolic research, including (but not limited to):

- Energy Expenditure and Obesity
- Metabolic Syndrome and Diabetes
- Nutrition, Exercise, and the Environment
- Genetics, Proteomics, and Metabolomics
- Carbohydrate, Lipid, and Protein Metabolism
- Endocrinology and Hypertension
- Mineral and Bone Metabolism
- Cardiovascular Diseases and Malignancies

### **Original Research Papers**

These manuscripts describe original research findings. They should be no longer than 5000 words, excluding the title page, abstract, references, tables, and figure legends, but including the abbreviation list, acknowledgements, funding, disclosure statement, and author contributions. They should contain no more than 10 tables and figures combined and no more than 60 references. Their final accepted version should, in general, not exceed 8 printed journal pages; additional information may be included as a supplementary appendix, to be published online.

These articles should include the following sections: Introduction, including the background and rationale of the study. Methods, in adequate detail to permit reproduction of the research. Results, using subheadings if required. Discussion, including the interpretation and implications of the findings. Acknowledgements, stating the names of those people who contributed to the study but did not meet the requirements for authorship. Funding, including all sources of financial support for the study. Disclosure statement, summarizing potential conflicts of interest with any of the authors, or mentioning that there are none. Author contributions, describing the contribution of each author in the design and conduct of the study, data collection and analysis, data interpretation and manuscript writing. References Tables Figure legends Figures

### **Fast-Track Papers**

These manuscripts describe original research findings of exceptional novelty and importance, usually in a rapidly growing and competitive field. The requirements are the same as for original research articles. Fast-track articles are usually peerreviewed within 2-3 weeks from submission and authors will be given up to 4 weeks for revisions; should these papers be accepted, articles will be published online within 4 weeks and appear in print in the next available issue of the journal.

### **Brief Reports**

These manuscripts describe limited but novel, focused and straightforward original research findings. Preliminary data, pilot studies, case reports, case series, or studies with small sample sizes do not usually qualify, unless they are of exceptional quality, utilize novel methodologies, or report findings that can form the basis of future, more definitive studies and/or are of great interest to the journal's readership. They should be no longer than 1500 words, excluding the title page, abstract, references, tables, and figure legends, but including the abbreviation list, acknowledgements, funding, disclosure statement, and author contributions. They should contain no more than 2 tables and figures combined and no more than 20 references. Their final accepted version should, in general, not exceed 3 printed journal pages; no additional information may be included. Other than the length, the requirements and review process are the same as for original research papers.

### **Methods Papers**

These manuscripts describe the development of novel methodologies in the field of metabolic research, including significant refinements of well-established techniques. They should be concise but detailed enough so that the method can be readily reproduced. Methodologies utilizing proprietary, non-commercially available tools (whether by the authors themselves or an independent vendor) will not be considered. The requirements and review process are the same as for original research articles.

### **Meta-analyses**

These articles systematically find, select, critique, and synthesize evidence relevant to well-defined questions in metabolic research. Meta-analyses of randomized controlled trials should follow PRISMA reporting guidelines and checklist, whereas those of observational studies should follow MOOSE reporting guidelines and checklist. The requirements and review process are the same as for original research articles. Additional information (including references to disqualified papers and study summary tables) should be included as a supplementary appendix, to be published online.

### **Mini-reviews**

These articles are usually but not necessarily solicited by the journal editors, and summarize salient literature that appeared over the past few years; they describe important new clinical research, or basic and translational research that has direct relevance to human metabolism. They may be divided under liberal headings and subheadings, and should be no longer than 5000 words, excluding the title page, abstract, references, tables, and figure legends, but including the abbreviation list, acknowledgements, funding, and disclosure statement (if applicable); no author contributions are required. They should contain no more than 6 tables and figures combined and no more than 100 references. Their final accepted version should not exceed 8 printed journal pages. The editors may modify these requirements at the time of invitation, depending on the amount of published research and the width of the field intended to be covered. These articles are not pre-screened and are usually reviewed by members of the editorial board.<

### **Commentaries**

These articles are usually but not necessarily solicited by the journal editors and concisely address a timely or controversial issue of importance to the journal's readership, usually in response to work that has been published in the journal (typically, they are published in the same issue). They should be unstructured (without headings) and should be no longer than 1500 words, excluding the title page, references, tables, and figure legends, but including the abbreviation list, acknowledgements, funding, and disclosure statement (if applicable); no abstract or author contributions are required. They should contain no more than 2 tables and figures combined and no more than 50 references. Their final accepted version should, in general, not exceed 2 printed journal pages; no additional information may be included. These articles are not pre-screened and are usually reviewed by members of the editorial board.

### **Editorials**

These articles are written by the journal editors or by invited authors. The requirements and review process are the same as for commentaries, although the scope of the articles may be more liberal.

### **Letters**

These articles are unsolicited short commentaries related to specific points of agreement or disagreement with the work that has been published recently in the journal (namely, in the past 3 issues). They should be no longer than 500 words (all inclusive), contain no more than 1 table or figure, and no more than 15 references. Accepted letters will only appear online, not in print.

### **Review Article**

Review articles should be a maximum of 5000 words, including a summary of no more than 200 words (not including up to 75 references) with subheadings in the text to highlight the content of different sections. The word limit includes a combined total of five figures or tables with legends. Reviews are generally commissioned by the Editors but unsolicited articles will be considered.

### **EDITORIAL PROCESS**

Metabolism publishes several categories of articles; all submissions must conform to the journal's reporting and style requirements and must be written in standard scientific English language. New submissions, except for solicited articles (eg, mini-reviews, commentaries), will be initially evaluated in depth by the editorial team that will decide on the overall quality of the work and its suitability for Metabolism. Manuscripts that do not conform to the general criteria for publication will be returned to the authors without detailed review, typically within 14 days. This will facilitate prompt notification of authors and will allow expedited resubmission of the authors' work elsewhere. Otherwise, manuscripts will be sent for formal review immediately. The editorial board will make every effort to reach initial decision on these manuscripts within 4–6 weeks from the submission date. If revisions are a condition of publication, ~8 weeks will be provided to re-submit a revised version of the manuscript. Accepted manuscripts will generally be published no later than 4 months from acceptance. The journal does not require submission or publication charges.

Please direct any queries to the Editorial Office: [metabolism@elsevier.com](mailto:metabolism@elsevier.com)

## **BEFORE YOU BEGIN**

### **Ethics in publishing**

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

### **Conflict of interest**

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: [http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/286/p/7923](http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923).

### **Submission declaration**

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

### **Contributors**

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

### **Authorship**

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

### **Changes to authorship**

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

*Before the accepted manuscript is published in an online issue:* Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

*After the accepted manuscript is published in an online issue:* Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

### **Clinical trial results**

In line with the position of the International Committee of Medical Journal Editors, the journal will not consider results posted in the same clinical trials registry in which primary registration resides to be prior publication if the results posted are presented in the form of a brief structured (less than 500 words) abstract or table. However, divulging results in other circumstances (e.g., investors' meetings) is discouraged and may jeopardise consideration of the manuscript. Authors should fully disclose all posting in registries of results of the same or closely related work.

### Reporting clinical trials

Randomized controlled trials should be presented according to the CONSORT guidelines. At manuscript submission, authors must provide the CONSORT checklist accompanied by a flow diagram that illustrates the progress of patients through the trial, including recruitment, enrollment, randomization, withdrawal and completion, and a detailed description of the randomization procedure. The CONSORT checklist and template flow diagram can be found on <http://www.consort-statement.org>.

### Registration of clinical trials

Registration in a public trials registry is a condition for publication of clinical trials in this journal in accordance with International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE, <http://www.icmje.org>) recommendations. Trials must register at or before the onset of patient enrolment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article. A clinical trial is defined as any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects of health outcomes. Health-related interventions include any intervention used to modify a biomedical or health-related outcome (for example drugs, surgical procedures, devices, behavioural treatments, dietary interventions, and process-of-care changes). Health outcomes include any biomedical or health-related measures obtained in patients or participants, including pharmacokinetic measures and adverse events. Purely observational studies (those in which the assignment of the medical intervention is not at the discretion of the investigator) will not require registration.

### Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. More information about this can be found here: <http://www.elsevier.com/authors/article-transfer-service>.

### Copyright

This journal offers authors a choice in publishing their research: Open Access and Subscription.

### For Subscription articles

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <http://www.elsevier.com/copyright>). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

### For Open Access articles

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>). Permitted reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

### Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights. For more information on author rights for:

Subscription articles please see <http://www.elsevier.com/journal-authors/author-rights-and-responsibilities>.

Open access articles please see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>.



### **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

### **Funding body agreements and policies**

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

### **Open access**

This journal offers authors a choice in publishing their research:

#### **Open Access**

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse
- An Open Access publication fee is payable by authors or their research funder

#### **Subscription**

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our access programs (<http://www.elsevier.com/access>)
- No Open Access publication fee

All articles published Open Access will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted reuse is defined by your choice of one of the following Creative Commons user licenses:

**Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC BY-NC-SA):** for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text and data mine the article, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation, and license their new adaptations or creations under identical terms (CC BY-NC-SA).

**Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND):** for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

Elsevier has established agreements with funding bodies, <http://www.elsevier.com/fundingbodies>. This ensures authors can comply with funding body Open Access requirements, including specific user licenses, such as CC BY. Some authors may also be reimbursed for associated publication fees. If you need to comply with your funding body policy, you can apply for the CC BY license after your manuscript is accepted for publication.

To provide Open Access, this journal has a publication fee which needs to be met by the authors or their research funders for each article published Open Access. Your publication choice will have no effect on the peer review process or acceptance of submitted articles.

The publication fee for this journal is **\$2500**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

### **Language (usage and editing services)**

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/languageediting/>) or visit our customer support site (<http://support.elsevier.com>) for more information.

### **Informed consent and patient details**

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author and copies of the consents or evidence that such consents have been obtained must be provided to Elsevier on request. For more information, please review the *Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals*, <http://www.elsevier.com/patient-consent-policy>. Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

### **Submission**

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

#### *Submit your article*

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/metabolism/>.

### **Referees**

Please submit, with the manuscript, the names, addresses and e-mail addresses of three potential referees. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

## **PREPARATION**

### **Use of word processing software**

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

### **Article structure**

#### *Subdivision - numbered sections*

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

#### *Introduction*

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

#### *Material and methods*

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

#### *Theory/calculation*

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

**Results**

Results should be clear and concise.

**Discussion**

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

**Conclusions**

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

**Appendices**

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

**Essential title page information**

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

**Structured abstract**

A structured abstract, by means of appropriate headings, should provide the context or background for the research and should state its purpose, basic procedures (selection of study subjects or laboratory animals, observational and analytical methods), main findings (giving specific effect sizes and their statistical significance, if possible), and principal conclusions. It should emphasize new and important aspects of the study or observations.

**Highlights**

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

**Keywords**

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

**Abbreviations**

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

**Acknowledgements**

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

### Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

### Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

### Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

#### Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

### Artwork

#### Electronic artwork

##### General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

#### Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

#### Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF) or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) in addition to color reproduction in print. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

### Illustration services

Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/illustrationservices>) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

### Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

### Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

### References

#### Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

#### Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

#### Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

#### References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

#### Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

#### Reference style

**Text:** Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

**List:** Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

#### Examples:

Reference to a journal publication:

[1] Van der Geer J, Hanraads JA, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2010;163:51–9.

Reference to a book:

[2] Strunk Jr W, White EB. *The elements of style*. 4th ed. New York: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. *Introduction to the electronic age*, New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304.

Note shortened form for last page number, e.g., 51–9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (*J Am Med Assoc* 1997;277:927–34) (see also [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)).

#### *Journal abbreviations source*

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations: <http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-ltwa/>.

#### **Supplementary data**

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

#### **Submission checklist**

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

##### **Ensure that the following items are present:**

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

#### **AFTER ACCEPTANCE**

##### ***Use of the Digital Object Identifier***

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

#### *Online proof correction*

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately - please upload all of your corrections within 48 hours. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

#### **Online proof correction**

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately - please upload all of your corrections within 48 hours. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

#### **Offprints**

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail (the PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use). For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/booklets>).

#### **AUTHOR INQUIRIES**

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. For detailed instructions on the preparation of electronic artwork, please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs at <http://www.elsevier.com/authorFAQ> and/or contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.

© Copyright 2014 Elsevier | <http://www.elsevier.com>