

CLAUBERT RADAMÉS OLIVEIRA COUTINHO DE LIMA

PROCESSOS INTERATIVOS
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO • ICS • UFBA



Influência de variantes genéticas na concentração de vitamina D de pacientes com síndrome metabólica e a associação entre a 25(OH)D com os componentes da síndrome e fatores associados

CLAUBERT RADAMÉS OLIVEIRA COUTINHO DE LIMA

Influência de variantes genéticas na concentração de vitamina D de pacientes com síndrome metabólica e a associação entre a 25(OH)D com os componentes da síndrome e fatores associados

Projeto de tese apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas – (PPgPIOS) da Universidade Federal da Bahia – UFBA sob a orientação da Prof^ª Dr^ª. Edilene Maria Queiroz Araújo

SALVADOR-BA
2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

OLIVEIRA COUTINHO DE LIMA, CLAUBERT RADAMÉS
INFLUÊNCIA DE VARIANTES GENÉTICAS NA CONCENTRAÇÃO
DE VITAMINA D DE PACIENTES COM SÍNDROME METABÓLICA E A
ASSOCIAÇÃO ENTRE A 25(OH)D COM OS COMPONENTES DA
SÍNDROME E FATORES ASSOCIADOS / CLAUBERT RADAMÉS
OLIVEIRA COUTINHO DE LIMA. -- SALVADOR-BA, 2021.
112 f. : il

Orientador: EDILENE MARIA QUEIROZ ARAÚJO.
Tese (Doutorado - PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PROCESSOS INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS (PIOS)) --
Universidade Federal da Bahia, INSTITUTO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE (ICS), 2021.

1. Vitamina D. 2. Polimorfismos de Nucleotídeo
Único. 3. Síndrome Metabólica . 4. Hidroxivitamina D .
5. 25(OH)D. I. QUEIROZ ARAÚJO, EDILENE MARIA. II.
Título.



A P R E S E N T A Ç Ã O

A presente tese de qualificação de doutorado escrita a partir da investigação sobre os temas: polimorfismos de nucleotídeo único (SNP), vitamina D e síndrome metabólica está estruturada conforme as orientações do Programa de pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas (PIOS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) que possui como objetivo final a elaboração de dois artigos científicos.

No primeiro momento, a tese apresenta uma INTRODUÇÃO GERAL sobre os temas centrais, seguido dos elementos textuais: JUSTIFICATIVA, OBJETIVOS, FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA e MÉTODOS GERAIS, que explana sobre as principais diferenças e procedimentos metodológicos entres os artigos. No tópico seguinte, RESULTADOS, estão devidamente estruturados os dois artigos citados abaixo, contendo cada um, os seguintes tópicos, introdução, objetivos, material e métodos, resultados, discussão e conclusão. Em seguida, estão apresentados como elementos da tese: a DISCUSSÃO GERAL e a CONCLUSÃO:

- Artigo 1: *“Influência de variantes polimórficas, em genes moduladores da concentração de vitamina D, e sua associação com os componentes da síndrome metabólica”*
- Artigo 2: *“Associação entre a concentração de vitamina D com os componentes da síndrome metabólica e fatores associados”*

Para ambos os artigos, as etapas da investigação foram conduzidas pela equipe de pesquisadores, devidamente treinada, do Núcleo de Pesquisa e Extensão em Genômica Nutricional e Disfunções Metabólicas – GENUT/UNEB, das quais estive à frente ativamente em todos os procedimentos metodológicos. Ao final, descrevo a produção científica gerada durante o curso de doutoramento.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
Instituto de Ciências da Saúde



PROCESSOS INTERATIVOS
POR ORGÃO E SISTEMA



TERMO DE APROVAÇÃO DA DEFESA PÚBLICA DE TESE

CLAUBERT RADAMÉS OLIVEIRA COUTINHO DE LIMA

**INFLUÊNCIA DE VARIANTES GENÉTICAS NA CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA D
DE PACIENTES COM SÍNDROME METABÓLICA E A ASSOCIAÇÃO ENTRE A 25(OH)D
COM OS COMPONENTES DA SÍNDROME E FATORES ASSOCIADOS**

Salvador, Bahia, 27 de dezembro de 2021.

COMISSÃO EXAMINADORA:

Decoupled by:

PROFA DRA EDILENE MARIA QUEIROZ ARAÚJO (Examinadora Interna)

Decoupled by:

PROF DR JOZÉLIO FREIRE DE CARVALHO (Examinador Interno)

Decoupled by:

PROFA DRA MARIA DE LOURDES LIMA DE SOUZA E SILVA (Examinadora Externa)

Decoupled by:

PROFA DRA LUCIANA FERREIRA DA SILVA (Examinadora Externa)

Decoupled by:

PROFA DRA JULIANA CORTES DE FREITAS (Examinadora Externa)

Dedico esta tese de doutorado

*às minhas sobrinhas, **Isabel** e **Laila**, e ao pequeno **Henry**, que está chegando, para que eles um dia possam se inspirar e tornar os seus sonhos, também, realidade.*

*ao meu maior fã, meu amado pai, **Rosival**, pelo entusiasmo e mensagens diárias.*

*e à minha maior inspiração profissional, minha amiga, meu combustível e orientadora, **Dila**.*

AGRADECIMENTOS

A todos os pacientes voluntários da pesquisa pela confiança e por tornarem esse momento possível;

À toda equipe de nutricionistas, psicólogas, estagiários e demais estudantes do núcleo de pesquisa;

Ao GENUT, minha casa!

À UNEB pelo apoio e financiamento

À UFBA, APAE e HGRS pela parceria.

Ao Prof Roberto Paulo pela escuta

À FAPESB pelo apoio

Aos meus alunos pela força

Ao PPgPIOS, especialmente a Carlos pela disponibilidade de sempre

Aos amigos próximos e também aqueles que mesmo distantes mandaram energias positivas

À Stella por toda ajuda nas imagens

À Sarinha pela força e preocupação de sempre

As minhas irmãs e ao meu irmão pela vibração

Por fim, eu, eternamente e sempre, agradeço a Deus por tudo!

Nada é capaz de deter a força de uma oração sincera!!!

COUTINHO-LIMA, Claubert Radamés. **Influência de variantes genéticas na concentração de vitamina D de pacientes com síndrome metabólica e a associação entre a 25(OH)D com os componentes da síndrome e fatores associados.** 2021. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Programa de Pós-graduação em Processos Interativos em Órgãos e Sistemas, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, 2021.

RESUMO

Introdução: a hidroxivitamina D [25 (OH)D] corresponde ao principal metabólito circulante da vitamina D e é o melhor biomarcador para indicar a concentração dessa vitamina no organismo. Nesse sentido, a exposição da pele a luz solar e a ingestão de alimentos fontes desta vitamina são fatores que podem afetar a concentração de 25(OH)D circulante. No entanto, múltiplos estudos genéticos em genes chave na via metabólica da vitamina D têm demonstrado forte influência de variantes genéticas na concentração de 25(OH)D. **Objetivos:** investigar se variantes genéticas nos genes *DHCR7* (*rs12785878*), *GC/BPD* (*rs7041*), *CYP27B1* (*rs4646536*), *CYP2R1* (*rs10741657*) e *VDR* (*rs1544410*) influenciam na concentração de vitamina D [25(OH)D] de pacientes com síndrome metabólica (SM) e avaliar se há associação entre a concentração de vitamina D com os componentes da SM e fatores associados à síndrome. **Material e Métodos:** estudo observacional, analítico, do tipo transversal, constituído por 338 participantes voluntários com Síndrome Metabólica diagnosticados com os parâmetros da *Federação Internacional de Diabetes* (2006). Utilizou-se as recomendações da I Diretriz Brasileira de Síndrome Metabólica (2005) para identificar os fatores associados à síndrome. A 25 hidroxivitamina D [25(OH)D] foi utilizada como biomarcador. Realizada a extração de DNA (método de extração salina de Miller, Dykes e Polesky); quantificação [com o uso do *NanoDrop™ One®*] e a genotipagem dos polimorfismos (utilizada a tecnologia PCR quantitativo em tempo real (real-time PCR) TaqMan®). **Resultados:** foi observada significância estatística entre o aumento do índice de massa corporal (IMC) e a baixa concentração de vitamina D ($p=0,030$). Foi encontrado uma tendência à significância estatística entre o rs7041 do gene *GC/BDP* com a pressão arterial diastólica (PAD) ($p=0,077$) e entre o gene *VDR*, variante rs1544410, com a pressão arterial sistólica (PAS) (0,081). Dentre os componentes da síndrome, foi observado significância estatística entre baixas concentrações da vitamina D com o aumento da pressão arterial diastólica ($p=0,009$) e triglicerídeos elevados ($p=0,040$); com fatores associados: índice Homa-IR alterado ($p=0,018$); LDL-c ($p=0,043$) e Colesterol Total ($p=0,028$), ambos elevados. Não foi constatada significância estatística entre o quantitativo de componentes da síndrome com a concentração de vitamina D. **Conclusão:** Foi encontrado uma tendência à significância estatística entre o rs7041 do gene *GC/BDP* com a pressão arterial diastólica (PAD) ($p=0,077$) e entre o gene *VDR*, variante rs1544410, com a pressão arterial sistólica (PAS) (0,081). Não houve nenhuma associação significativa entre os SNPs avaliados e a concentração de vitamina D, bem como com os componentes da síndrome metabólica. Verificamos associação significativa entre a concentração sérica de vitamina D com a pressão arterial diastólica, triglicerídeos, HOMA-IR, colesterol total, LDL-c e o índice de massa corporal. Não foi constatada significância estatística entre o quantitativo de componentes da síndrome e a concentração de vitamina D e que nesses pacientes com hipovitaminose D o risco cardiometabólico parece ser ainda maior.

Palavras-chave: Vitamina D; 25(OH)D; Polimorfismos de Nucleotídeo Único; Síndrome Metabólica

COUTINHO-LIMA, Claubert Radamés. **Influence of genetic variants on vitamin D concentration in patients with metabolic syndrome and the association between 25(OH)D with syndrome components and associated factors.** 2021. Thesis (Doctorate) - Institute of Health Sciences (ICS), Postgraduate Program in Interactive Processes in Organs and Systems, Federal University of Bahia (UFBA), Salvador, 2021.

ABSTRACT

Introduction: hydroxyvitamin D [25(OH)D] corresponds to the main circulating metabolite of vitamin D and is the best biomarker to indicate the concentration of this vitamin in the body. In this sense, skin exposure to sunlight and ingestion of food sources of this vitamin are factors that can affect the concentration of circulating 25(OH)D. However, multiple genetic studies on key genes in the vitamin D metabolic pathway have shown a strong influence of genetic variants on 25(OH)D concentration. **Objectives:** to investigate whether genetic variants in the DHCR7 (rs12785878), GC/BPD (rs7041), CYP27B1 (rs4646536), CYP2R1 (rs10741657) and VDR (rs1544410) genes influence the concentration of vitamin D [25(OH)D] in patients with metabolic syndrome (MS) and to assess whether there is an association between the concentration of vitamin D with the components of MS and factors associated with the syndrome. **Material and Methods:** observational, analytical, cross-sectional study, consisting of 338 volunteer participants with Metabolic Syndrome diagnosed with the parameters of the International Diabetes Federation (2006). The recommendations of the I Brazilian Guidelines on Metabolic Syndrome (2005) were used to identify the factors associated with the syndrome. The 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] was used as a biomarker. DNA extraction performed (Miller, Dykes and Polesky salt extraction method); quantification [using NanoDrop™ One®] and polymorphism genotyping (using TaqMan® quantitative real-time PCR technology. **Results:** statistical significance was observed between the increase in body mass index (BMI) and the low concentration of vitamin D ($p=0.030$). A trend towards statistical significance was found between the GC/BDP gene rs7041 with diastolic blood pressure (DBP) ($p=0.077$) and between the VDR gene, variant rs1544410, with systolic blood pressure (SBP) (0.081). Among the components of the syndrome, statistical significance was observed between low concentrations of vitamin D with increased diastolic blood pressure ($p=0.009$) and high triglycerides ($p=0.040$); with associated factors: altered Homa-IR index ($p=0.018$); LDL-c ($p=0.043$) and Total Cholesterol ($p=0.028$), both high. There was no statistical significance between the quantity of components of the syndrome and the concentration of vitamin D. **Conclusion:** A trend towards statistical significance was found between the GC/BDP gene rs7041 with diastolic blood pressure (DBP) ($p=0.077$) and between the VDR gene, variant rs1544410, with blood pressure systolic blood pressure (SBP) (0.081). There was no significant association between the evaluated SNPs and vitamin D concentration, as well as with the components of the metabolic syndrome. We found a significant association between serum vitamin D concentration and diastolic blood pressure, triglycerides, HOMA-IR, total cholesterol, LDL-c and body mass index. There was no statistical significance between the quantity of components of the syndrome and the concentration of vitamin D, and that in these patients with hypovitaminosis D, the cardiometabolic risk seems to be even greater.

Keywords: D vitamin; 25(OH)D; Single Nucleotide Polymorphisms; Metabolic syndrome

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Deficiência de vitamina D no mundo.....	17
Figura 2 - Fotobiossíntese da Vitamina D.....	23
Figura 3 - Metabolismo extra-renal e ativação da vitamina D por diversos tipos celulares.....	25
Figura 4 - Principais polimorfismos de nucleotídeos único relacionados ao metabolismo da vitamina D.....	32
Figura 5 - Idiograma da localização do gene <i>VDR</i> no cromossomo 12.....	34
Figura 6 - Idiograma da localização do gene <i>GC</i> no cromossomo 4.....	35
Figura 7 - Idiograma da localização do gene <i>CYP2R1</i> no cromossomo 11.....	37
Figura 8 - Idiograma da localização do gene <i>CYP27B1</i> no cromossomo 11.....	37
Figura 9 - Idiograma da localização do gene <i>DHCR7</i> no cromossomo 11.....	38
Figura 10 - Provável mecanismo de associação entre adiposidade corporal e a redução da biodisponibilidade da vitamina D	39
Figura 11 - Influência da vitamina D no desenvolvimento de componentes que condicionam a síndrome metabólica	41
Figura 12 - Efeitos potenciais da vitamina D na Síndrome Metabólica.....	44
Figura 13 - Procedimentos de coletas de dados.....	52

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Estudos de prevalência de hipovitaminose D no Brasil.....	19
Quadro 2 – Principais causas da hipovitaminose D.....	28
Quadro 3 – Principais alimentos fonte de vitamina D.....	30
Quadro 4 - Classificação da Síndrome Metabólica por órgãos Internacionais de Saúde.....	45
Quadro 5 – Mecanismos que explicam a relação entre a hipovitaminose D e os componentes da síndrome metabólica.....	48
Quadro 6 – Cronograma de execução final.....	94
Quadro 7 - Produção científica.....	95

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

1,25 (OH)₂D₃ - 1a,25-di-hidroxivitamina D₃

25 (OH)D - 25-hidroxivitamina D

A - Adenina

C - Citosina

CA - Circunferência abdominal

CC - Circunferência da cintura

CQ – Circunferência do quadril

CT - Colesterol Total

DCV - Doença Cardiovascular

DM - Diabetes *Mellitus*

DM2 - Diabetes *Mellitus* tipo 2

DP - Desvio padrão

G - Guanina

GJ - Glicemia de jejum

HAS - Hipertensão arterial sistêmica

HDL-c - Lipoproteína de alta densidade-colesterol

IMC- Índice de massa corporal

LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade- colesterol

PAD - Pressão Arterial Diastólica

PAS - Pressão arterial sistólica

PCR - Proteína-C reativa

SM - Síndrome Metabólica

SNP – Polimorfismo de Nucleotídeo Único

T - Timina

TG - Triglicerídeo

VDR - Receptor de vitamina D

VDRE - Vitamina D elementos responsivos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. JUSTIFICATIVA	18
3. OBJETIVOS	19
4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
4.1 VITAMINA D	20
4.1.1 A história	20
4.1.2 A relação com a saúde e a doença.....	21
4.1.3 Metabolismo.....	26
4.1.4 Principais funções	30
4.1.5 Fatores interferentes	30
4.1.6 Formas de obtenção.....	34
4.2 POTENCIAL GÊNICO	35
4.3 HIPOVITAMINOSE D E OS COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA	42
4.4 SÍNDROME METABÓLICA	49
4.4.1 Classificação da síndrome metabólica	49
4.4.2 Associação entre a hipovitaminose D e os componentes da síndrome metabólica.....	53
5. MÉTODOS	55
6. RESULTADOS	57
Artigo 1:	57
INFLUÊNCIA DE CINCO VARIANTES GENÉTICAS, EM GENES MODULADORES DA CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA D, E SUA ASSOCIAÇÃO COM OS COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA.....	57
Artigo 2:	77
ASSOCIAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA D COM OS COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA E FATORES ASSOCIADOS.....	77
7. DISCUSSÃO (artigo 1 e 2)	95
8. LIMITAÇÕES (artigo 1 e 2)	97
9. CONCLUSÃO (artigo 1 e 2)	97
REFERÊNCIAS	99

1. INTRODUÇÃO

A vitamina D, ou calciferol, é um precursor hormonal esteroide que desempenha um papel essencial para o bom funcionamento de vários processos biológicos corporais (TOMEI et al., 2020; MARQUES et al., 2010; PETERS; MARTINI, 2014). Essa vitamina desempenha diversas funções no organismo e é primordialmente requisitada na homeostase do cálcio e fósforo e no metabolismo ósseo (HOLICK, 2017). Contudo, tem sido reconhecido amplamente o seu papel na regulação da pressão arterial (DE-LUCA, 2016), diferenciação e proliferação celular (GODALA et al., 2016), secreção hormonal e atuação no sistema imunológico (YANG et al., 2013), incluindo efeitos anti-proliferativos e anti-inflamatórios (WIMALAWANSA, 2018) e em diversas doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (GODALA et al., 2016; MARQUES et al., 2010).

A vitamina D é amplamente conhecida como a "vitamina do sol" (WANG et al., 2020), pois a sua principal forma de obtenção ocorre a partir da exposição à luz solar, mais especificamente pela radiação ultravioleta tipo B (UVB) que promove a ativação de compostos presentes na pele, o 7-deidrocolesterol (IOM, 2011). Além disso, também pode ser obtida pela alimentação e suplementos (TOMEI et al., 2020; COUTINHO et al., 2017). Logo após sua obtenção, pela luminosidade solar ou dieta, a vitamina D é carregada na circulação sanguínea por um tipo específico de proteínas carreadoras (VDBP – *vitamin D binding protein*) e metabolizada inicialmente no fígado. Em seguida estas proteínas conduzem a pré-vitamina D ou hidroxivitamina D [25(OH)D] para os rins que realizam a segunda hidroxilação em 1,25 hidroxivitamina D [1,25(OH)D], forma ativa hormonal, que ocorre sob influência do paratormônio (PTH). O PTH promove a ativação da 1 α -hidroxilase e a expressão de receptores de vitamina D (SBEM, 2014; HOLICK, 2011). Essa fisiologia apresenta uma regulação estreita com a presença de mecanismos de compensação, que é controlado estreitamente por retroregulação, que influencia a sua própria síntese e diminuição da atividade da 1 α -hidroxilase a fim de evitar níveis séricos elevados que predisponham à toxicidade (SBPC, 2018; SBEM, 2014).

Do contrário, baixos níveis séricos de vitamina D parece predispor ao surgimento de determinadas doenças endocrinometabólicas. Muitas estão associadas ao excesso de tecido adiposo que reduz consideravelmente a sua biodisponibilidade plasmática (SCHUCH; GARCIA; MARTINI, 2009). Disfunções como resistência insulínica, obesidade, hipertensão arterial sistêmica, diabetes *mellitus* e dislipidemias são as principais relatadas, as quais correspondem a

componentes da Síndrome Metabólica (SM) (SALEHPOUR et al., 2012; SANTOS et al., 2006; SILVA et al., 2008).

A SM é considerada uma disfunção multifatorial e tem a resistência insulínica como principal gatilho. Um fator comum à síndrome é o acúmulo de tecido adiposo corporal que devido a sua afinidade lipídica à estrutura da vitamina D, pode mantê-la retida no adipócito e, conseqüentemente, influenciar na concentração dessa vitamina no organismo causando hipovitaminose D. Esta hipovitaminose é definida quando as concentrações de hidroxivitamina D [25(OH)D] estão <30ng/mL e pode ser classificada em insuficiente, quando estão entre 29 a 21 ng/mL, ou deficiente, quando <20ng/mL (VERRUSIO et al., 2017; PRASAD; KOCHHAR, 2016).

A concentração da vitamina D é um resultado complexo que envolve a interação de diversos fatores, tais como: ambientais, étnicos, religiosos, pessoais, fenotípicos, como a cor da pele, e, principalmente, genéticos. Sobre este último fator, a presença de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) em genes que estão envolvidos na via metabólica da vitamina D podem influenciar na produção de moléculas relacionadas a síntese, transporte, metabolismo e concentração da 25(OH)D (VERRUSIO et al., 2017; HOLICK, 2017).

Nesse sentido, além das contribuições ambientais, os fatores genéticos podem responder por 23% a 80% da variabilidade nos níveis séricos de vitamina D (RAHMADHANI, R. et al., 2017; FULEIHAN, G. et al., 2015; KAROHL C. et al., 2010). Os diferentes fenótipos que os indivíduos podem apresentar em relação à homeostase da vitamina D podem ser resultantes de determinadas particularidades genéticas, como polimorfismos em genes que regulam a expressão dos vários componentes envolvidos no metabolismo da vitamina D (TOMEI et al., 2020; WANG et al., 2020).

Nesse contexto, diversos estudos de associação genômica ampla (*GWAS – genomic wide association study*) foram realizados com o objetivo de elucidar os principais marcadores genéticos relacionados a vitamina D (SAPKOTA et al., 2016; LASKY-SU et al. 2012; WANG et al., 2010). A partir da análise genômica, esses estudos encontraram associações significativas entre baixas concentrações de hidroxivitamina D [25(OH)D] e variantes genéticas em *loci* próximos a genes envolvidos na produção de moléculas relacionadas a vitamina D sérica. Entre esses estão os mais estudados: o gene envolvido na síntese do colesterol (*DHCR7*, que codifica a 7-dehicolesterol redutase), na hidroxilação hepática e renal da vitamina D (*CYP2R1* e *CYP27B1*), em regiões do gene que codifica a proteína de ligação da vitamina D – (VDBP ou GC) e principalmente no gene

do receptor de vitamina D (VDR) (REVEZ et al., 2020; O'BRIEN et al., 2018; JIANG X. et al. 2018; SAPKOTA et al., 2016; LASKY-SU et al. 2012; WANG et al., 2010).

Apesar da elevada produção mundial de estudos genéticos voltados à vitamina D ainda carece de investigações mais direcionadas e específicas à população afro-brasileira, especialmente em pacientes com síndrome metabólica. Por isso, que esta pesquisa objetiva investigar de maneira geral se variantes genéticas (*rs12785878*, *rs7041*, *rs4646536*, *rs10741657* e *rs1544410*) influenciam na concentração de vitamina D [25(OH)D] de pacientes com síndrome metabólica (SM).

2. JUSTIFICATIVA

Estima-se que mais de 1 bilhão de pessoas, em todo o mundo, apresente deficiência ou insuficiência de vitamina D (HOLICK, 2017). Essa hipovitaminose D pode ser modulada por fatores como a cor da pele, aumento do tecido adiposo, obesidade e índice de massa corporal, mudanças de latitude, estações do ano e hábitos alimentares. No Brasil, apesar da exposição solar ocorrer praticamente durante todo o ano, a concentração dessa vitamina tem sido baixa em boa parte da população, sobretudo entre aquelas com importante aumento do tecido adiposo abdominal, que é, também, descrita como alteração chave no desenvolvimento da Síndrome Metabólica. Fatores étnicos e fenotípicos, como maior pigmentação cutânea (pela melanina), podem interferir na síntese de vitamina D e, conseqüentemente, proporcionar menores concentrações de 25(OH)D. Por este motivo, esses indivíduos precisam se expor ao sol por um período de tempo duas vezes superior em relação a indivíduos com cor de pele menos pigmentada. Vale ressaltar que há predominância de negros (pretos e pardos) na Bahia, em torno de 80,1%, (IBGE, 2017), o que reforça a necessidade de estudos nessa população. Além disso, tem sido sugerido que fatores genéticos exerçam extrema influência na concentração dessa vitamina. Nesse sentido, com a realização de estudos genéticos de associação, passou-se a investigar também a presença de polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) e sua associação com alterações no metabolismo de vitamina D. Porém, esses estudos são escassos na população brasileira e em pacientes com síndrome metabólica, o que torna este estudo pioneiro. Desta forma, esta pesquisa permitirá investigar marcadores genéticos de risco ao desenvolvimento da hipovitaminose D na nossa população com Síndrome Metabólica. É importante destacar que poucos estudos investigaram a possível associação desses *SNPs* e SM em população com alto índice de miscigenação. Contudo, faz-se importante salientar que os dados deste estudo poderão colaborar para uma melhor compreensão dos fatores envolvidos na etiopatogenia da hipovitaminose D, o que permitirá no futuro novas abordagens terapêuticas e/ou preventivas.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral:

- Investigar se variantes genéticas nos genes *DHCR7* (*rs12785878*), *GC/BPD* (*rs7041*), *CYP27B1* (*rs4646536*), *CYP2R1* (*rs10741657*) e *VDR* (*rs1544410*) influenciam na concentração de vitamina D [25(OH)D] de pacientes com síndrome metabólica (SM).

3.2 Específicos:

- Descrever as frequências alélicas e genótípicas dessas cinco variantes genéticas no metabolismo da vitamina D e avaliar se há associação com a concentração de 25(OH)D nos pacientes com SM;
- Avaliar se há associação entre essas variantes genéticas com a concentração de vitamina D [25(OH)D];
- Avaliar se há associação entre essas variantes genéticas com os componentes da SM [glicemia, pressão arterial e triglicerídeos elevados e colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) baixo];
- Avaliar se há associação entre as concentrações de 25(OH)D com fatores metabólicos associados à síndrome [Homa-IR, insulina de jejum, proteína C-reativa (PCR), colesterol total, lipoproteína de muito baixa densidade colesterol (VLDL-c), lipoproteína de baixa densidade colesterol (LDL-c), ácido úrico, ureia e creatinina];
- Investigar se o quantitativo de componentes da síndrome influencia na concentração de vitamina D;

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1 VITAMINA D

4.1.1 A história

A vitamina D foi descoberta no início do século 19 e desde então desempenhou um papel fundamental não apenas no raquitismo e na osteomalácia, mas também na manutenção da densidade óssea (HOLICK; M. F., 2013; MIÑAMBRES, I; SANCHEZ-QUESADA, J. L; PÉREZ, A.; 2015).

Vale destacar que o maior foco à cerca da discussão científica sobre a relação da vitamina D com a saúde e doença óssea deu início a partir da Revolução Industrial na Europa. Neste processo migratório em que as pessoas do campo se mudavam para os grandes centros urbanos repletos de cidades poluídas culminavam em um fator importante a hipovitaminose D, devido à baixa exposição solar frequente. Com esse novo padrão de vida nas sociedades urbanas, as crianças foram a principais atingidas e logo era possível observar inúmeras deformidades ósseas durante o processo de crescimento corporal (HOLICK; M. F., 2013). As principais alterações correspondiam a projeções ao longo da caixa torácica e das pernas. Investigações posteriores levaram à conclusão de que a baixa exposição à luz solar era o principal fator responsável por todas as manifestações ósseas causadas pela deficiência de vitamina D (MIÑAMBRES, I; SANCHEZ-QUESADA, J. L; PÉREZ, A.; 2015).

Atualmente a deficiência de vitamina D é considerada um problema de saúde mundial que afeta não apenas a saúde musculoesquelética, mas também uma ampla gama de disfunções não ósseas, agudas e doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (HOSSEIN-NEZHAD, A; HOLICK; M. F., 2013). Com proporções pandêmicas, estima-se que a concentração sérica insuficiente ou deficiente desta vitamina atinja mais de um bilhão de pessoas no mundo inteiro. Ocorre com taxas de prevalência de 30 a 60% entre crianças, adultos e idosos principalmente em regiões como Estados Unidos, Oriente Médio, Europa e América do Sul (HOLICK, 2017).

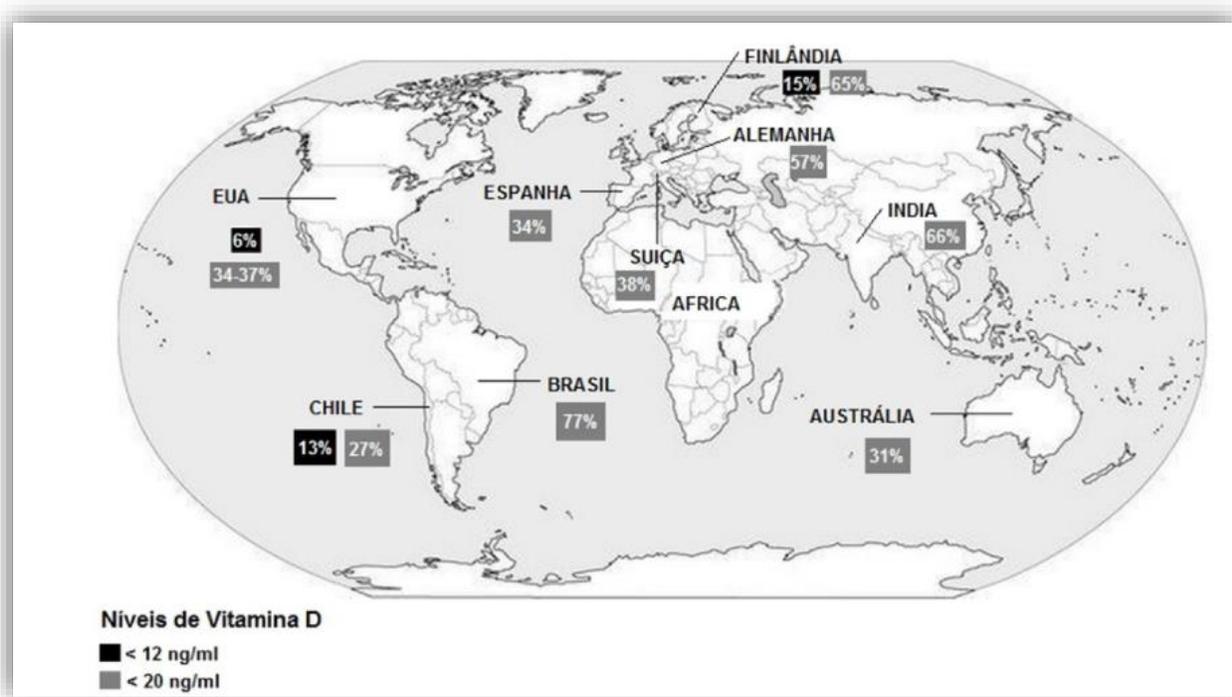
4.1.2 A relação com a saúde e a doença

A vitamina D, ou calciferol, é um nutriente de extrema importância para a saúde humana por apresentar inúmeras funções relacionadas ao metabolismo de minerais (como cálcio e fósforo), por atuar na saúde óssea (MAEDA et al., 2014; WINZENBERG, JONES, 2016) e apresentar influência no metabolismo da insulina, na regulação do sistema imunológico, cardiovascular e musculoesquelético (OLIVEIRA et al., 2014).

A redução da biodisponibilidade desta vitamina no organismo pode promover inúmeras alterações endocrinometabólicas. A sua deficiência está relacionada, principalmente, a doenças autoimunes e metabólicas como a diabetes *mellitus* tipo 1 e 2, hipertensão arterial sistêmica, hipertrigliceridemia e outras (CORREA, 2015). A hipovitaminose D tem sido altamente relacionada ao surgimento de diversas doenças, complicações clínicas e metabólicas em todos os ciclos da vida.

Dados do estudo de Jorge et al. (2018) mostram o panorama da deficiência de vitamina D no mundo (figura 1).

Figura 1 – Deficiência de vitamina D no mundo



Fonte: JORGE et al., 2018.

Apesar da maior parte da 25(OH)D ser obtida a partir da luz solar, a hipovitaminose D ocorre em diversos países ensolarados e essa deficiência pode estar relacionada a diversos fatores que influenciam desde o metabolismo, concentração e absorção (GAKSCH et al., 2017).

Abaixo seguem os principais estudos brasileiros e dois multinacionais que incluíram o Brasil, publicados na última década, sobre a alta prevalência de hipovitaminose D no país e que retrata um panorama geral nas diversas faixas etárias e grupos de risco (quadro 1).

Quadro 1 – Estudos de prevalência de hipovitaminose D no Brasil

Autor, ano	n	População	Idade (anos) Média ± DP	Local, latitude	25(OH)D (ng/mL) Média ± DP	25(OH)D (ng/mL) Valor de corte	Prevalência (%)	Vitamina D Ingestão ou suplementação oral
Saraiva, 2005 e 2007	420	Idosos, > 65 anos		São Paulo, SP 23°S				7% com suplementação oral: dose diária 125-1.000 UI
	177	Institucionalizados 125 M e 52 H	76 ± 9		14,4 ± 9,2	< 10	41	4% com suplementação
						< 20	71	
						< 40	99	
	243	Da comunidade 168 M e 75 H	79 ± 6		19,6 ± 11,2	< 10	16	10% com suplementação
						< 20	42	
					< 40	96		
Lips, 2006	151	Mulheres na pós-menopausa com osteoporose > 41 anos, em acompanhamento ambulatorial	67	Vitória, ES 20°S	32,4	< 20	15	Valores não mencionados
						< 30	42	
Maeda, 2007	121	Voluntários, 17-33 anos, 72 M e 49 H	24 ± 2	São Paulo, SP 23°S	31,2 ± 13,2	< 28,8	50	Sem suplementação
						< 40	75	
Silva, 2008	180	Pacientes ambulatoriais de endocrinologia, 14-91 anos, 165 M e 15 H	58	Belo Horizonte, MG 19°S	39,6 ± 16,8	< 14	0,8	27% com suplementação oral: doses variadas
						< 32	42	
		136				18	29,2 ± 0,8	≤ 10

Peters, 2008		Adolescentes, 16-20 anos, 72 M e 64 H		Indaiatuba, SP 23°S		≤ 30	62	Ingestão média diária de 140 UI
Russo, 2009	251	Voluntárias na pós-menopausa com baixa massa óssea, 50-85 anos	67 ± 6	Rio de Janeiro, RJ 22°S	26,0 ± 10,4	< 10	2	Sem suplementação
						< 20	27	
						< 30	67	
						< 40	92	
Kuchuk, 2009	1.486	Mulheres na pós-menopausa com osteoporose, 50-85 anos	-	Latitude 15°S-23°S	28,0 ± 7,6	< 10	0,5	Valores não mencionados
						< 20	12,5	
						< 30	66	
Lopes, 2009	415	Mulheres pós-menopausa com e sem fraturas	Sem fratura: 72,1 ± 4,4 Com fratura: 74,6 ± 5,8	São Paulo, SP 23°S	Sem fratura: 20,7 ± 10,7 Com fratura: 16,9 ± 8,2	< 30	Sem fratura: 82,3% Com fratura: 93,65%	Usuárias de suplementação foram excluídas
Maeda, 2010	99	Praticantes de exercícios físicos, 2 horas semanais de atividade física ao ar livre, 52 M e 47 H	67 ± 6	São Paulo, SP 23°S	31,6 ± 12,4	< 10	3	7% com suplementação oral: 200-400 UI
						< 20	19	
Unger, 2010	603	Voluntários: funcionários e estudantes da USP, 18-80 anos, 485 M e 118 H	47 ± 13	São Paulo, SP 23°S	Mediana pós-inverno: 21,4 Pós-verão: aumento de 10,6	< 30	77	Parâmetros não avaliados
Bandeira, 2010	93	Mulheres saudáveis na pós-menopausa	65 ± 7	Recife, PE 8°S	28,8 ± 14,8	< 20	24	Parâmetros não avaliados

Neves, 2012	91	Idosos com HAS, > 60 anos, 81 M e 10 H	69 ± 7	João Pessoa, PB 7°S	Adequados: 44,8 ± 12,5 Inadequados: 24,0 ± 3,5	< 20 < 30	4 33	Sem suplementação
Santos, 2013	234	Adolescentes 7-18 anos	13,0 ± 1,9	Curitiba, PR 25°	Variou de 20,8 a 22,0 nos tercís estudados	< 30 < 20	90,6 63,7	Sem suplementação
Oliveira, 2013	160	Adolescentes, 15-17 anos, 71 M e 89 H	16	Juiz de Fora, MG 21°S	-	≤ 10 ≤ 30	1,3 70,6	Ingestão média diária de 88 UI
Maeda, 2013	591	Voluntários, 17-100 anos, 388 M e 203 H	Institucionalizados: 76,2 ± 9,0 Comunidade: 79,6 ± 5,3 Exercício: 67,6 ± 5,4 Jovens: 23,9 ± 2,8	São Paulo, SP 23°S	Institucionalizados: 15,0 ± 11,9 Comunidade: 19,8 ± 11,0 Exercício: 31,5 ± 12,4 Jovens: 34,5 ± 14,0	< 10 < 20 < 30	19 47 73	6% com suplementação oral: 200-400 UI
Arantes, 2013	1.933	Mulheres na pós-menopausa com baixa massa óssea, 60-85 anos	67 ± 5	Latitude 8°S-33°S	27,2 ± 8,4	≤ 30	68,3	Parâmetros não avaliados
Martini, 2013	636	Adolescentes, adultos e idosos	-	São Paulo, SP 23°S	H: 16,7 M: 19,2	< 20	-	Ingestão variou de 108 a 140 UI/d
Cabral, 2013	284	Homens, avaliado fototipo de pele	69,4 ± 6,5	Recife, PE 8°S	28,0 ± 13,6	< 20 < 30	31,5 66,7	2,5 tomavam suplementos

Fonte: Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, 2014

4.1.3 Metabolismo

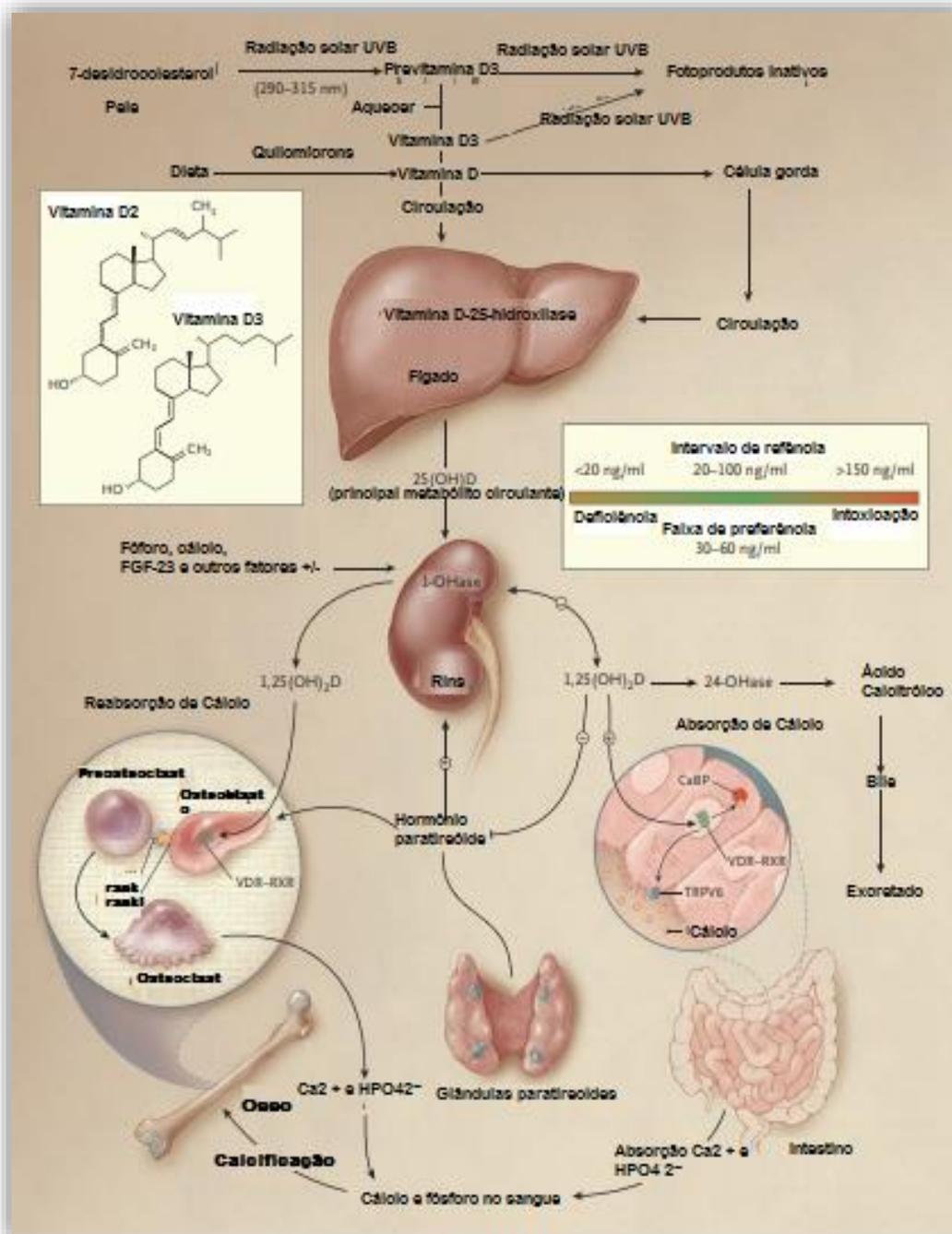
Diferentes estruturas de vitamina D estão disponíveis. Entre essas, a vitamina D2 e a Vitamina D3, ergocalciferol e colecalciferol, respectivamente. Pode-se encontrar a vitamina D2 a partir de fontes vegetais, tais como, cogumelos e leveduras, e a vitamina D3, por alguns alimentos de fonte animal, suplementação ou exposição solar (OLIVEIRA, et al. 2014; SARNI et al. 2014).

A formação da vitamina D inicia por meio de uma reação fotoquímica a partir da radiação ultravioleta-B (UVB, comprimento de onda de 290-315nm) que promove a conversão de 7-dehidrocolesterol em vitamina D₃ (colecalciferol). Durante a exposição solar, o 7-dehidrocolesterol (7-DHC) presente na pele é convertido em pré-vitamina D₃ (Figura 2). O 7-DHC está presente em todas as camadas da pele humana (HOLICK, 2007). Uma vez que a pré-vitamina D₃ é sintetizada, pode sofrer uma fotoconversão para lumisterol, taquisterol e 7-DHC ou uma isomerização induzida por calor para vitamina D₃. Os fotoprodutos solares (taquisterol e lumisterol) inativos no metabolismo do cálcio são produzidos em momentos de exposição prolongada à radiação solar UVB, evitando a intoxicação por vitamina D induzida pelo sol (HOLICK, 2004). A vitamina D₃ também é sensível à irradiação solar e, portanto, inativada para suprasterol 1 e 2 e para 5,6-trans-vitamina D₃.

Nesse sentido, uma vez formada, a vitamina D₃ é ejetada para fora da membrana do plasma de queratinócitos e é conduzida para o leito capilar dérmico pelas proteínas de ligação à vitamina D (DBP). A vitamina D ingerida é incorporada aos quilomícrons, que são liberados no sistema linfático e entra no sangue venoso, onde se liga as DBP e às lipoproteínas transportadas para o fígado. Em seguida, ocorre a hidroxilação hepática e essa vitamina se transforma em hidroxivitamina D [25(OH)D] ou calcidiol. A vitamina D₂ e D₃ são 25-hidroxiladas pela enzima D-25-hidroxilase do fígado (*CYP2R1*) para produzir o principal metabólito circulante da vitamina D, [25(OH)D], que é usado para determinar o *status* de vitamina D, classificado em deficiência, insuficiência e suficiência em um paciente. Este metabólito ainda inativo sofre mais uma hidroxilação adicional pela 25(OH)D-1 α -hidroxilase (*CYP27B1*) nos rins sob ação do paratormônio (PTH), para formar o hormônio secosteróide 1 α ,25-dihidroxivitamina D [1,25(OH)₂D] ou calcitriol, forma ativa hormonal. A forma inativa 25(OH)D ligado a DBP também é filtrada nos rins e é reabsorvida nos túbulos renais proximais por receptores de cubilina de megalina (HOSSEIN-NEZHAD; HOLICK, 2013). Ainda nos rins, a 25OHD pode sofrer

hidroxilação pela 24 hidroxilase (CYP24A1), se transformando em um produto inativo, importante também para evitar intoxicação por vitamina D.

Figura 2 – Fotobiossíntese da Vitamina D



Legenda: UVB: ultravioleta tipo B; D2: ergocalciferol; D3: colecalciferol; BDP: proteínas de ligação da vitamina D; PTH: paratormônio; 7DHC: 7-deidrocolesterol; P: fósforo; Ca: cálcio; FGF23: fator de crescimento de fibroblastos 23; OHase: hidroxilase.

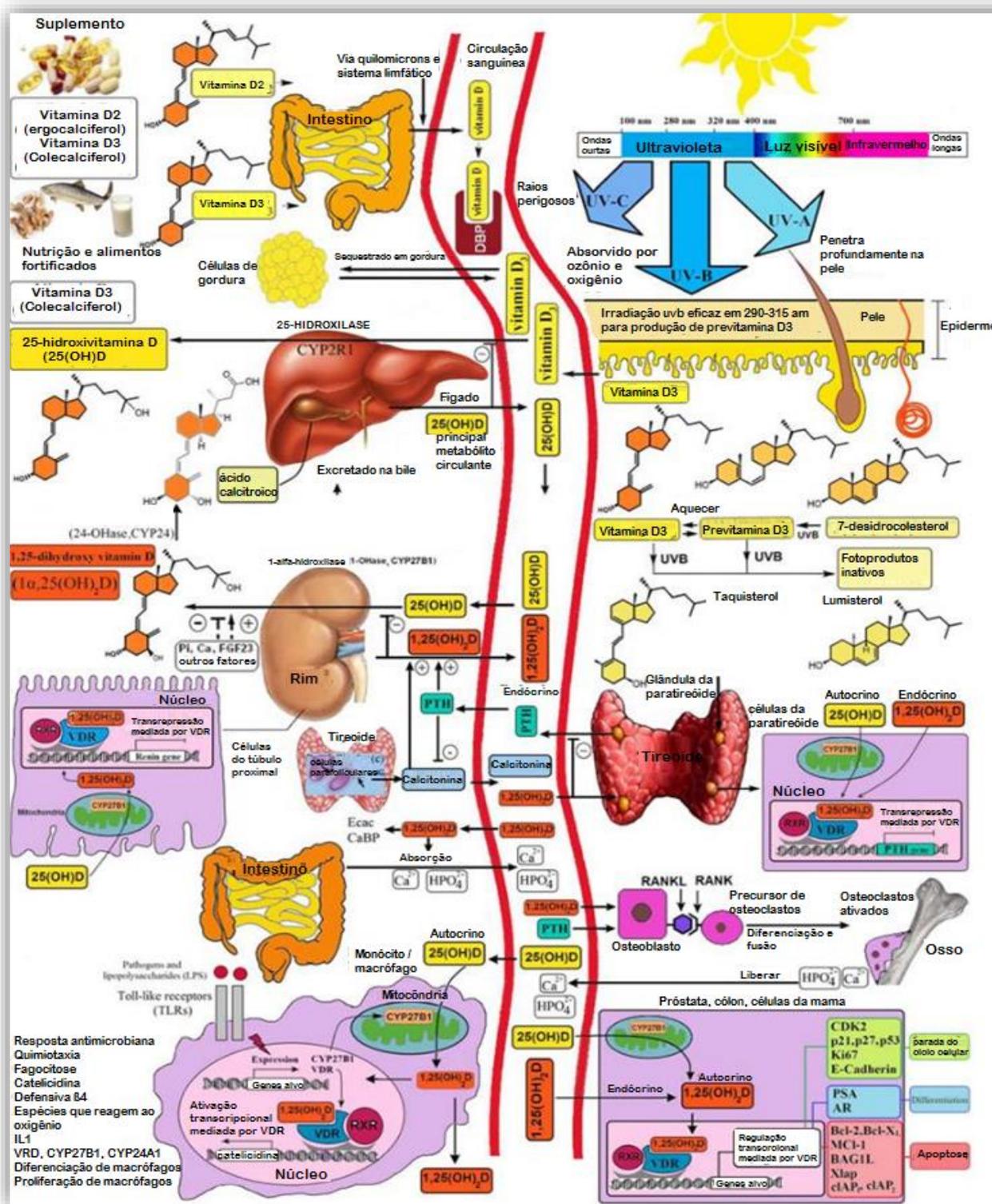
Fonte: HOLICK, 2007

A 1α -hidroxilação renal é estreitamente regulada, sendo potencializada pelo paratormônio (PTH), hipocalcemia e hipofosfatemia e inibida pela hiperfosfatemia, fator de crescimento de fibroblastos 23 e o próprio $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. A enzima 1α -hidroxilase é também estimulada pelo PTH que tem como objetivo aumentar os níveis séricos de cálcio e diminuir os de fosfato após ser secretado pela paratireoide (COSTA, 2015). A $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ executa inúmeras funções biológicas, além de regular a transcrição gênica por meio de um receptor de vitamina D nuclear de alta afinidade (VDR) (HOSSEIN-NEZHAD; HOLICK, 2013; COSTA, 2015).

A absorção do cálcio e fosfato é estimulada pelo calcitriol, juntamente com o PTH, que vai estimular a produção e liberação de uma citocina chamada ativador do receptor do fator nuclear kappa-B (do inglês *nuclear factor kappa* – NF-kB) (RANKL) que tem papel essencial na osteoclastogênese e osteoclastos gigantes que fazem com que haja a reabsorção óssea. O calcitriol e o PTH são também responsáveis pela reabsorção do cálcio pelos rins. Além disso, o calcitriol regula vários genes com a ação dependente da ligação do receptor nuclear da vitamina D em diferentes tipos celulares (WAYHS, 2011).

É sabido que a maioria dos tecidos e células do corpo possui receptores de vitamina D (VDR) e que vários apresentam a maquinaria enzimática para realizar a conversão da forma primária inativa circulante, 25-hidroxivitamina D, à forma ativa, $1,25$ -di-hidroxivitamina D. O VDR está presente na maioria dos tecidos e células do corpo. Muitos desses órgãos e células, incluindo o cérebro, músculo liso vascular, próstata, mama e macrófagos possuem VDR e também a capacidade de produzir $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (figura 3).

Figura 3 – Metabolismo extra-renal e ativação da vitamina D por diversos tipos celulares



Legenda: 1-OHase = 25-hidroxivitamina D-1 α -hidroxilase; 24-OHase = 25-hidroxivitamina D-24-hidroxilase; 25(OH)D = 25-hidroxivitamina D; 1,25(OH)₂D₃ = 1,25-di-hidroxivitamina D; CaBP = proteína de ligação ao cálcio; DBP = proteína de ligação à vitamina D; ECaC = epitelial do canal de cálcio; FGF-23 = fatores de crescimento de fibroblastos; PTH = hormônio da paratireoide; RANK = ativador do receptor do NF- κ B; RANKL = ativador do receptor do ligante NF- κ B; RXR = receptor de ácido retinóico; TLR2 / 1 = receptor semelhante a Toll 2/1; VDR = receptor de vitamina D; vitamina D = vitamina D2 ou vitamina D3.

Fonte: HOSSEIN-NEZHAD, HOLICK., 2013.

Disfunções renais e outros fatores podem comprometer a conversão da vitamina D na forma ativa, além disso a meia vida da 1,25(OH)₂D é de aproximadamente 15h. Por esses motivos a concentração da vitamina D deve ser avaliado bioquimicamente através das dosagens de 25(OH)D que se encontra em maior quantidade na corrente sanguínea, apresentando vida média de 15 a 50 dias (DING et al., 2012; MAEDA et al., 2014).

4.1.4 Principais funções

A vitamina D é um importante nutriente para manter os níveis séricos de Cálcio (Ca) e Fósforo (P) no organismo. A manutenção desses dois micronutrientes em uma faixa fisiológica saudável é de extrema importância para inúmeras funções metabólicas, regulação da transcrição e metabolismo ósseo (HOSSEIN-NEZHAD; HOLICK, 2012).

A interação entre o calcitriol com o receptor de vitamina D no intestino delgado promove o aumento da absorção intestinal de cálcio entre 10% a 40% e de fósforo entre 60% a 80%. O calcitriol também estimula os osteoclastos maduros a removerem o cálcio e o fósforo do tecido ósseo para manter as concentrações adequadas de cálcio e fósforo sérico. Nos rins, o 1,25 (OH)₂D promove a reabsorção de cálcio do filtrado glomerular (HOLICK, 2007).

A forma hormonal da vitamina D possui uma ampla gama de ações biológicas comprovadas, como inibir a proliferação e diferenciação celular, inibição da angiogênese, estimulação da síntese de insulina, indução de apoptose, redução da produção de renina e estimulação da produção de catelicidina por macrófagos. Além disso, 1,25 (OH)₂D estimula sua própria destruição nos rins e nas células que têm um receptor de vitamina D (VDR) e responde a 1,25 (OH)₂ D, aumentando a expressão da 25(OH)D-24-hidroxilase (CYP24A1) para metabolizar 25(OH)D e 1,25(OH)₂D em formas inativas solúveis em água (figura 3).

4.1.5 Fatores interferentes

A síntese da vitamina D pode ser influenciada por diversos fatores como a estação do ano, aspectos culturais e religiosos, como o uso de vestimentas que impossibilitam a penetração dos raios solares na pele (OLIVEIRA et al., 2014). Pode haver, ainda, variação nos níveis séricos dessa vitamina em determinadas populações, como as que apresentam maior pigmentação de melanina na pele, as que vivem em regiões geográficas menos ensolaradas e aquelas que fazem o uso frequente de protetor solar (SARNI et al., 2014). Além disso, o excesso de tecido adiposo corporal

pode ser considerado um dos principais agentes causadores da redução sérica de vitamina, mesmo em crianças (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2016).

Um aumento no ângulo zenital do sol durante o inverno, no início da manhã e no final da tarde resulta em um caminho mais longo para os fótons solares UVB viajarem através da camada de ozônio, que os absorve com eficiência. Essa é a explicação para pouca iluminação solar em regiões que estão acima e/ou abaixo de aproximadamente 33° de latitude e que podem influenciar na produção de vitamina D na pele durante o inverno. Essa também é a explicação do porquê, seja próximo a linha do equador e nas regiões mais ao norte e ao sul do mundo no verão, onde o sol brilha quase 24 horas por dia que a síntese de vitamina D ocorre apenas entre as 10h e 15h do dia (HOLICK, 2012).

A produção cutânea de vitamina D pode ser influenciada por inúmeros fatores, conforme listados no quadro 2 (HOSSEIN-NEZHAD; HOLICK, 2012). Nos grandes centros urbanos, onde os níveis de dióxido de nitrogênio e ozônio são bastante elevados, a síntese de vitamina D fica comprometida devido fato de alguns fótons UVB serem absorvidos. Outro fator limitante é uso frequente de transportes nas grandes cidades em que, muitas vezes, as pessoas se locomovem com os vidros fechados e esse também possui a capacidade de absorver toda radiação UVB.

Quadro 2 - Principais causas da hipovitaminose D

CAUSA	MECANISMO	EFEITO
Redução da síntese cutânea		
Uso de protetor solar	absorção da radiação UVB pelo protetor solar	Reduz a síntese de vitamina D3 - FPS 8 em 92,5%, FPS 15 em 99%
Pigmento da pele	absorção da radiação UVB pela melanina	Reduz a síntese de vitamina D3 em até 99%
Envelhecimento	redução do 7-desidrocolesterol na pele	Reduz a síntese de vitamina D3 em cerca de 75% em uma pessoa de 70 anos
Estação, latitude e hora do dia	número de fótons UVB solares atingindo a terra dependendo do ângulo zenital do sol (quanto mais oblíquo o ângulo, menos fótons UVB alcançam a Terra)	Acima de 35° graus de latitude norte (Atlanta, EUA, exemplo), pouca ou nenhuma vitamina D3 pode ser produzida de novembro a fevereiro
Pacientes com enxertos de pele, queimaduras	redução acentuada de 7-deidrocolesterol na pele	Diminui a quantidade de vitamina D3 que a pele pode produzir
Diminuição da biodisponibilidade		
Má absorção	redução na absorção de gordura, resultante de fibrose cística, doença celíaca, doença de Whipple, doença de Crohn, cirurgia de ponte de safena, medicamentos que reduzem a absorção de colesterol e outras causas.	Prejudica a capacidade do corpo de absorver vitamina D
Obesidade	sequestro de vitamina D na gordura corporal.	Reduz a disponibilidade de vitamina D
Catabolismo aumentado		
Anticonvulsivantes, glicocorticoides, HAART (tratamento da AIDS) e imunossupressores	ligação ao receptor de esteróide e xenobiótico ou ao receptor de pregnano X.	Ativa a destruição da 25-hidroxitamina D e 1,25-dihidroxitamina D para ácido calcitrico inativo
Amamentação		
Baixo teor de vitamina D no leite humano		Aumenta o risco de hipovitaminose D infantil quando o leite materno é única fonte de nutrição
Diminuição da síntese de 25-hidroxitamina D		
Insuficiência hepática → Disfunção leve a moderada → Disfunção de 90% ou mais	-	Causa má absorção de vitamina D, mas produção de 25-hidroxitamina D é possível Resulta na incapacidade de produzir 25-hidroxitamina D suficiente
Aumento da excreção urinária de 25-hidroxitamina D		
Síndrome nefrótica -	Perda da ligação de 25-hidroxitamina D à proteína de ligação da vitamina D na urina	Resulta em perda substancial de 25-hidroxitamina D para a urina
Diminuição da síntese de 1,25-dihidroxitamina D		
Doença renal crônica → Estágios 2 e 3 → Estágios 4 e 5	A hiperfosfatemia aumenta o fator de crescimento de fibroblastos 23, que diminui a 25-hidroxitamina D-1 α -hidroxilase atividade. Incapacidade de produzir quantidades adequadas de 1,25-di-hidroxitamina D.	Provoca diminuição da excreção fracionada de fósforo e diminuição níveis séricos de 1,25-dihidroxitamina D Causa hipocalcemia, hiperparatireoidismo secundário e renal doença óssea

Transtornos hereditários - raquitismo		
Raquitismo por deficiência de pseudovitamina D (raquitismo dependente de vitamina D tipo 1)	mutação da 25-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase (CYP27B1)	Provoca síntese renal reduzida ou nenhuma síntese de 1,25-dihidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase
Raquitismo resistente à vitamina D (raquitismo dependente de vitamina D tipo 2) -	mutação do gene do receptor de vitamina D	Causa resistência parcial ou completa à ação da 1,25-di-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase, resultando em níveis elevados de 1,25-di-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase
Raquitismo dependente de vitamina D tipo 3	superprodução de proteínas de ligação a elementos responsivos a hormônios	Impede a ação da 1,25-dihidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase na transcrição, causando resistência da célula-alvo e níveis elevados de 1,25-dihidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase
Raquitismo hipofosfatêmico autossômico dominante	mutação do gene para o fator de crescimento de fibroblastos 23, prevenindo ou reduzindo sua degradação	Causa fosfatúria, diminuição da absorção intestinal de fósforo, hipofosfatemia e diminuição da 25-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase, resultando em níveis normais baixos ou baixos de 1,25-dihidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase
Raquitismo hipofosfatêmico ligado ao X	mutação do gene <i>PHEX</i> , levando a níveis elevados de fator de crescimento de fibroblastos 23 e outras fosfatoninas	Causa fosfatúria, diminuição da absorção intestinal de fósforo, hipofosfatemia e diminuição da atividade renal da 25-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase, resultando em níveis normais baixos ou baixos de 1,25-dihidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase
Distúrbios adquiridos		
Osteomalácia induzida por tumor	secreção tumoral de fator de crescimento de fibroblastos 23 e possivelmente outras fosfatoninas	Causa fosfatúria, diminuição da absorção intestinal de fósforo, hipofosfatemia e diminuição da 25-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase, resultando em níveis normais baixos ou baixos de 1,25-dihidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase
Hiperparatireoidismo primário	aumento nos níveis do hormônio paratireoide, causando aumento do metabolismo de 25-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase e 1,25-dihidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase	Diminui os níveis de 25-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase e aumenta a 1,25-di-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase. Níveis de vit. D que são normais altos ou elevados
Distúrbios granulomatosos, sarcoidose, tuberculose e outras condições, incluindo alguns linfomas	conversão por macrófagos de 25-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase a 1,25-di-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase	Diminui os níveis de 25-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase e aumenta a 1,25-di-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase. Níveis de vit. D
Hipertireoidismo	metabolismo aprimorado de 25-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase	Reduz os níveis de 25-hidroxicitocromo P-450 1 α -hidroxilase

Legenda: UVB= ultravioleta B; FPS= fator de proteção solar; HAART= terapia anti-retroviral altamente ativa.

Fonte: HOLICK, 2007; TSIARAS, WEINSTOCK, 2011; KRATZ; SILVA; TENFEN, 2018.

Os idosos correspondem ao grupo etário que merece atenção especial quanto a deficiência de vitamina D. Isso porque na fase inicial da síntese dessa vitamina na pele esses apresentam limitações estruturais. Durante o processo de envelhecimento é comum que os idosos apresentem

afinamento natural da pele (epiderme e derme), com consequente diminuição da reserva de 7-deidrocolesterol (7-DHC) e diminuição do processo de síntese cutânea (CASTRO, 2011). Somese a isso, encontra-se o aumento da pigmentação da pele, a aplicação de protetor solar, poluição do ar e o vestuário (MEZZA et al., 2012; BOUCHER, 2012). Independente do processo senil, a melanina funciona como protetor solar natural, de modo que, quanto mais pigmentada for a pele, maior será sua necessidade de exposição solar (NEVES et al., 2012). Da mesma forma, a poluição do ar e o uso de filtros solares, fazem com que os raios ultravioletas não atuem fortemente na pele, diminuindo assim a síntese de vitamina D.

4.1.6 Formas de obtenção

São restritos os alimentos fontes de vitamina D. Dentre esses estão os peixes, como salmão, sardinha e atum e outros alimentos como o fígado, a gema do ovo e os óleos de fígado de peixe que são os que apresentam maiores quantidades na sua composição quadro 3 (SARNI et al., 2014). Porém, a principal fonte de vitamina D que podemos obter é pela formação endógena por meio da exposição à luz solar, sobretudo a partir dos raios ultravioleta tipo B (UVB) (OLIVEIRA et al., 2014). Holick (2007) sugere que se expor por 15 minutos a radiação solar com cerca de 18% do corpo (braços e pernas), todos os dias, já se faz suficiente para que ocorra a síntese de vitamina D necessária.

Apesar da exposição solar corresponder a melhor forma de obtenção desta vitamina, a prevalência de Hipovitaminose D na população em geral tem sido muito elevada, mesmo em países ensolarados. Isso se dá por conta das constantes mudanças de hábitos de vida e fatores ambientais, tais como: menor tempo de exposição solar, o uso de protetor, altos níveis de poluição, maior tempo em locais fechados como casa e escola (HOSSEIN-NEZHAD; HOLICK, 2013; ACUNA AGUILARTE et al., 2016; KURIHAYASHI et al., 2015). A deficiência e/ou insuficiência de vitamina D está associada a baixa ingestão de alimentos fontes que pode ser justificada pelo alto custo e, como agravante, a lista desses alimentos é bastante reduzida. Além disso, a má absorção intestinal e o uso de alguns medicamentos podem influenciar negativamente na disponibilidade da vitamina D. Outro fator que merece destaque são os que estão relacionados a variações genéticas em genes envolvidos no metabolismo da vitamina D (SOARES et al., 2014; WANG, 2013; COUTINHO-LIMA et al., 2017).

Quadro 3 - Principais alimentos fonte de vitamina D

Alimentos	Porção	Quantidade de Vitamina D por porção
Salmão selvagem	100g	600 -1.000 UI
Sardinha em conserva (enlatada)	100g	300 UI
Sardinha fresca	100g	208UI
Atum	100g	230 UI
Cavala em conserva	100g	250 UI
Óleo de fígado de bacalhau	5ml	400 -1.000 UI
Leite de vaca	1 litro	40 UI
Iogurte	100g	90 UI
Gema de ovo	1 unidade	20-25 UI
Fígado de boi	100g	50 UI
Cogumelos frescos	100g	100 UI
Cogumelos secos ao sol	100g	1.600 UI

Legenda: UI: Unidade Internacional

Fonte: Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (2014); Holick, 2007.

4.2 POTENCIAL GÊNICO

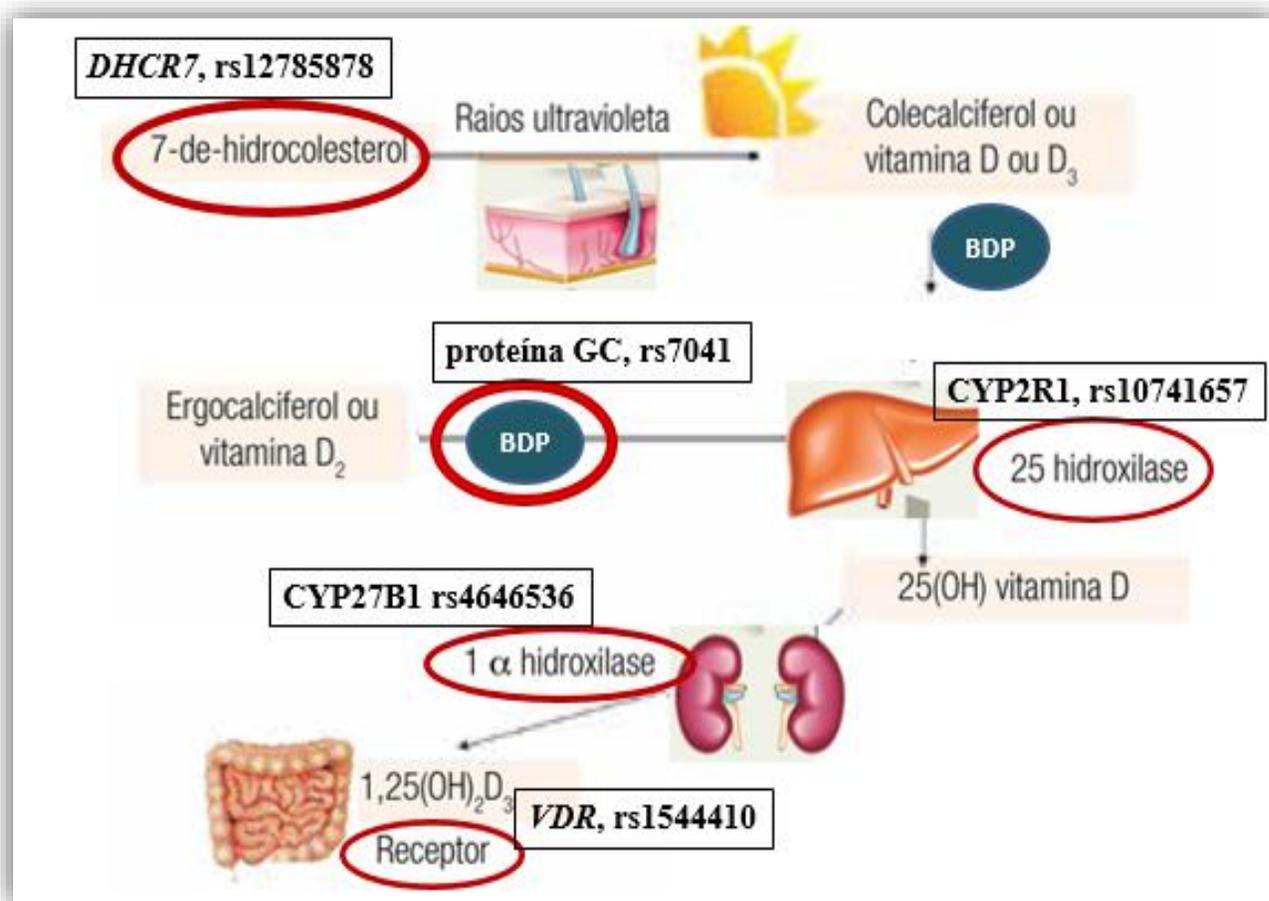
Estima-se que haja de 200 a 2.000 genes que possuem elementos de resposta à vitamina D ou que são influenciados de forma indireta, possivelmente pela epigenética. Esses genes são regulados pela 1,25 (OH)₂D e têm uma ampla gama de ações biológicas comprovadas (EYLES et al., 2013).

Um estudo de microarray realizado por *Hosseini-nezhad, Spira, Holick (2013)* sugere que qualquer melhora no nível sérico da vitamina D afetará significativamente a expressão de genes que têm inúmeras funções biológicas em mais de 80 vias, ligadas ao câncer, doenças autoimunes e doenças cardiovasculares, e que têm sido associadas à deficiência de vitamina D.

A alta taxa de prevalência de deficiência de vitamina D no mundo, em parte, pode ser explicada por determinantes genéticos. Estudos de associação genômica ampla (WANG et al., 2010; JIANG et al., 2018; REVEZ et al., 2020) sugerem que a concentração sérica de vitamina D podem ser altamente influenciada por variantes genéticas em moléculas relacionadas, desde a sua síntese na pele, a partir do (7-DHC), nas enzimas que realizam a hidroxilação hepática e renal, na proteína carreadora (BDP) (WANG et al., 2010) e até no seu receptor, VDR - *vitamin D receptor*,

que é amplamente estudado por inúmeros pesquisadores (figura 4) (JENKINSON, C. et al., 2019; LATACZ, M et al., 2020). Além disso, estudos realizados por Shea et al. (2009) e Snellman et al. (2009) em gêmeos e famílias, indicam que a herdabilidade é um fator responsável por um grau extremamente significativo de variabilidade nos níveis de hidroxivitamina D [25(OH)D].

Figura 4 – Principais polimorfismos de nucleotídeo único relacionados ao metabolismo da vitamina D



Fonte: Adaptada da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM), 2014

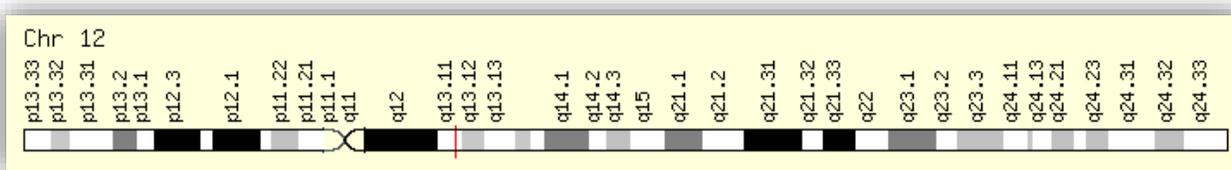
6.2.1 Receptor de vitamina D – VDR

Estima-se que mais de 470 polimorfismos atuem modulando a expressão do gene do receptor de vitamina D (VDR) e que esses, além da importância funcional, exerçam efeitos potenciais na associação a doenças endocrinometabólicas (EYLES et al., 2013).

O VDR é um membro da superfamília de receptores de esteroides e é responsável por regular a transcrição em muitos genes responsivos. Na verdade, mais de 200 genes, incluindo aqueles que regulam a diferenciação e proliferação celular, bem como vários sistemas metabólicos são alvos da vitamina D (STRANGE; SHIPMAN; RAMACHANDRAN, 2015).

A localização do gene *VDR* é no braço longo do cromossomo 12 (12q13.11) (figura 5), e consiste em 9 éxons distribuídos entre as regiões 5' promotora e 3' reguladora (3-UTR). Os éxons 7, 8 e 9 codificam o domínio de ligação para o calcitriol [1,25(OH)D] (UITTERLINDEN et al., 2004). Entre vários polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), alguns são mais comumente estudados: *FokI* (rs2228570), *ApaI* (rs7975232), *TaqI* (rs731236) e em especial o *BsmI* (rs1544410), um dos mais estudados, e que será investigado neste estudo. O SNP *BsmI* está localizado próximo do terminal 3'-UTR do gene e não determina modificações estruturais da proteína. Esse polimorfismo não altera a sequência de aminoácidos da proteína, mas pode afetar a expressão gênica, possivelmente por meio do controle da estabilidade do RNA mensageiro (*mRNA*) (UITTERLINDEN et al., 2004).

Figura 5 - Idiograma da localização do gene *VDR* no cromossomo 12.



Localização citogenética: 12q13.11 - localizado na região q13.11 do cromossomo 12.

Fonte: GeneCards®

Numa pesquisa que investigou o polimorfismo *BsmI*, a presença dos fenótipos de risco foi associada ao maior índice de massa corporal (IMC) e a maior risco de desenvolver obesidade quando comparado ao genótipo selvagem. O estudo verificou ainda que os portadores do genótipo de risco tiveram aumento de 4kg/m² no IMC e 9Kg no peso corporal (YE, W. Z. et al., 2001).

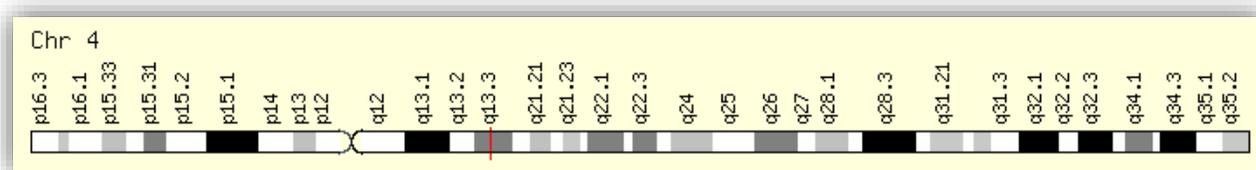
Polimorfismos de nucleotídeos único (SNP) no gene do receptor da vitamina D (VDR) foram associados a variações na secreção e sensibilidade à insulina. Além disso, a concentração de vitamina D pode afetar indiretamente a resposta da insulina no tecido muscular, esquelético e adiposo. Essa ação ocorre devido a regulação dos níveis de cálcio extracelular que é essencial para os processos intracelulares mediados pela insulina (SCHMITT et al., 2018).

6.2.2 Gene *GC/DBP*

O gene *GC* (*Group-specific componente - GC*) (figura 6), codifica a proteína de ligação da vitamina D (DBP, *vitamin D-binding protein*), uma proteína de transporte plasmático multifuncional, também conhecida como componente específico de grupo, sintetizada no fígado (SPEECKAERT et al., 2006). É uma alfa-globulina (um membro da família da albumina) que conduz os metabólitos da vitamina D do intestino e da pele para os órgãos-alvo. Logo, transporta tanto a 25(OH)D quanto a 1,25(OH)2D, a forma inativa e ativa da vitamina D, respectivamente (O'BRIAN, 2018).

Parece bastante plausível que variantes genéticas, que afetam a produção dessa proteína carreadora, possam impactar diretamente as concentrações séricas de vitamina D (O'BRIAN, 2018). Além da sua função no transporte da vitamina D, a DBP exerce funções biológicas importantes, incluindo a ligação de ácidos graxos, principalmente monoinsaturados e saturados (O'BRIAN, 2018; SPEECKAERT et al., 2006).

Figura 6 - Idiograma da localização do gene *GC* no cromossomo 4.



Localização Citogenética: 4q13.3 - localizado na região q13.3 do cromossomo 4.
Fonte: GeneCards®

Nesse sentido, variantes de *GC* estão associadas a concentrações mais baixas de 25(OH)D e estão fortemente relacionadas a níveis séricos ainda mais reduzidos de DBP. Para Wang et al. (2010) a variação na quantidade de proteína de ligação DBP circulante pode influenciar o metabolismo e a biodisponibilidade de 25(OH)D e do calcitriol aos órgãos-alvo, bem como a

eliminação dos metabólitos da vitamina D da circulação (WANG et al., 2010). Estudos posteriores sinalizam que esta relação pode ocorrer devido a influência de alterações genéticas na síntese e conformação dessas proteínas e, conseqüentemente, reduzir a ligação da vitamina D à essas proteínas transportadoras (GRZEGORZEWSKA et al., 2015; BRINGHURST, DEMAY, KRONENBERG, 2011). As DBP influenciam na concentração de vitamina D de forma direta visto que cerca de 85% de todo transporte plasmático da vitamina D ocorre pelas DBP e 15% pelas albuminas. A DBP liga-se a 25[OH]D com cerca de 30 vezes mais afinidade que ao 1,25[OH]2D). Desta forma, pode-se afirmar a alta afinidade dessas proteínas pelos metabólitos da vitamina D (BRINGHURST, DEMAY, KRONENBERG, 2011) e que a concentração de vitamina é influenciada de forma importante pelas DBP (GRZEGORZEWSKA et al., 2015).

Os polimorfismos da proteína de ligação da vitamina D são conhecidos por estarem associados ao baixo nível de 25(OH)D. Em particular, os SNP *rs2282679*, *rs4588* e *rs7041* mostraram fortes correlações com os níveis mais baixos de vitamina D circulante (O'BRIAN, 2018; WANG et al., 2010). Apesar de mais de 120 formas variantes de DBP, um dos polimorfismos mais estudados neste gene é o *rs7041* (WANG et al., 2010) que também será investigado neste estudo.

Um estudo de associação genômica ampla (GWAS - *Genome-wide Association Study*) realizado por Jiang et al. (2021) analisou diversas variantes genéticas em associação com a 25(OH)D circulante com a finalidade de verificar o efeito casual da vitamina D e de múltiplas doenças. Os resultados mostraram um efeito casual para esclerose múltipla e efeitos limitados quanto a concentração de 25(OH)D com características antropométricas, obesidade, doenças cardiovasculares e metabólicas e biomarcadores sanguíneos (JIANG et al., 2021).

No estudo de Santos et al. (2019), realizado numa amostra populacional brasileira, os autores concluíram que a presença do genótipo de risco *T/T* do SNP *rs7041* do *gene GC* estava associado com níveis mais baixos de vitamina D [25(OH)D]. O genótipo *C/C* do SNP *rs2282679* estava associado a níveis séricos mais baixos da proteína carreadora (BDP), bem como ao maior risco de deficiência de vitamina D [25(OH)D].

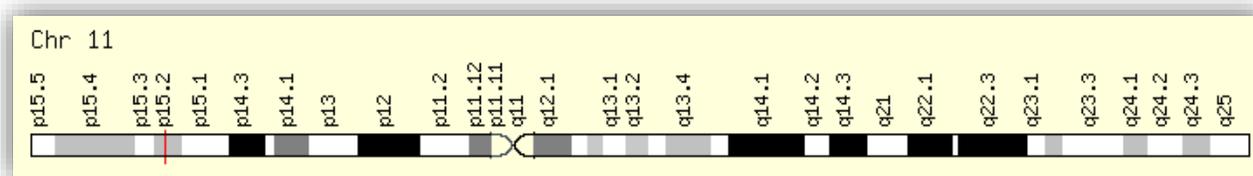
Os genótipos contendo o alelo variante de *rs7041* (*T/T*; *T/G*) foram associados a níveis mais baixos de 25(OH)D que o genótipo de tipo selvagem (*G/G*) numa população de jordanianos saudáveis (LAFI et al., 2015). Esses achados mostraram a forte influência de variantes genéticas no status da vitamina D, mesmo em pacientes sem evidência de doença clínica.

6.2.3 Gene *CYP2R1* – (Citocromo P450 Família 2 Subfamília R Membro 1)

O *CYP2R1* é o gene (figura 7) responsável em codificar as hidroxilases hepáticas. Essas enzimas desempenham um papel fundamental na 25-hidroxilação da vitamina D no fígado. Tem sido descrito que o baixo nível de vitamina D por meio da conversão hepática de todas as fontes (exposição à luz solar, dieta e suplementação) está associado ao aumento da glicemia em jejum elevada (CHEN et al. 2019).

Os polimorfismos do *CYP2R1* também têm a capacidade de impactar diretamente as concentrações de 25 (OH) D, pois esse gene codifica uma enzima do citocromo P450 responsável por hidroxilar a vitamina D e convertê-la em 25 (OH)D, o principal metabólito da vitamina D circulante (O'BRIAN, 2018).

Figura 7 - Idiograma da localização do gene *CYP2R1* no cromossomo 11.



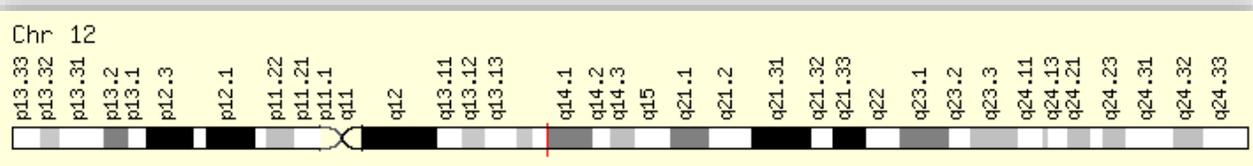
Localização Citogenética: 11p15.2 - localizado na região p15.2 do cromossomo 11.

Fonte: GeneCards®

6.2.4 Gene *CYP27B1* – (Citocromo P450 Família 27 Subfamília B Membro 1)

O gene *CYP27B1* é o codificador das hidroxilases renais 1 α -hidroxilase que converte 25 (OH)D em sua forma ativa, 1,25 (OH) $_2$ D $_3$. *CYP27B1* é um citocromo P450 mais fortemente associado ao status da vitamina D (figura 8).

Figura 8 - Idiograma da localização do gene *CYP27B1* no cromossomo 11.



Localização Citogenética: 12q14.1 - localizado na região q14.1 do cromossomo 11.

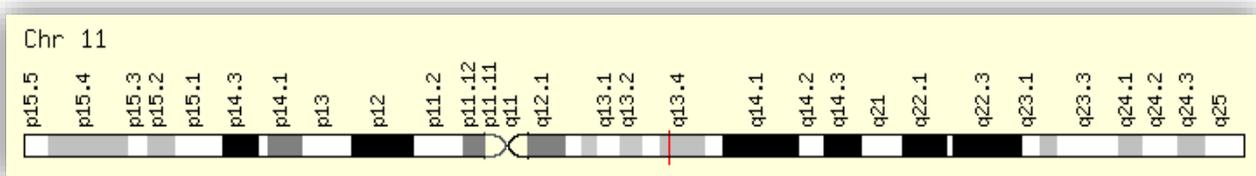
Fonte: GeneCards®

Polimorfismos neste gene podem reduzir a eficiência da biotransformação da forma inativa para a ativa/hormonal [1,25-dihidroxitamina D (1,25- (OH)₂D)]. Dessa forma, pode levar a um fenômeno que se a condição do nível sérico de 25(OH)D estiver normal ou bem elevado, a concentração hormonal de 1,25(OH)₂D₃ no soro é baixo (HU, Z. et al. 2019).

6.2.5 Gene 7-dehidrocolesterol (DHCR7 - pró-vitamina D 3)

O *DHCR7* é um locus significativo em todo o genoma, associado à deficiência de vitamina D e aos níveis circulantes de vitamina D (WANG et al., 2010). O gene *DHCR7* é o responsável pela produção da 7-desidrocolesterol redutase (DHCR7), uma enzima que exerce diversos efeitos biológicos complexos (figura 9). Esta enzima é de extrema importância na conversão do componente 7-desidrocolesterol em colesterol. Além de servir como substrato para a DHCR7, o 7-desidrocolesterol também é um precursor da vitamina D por meio da ação da luz ultravioleta na pele. A DHCR7 tem sido descrita como um possível interruptor entre a síntese de colesterol e vitamina D (PRABHU et al., 2016).

Figura 9 - Idiograma da localização do gene *DHCR7* no cromossomo 11.



Localização Citogenética: 11q13.4 - localizado na região q13.4 do cromossomo 11.

Fonte: GeneCards®

A presença de SNP neste gene pode influenciar diretamente na síntese de 25(OH)D (CHEN et al. 2019), bem como a sua concentração sérica. No estudo de Chen et al. os pesquisadores avaliaram o *rs12785878* (o mesmo que será investigado no presente estudo) e observaram que a presença do alelo de risco esteve significativamente associada ao aumento do risco da glicemia em jejum elevada.

Vale ressaltar que as variantes genéticas em *DHCR7* e *CYP2R1* já foram demonstradas anteriormente como associadas ao risco aumentado de diabetes tipo 1 (COOPER et al., 2011).

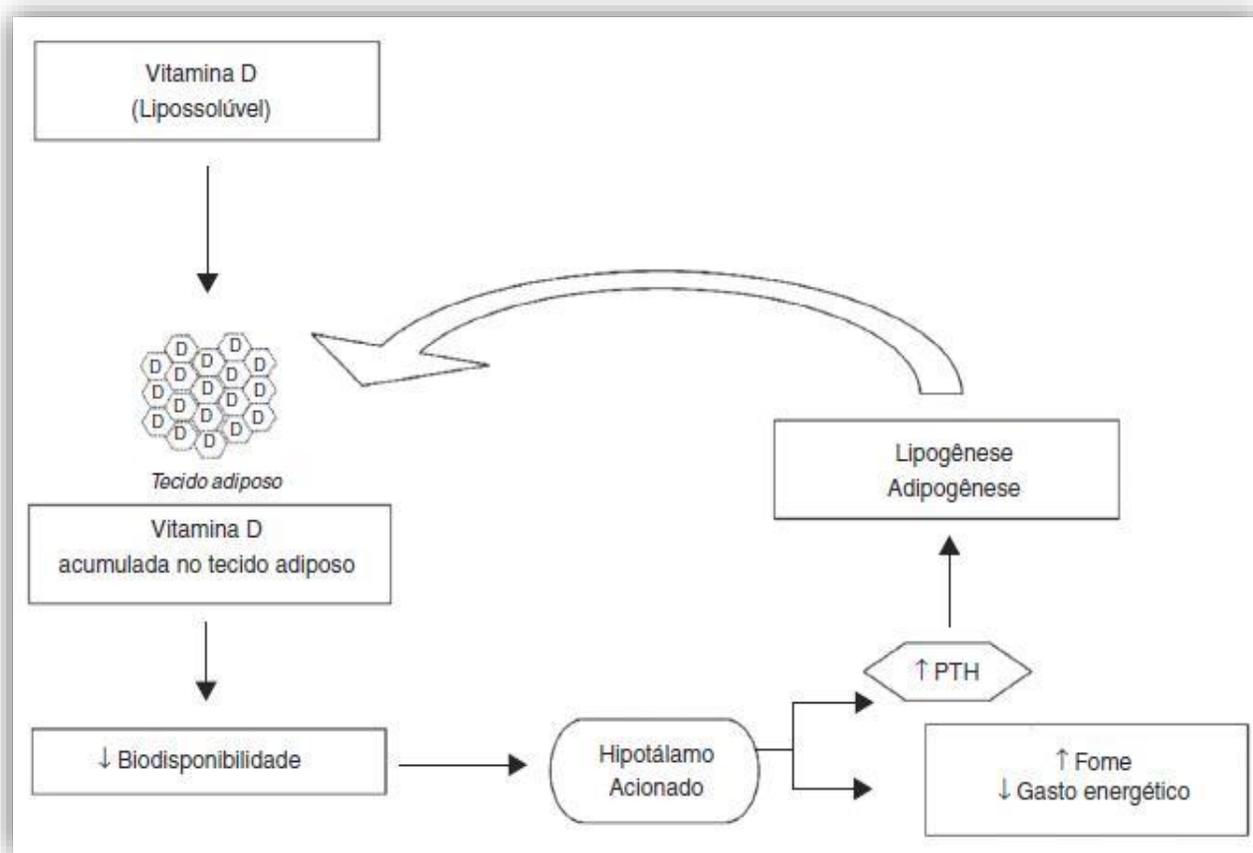
4.3 HIPOVITAMINOSE D E OS COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA

A vitamina D desempenha um papel fundamental na redução do risco de muitas doenças crônicas, incluindo cânceres, doenças autoimunes, infecciosas, cardiovasculares e principalmente síndrome metabólica. Nesse sentido, fica claro a importância desta vitamina não somente na saúde esquelética como já está bastante estabelecida, mas também na saúde não-esquelética (HOLICK, 2007; LATACZ, M et al., 2020).

Existem vários mecanismos fisiopatológicos que podem explicar o efeito da vitamina D nos componentes da SM. Tem sido comprovado que a concentração sérica de vitamina D diminuiu linearmente com o aumento do número de componentes da SM (SCHMITT et al., 2018).

Múltiplos mecanismos têm sido sugeridos para elucidar a relação entre obesidade e hipovitaminose D. A natureza desta associação foi investigada por um estudo genético bidirecional que sugeriu que o índice de massa corporal (IMC) mais elevado pode resultar em concentrações mais reduzidas de 25(OH)D, porém com o efeito reverso insignificante (VIMALESWARAN KS et al., 2013). No estudo de Wortsman et al. (2000) os pesquisadores concluem que a vitamina D é sequestrada pelo tecido adiposo e sugerem que a obesidade, ao aumentar o volume de distribuição da adiposidade, conduz a menores níveis séricos de vitamina D (Figura 10).

Figura 10 – Provável mecanismo de associação entre adiposidade corporal e a redução da biodisponibilidade da vitamina D



Fonte: CUNHA et al., 2015.

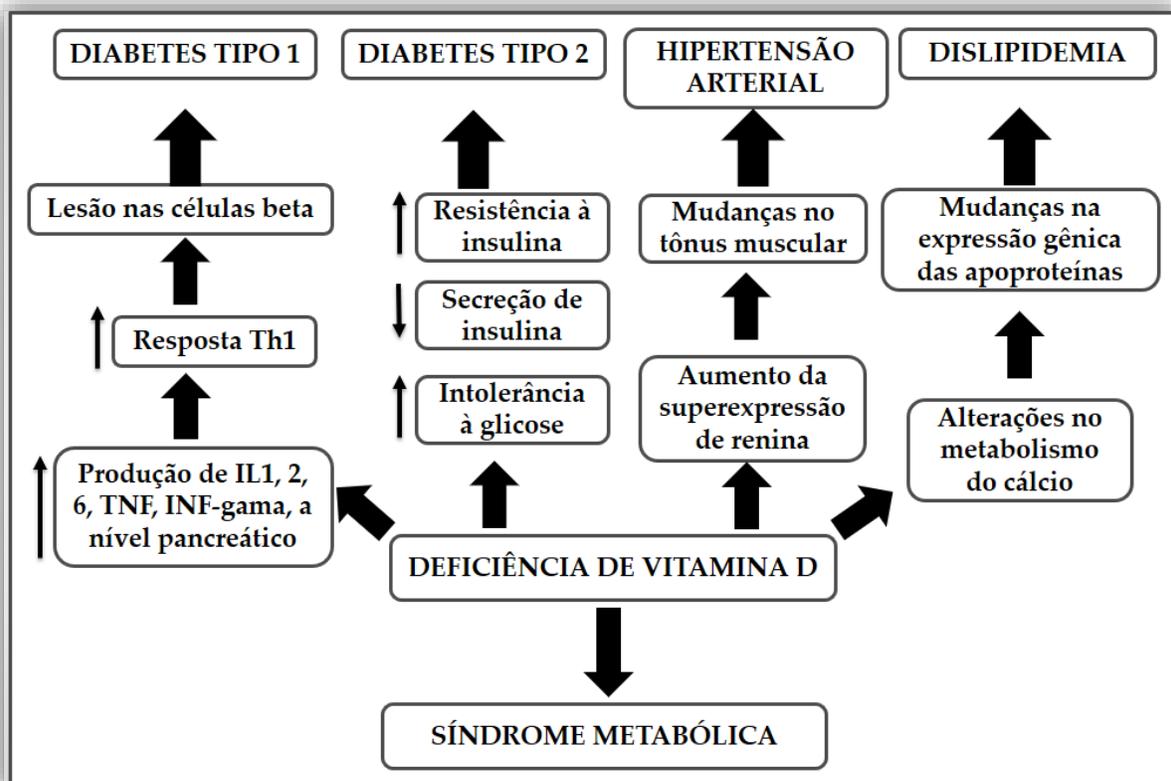
A estrutura química lipossolúvel da vitamina D favorece a maior afinidade com os adipócitos e por isso promove maior armazenamento no tecido adiposo. Esse fato promove redução da biodisponibilidade da 25(OH)D e maior acionamento do hipotálamo que ativa uma cascata de reações que levam ao aumento da sensação de fome e redução do gasto energético. Em contrapartida, outras reações também são ativadas e dentre essas ocorre o aumento do hormônio da paratireoide (PTH), que promove lipogênese e pode modular a adipogênese por meio da supressão do receptor de vitamina D, que inibe compostos envolvidos na diferenciação e maturação das células adipocitárias. Desta forma, sugere-se que o aumento da gordura corporal pode agravar a hipovitaminose D que, por sua vez, pode aumentar ainda mais o acúmulo de tecido adiposo, gerando um ciclo (CUNHA et al., 2015).

O tecido adiposo, em excesso, promove a potencialização do processo inflamatório de baixo grau (DALLMEIER et al., 2012; ABESO, 2010). Esse fato corrobora com a associação entre a hipovitaminose D (HV-D) e a SM, pois a deficiência de vitamina D parece predispor a resistência à insulina, obesidade, hipertensão arterial sistêmica, diabetes *mellitus*, dislipidemias além de hipertrofia ventricular esquerda, insuficiência cardíaca congestiva e inflamação vascular crônica além de outras doenças endocrinometabólicas, das quais guardam relação com a SM (SALEHPOUR et al., 2012; SANTOS et al., 2006; SILVA et al., 2008).

Outro mecanismo que justifica a participação da vitamina D na fisiopatologia da obesidade tem relação com a modulação de vias intracelulares moduladas por receptores *toll-like* (TLR, *toll like receptors*) do tipo 2 e 4. Estes receptores têm sido implicados na ativação de diversas vias inflamatórias e metabólicas e que a ativação dos genes produtores destas duas moléculas está aumentada no tecido adiposo de pessoas com obesidade. Essa relação sugere que ocorra forte associação entre a inflamação crônica subclínica presente na obesidade, ativação dos TLR2 e 4 e baixos níveis séricos de vitamina D (CREELY S. J. et al., 2007).

O risco de desenvolver síndrome metabólica pode estar parcialmente relacionado com a concentração da vitamina D e, além disso, há evidências de que há forte relação entre todos os seus fenótipos componentes e a disponibilidade da vitamina no organismo (figura 11) (PARKER J. et al., 2010; JU et al., 2014).

Figura 11 - Influência da vitamina D no desenvolvimento de componentes que condicionam a síndrome metabólica



Fonte: QUERALES; MARVIN ISAAC et al., 2010.

A relação entre a deficiência de vitamina D com a hipertensão arterial sistêmica é baseada diretamente no sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). A partir da síntese de renina pelas células justaglomerulares intra-renais ocorre o estímulo da produção de angiotensina-I e II e por fim o aldosterona, que promove a elevação da pressão arterial diretamente devido a vasoconstrição e por retenção hidrossalina indiretamente. Do contrário, a vitamina D pode inativar a expressão gênica da renina, além de diminuir a sua síntese e consequentemente desativar a superativação do SRAA (JORGE et al., 2018).

A lipoproteína de alta densidade (HDL-c) é um componente importante do colesterol e possui funções antiinflamatórias e protetoras a nível vascular. Assim, quando o HDL está reduzido sugere-se que ocorram perturbações homeostáticas e aumento da inflamação subclínica crônica provocada pelo aumento da produção de moléculas que secretam mediadores pró-inflamatórios (MOUSA, H. et al., 2021), como as citocinas e as proteínas de fase aguda, dentre estas, a proteína

C reativa (PCR). Embora, ainda não esteja muito claro os mecanismos pelos quais a vitamina D exerça especificamente os seus efeitos sobre os lipídios, diversos estudos têm demonstrado fortes associações entre a deficiência de vitamina D com hipertrigliceridemia, e demais dislipidemias, (AL-QUAIZ, A.M. et al., 2020) e com o HDL-c reduzido (JIANG X. et al., 2019). Estudos observacionais mostraram que indivíduos com a concentração sérica de vitamina D adequada tinham um melhor perfil lipídico do que aqueles indivíduos com deficiência dessa vitamina (CHALLOUMAS, 2014; JORDE; GRIMNES, 2011). Uma provável justificativa para esta associação inversa entre lipídemia e a vitamina D sérica seria uma redução na absorção intestinal, síntese de lipídios e diminuição na lipólise com o aumento das concentrações sanguíneas de vitamina D (JORDE; GRIMNES, 2011).

Uma relação indireta entre a influência da vitamina D na dislipidemia ocorre a partir da absorção e regulação do cálcio promovido pela vitamina D. Resultados de outros estudos demonstraram que uma dieta com baixo teor de cálcio pode migrar uma alta quantidade de cálcio para os adipócitos e conseqüentemente promover aumento na lipogênese e redução na mobilização lipídica. Além disso, baixos níveis séricos de cálcio também foram associados com a baixa oxidação lipídica (MELANSON, E. et al., 2003; ZEMEL, M. et al., 2000). Além disso, outro possível mecanismo genético foi sugerido sob o efeito da vitamina D na inibição da expressão do gene da apolipoproteína-AI (WEHMEIR, K. et al., 2005).

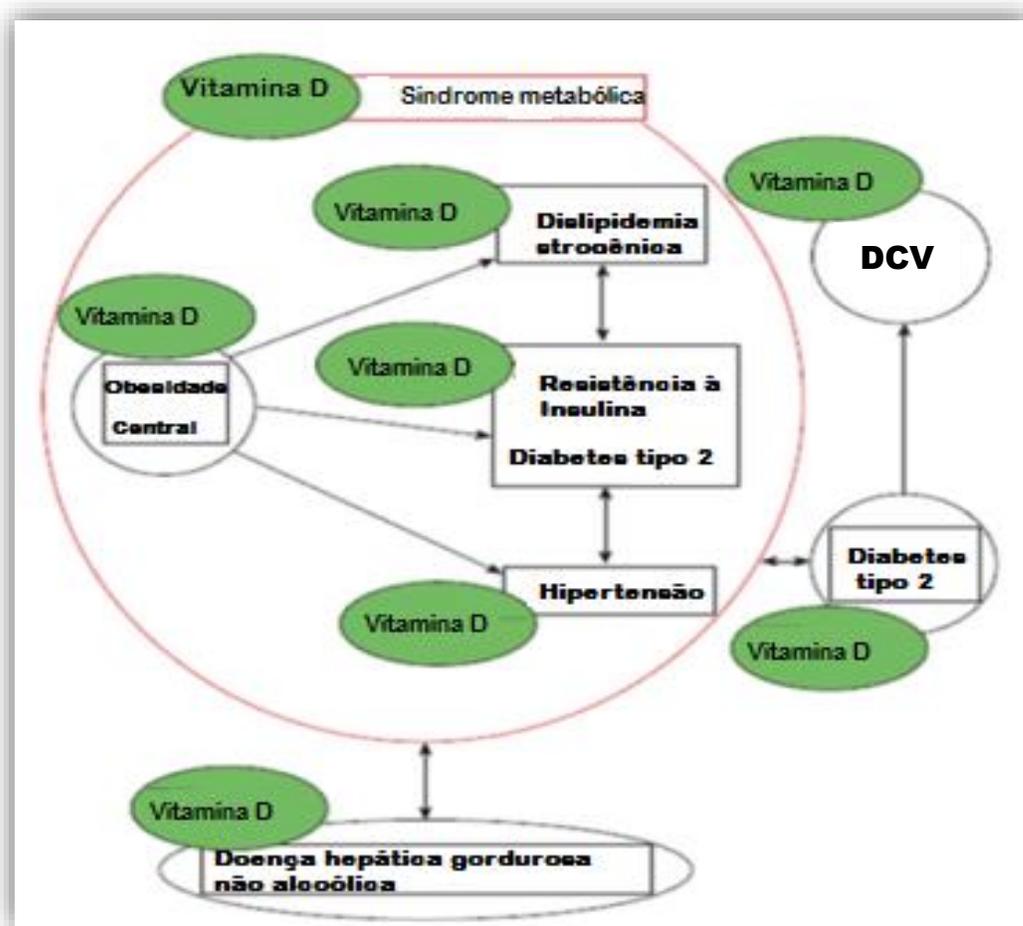
Com relação a vitamina D e o Diabetes *Mellitus*, muito tem sido descrito sobre o papel fundamental que a vitamina D desempenha na secreção normal de insulina, com efeito direto na estimulação dos receptores da vitamina D presentes nas células beta (β) pancreáticas (LU et al., 2018). Uma das hipóteses é que essa estimulação ocorra devido ao aumento nos níveis de cálcio intracelular por meio de canais de voltagem não seletivos, o que conseqüentemente facilitaria a conversão de pró-insulina em insulina (PARKER et al., 2010). Já no diabetes tipo 2 acontece uma redução do potencial imunomodulador da vitamina D (LU et al., 2018). Com isso, ocorre um aumento da inflamação sistêmica de baixo grau mediada por citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF), interleucinas 1 e 6, que induzem a apoptose das células β no pâncreas. Com isso, ocorre desregulação na ativação da cascata de insulina o que gera resistência à insulina (PARKER et al., 2010; QUERALES; MARVIN et al., 2010; LU et al., 2018).

Tem sido bastante relatado que a hipovitaminose D está estreitamente associada à homeostase da glicose. Uma metanálise de 28 estudos demonstrou que a concentração sanguínea

mais elevada de 25(OH)D está associada a uma redução de 55% do risco de diabetes *Mellitus*, 51% síndrome metabólica e 33% de doença cardiovascular (DCV) (PARKER et al., 2010). Além disso, a utilização de suplementos de vitamina D melhorou a glicemia em jejum e a avaliação do modelo de homeostase da glicemia e insulina para resistência à insulina (HOMA-IR) em 100 pacientes com diabetes tipo 2 (TALAEI; MOHAMADI; ADGI, 2013). A relação positiva entre o aumento dos níveis séricos de 25(OH)D com a melhora do perfil glicídico envolve a otimização da sensibilidade em tecidos específicos, como hepático, muscular e ósseo à insulina, bem como o aumento da função das células beta pancreáticas. Dado que muitos fatores de risco para DCV estão agrupados na síndrome metabólica, que é caracterizada por resistência à insulina e obesidade abdominal, é razoável especular um papel significativo para esta vitamina no desenvolvimento e agravamento da síndrome, bem como as suas complicações no diabetes e DCV (PARKER et al., 2010; TALAEI; MOHAMADI; ADGI, 2013).

Além de exercer importantes funções no metabolismo osteomuscular, do cálcio e do fósforo a vitamina D também apresenta efeitos pleiotrópicos em diversos tipos celulares. Dentre estas funções, incluem um papel potencial na síntese de insulina, no controle e desenvolvimento da adipogênese e instalação e progressão da obesidade (WANG et al., 2013; STRANGE; SHIPMAN; RAMACHANDRAN, 2015). Assim, não surpreendentemente, a deficiência e/ou insuficiência de vitamina D tem sido associada a hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia aterogênica, aumento do risco de doenças cardiovasculares e ainda com o avanço da doença hepática gordurosa não alcoólica (figura 12), independente da presença dos componentes da síndrome metabólica (CATRYSSSE, L.; VAN LOO, 2017; WANG, 2013).

Figura 12 – Efeitos potenciais da vitamina D na Síndrome Metabólica



Legenda: DCV: doença cardiovascular;

Fonte: STRANGE; SHIPMAN; RAMACHANDRAN, 2015.

4.4 SÍNDROME METABÓLICA

A Síndrome Metabólica (SM) é descrita como um transtorno complexo, devido aos amplos fatores envolvidos em sua conceituação, etiologia e tratamento. Constitui uma condição clínica potencialmente inflamatória composta por um aglomerado de disfunções no metabolismo que gera um processo de inflamação sistêmica crônica de baixo grau (OGUOMA et al., 2016; GRUNDY, 2016; YAMAOKA, 2012). Incide no agrupamento de vários fatores de risco cardiovascular clinicamente identificados em exames de rotina (BLACKFORD et al., 2016; KAUR, 2014, ALI, et al 2012). A presença de SM ocorre a partir da presença de obesidade central determinada pela circunferência da cintura elevada, hiperglicemia, aumento da pressão arterial e dislipidemia incluindo aumento dos triglicérides e diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL-c). Ambas estas condições podem ser iniciadas e potencializadas pela resistência à insulina (RI) (KAUR, 2014; BIKLE, 2016; WIEDER-HUSZLA et al., 2019).

A resistência à insulina pode ocorrer quando há redução da resposta dos receptores de insulina em tecidos do organismo, estimulando um processo de hiperinsulinemia compensatória. Essa condição pode afetar a homeostase de nutrientes, com ênfase no metabolismo glicídico dificultando assim a entrada da glicose na célula (KAZEMI-BAJESTANI, S. et al. 2017; CZECH, 2017). Além disso, a RI pode estimular o aumento do acúmulo do tecido adiposo corporal que devido a sua alta afinidade lipídica pode reduzir a biodisponibilidade da vitamina D sérica (MARTÍNEZ-TORRES, J. et al. 2017; CZECH, 2017; GIL; PLAZA-DIAZ; MESA, 2018).

4.4.1 Classificação da síndrome metabólica

Vários grupos de estudos forneceram definições específicas para o diagnóstico da síndrome metabólica (quadro 4). Embora todas as classificações sejam baseadas nas características apresentadas inicialmente por Gerald Reaven que propôs a combinação inicial de fenótipos como: hipertensão, dislipidemia, intolerância à glicose e obesidade, (STRANGE ,SHIPMAN, RAMACHANDRAN, 2015) existem vários limites de inclusão correspondente ao entendimento proposto por cada órgão de diagnóstico.

Ainda neste sentido, a proposta mais recente para classificar a síndrome é a do consenso de Harmonização da Síndrome Metabólica (2009) que apresenta grande semelhança com a propostas originalmente sugerida pela Federação Internacional de Diabetes (2005). Para a proposta mais

atual, a obesidade abdominal não deve ser um pré-requisito para o diagnóstico, mas continua como um dos cinco componentes, de modo que a presença de três desses fatores de risco (quadro 4) constitui o diagnóstico da síndrome metabólica (ALBERTI et al., 2009).

A SM apresenta prevalência de 20 a 25%, na população em geral, e tem sido considerada como um problema de saúde pública emergente na sociedade brasileira. As principais causas descritas para o surgimento dessa síndrome são: aumento de tecido adiposo, sobrepeso/obesidade, elevação das circunferências corporais, sedentarismo, fatores genéticos e ambientais e ainda a resistência à insulina, descrita como principal gatilho desencadeador da SM (AKPALU, 2011; I-DBSM, 2005). Uma das características da resistência insulínica é a presença de maior acúmulo de tecido adiposo na região abdominal, o que leva ao aumento da circunferência da cintura (NCEP, 2002).

Quadro 4 – Classificação da Síndrome Metabólica por órgãos Internacionais de Saúde

Crítérios	WHO (1998)	EGIR (1999)	ATP III (2001)	AACE (2003)	IDF (2005)	AHA / NHLBI (2009)
Resistência insulínica	Hiperglicemia de jejum, hiperglicemia pós-prandial, DM2, ou sensibilidade insulínica, mais dois dos seguintes critérios	Insulina plasmática >percentil 75 mais dois dos seguintes critérios	Nenhum três dos cinco critérios seguintes	Hiperglicemia de jejum ou pós-prandial, mais qualquer dos seguintes, baseados no critério clínico	Nenhum	Nenhum
Peso	Relação cintura quadril >0,90 (masc); e >0,85 (fem) e/ou IMC >30kg/m ²	CC ≥94cm (masc) ou ≥80cm (fem)	CC ≥102cm (masc) ou ≥88cm (fem)	IMC ≥25kg/m ²	CC aumentada (população específica) mais dois dos seguintes critérios	CC aumentada de acordo com a população específica
Triglicerídeos	≥150mg/dL	≥150mg/dL	≥150mg/dL	≥150mg/dL	≥150mg/dL*	≥150mg/dL*
HDL-c	<35mg /dL (masc) ou <39mg /dL (fem)	<39mg /dL	<40mg /dL (masc) ou <50mg /dL (fem)	<40mg /dL (masc) ou <50mg /dL (fem)	<40mg /dL (masc) ou <50mg /dL (fem)*	<40mg /dL (masc) ou <50mg /dL (fem) *
Pressão arterial	≥140/90mmHg	≥140/90mmHg	≥130/85mmHg	≥130/85mmHg	≥130/85mmHg*	≥130/85mmHg*
Glicose	Hiperglicemia de jejum ou pós-prandial ou DM 2	Hiperglicemia de jejum ou pós-prandial sem DM 2	>110mg/dL (inclui diabetes)	Hiperglicemia de jejum ou pós-prandial sem DM 2	>100mg/dL* (inclui diabetes)	>100mg/dL* (inclui diabetes)
Outros	Microalbuminúria			Outros índices para resistência insulínica		

*OU uso de medicamento para o controle desta alteração; CC= circunferência da cintura; Per. Abd= Perímetro abdominal; IMC=índice de massa corpórea; DM=diabetes mellitus WHO=World Health Organization; EGIR= European Group for Study of Insulin Resistance; ATP III=National Cholesterol Education Program(NCEP) Adult Treatment Panel III; AACE=American Association of Clinical Endocrinologists; IDF=International Diabetes Federation; AHA / NHLBI= National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association.

Adaptado de ALBERTI et al., 2009; RICCI, G. et al. 201

Outras comorbidades têm sido fortemente associadas à SM, sendo as mais comuns: dislipidemias aterogênicas, resistência à insulina, síndrome do ovário policístico (SOP), *Acanthosis Nigricans* (AN), doença hepática gordurosa não-alcóolica (DHGNA), microalbuminúria (Malb), disfunção endotelial, hiperuricemia, hipovitaminose D (IDF, 2006) e SAHOS (Síndrome da Apneia e hipopneia obstrutiva do sono) (SOUZA et al., 2020). Estudos anteriores do Núcleo de Pesquisa e Extensão em Genômica Nutricional e Disfunções Metabólicas (GENUT) revelaram associação positiva entre algumas dessas alterações e SM numa amostra de Salvador-BA. De acordo com investigações distintas o grupo verificou que, dentre os pacientes com síndrome, 19% apresentavam microalbuminúria (COUTINHO et al., 2014), 62,5% apresentavam DHGNA e 54,5% resistência à insulina (ARAÚJO et al., 2014) e recentemente, a hipovitaminose D foi observada em 77,6% dos pacientes avaliados (COUTINHO et al., 2017).

O crescente aumento da prevalência de SM pode ser justificado pelo envelhecimento das sociedades e aumento do tecido adiposo corporal, devido ao sedentarismo e ao estilo de vida habitual. Nesse contexto, o excesso de adiposidade contribui para a intensificação da inflamação sistêmica de baixo grau e interfere negativamente em inúmeras funções endocrinometabólicas (CATRYSSSE, VAN LOO, 2017; SCUTERI et al., 2005). Embora não existam vias unificadoras para explicar suficientemente a etiopatogênese da SM, o denominador comum é o aumento da adiposidade e da carga inflamatória subaguda elevada, contribuindo assim para a resistência à insulina, dislipidemia e demais componentes da SM (OGUOMA, V. et al., 2016).

A obesidade abdominal parece ser fundamental no desenvolvimento da resistência à insulina. Anteriormente, o tecido adiposo abdominal era considerado restritamente a um depósito de armazenamento inerte de gorduras. Porém, a interpretação atual é que este tecido, formado por inúmeras moléculas de triglicerídeos, seja um órgão endócrino extremamente funcionante e ativo (OGUOMA, V. et al., 2016; KAUR, 2014; KAZEMI-BAJESTANI et al., 2017). Assim, a obesidade abdominal, uma característica classificatória da síndrome metabólica, promove a resistência à insulina por secretar moléculas e substâncias metabolicamente ativas, tais como, citocinas pró-inflamatórias potentes, e por disponibilizar uma quantidade aumentada de ácidos graxos livres (CATRYSSSE; VAN LOO, 2017; KAZEMI-BAJESTANI et al., 2017).

4.4.2 Associação entre a hipovitaminose D e os componentes da síndrome metabólica

Diversos estudos têm sugerido que a presença de obesidade é um importante fator para o surgimento da SM (VIMALESWARAN KS et al., 2013; WORTSMAN et al., 2000; CASTRO et al., 2014) e tem sido associada a baixos níveis séricos de vitamina D (VD), bem como seus componentes (SCHUCH; GARCIA; MARTINI, 2009; VERRUSIO et al., 2017; YIN et al., 2016). Por isso uma das justificativas para o aumento da prevalência de hipovitaminose D (HV-D) em pacientes com síndrome metabólica seria o acúmulo de tecido adiposo corporal, sobretudo na região abdominal (VERRUSIO et al., 2017). Diante do exposto, o quadro 5 resume os principais mecanismos que explicam a associação entre a hipovitaminose D e cada um dos componentes da síndrome metabólica.

Quadro 5 - Mecanismos que explicam a relação entre a hipovitaminose D e os componentes da síndrome metabólica

COMPONENTES	MECANISMOS
Obesidade Abdominal	<ul style="list-style-type: none"> - Diminuição da exposição solar de pessoas com obesidade - Sequestro de vitamina D no tecido adiposo - Diminuição da síntese hepática de 25-hidroxivitamina D (esteatose) - Inibição da diferenciação de adipócitos pela vitamina D
Diabetes <i>Mellitus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Estimulação da secreção de insulina pela vitamina D - Presença de VDR e da enzima 1-α hidroxilase em células β pancreáticas - Regulação da resistência à insulina (presença de VDR nas células musculares) - Níveis adequados de cálcio necessários para a secreção de insulina e para a captação periférica de insulina - Interação de vitamina D com PPAR-gama - Presença de VDR e enzima 1-α-hidroxilase em células do sistema imunológico e adipócitos: inflamação de baixo grau desencadeada por hipovitaminose D - Estimulação do hormônio paratireoide e do sistema renina-angiotensina-aldosterona na hipovitaminose D - Efeito do controle glicêmico nas concentrações de vitamina D?*
Hipertensão	<ul style="list-style-type: none"> - Estimulação da transcrição do gene da renina pela 1,25-hidroxivitamina D - Presença de VDR no endotélio vascular e músculo liso (efeitos na inflamação, proliferação, trombose arterial) - Hiperparatireoidismo secundário (hormônio paratireoide estimula o sistema renina-angiotensina-aldosterona e induz a sobre atividade simpática)
Dislipidemia	<ul style="list-style-type: none"> - Inibição da vitamina D na diferenciação do tecido adiposo - Supressão da vitamina D da lipase lipoproteica - Interação de vitamina D com o PPAR-gama - Regulação da vitamina D da resistência à insulina

Legenda: VDR: receptor de vitamina D; PPAR-gama: Receptor ativado proliferadores de peroxissoma gama;?* inferência do próprio artigo.

Fonte: MIÑAMBRES, I; SANCHEZ-QUESADA, J. L; PÉREZ, A.; 2015.

5. MÉTODOS

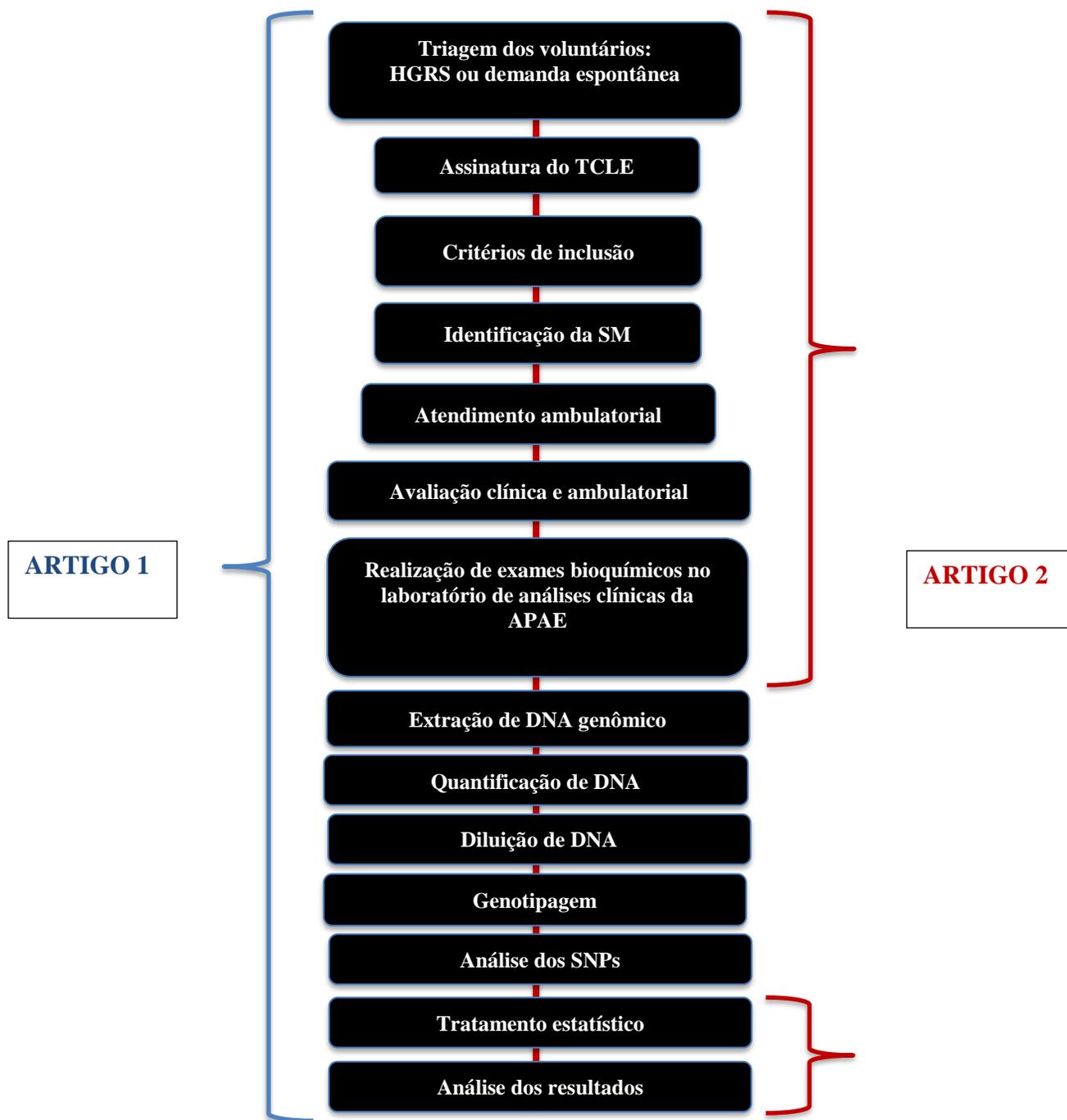
Nessa sessão, estão apresentadas as principais especificações metodológicas utilizadas para a elaboração dos dois artigos científicos produzidos a partir desse estudo de tese de doutorado. Ambos estão descritos detalhadamente, a seguir, na sessão RESULTADOS.

No primeiro momento o ARTIGO 1 com direcionamento genético-metabólico, avalia a *“Influência de cinco variantes genéticas, em genes moduladores da concentração de vitamina D, e sua associação com os componentes da síndrome metabólica”*. Todos os procedimentos relacionados às técnicas de biologia molecular foram realizados pelas seguintes métodos e procedimentos: extração de DNA (pelo método de extração salina de Miller, Dykes e Polesky); quantificação [com o uso do *NanoDrop™ One*[®] (*Thermo Fischer Scientific Inc.*, Wilmington, DE, EUA)]; diluição e genotipagem dos polimorfismos (utilizada a tecnologia PCR quantitativo em tempo real (real-time PCR) TaqMan[®] probe-based 5'-nuclease assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) foram realizados na Universidade do Estado da Bahia – UNEB.

No ARTIGO 2 com perfil clínico-nutricional e metabólico, investiga a *“associação entre a concentração de vitamina D com os componentes da síndrome metabólica e fatores associados”*. Foram utilizados os parâmetros propostos pela *Federação Internacional de Diabetes* (IDF, 2006) para identificar a presença de Síndrome Metabólica e seus fatores associados, pela I Diretriz Brasileira de Síndrome Metabólica (I-DBSM, 2005). A 25 hidroxivitamina D [25(OH)D] foi utilizada como biomarcador da concentração de vitamina D, a partir do uso do método quimioluminescência, e classificada de acordo com as orientações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, 2018 e da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, 2014 e Holick, 2011.

O fluxograma a seguir (figura 13) apresenta os principais pontos de execução dos artigos.

Figura 13 – Procedimentos de coletas de dados



Legenda: HGRS: Hospital Geral Roberto Santos; TCLE: Termo de Consentimento Livre Esclarecido; SNP: polimorfismo de nucleotídeo único; APAE: Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais; SM: Síndrome Metabólica; SNP: polimorfismos de nucleotídeo único.

6. RESULTADOS

São apresentados, a seguir, os dois artigos provenientes desta tese de doutorado.

Artigo 1:

INFLUÊNCIA DE VARIANTES POLIMÓRFICAS EM GENES MODULADORES DA CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA D E SUA ASSOCIAÇÃO COM OS COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA

*COUTINHO-LIMA, Radamés
ARAÚJO, Edilene Maria Queiroz*

INTRODUÇÃO

A hidroxivitamina D [25 (OH)D] corresponde ao principal metabólito circulante da vitamina D e é o melhor biomarcador para indicar a concentração dessa vitamina no organismo (HOLICK, 2017). Nesse sentido, a exposição da pele a luz solar e a ingestão de alimentos fontes desta vitamina são fatores que podem afetar a concentração de 25(OH)D circulante (HOLICK, 2017). No entanto, múltiplos estudos genéticos em genes chave na via metabólica da vitamina D têm demonstrado forte influência de variantes genéticas na concentração de 25(OH)D (WANG T. J. et al., 2010; AHN J. et al., 2010).

Estudos genéticos, observacionais e de genômica ampla constataram consistentemente que a deficiência de vitamina D está associada a um risco aumentado de mortalidade e morbidade cardiovasculares (PARKER J. et al., 2010; LASKY-SU, J et al., 2012; REVEZ, J.A et al. 2020). Embora a concentração de vitamina D seja influenciada por fatores modificáveis, como alimentação e exposição aos raios solares, estudos genéticos mostram que a concentração de vitamina D está, também, relacionada com fatores genéticos, como a presença de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP - *Single Nucleotide Polymorphism*) (JIANG X. et al., 2018; WANG, T. J. et al., 2010; LASKY-SU, J et al., 2012; REVEZ, J.A et al. 2020; O'BRIEN et al. 2018).

Os genes que modulam o metabolismo da vitamina D são prováveis candidatos diretos para o controle da concentração plasmática de vitamina D (HOLICK, M.F. 2017; LATACZ, M et al., 2021; JENKINSON et al., 2019). Outras abordagens de estudos de análise gênica sugerem que as concentrações de 25(OH)D possam estar também relacionados à ancestralidade genética, com níveis mais baixos em indivíduos com maior grau de ancestralidade africana (O'BRIEN et al. 2018; JIANG X. et al., 2018), como os afro-brasileiros.

Os principais genes amplamente estudados com relação ao metabolismo da vitamina D são: o da 7 redutase de-hidrocolesterol (DHCR7) que produz a molécula de ação cutânea; da proteína de ligação (GC); das hidroxilases hepática (CYP2R1) e renais (CYP27B1) e do receptor de vitamina D (VDR). Para este último, mais de 470 SNP já foram identificados e além disso, corresponde a um dos mais estudados em diversas populações (JAMKA et al., 2018). Nesse sentido, alguns determinantes genéticos da hipovitaminose D foram descritos nas últimas décadas. Dentre esses, cinco variantes genéticas no metabolismo da vitamina D têm sido citadas, inclusive por estudos de genômica ampla (GWAS), como: o *rs1544410* no VDR; o *rs7041* no GC; o *rs4646536* no CYP27B1, o *rs10741657* no CYP2R1 e o *rs12785878* no DHCR7 (WANG et al., 2010; LASKY-SU et al., 2012; SAPKOTA et al. 2016; JIANG et al., 2018; O'BRIEN et al., 2018; REVEZ, J.A et al., 2020).

Nesse panorama de investigações genéticas, estudos sugeriram que polimorfismos, em genes relacionados ao metabolismo da vitamina D, podem influenciar a concentração ou a atividade da vitamina, e, conseqüentemente, reduzir ao extremo suas concentrações plasmáticas. Como agravante, a deficiência de vitamina D tem sido associada a um aumento da prevalência e incidência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) e Síndrome Metabólica (VERRUSIO et al., 2017; JU, JEONG, KIM, 2014).

A Síndrome Metabólica (SM) corresponde a um dos principais e crescentes desafios clínicos em saúde pública mundialmente (VERRUSIO et al., 2017). De forma geral, a síndrome corresponde à associação de fatores de risco metabólico como: resistência insulínica, adiposidade visceral, dislipidemia aterogênica, disfunção endotelial, suscetibilidade genética, pressão arterial elevada e estresse crônico (ALKERWI, 2011; PARK et al, 2013; IDF, 2006). Um fator comum à síndrome é o acúmulo de tecido adiposo corporal, sobretudo na região abdominal, que devido a sua afinidade lipídica à estrutura da vitamina D pode mantê-la retida no adipócito e, conseqüentemente, influenciar na biodisponibilidade e concentração plasmática dessa vitamina no organismo (VERRUSIO et al., 2017; PRASAD; KOCHHAR, 2016).

Nesse sentido, considerando que os diferentes fenótipos que os indivíduos podem apresentar em relação à concentração de vitamina D podem ser resultantes, principalmente, de determinadas particularidades genéticas, como polimorfismos em genes que regulam a expressão dos vários componentes envolvidos no metabolismo da vitamina D (TOMEI et al., 2020; WANG et al., 2020; SAPKOTA et al., 2016; LASKY-SU et al. 2012; WANG et al., 2010), esse estudo tem como objetivos: avaliar se há associação entre as variantes polimórficas de genes que participam do

metabolismo da vitamina D: (*DHCR7*, *rs12785878*; *rs7041* proteína GC, 1 alfa-hidroxiase, *rs4646536*; 25-hidroxiase, *rs10741657*; receptor de vitamina D, *VDR*, *rs1544410*) com a concentração de 25(OH)D e com os componentes da síndrome metabólica; além disso, descrever as frequências alélicas e genótípicas desses polimorfismos.

MATERIAL E MÉTODOS

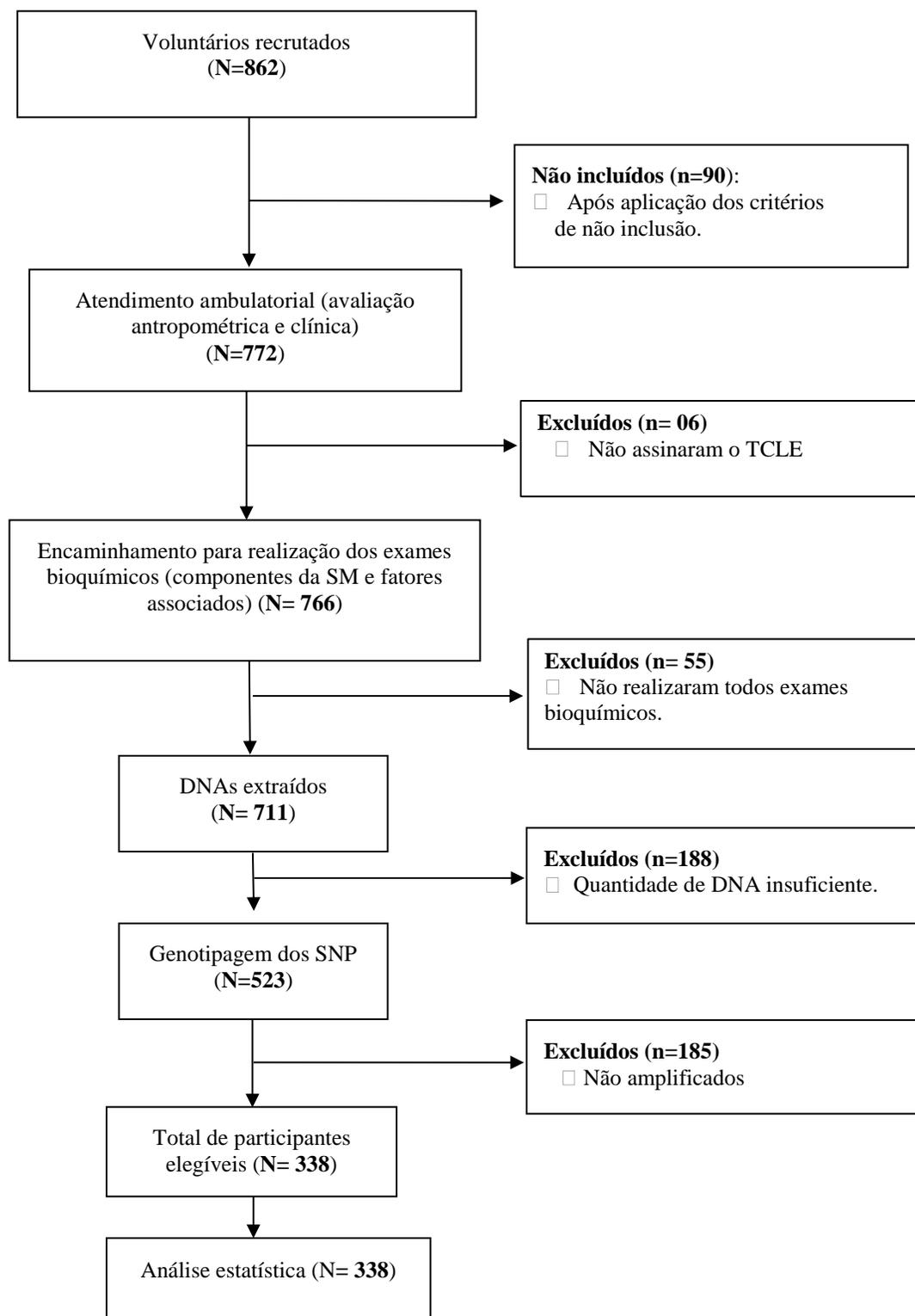
Considerações iniciais

Este projeto de pesquisa está inserido em um estudo mais amplo, intitulado de: “*Influência da dieta sem lactose sobre a síndrome metabólica: papel de polimorfismos nos genes da lactase, adiponectina e seu receptor, gip e receptor, TCF7L2, TNF, IL-6 E NF-kB*” realizado na UNEB pelos Profs Dr^a. Edilene Maria Queiroz Araújo e Dr. Domingos Lázaro Rios.

Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo observacional, analítico do tipo transversal, realizado no período de maio de 2018 a maio de 2021, com amostra aleatória e não probabilística. Nesta pesquisa, é realizada a investigação de cinco variantes genéticas em genes de componentes específicos do metabolismo da vitamina D, a partir da análise dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) e sua influência na concentração sérica de 25(OH)D. Na figura 1 apresentamos todo o delineamento do estudo.

Figura 1 – Delineamento do estudo



Legenda: TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; SM: Síndrome Metabólica; HGRS: Hospital Geral Roberto Santos.

Critérios de participação no estudo

A população de estudo foi composta de indivíduos com SM que preencheram os seguintes critérios de inclusão:

- ✓ Homens e mulheres acima de 20 anos;
- ✓ Assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE);
- ✓ Não fazer uso de suplementos alimentares com vitamina D;
- ✓ Não ter diagnóstico de:
 - ✓ doenças inflamatórias intestinais crônicas (história clínica de doença Crohn, retocolite ulcerativa, cólon irritável e diverticulite);
 - ✓ insuficiência renal crônica (história clínica);
 - ✓ doenças hepáticas crônicas com exceção de esteatose hepática;
 - ✓ doenças autoimunes;
- ✓ Não estar em período gestacional ou ser lactante;
- ✓ Não fazer uso contínuo de corticoide, anticonvulsivante e antifúngico;
- ✓ Não estar em uso de medicamento para controle de apetite, ansiolíticos ou antidepressivos;

Quanto aos critérios de exclusão:

- ✓ Voluntários que desistirem de participar do estudo;
- ✓ Óbito durante alguma etapa da pesquisa;
- ✓ Se recusarem a realizar algum procedimento de coleta.

Classificação dos voluntários participantes

O grupo de voluntários participantes foi composto por pacientes com síndrome metabólica classificados de acordo com os critérios propostos pela Federação Internacional de Diabetes (2006).

A saber: circunferência da cintura ≥ 94 cm em homens e ≥ 80 cm em mulheres, como critério obrigatório; triglicerídeos ≥ 150 mg/dL; pressão arterial $\geq 130 \times 85$ mmHg; glicemia de jejum ≥ 100 mg/dL; HDL: lipoproteína de alta densidade- colesterol < 50 mg/dL em mulheres < 40 mg/dL em homens. O tratamento medicamentoso para algum desses componentes também constitui mais um fator da SM.

Desenvolvimento da pesquisa, infraestrutura, coletas, análises

Os pacientes foram inicialmente abordados por membros da equipe da pesquisa no ambulatório de cardiologia e endocrinologia do Hospital Geral Roberto Santos (HGRS) ou por demanda espontânea. Após a triagem e identificação da Síndrome todos os pacientes foram encaminhados e, posteriormente, atendidos no ambulatório de nutrição do Núcleo de Pesquisa e Extensão em Genômica Nutricional e Disfunções Metabólicas (GENUT) da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), *campus I*. Todos os voluntários participantes receberam explicação de projeto e do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, e após assinatura foram realizadas as seguintes etapas de coleta de dados:

Avaliação clínica e antropométrica: para a aferição da pressão arterial sistêmica (PAS) foram utilizados o estetoscópio da marca (Littmann®) e tensiômetro (Bic®) seguindo as orientações da VII Diretrizes Brasileira de Hipertensão Arterial, 2016, de duas aferições após 5 minutos de repouso.

Para a determinação do perfil antropométrico o peso foi medido em balança digital com plataforma robusta da marca (Welmy®) e a altura em estadiômetro fixo da marca (Avanutri®). Posteriormente foi calculado o índice de massa corporal (IMC) dividindo o peso (em kg) pela altura ao quadrado (em metros) [IMC = peso ÷ (altura × altura)] (ABESO, 2021). A classificação do IMC foi baseada nas recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2004) para adultos e de Lipschitz, 1994 para idosos. IMC adultos (kg/m²): baixo peso: < 18,5; eutrofia: 18,5 a 24,9; sobrepeso: 25,0 e 29,9; obesidade: grau I: 30 a 34,9, grau II: 35 a 39,9 e grau III: > 40. IMC idosos (kg/m²): baixo peso: <22; Eutrofia: 22 a 27 e excesso de peso: >27. A medida da circunferência da cintura (CC) foi realizada com a fita inelástica (Sanny®), seguindo as recomendações da I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica, 2005, para sua coleta.

Dosagens bioquímicas: os pacientes foram encaminhados para o laboratório de análises clínicas da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) da cidade de Salvador-Ba para a coleta sanguínea de 15ml de sangue periférico e determinação das dosagens

bioquímicas de: glicemia: glicemia de jejum, triglicérides e lipoproteína de alta densidade - colesterol foram realizadas pelo método enzimático. A vitamina D foi avaliada a partir da dosagem sérica de 25-hidroxivitamina D [25(OH)D], com o uso do método quimioluminescência, e os participantes foram classificados com hipovitaminose D quando a 25(OH)D foi <30ng/ml e suficiente quando ≥ 30 e <100ng/ml. Valores acima de 100ng/ml foram excluídos das análises (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL, 2018; SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2014; HOLICK, 2011).

Extração do DNA: o DNA genômico foi obtido a partir de 5,0 mL de sangue periférico coletados em tubos vacuntainer com Ácido Etileno Diamino Tetracético (EDTA) no laboratório de análises clínicas da LABAC/APAE e posteriormente enviado para laboratório de Genética Molecular Humana (LGMH) da UNEB. No LGMH a extração do DNA genômico foi realizada pelo método de extração salina adaptado de Miller, Dykes e Polesky (1988). Este procedimento foi realizado por pesquisadores do GENUT devidamente treinados.

Quantificação e diluição de DNA: as amostras de DNA genômicos foram quantificadas por espectrofotometria com o uso do *NanoDrop™ One* (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, DE, EUA) e a diluição para concentração final de 15ng/μl.

Genotipagem: após a extração e quantificação do DNA genômico, a análise dos polimorfismos foi realizada usando a tecnologia de TaqMan probe-based 5'-nuclease assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Foram analisados os seguintes polimorfismos: receptor de vitamina D, *VDR*, *rs1544410*); proteína ligadora de vitamina D, *DBP* (*GC*), *rs7041*; enzimas do complexo do citocromo P450, *CYP2R1* (25-hidroxilase, *rs10741657*) e *CYP27B1* (1 alfa-hidroxilase, *rs4646536*) e a 7 redutase deidrocolesterol (*DHCR7*, *rs12785878*) conforme descritos no quadro 1. Foram utilizados os seguintes ensaios de genotipagem de SNP da *Applied Biosystems TaqMan Thermo Fisher Scientific®*: *C__8716062_10*; *C__3133594_30*; *C__2958430_10*; *C__25623453_10* e *C__32063037_10*, respectivamente.

Quadro 1 – Polimorfismos em genes relacionados ao metabolismo da vitamina D

Polimorfismo	Gene	Localização cromossômica	Alelos (ancestral>mutante)
rs12785878	<i>DHCR7</i>	11: 71456403	G>T
rs7041	<i>GC/BPD</i>	4: 71752617	G>T
rs4646536	<i>CYP27B1</i>	12: 57764205	C>T
rs10741657	<i>CYP2R1</i>	11: 14893332	A>G
rs1544410	<i>VDR</i>	12: 47846052	A>G

Legenda: DHCR7: delta-7-esterol redutase (pele); GC (DBP): proteína carreadora; CYP2R1: 25-hidroxilase (enzima hepática); CYP27B1: 1-alpha-hidroxilase (enzima renal); VDR: receptor da vitamina D (Bsm1)

Fonte: Thermo Fisher Scientific, 2017

Considerações éticas

O projeto foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisas da UNEB, sob nº do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAEE): 03409712.9.0000.0057 (parecer nº 1283257) e realizado de acordo com as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos contidas na Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. O estudo foi conduzido de acordo com as recomendações da declaração de Helsinki. O anonimato, a confidencialidade das informações e a participação voluntária dos participantes serão garantidos.

Tratamento Estatístico

A adequação das frequências genotípicas dos polimorfismos estudados ao Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* foi testada com o auxílio do programa *Arlequin* versão 2000.

As frequências dos polimorfismos e outras variáveis categóricas foram comparadas utilizando o teste de qui-quadrado de *Pearson*. Os dados estão apresentados em números absolutos e percentuais de acordo com a classificação da concentração de vitamina D.

Para a avaliação das variáveis contínuas, foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA) para avaliar a associação entre o nível sérico de vitamina D 25(OH)D com as variantes genéticas, bem como para testar a associação entre os polimorfismos e os componentes da síndrome metabólica. Foi utilizado ainda o teste de Kruskal-Wallis quando necessário. As variáveis contínuas estão expressas em média e desvio padrão (DP) ou mediana quando necessário. A ANOVA foi

utilizada para variáveis contínuas com distribuição normal, o teste de Kruskal-Wallis para variáveis contínuas com distribuição não normais e o teste qui-quadrado de Pearson para variáveis categóricas.

As análises estatísticas foram feitas com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) para Windows, versão 20.0. E o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

Esse estudo foi constituído por 338 participantes voluntários com Síndrome Metabólica. A média de idade foi de 56 anos ($\pm 9,66$), de IMC 33,0 Kg/m² ($\pm 5,86$) e da concentração de hidroxivitamina D, 26,05ng/mL ($\pm 8,06$) os demais dados estão apresentados na tabela 1. Foi observada ainda alta prevalência de hipovitaminose D (70,1%).

TABELA 1 – Descrição de dados clínicos e bioquímicos da população estudada com relação aos componentes da SM

Variável	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Idade (anos)	338	56,00	9,66	56,00	27,0	84,0
IMC (Kg/m ²)	338	33,0	5,8	32,1	21,9	56,6
25(OH)D (ng/mL)	338	26,05	8,06	25,10	4,0	53,1
CC (cm)	338	103,6	11,6	103,0	81,0	158,5
PAS (mmHg)	338	143,4	20,4	140,0	90,0	240,0
PAD (mmHg)	338	89,3	14,3	90,0	20,0	170,0
Glicemia em jejum (mg/dL)	338	144,3	68,5	120,0	47,0	499,0
HDL-c (mg/dL)	338	44,1	9,2	43,0	24,0	75,0
Triglicerídeos (mg/dL)	338	171,9	131,4	144,00	45,0	1774,0

Legenda: IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; HDL-c: lipoproteína de alta densidade.

Os dados clínicos e sociodemográficos dos voluntários participantes com hipovitaminose D ou suficientes estão apresentados na tabela 2. Na avaliação das variáveis sociodemográficas, foi observado maior prevalência de participantes do sexo feminino, adultos e negros que incluem indivíduos com cor de pele preta e parda. Com relação a avaliação clínica, foi observado significância estatística no índice de massa corporal (IMC) e na concentração de vitamina D entre os dois grupos ($p=0,030$).

TABELA 2 - Características clínicas e sociodemográficas de acordo com a concentração da vitamina D [25(OH)D] nos grupos de voluntários classificados em hipovitaminose D (<30ng) ou suficiente (≥30ng) com Síndrome Metabólica.

Variável	Concentração de 25(OH)D		pValor	
	Hipovitaminose D % (n)	Suficiência % (n)		
Sexo				
	Feminino	71,9 (200)	28,1 (78)	0,284
	Masculino	65 (39)	35 (21)	
Cor da pele				
	Preto	71,3 (129)	28,7 (52)	0,749
	Pardo	67,7 (65)	32,3 (31)	
	Branco	73,1 (38)	26,9 (14)	
Faixa etária				
	Adulto	72,5 (153)	27,5 (58)	0,348
	Idoso	67,7 (86)	32,3 (41)	
Escolaridade				
	Analfabeto	66,7 (14)	33,3 (7)	0,501
	Fundamental incompleto	72,6 (90)	27,4 (34)	
	Fundamental completo	65,9 (27)	34,2 (14)	
	Ensino Médio incompleto	80,0 (12)	20,0 (3)	
	Ensino Médio completo	73,5 (83)	26,5 (30)	
	Superior incompleto	42,9 (3)	57,1 (4)	
	Superior completo	60,0 (9)	40,0 (6)	
Renda familiar				
	Até 1 salário mínimo	74,4 (93)	25,6 (32)	0,251
	De 1 a 2 salários mínimos	68,9 (82)	31,3 (37)	
	De 2 a 3 salários mínimos	68,1 (32)	31,9 (15)	
	De 3 a 4 salários mínimos	57,7 (15)	42,3 (11)	
	De 4 a 5 salários mínimos	70,0 (7)	30,0 (3)	
	Mais de 5 salários mínimos	100,0 (8)	0,0 (0)	
Relação Cintura Quadril				
	Baixo risco	83,3 (5)	16,7 (1)	0,320
	Risco moderado	75,8 (72)	24,2 (23)	
	Risco alto	68,4 (162)	31,6 (75)	

Teste Qui-quadrado de *Pearson*

Para a *genotipagem*, houve um quantitativo total de 338 pacientes voluntários. No entanto, nem todos os SNPs foram amplificados. Assim, o número de pacientes genotipados para cada SNP difere do total do número de participantes do estudo. Por exemplo, em relação ao *rs12785878 (G/T)*, 296 (87,6%) pacientes foram genotipados com sucesso; 293 (86,7%) para o *rs7041 (G/T)*; 295

(87,3%) para o *rs4646536* (C/T); 183 (54,1%) para o *rs10741657* (A/G) e 305 (90,2%) para o *rs1544410* (A/G). Todos os SNPs avaliados neste estudo estavam em equilíbrio de *Hardy-Weinberg*.

As frequências genóticas e alélicas dos polimorfismos avaliados neste estudo estão descritas na tabela 3. Em relação ao *SNP rs12785878* no gene *DHCR7*, as frequências observadas dos genótipos *G/T*, *G/G* e *T/T* foram 42,9%, 44,4% e 12,7% e 47,3%, 40,7% e 12,1% nos grupos de voluntários com hipovitaminose D e com concentração suficiente, respectivamente. As diferenças das frequências entre os grupos com e sem hipovitaminose D não foram estatisticamente significantes ($p=0,781$). O alelo *G* foi o mais prevalente, em ambos os grupos: 65,8% e 64,2%, com hipovitaminose D e com concentração suficiente, respectivamente. A diferença observada entre ambos os grupos também não foi significativa ($p=0,711$).

As frequências dos genótipos *G/T*, *G/G* e *T/T* no *SNP rs7041* no gene *GC/DBP* foram 43,8%, 12,3% e 43,8% e 44,4%, 12,2% e 43,3%, nos participantes com hipovitaminose D e com concentração suficiente, respectivamente. Não foi observada, para este SNP, nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,992$). O alelo *T* foi o de maior frequência em ambos os grupos: 65,7% e 65,5%, com hipovitaminose D e com concentração suficiente, respectivamente, e não houve resultado significativo ao observar a diferença entre os grupos ($p=0,961$).

Para o *SNP rs4646536* no gene *CYP27B1*, as frequências observadas dos genótipos *C/T*, *C/C* e *T/T* foram 18,8%, 7,1% e 74,1% e 14,8%, 6,8% e 78,4% nos grupos de voluntários com hipovitaminose D e com concentração suficiente, respectivamente. As diferenças das frequências entre os grupos com e sem hipovitaminose D não foram estatisticamente significantes ($p=0,705$). O alelo *T* foi o mais prevalente, em ambos os grupos: 83,5% e 85,8%, com hipovitaminose D e com concentração suficiente, respectivamente. A diferença observada entre ambos os grupos também não foi significativa ($p=0,488$).

Quando avaliamos as frequências genóticas do *SNP rs10741657* no gene *CYP2R1* observamos as seguintes frequências dos genótipos *A/G*, *A/A* e *G/G* foram 33,3%, 6,1% e 60,5% e 37,3%, 0% e 62,7% nos grupos de voluntários com hipovitaminose D e com concentração suficiente, respectivamente. As diferenças das frequências entre os grupos com e sem hipovitaminose D não foram estatisticamente significantes ($p=0,193$). O alelo *G* foi o mais prevalente, em ambos os grupos: 77,2% e 81,3%, com hipovitaminose D e com concentração suficiente, respectivamente. A diferença observada entre ambos os grupos também não foi significativa ($p=0,393$).

Para o *SNP rs1544410* no gene *VDR*, as frequências observadas dos genótipos *A/G*, *A/A* e *G/G* foram 19,7%, 40,8% e 39,4% e 23,9%, 46,7% e 29,3% nos grupos de voluntários com hipovitaminose D e com concentração suficiente, respectivamente. As diferenças das frequências entre os grupos com e sem hipovitaminose D não foram estatisticamente significantes ($p=0,233$). O alelo A foi o mais prevalente, em ambos os grupos: 50,7% e 58,7%, com hipovitaminose D e com concentração suficiente, respectivamente. A diferença observada entre ambos os grupos também não foi significativa ($p=0,069$) (tabela 3).

TABELA 3 – Distribuição da frequência alélica e genotípica dos polimorfismos e sua associação com a concentração de vitamina D [25(OH)D], classificados em hipovitaminose D (<30ng) e suficiente (≥30ng), com Síndrome Metabólica

Polimorfismos	Concentração de Vitamina D	Frequência Genotípica % (n)			pValor	Frequência Alélica % (n)		pValor
		<i>G/T</i>	<i>G/G</i>	<i>T/T</i>		<i>G</i>	<i>T</i>	
<i>rs12785878(G/T)</i> N: 296	Hipovitaminose	42,9 (88)	44,4 (91)	12,7 (26)	0,781	65,8 (270)	34,15 (140)	0,711
	Suficiente	47,3 (43)	40,7 (37)	12,1 (11)		64,2 (117)	37,7 (65)	
<i>rs7041(G/T)</i> N: 293	Hipovitaminose	43,8 (89)	12,3 (25)	43,8 (89)	0,992	34,4 (139)	65,7 (267)	0,961
	Suficiente	44,4 (40)	12,2 (11)	43,3 (39)		34,4 (62)	65,5 (118)	
<i>rs4646536(C/T)</i> N: 295	Hipovitaminose	18,8 (37)	7,1 (14)	74,1 (146)	0,705	16,5 (65)	83,5 (329)	0,488
	Suficiente	14,8 (13)	6,8 (6)	78,4 (69)		14,2 (25)	85,8 (151)	
<i>rs10741657(A/G)</i> N: 183	Hipovitaminose	33,3 (44)	6,1 (8)	60,5 (80)	0,193	22,7 (60)	77,2 (204)	0,393
	Suficiente	37,3 (19)	0 (0)	62,7 (32)		18,6 (19)	81,3 (83)	
<i>rs1544410(A/G)</i> N: 305	Hipovitaminose	19,7 (42)	40,8 (87)	39,4 (84)	0,233	50,7 (216)	49,3 (210)	0,069
	Suficiente	23,9 (22)	46,7 (43)	29,3 (27)		58,7 (108)	41,3 (76)	

Teste Qui-quadrado de *Pearson*

Ao avaliar a influência das variantes polimórficas de genes relacionados a via metabólica da vitamina D com o nível sérico de 25(OH)D não encontramos nenhuma significância estatística (tabela 4). Vale ressaltar que observamos baixa concentração de vitamina D em todos os genótipos avaliados, independente do SNP estudado. Esse fato reforça a forte interação entre SM e baixos níveis séricos de hidroxivitamina D.

Quando avaliamos a associação entre os componentes da síndrome metabólica e os polimorfismos estudados também não verificamos nenhuma associação significativa. Para tal, foi observado uma tendência à significância estatística entre o rs7041 do gene *GC/BDP* com a pressão arterial diastólica (PAD) e entre o gene *VDR*, variante rs1544410, com a pressão arterial sistólica (PAS). ($p=0,077$) (tabela 5).

TABELA 4 - Associação entre o nível sérico de vitamina D [25(OH)] e os polimorfismos estudados

GENE (N)	SNP	Genótipo	n	Nível sérico 25(OH)D	pValor
DHCR7 (296)	<i>rs12785878</i>	<i>G/T</i>	131	27,21 ± (7,81)	0,275
		<i>G/G</i>	128	25,64 ± (8,78)	
		<i>T/T</i>	37	27,05 ± (6,78)	
GC/BDP (293)	<i>rs7041</i>	<i>G/T</i>	129	26,62 ± (7,97)	0,834
		<i>G/G</i>	36	26,70 ± (8,29)	
		<i>T/T</i>	128	26,07 ± (8,13)	
CYP27B1 (285)	<i>rs4646536</i>	<i>C/T</i>	50	26,03 ± (7,18)	0,678
		<i>C/C</i>	20	24,94 ± (8,32)	
		<i>T/T</i>	215	26,50 ± (8,16)	
CYP2R1 (183)	<i>rs10741657</i>	<i>A/G</i>	63	25,28 ± (8,61)	0,514
		<i>A/A</i>	8	22,15 ± (6,28)	
		<i>G/G</i>	120	25,70 ± (8,50)	
VDR (305)	<i>rs1544410</i>	<i>A/G</i>	64	27,29 ± (8,03)	0,940
		<i>A/A</i>	130	26,52 ± (8,49)	
		<i>G/G</i>	111	25,37 ± (7,89)	

Legenda: CC: circunferência da cintura; PAD: pressão arterial diastólica; PAS: pressão arterial sistólica; *Glicemia em jejum;

HDL-c: lipoproteína de alta densidade colesterol; TG: triglicerídeos.

Valores de média ± desvio padrão

Teste ANOVA

TABELA 5 - Associação entre os componentes da síndrome metabólica e os polimorfismos estudados

GENE SNP (N)	Genótipo	CC	pValor	PAD	pValor	PAS	pValor	Glicemia	pValor	HDL-c	pValor	Triglicerídeos*	pValor
DHCR7 rs12785878 (296)	<i>G/T</i>	104,07 ± (12,33)		89,05 ± (12,12)		143,22 ± (19,63)		144,61 ± (71,03)		43,28 ± (8,63)		144,0 (109,0 192,0)	
	<i>G/G</i>	104,50 ± (12,00)	0,208	90,82 ± (14,14)	0,372	143,52 ± (21,15)	0,648	142,57 ± (58,88)	0,366	44,63 ± (9,20)	0,495	131,0 (97,5 197,5)	0,504
	<i>T/T</i>	100,61 ± (9,98)		87,54 ± (18,92)		140,00 ± (23,09)		127,86 ± (54,66)		43,97 ± (10,65)		107,5 (107,5 195,5)	
GC/BDP rs7041 (293)	<i>G/T</i>	103,41 ± (12,03)		87,47 ± (14,47)		141,36 ± (19,38)		139,93 ± (67,14)		43,25 ± (8,51)		142,0 (111,0 208,5)	
	<i>G/G</i>	105,03 ± (10,12)	0,528	90,13 ± (11,11)	0,077	145,97 ± (14,18)	0,175	140,13 ± (51,05)	0,568	44,08 ± (9,33)	0,144	128,0 (103,2 196,7)	0,405
	<i>T/T</i>	102,56 ± (11,98)		91,60 ± (15,69)		145,82 ± (22,68)		148,42 ± (71,25)		45,51 ± (9,82)		143,5 (97,5 189,7)	
CYP27B1 rs4646536 (295)	<i>C/T</i>	102,80 ± (13,24)		89,90 ± (16,05)		147,40 ± (24,05)		144,92 ± (63,83)		46,00 ± (9,90)		138,0 (100,7 190,5)	
	<i>C/C</i>	100,44 ± (8,51)	0,396	85,00 ± (12,77)	0,292	136,50 ± (21,83)	0,132	123,80 ± (42,95)	0,391	41,40 ± (6,66)	0,118	122,5 (106,2 185,0)	0,917
	<i>T/T</i>	104,02 ± (11,99)		90,21 ± (13,85)		142,84 ± (20,22)		145,02 ± (68,91)		43,89 ± (8,73)		144,0 (106,0 198,0)	
CYP2R1 rs10741657 (183)	<i>A/G</i>	102,27 ± (8,67)		89,76 ± (13,98)		146,11 ± (21,83)		153,34 ± (72,35)		44,23 ± (9,77)		143,0 (107,0 199,0)	
	<i>A/A</i>	97,23 ± (7,86)	0,148	86,25 ± (10,60)	0,629	138,12 ± (16,46)	0,578	148,37 ± (60,86)	0,319	48,25 ± (9,22)	0,486	146,5 (98,7 220,7)	0,526
	<i>G/G</i>	104,20 ± (12,00)		90,90 ± (14,65)		143,78 ± (22,67)		137,30 ± (65,63)		45,26 ± (9,24)		137,0 (99,7 182,7)	
VDR rs1544410 (305)	<i>A/G</i>	104,22 ± (13,58)		90,25 ± (15,47)		144,21 ± (25,13)		133,93 ± (57,19)		43,17 ± (8,80)		131,5 (108,2 200,7)	
	<i>A/A</i>	103,43 ± (11,91)	0,849	88,10 ± (13,05)	0,149	140,23 ± (17,45)	0,081	141,48 ± (64,31)	0,561	44,20 ± (8,68)	0,654	149,0 (105,7 214,2)	0,792
	<i>G/G</i>	103,11 ± (11,08)		91,63 ± (14,33)		146,17 ± (21,58)		144,82 ± (69,08)		44,48 ± (10,12)		136,0 (104,2 196,0)	

Legenda: CC: circunferência da cintura; PAD: pressão arterial diastólica; PAS: pressão arterial sistólica; Glicemia=Glicemia em jejum; HDL-c: lipoproteína de alta densidade colesterol; TG: triglicerídeos. Valores de média ± (DP) desvio padrão
Teste ANOVA

*Teste de Kruskal-Wallis. Para as análises dos triglicerídeos foi utilizado a mediana (Q1 | Q3).

DISCUSSÃO

No presente estudo foi encontrada alta prevalência de hipovitaminose D em uma amostra de pacientes com síndrome metabólica de uma região altamente ensolarada do Nordeste brasileiro. Além disso, este estudo avaliou a associação entre variantes genéticas com os componentes da síndrome metabólica e com a concentração de vitamina D [25(OH)D]. Até onde sabemos, este é o primeiro estudo que avalia a influência de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) nos genes *DHCR7*, *GC/DBP*, *CYP2R1*, *CYP27B1* e *VDR* com a concentração de 25(OH)D em uma amostra de pacientes com Síndrome Metabólica no Brasil. Apesar de não ter encontrado significância estatística nos resultados entre as variantes polimórficas e a concentração de vitamina D e componentes da SM, salientamos que alguns pontos merecem ser discutidos.

A atuação da vitamina D pode ser influenciada por fatores, ambientais, exposição solar, síntese de enzimas metabólicas, proteínas de ligação, ou polimorfismos genéticos em diversos genes produtores de componentes chave do metabolismo da vitamina D (HOLICK, 2017; JANKA et al., 2018; JIANG et al., 2018). A sinalização da vitamina D é mediada principalmente pelo receptor da vitamina D (*VDR*), que está associado a regiões promotoras de diversos genes, modulando a expressão dos mesmos e promovendo múltiplos efeitos biológicos (THOMAZ, 2013). Esse gene *VDR* é um fator de transcrição extremamente importante e atua diretamente no núcleo das células. O hormônio ativo da vitamina D atua como o principal ligante à expressão do gene transcricional mediado pelo receptor de vitamina D (SCHMITT et al., 2018).

Mais de 470 polimorfismos de *VDR* já foram identificados no gene *VDR*, com destaque para o *BsmI* (rs1544410 A>G) (JANKA et al., 2018), o mesmo avaliado neste trabalho. Em um estudo, caso-controle, realizado por Sangkaew et al. (2018), com o objetivo de investigar, entre outros, também o *BsmI*, os autores avaliaram a associação entre essa variante e os níveis séricos de 25(OH)D na população tailandesa. Como resultado, os genótipos do rs1544410, A/A e G/A, foram associados a níveis mais baixos de 25(OH)D no grupo com SM ($p < 0,05$) e à hipertrigliceridemia, concluindo que a variante polimórfica pode ter maior predisposição a desenvolver SM. Esse resultado discorda do que foi encontrado no nosso estudo, bem como no estudo de Grzegorzewska et al. (2015), que afirma que a influência dos polimorfismos do *VDR* na concentração de vitamina D é controversa, tendo aparentemente pouca relação. Essas diferenças encontradas nos resultados daqueles autores com o trabalho, aqui apresentado, pode estar relacionado às doenças que compõem à SM (SCHMITT et al., 2018) e às características da população tailandesa, que diferem

geneticamente da população miscigenada brasileira. Neste trabalho a população de pardos e pretos (auto-referida) (IBGE, 2017) com hipovitaminose D é de 194 indivíduos. Este achado pode ser justificado pela maior utilização dos serviços públicos, ou de atendimento gratuito vinculados, geralmente, ao sistema único de saúde (SUS), pela população negra (ARAÚJO, 2016; MALTA, 2015; SILVA, 2011). Já está bastante definido na literatura a influência da cor de pele na disponibilidade da vitamina D, e no nosso estudo, vale ressaltar que a maioria da população avaliada era composta por indivíduos afrodescendentes e este pode ter sido mais um fator predisponente para os resultados encontrados. Webb et al. (2018) descrevem que quanto maior a quantidade de melanina apresentada, maior será a proteção contra os raios solares, o que torna necessário maior tempo de exposição ao sol para ativação da vitamina D quando comparado àqueles com a cor da pele menos pigmentada.

No que tange a avaliação das variantes polimórficas avaliadas nesse artigo, é importante destacar que dentre todos os genes envolvidos na via metabólica da vitamina D, o *VDR* corresponde a um dos mais estudados em distintas populações e diversos tipos de estudos, principalmente os de associação de genômica ampla (GWAS) (TOMEI et al., 2020; WANG et al., 2020; SAPKOTA et al., 2016; LASKY-SU et al. 2012; WANG et al., 2010). Porém para outros autores, o gene *GC* tem sido apontado como o que mais consistentemente mostra polimorfismos de nucleotídeo único relacionados com a concentração de vitamina D (Grzegorzewska et al. 2015). Sabe-se que esse gene de transporte *GC* e os de síntese de vitamina D, *DHCR7* e *CYP2R1*, e, ainda, o gene envolvido no catabolismo, *CYP24A1*, exercem forte influência para a variabilidade nos biomarcadores circulantes da concentração de vitamina D. Nesse sentido, o estudo de Xião et al. (2021) verificou que diminuições de 25nmol/L nas concentrações séricas de 25(OH)D, usando dois SNPs de síntese (*DHCR7* -rs12785878 + *CYP2R1* -rs10741657), foram associados a um risco 14% maior de elevação da pressão arterial diastólica em chineses de meia-idade e idosos com SM, bem como de diabetes *mellitus* tipo 2. Os SNPs nos genes, *DHCR7* e *CYP2R1*, utilizados nesse último trabalho e o gene *GC* também foram investigados no presente estudo, e foi encontrado uma tendência à significância entre o rs7041 do gene *GC/BDP* com a pressão arterial diastólica (PAD) e do gene *VDR*, variante rs1544410, com a pressão arterial sistólica (PAS). Esse último resultado está de acordo com os achados de JIN et al (2021) que encontraram significância estatística entre o polimorfismo do receptor da vitamina D e a PAS, talvez porque a vitamina D participa do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (BURGAZ et al., 2011); além disso, verificaram

associação positiva entre o perfil lipídico, especialmente HDL-C, e a variante *Bsm I*, e a explicação pode estar relacionada à regulação da concentração sérica de apolipoproteína do tipo A-1 (BARBALHO et al., 2018).

Em relação aos genes *CYP2R1* (produtor das hidroxilases hepáticas) e *CYP27B1* (produtor das hidroxilases renais), Yu et al. (2019) encontraram associação direta com a concentração de 25(OH)D. Ainda de acordo com um estudo piloto caso-controle, desses autores, os resultados indicaram que os genótipos *C/T* e *T/T* (rs4646536 em *CYP27B1*) podem aumentar a suscetibilidade à deficiência de vitamina D quando comparados com o genótipo *C/C*. No nosso estudo, apesar da não significância estatística, encontramos resultados divergentes sobre a influência desses mesmos genótipos na concentração de vitamina D.

Quando abordamos a circunferência da cintura, que é um componente obrigatório da SM, pela classificação da IDF (2006), e que reflete o acúmulo de tecido adiposo corporal, sobretudo, na região abdominal e tem sido fortemente relacionado a baixos níveis séricos de vitamina D, não encontramos nenhuma associação significativa entre os polimorfismos estudados. O tecido adiposo, além de armazenar a 25(OH)D, também promove a expressão de VDR, que é regulada positivamente pela vitamina D nos pré-adipócitos, e de enzimas relacionadas ao metabolismo e a sinalização da vitamina D. Supostamente, a vitamina D e o VDR estão implicados na modulação da adipogênese (JIN et al., 2021). Dentro dessa relação entre vitamina D e tecido adiposo, vale salientar que o calcitriol também participa dessa interação com a função de promover a diferenciação dos pré-adipócitos e maturação das células adipocitárias (DING et al., 2012). Esses mesmos resultados foram encontrados por Sangkaew et al. (2018) e Schmitt et al., (2018).

Em relação às frequências alélicas e genótípicas investigadas para o mesmo polimorfismo avaliado neste artigo, o rs1544410 no gene *VDR*, dois estudos realizados no Brasil, em regiões geográficas extremamente distintas (Sul e Nordeste), foram equivalentes ao que encontramos. É válido ressaltar essa informação, visto as proporções continentais do país, e pelo processo multiétnico de colonização da nossa população. O estudo de Neves et al. (2020) avaliou a influência do rs1544410, no *VDR*, nas concentrações de 25(OH)D e níveis glicêmicos em adolescentes da região Nordeste; e no estudo de Santos et al. (2012) foi observado que as variantes do *BsmI* e o haplótipo *GGT*, de outros dois SNPs, no gene *VDR*, estiveram associados a menor concentração de vitamina D, sugerindo que esses SNPs podem estar ligados a maior suscetibilidade para deficiência de vitamina D em crianças e adolescentes da região Sul do país. Os dados desses dois estudos

mostraram um desempenho diferente no SNP rs1544410 no gene *VDR* na mesma população brasileira, que é altamente miscigenada, o que reafirma a necessidade de mais estudos e avaliação de outros fatores interferentes na concentração de vitamina D. Vale ainda ressaltar que existem diferenças, na literatura, em relação aos resultados de estudos que avaliaram SNP do gene *VDR* com as concentrações de vitamina D em populações distintas (SANGKAEW et al., 2018; GRZEGORZEWSKA et al., 2015).

O presente estudo possui alguns fatores limitantes, tais como: o desenho transversal da pesquisa, não permitiu o estabelecimento de uma relação causal entre a concentração de hidroxivitamina D e Síndrome Metabólica e a falta de grupo controle sem Síndrome e além disso, a vitamina D foi medida apenas em um único momento em cada participante. Há necessidade de avaliações estatísticas mais complexas para avaliar a real influência dos polimorfismos sobre os cofatores da SM em associação com os níveis séricos da vitamina D.

CONCLUSÃO

Houve uma tendência à significância estatística entre o rs7041 do gene *GC/BDP* com a pressão arterial diastólica (PAD) e entre o gene *VDR*, variante rs1544410, com a pressão arterial sistólica (PAS). Não observamos nenhuma outra associação significativa dos demais SNP avaliados com a concentração de vitamina D e componentes da síndrome metabólica, bem como na avaliação das frequências alélicas e genotípicas com a concentração de vitamina D. Análises estatísticas mais complexas e novos estudos precisam ser realizados para descartar ou não a influência da genética na alta prevalência de hipovitaminose D da população com SM, tal como, o estudo de associação genômica ampla.

Artigo 2:

ASSOCIAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA D COM OS COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA E FATORES ASSOCIADOS

COUTINHO-LIMA, Radamés
ARAÚJO, Edilene Maria Queiroz

INTRODUÇÃO

A vitamina D exerce extrema importância na saúde e metabolismo humano e, por isso, apresenta forte relevância no controle e tratamento de diversas doenças. Quando a concentração desta vitamina está reduzida no organismo muitas complicações clínicas podem surgir, independente da idade (HOLICK, 2017). É possível afirmar que a deficiência da vitamina D está comumente associada a doenças do sistema musculoesquelético (ALZAHEB, 2018) e, além disso, novas associações também sugerem forte ligação entre o surgimento de doenças metabólicas e multifatoriais como diabetes *mellitus* (DM), hipertensão arterial, dislipidemias, obesidade (FONSECA, 2015); doenças autoimunes (REY et al., 2013) e cardiovasculares (WANG T. J, 2016).

A deficiência de vitamina D é uma condição clínica que apresenta proporções epidêmicas e que atinge mais de 1 bilhão de pessoas mundialmente (HOLLICK, 2011). Constitui um grave problema de saúde pública em inúmeros países do mundo por acometer grande parcela da população de diversas faixas etárias e regiões geográficas e, inclusive, países tropicais como o Brasil (FERREIRA et al., 2018; JORGE et al, 2018).

A vitamina D, além de participar do controle da homeostase óssea e absorção de cálcio, pode estar relacionada a fisiopatogênese de diversas doenças metabólicas. Diante disso, há um grande interesse em solucionar a lacuna de conhecimento existente sobre a alta prevalência da hipovitaminose D e doenças crônicas não transmissíveis e, principalmente, com a síndrome metabólica (SM) por reconhecer o alto risco à saúde promovido por ambas as condições clínicas (MAEDA et al., 2014; ALZAHEB, 2018).

A SM é uma disfunção multifatorial que engloba inúmeras alterações no metabolismo e atinge um número significativo de pessoas. Descrita, ainda, como a disfunção com maior taxa de crescimento de frequência em todo o mundo, essa síndrome tem a resistência insulínica (RI) como principal fator desencadeador. A RI está associada ao maior acúmulo de tecido adiposo na região abdominal do indivíduo (VERRUSIO et al., 2017) e a posteriori pode levar ao aumento da circunferência da cintura, do índice de massa corporal (IMC) e da adiposidade corpórea (FERREIRA et al., 2018; JORGE et al, 2018; NCEP, 2002) que influencia diretamente na biodisponibilidade da vitamina D.

Diversos estudos têm sugerido que a presença de obesidade é um importante fator para o surgimento da SM (VIMALESWARAN KS et al., 2013; WORTSMAN et al., 2000; CASTRO et al., 2014) e tem sido amplamente associada a baixas concentrações de vitamina D. Para além disso, a hipovitaminose D também tem sido associada isoladamente aos componentes da síndrome bem como a fatores metabólicos associados a SM (SCHUCH; GARCIA; MARTINI, 2009; VERRUSIO et al., 2017; YIN et al., 2016). Vale salientar que uma das justificativas para associação entre hipovitaminose D e síndrome metabólica seria pelo fato da vitamina D atuar direta e indiretamente na etiopatogenia dos componentes metabólicos da SM, tais como: inibição da diferenciação de adipócitos, estimulação da secreção de insulina, estimulação da transcrição do gene da renina, supressão da lipase lipoproteica e outros (MIÑAMBRES, SANCHEZ-QUESADA, PÉREZ, A.; 2015).

Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo avaliar se há associação entre a concentração de vitamina D com componentes da SM [glicemia em jejum, pressão arterial sistólica e diastólica, triglicerídeos e colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-c)] e fatores metabólicos associados à síndrome [Homa-IR, insulina de jejum, proteína C-reativa (PCR), colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e muito baixa densidade (VLDL-c), ureia, creatinina e ácido úrico] numa amostra de indivíduos com síndrome metabólica. Além disso, investigar se o quantitativo de componentes da síndrome influencia na concentração de 25(OH)D.

MATERIAL E MÉTODOS

Considerações iniciais

Este projeto de pesquisa está inserido em um estudo mais amplo, intitulado de: “*Influência da dieta sem lactose sobre a síndrome metabólica: papel de polimorfismos nos genes da lactase, adiponectina e seu receptor, gip e receptor, TCF7L2, TNF, IL-6 E NF-kB*” realizado na UNEB pelos Profs Dr^a. Edilene Maria Queiroz Araújo e Dr. Domingos Lázaro Rios.

Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo observacional, analítico do tipo transversal, realizado no período de maio de 2018 a maio de 2021, de amostra aleatória e não probabilística. Neste estudo foi investigado, a associação entre a concentração de vitamina D com os componentes da síndrome metabólica e fatores associados à síndrome. Foram recrutados, inicialmente, 862 pacientes e após aplicação dos critérios de elegibilidade bem como as respectivas exclusões, durante as etapas envolvendo procedimentos genéticos realizadas no “*Artigo 1*”, restaram para as análises finais dados de 338 voluntários elegíveis. A figura 1 apresenta o delineamento do estudo detalhado.

Critérios de participação no estudo

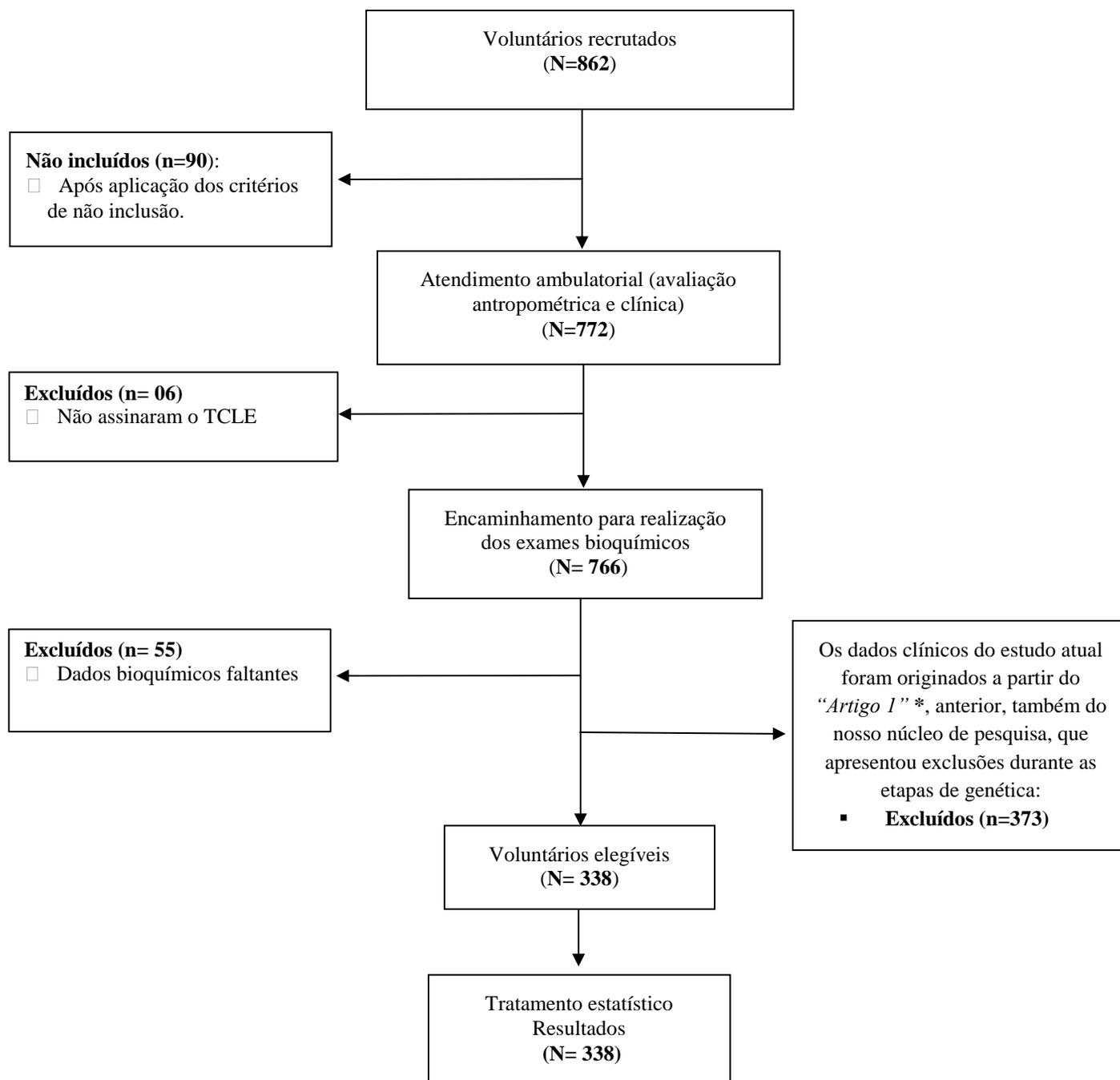
A população de estudo foi composta de indivíduos com SM que preencheram os seguintes critérios de participação:

- ✓ Homens e mulheres acima de 20 anos;
- ✓ Assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE);
- ✓ Não fazer uso de suplementos alimentares que contenham vitamina D;
- ✓ Não ter diagnóstico de:
 - ✓ doenças inflamatórias intestinais crônicas (história clínica de doença Crohn, retocolite ulcerativa, colón irritável e diverticulite);
 - ✓ insuficiência renal crônica (história clínica);
 - ✓ doenças hepáticas crônicas com exceção de esteatose hepática;
 - ✓ doenças autoimunes;
- ✓ Não estar em período gestacional ou ser lactante;
- ✓ Não fazer uso contínuo de corticoide, anticonvulsivante e antifúngico;
- ✓ Não estar em uso de medicamento para controle de apetite, ansiolíticos ou antidepressivos;

Quanto aos critérios de exclusão:

- ✓ Voluntários que desistirem de participar do estudo;
- ✓ Óbito durante alguma etapa da pesquisa;
- ✓ Se recusarem a realizar algum procedimento de coleta.

Figura 1 – Fluxograma do estudo



Legenda: TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; SM: Síndrome Metabólica; HGRS: Hospital Geral Roberto Santos. *Será incluído, na publicação, as informações referentes ao "Artigo 1", como título, ano e revista que o mesmo foi publicado.

Classificação dos voluntários participantes

O grupo de voluntários participantes foi composto por pacientes com síndrome metabólica classificados de acordo com os critérios da Federação Internacional de Diabetes (2006) conforme quadro 1.

Quadro 1 – Critérios de diagnóstico para a síndrome metabólica

Fatores de risco	Critérios
Circunferência da cintura *	≥94cm em homens ≥80cm em mulheres
Triglicerídeos	≥ 150mg/dL **
Pressão arterial	≥ 130 x 85 mmHg **
Glicemia de jejum	≥ 100 mg/dL **
HDL-colesterol	< 50 mg/dL em mulheres ** < 40 mg/dL em homens **

Fonte: adaptado da IDF (2006) na qual a *circunferência da cintura é um critério obrigatório.
Legenda: ** ou em tratamento medicamentoso; HDL: lipoproteína de alta densidade

Desenvolvimento da pesquisa, infraestrutura, coletas, análises

Os pacientes foram inicialmente abordados por membros da equipe da pesquisa no ambulatório de cardiologia e endocrinologia do Hospital Geral Roberto Santos (HGRS) ou por demanda espontânea. Após a triagem e identificação da Síndrome todos os pacientes foram encaminhados e, posteriormente, atendidos no ambulatório de nutrição do Núcleo de Pesquisa e Extensão em Genômica Nutricional e Disfunções Metabólicas (GENUT) da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), *campus I*. Todos os voluntários participantes receberam explicação de projeto e do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, e após assinatura foram realizadas as seguintes etapas de coleta de dados:

Avaliação clínica e antropométrica: para a aferição da pressão arterial sistêmica (PAS) foram utilizados o estetoscópio da marca (*Littmann*[®]) e tensiômetro (*Bic*[®]) seguindo as orientações da VII Diretrizes Brasileira de Hipertensão Arterial, 2016, de duas aferições após 5 minutos de repouso.

Para a determinação do perfil antropométrico o peso foi medido em balança digital com plataforma robusta da marca (*Welmy*[®]) e a altura em estadiômetro fixo da marca (*Avanutri*[®]). Posteriormente foi calculado o índice de massa corporal (IMC) dividindo o peso (em kg) pela altura ao quadrado (em metros) [IMC = peso ÷ (altura × altura)] (ABESO,

2021). A classificação do IMC foi baseada nas recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2004) para adultos e de *Lipschitz*, 1994 para idosos (quadro 2).

A medida da circunferência da cintura (CC) foi realizada com a fita inelástica (*Sanny*[®]), seguindo as recomendações da I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica, 2005, para sua coleta.

Quadro 2 – Classificação do índice de massa corporal para adultos e idosos

Adultos		Idosos	
Classificação	IMC (kg/m ²)	Classificação	IMC (kg/m ²)
Baixo peso	< 18,5	Baixo peso	< 22
Eutrofia	18,5 a 24,9	Eutrofia	22 a 27
Sobrepeso	25,0 e 29,9	Excesso de peso	> 27
Obesidade	Grau I - 30 a 34,9		
	Grau II - 35 a 39,9		
	Grau III - > 40		

Legenda. IMC: índice de massa corporal.

Fonte: OMS, 2004 e de Lipschitz, 1994.

Dosagens bioquímicas: os pacientes foram encaminhados para o laboratório de análises clínicas da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais APAE da cidade de Salvador-BA para coleta sanguínea de 15 mL de sangue periférico para a realização das dosagens bioquímicas: Lipoproteína de alta densidade - HDL-c, triglicerídeos e glicemia de jejum; insulina de jejum; Proteína C reativa – PCR e outros (quadro 3).

Quadro 3 – Exames, métodos e valores referenciais dos marcadores bioquímicos avaliados no estudo quantos aos critérios da síndrome metabólica e aos fatores associados à síndrome.

Componentes da SM		
Exame	Método	Valores referenciais
Glicemia de jejum	Enzimático	70 à 99 mg/dL
Lipoproteína de alta densidade - colesterol (HDL-c)	Colorimétrico	> 40 mg/dL em homens ou > 50 mg/dL em mulheres
Triglicerídeos	Enzimático	< 150 mg/dL
Fatores associados à SM		
Exame	Método	Valores referenciais
Insulina de jejum	Quimiluminescência	1,9 a 23,0 µU/mL
Proteína C reativa	Imunoturbidimetria	< 1 mg/L para risco cardíaco baixo; 1 a 3 mg/L, risco médio e > 3 mg/L, alto.
Lipoproteína de baixa densidade – colesterol (LDL-c)	Enzimático	< 130mg/dL
Lipoproteína de muito baixa densidade - colesterol (VLDL-c)	Enzimático	< 40mg/dL

Colesterol total	Enzimático	< 200mg/dL
Ureia	Urease/cinético	10,0 a 50,0 mg/dL
Creatinina	Picrato/cinético IDMS	Homens: 0,7 a 1,3 mg/dL Mulheres: 0,6 a 1,1 mg/dL
Ácido úrico	Enzimático	Homens: 2,5 a 6,0 mg/dL Mulheres: 2,0 a 5,0 mg/dL

Legenda: SM= Síndrome Metabólica; componentes bioquímicos da SM.

Fonte: Laboratório de análises clínicas da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (LABAC/APAE), 2021

A vitamina D foi avaliada a partir da concentração plasmática de 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] com o uso do método quimioluminescência e foi classificada conforme quadro 4. Foram considerados com hipovitaminose D os voluntários que apresentaram valores de 25(OH)D <30ng/ml e suficientes entre ≥ 30 até 100ng/ml.

Quadro 4 – Classificação do perfil nutricional referente a dosagem sérica da 25 (OH) D

Exame	Método	Valores referenciais (ng/mL)
Hidroxivitamina D 25(OH)D	Quimioluminescência	Deficiência ≤ 20
		Insuficiência 21 a 29
		Suficiência ≥ 30 a 100
		Excesso / Tóxico > 100

Adaptado de: Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, 2018; Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, 2014; Holick, 2011.

Foi realizado o método de *Homeostasis Model Assessment* - HOMA-IR para a avaliação do grau de secreção e resistência à insulina. O HOMA-IR é feito a partir de um cálculo matemático de execução simples, que se fundamenta nas dosagens da insulinemia e da glicemia, ambas de jejum (modelo 1) descrito em 1985 por David Mathews: (HOMA-IR: Glicemia jejum x 0,0555 x Insulina jejum / 22,5)¹⁷. Foi considerado com resistência insulínica os voluntários que apresentaram valor do Homa-IR $> 2,71$ (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2019-2020; GELONEZE et al., 2005).

Considerações éticas

O projeto foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisas da UNEB, sob nº do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAEE): 03409712.9.0000.0057 (parecer nº 1283257) e realizado de acordo com as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos contidas na Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. O estudo foi conduzido de acordo com as recomendações da declaração de Helsinki. O anonimato, a confidencialidade das informações e a participação voluntária dos participantes serão garantidos. Todos os voluntários que concordaram em participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Tratamento Estatístico

As frequências das variáveis categóricas foram comparadas utilizando o teste de qui-quadrado de *Pearson*. Os dados estão apresentados em número absoluto e percentuais de acordo com a classificação da concentração de vitamina D.

Para as análises que foram utilizadas variáveis contínuas, como o nível sérico de hidroxivitamina D, utilizou-se o teste *t de Student* para verificar a associação entre o nível sérico de vitamina D 25(OH)D com os componentes da síndrome metabólica e fatores associados. Variáveis contínuas estão expressas em média e desvio padrão (DP).

As análises estatísticas foram feitas com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) para Windows, versão 20.0.

O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

A amostra do estudo foi constituída de 338 voluntários com Síndrome Metabólica. A média de idade foi de 56 anos (± 9.66), de IMC 33,0 Kg/m² (± 5.86) e da concentração plasmática de hidroxivitamina D 26,05ng/mL (± 8.06) e foi observado ainda alta prevalência de hipovitaminose D (70,1%). Quanto as médias dos componentes da SM e dos fatores associados à síndrome, essas estão descritas na tabela 1.

TABELA 1 – Descrição de dados clínicos e bioquímicos da população estudada com relação aos componentes da SM e dos fatores associados à síndrome

Variável	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Idade (anos)	338	56,00	9,66	56,00	27,0	84,0
IMC (Kg/m ²)	338	33,0	5,8	32,1	21,9	56,6
25(OH)D (ng/mL)	338	26,05	8,06	25,10	4,0	53,1
RCQ (cm)	338	1,28	6,14	0,95	0,70	114,00
CC (cm)	338	103,6	11,6	103,0	81,0	158,5
HDL-c (mg/dL)	338	44,1	9,2	43,0	24,0	75,0
PAS (mmHg)	338	143,4	20,4	140,0	90,0	240,0
PAD (mmHg)	338	89,3	14,3	90,0	20,0	170,0
Glicemia em jejum (mg/dL)	338	144,3	68,5	120,0	47,0	499,0
Triglicerídeos (mg/dL)	338	171,9	131,4	144,00	45,0	1774,0
Insulina (μ U/mL)	338	12,5	11,3	10,23	2,31	149,0
Colesterol Total (mg/dL)	338	203,4	49,7	199,0	96,0	414,0
LDL-c (mg/dL)	326	125,5	41,3	123,00	40,0	264,0
VLDL-c (mg/dL)	311	31,1	14,4	27,80	9,0	79,4
PCR(mg/L)	338	5,2	7,6	3,27	0,04	105,00
Homa-Ir	338	4,4	5,4	3,12	0,49	77,18
Creatinina (mg/dL)	336	0,91	0,75	0,80	0,44	10,60
Ureia (mg/dL)	331	33,9	10,40	33,00	16,0	79,0
Ácido Úrico (mg/dL)	338	4,9	2,05	4,750	1,8	33,0

Legenda: IMC: índice de massa corporal; RCQ: relação cintura quadril; CC: circunferência da cintura; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; VLDL-c: lipoproteína de muito baixa densidade; PCR: proteína C reativa.

Estão apresentados na tabela 2 os demais dados clínicos e sociodemográficos dos participantes classificados com hipovitaminose D ou concentração suficiente. Na avaliação das variáveis sociodemográficas, foi observado maior prevalência de participantes do sexo feminino, adultos e negros que incluem indivíduos com cor de pele preta e parda. Com relação a avaliação clínica, foi observada maior prevalência de indivíduos com IMC elevado no grupo de pacientes com hipovitaminose D ($p=0,030$).

TABELA 2 - Características clínicas e sociodemográficas de acordo com a concentração da vitamina D [25(OH)D], classificada em hipovitaminose ou suficiente, nos indivíduos com Síndrome Metabólica

Variável	Concentração de 25(OH)D		pValor	
	Hipovitaminose D % (n)	Suficiência % (n)		
Sexo				
	Feminino	71,9 (200)	28,1 (78)	0,284
	Masculino	65 (39)	35 (21)	
Cor da pele				
	Preto	71,3 (129)	28,7 (52)	0,749
	Pardo	67,7 (65)	32,3 (31)	
	Branco	73,1 (38)	26,9 (14)	
Faixa etária				
	Adulto	72,5 (153)	27,5 (58)	0,348
	Idoso	67,7 (86)	32,3 (41)	
Escolaridade				
	Analfabeto	66,7 (14)	33,3 (7)	0,501
	Fundamental incompleto	72,6 (90)	27,4 (34)	
	Fundamental completo	65,9 (27)	34,2 (14)	
	Ensino Médio incompleto	80,0 (12)	20,0 (3)	
	Ensino Médio completo	73,5 (83)	26,5 (30)	
	Superior incompleto	42,9 (3)	57,1 (4)	
	Superior completo	60,0 (9)	40,0 (6)	
Renda familiar				
	Até 1 salário mínimo	74,4 (93)	25,6 (32)	0,251
	De 1 a 2 salários mínimos	68,9 (82)	31,3 (37)	
	De 2 a 3 salários mínimos	68,1 (32)	31,9 (15)	
	De 3 a 4 salários mínimos	57,7 (15)	42,3 (11)	
	De 4 a 5 salários mínimos	70,0 (7)	30,0 (3)	
	Mais de 5 salários mínimos	100,0 (8)	0,0 (0)	
Relação Cintura Quadril				
	Baixo risco	83,3 (5)	16,7 (1)	0,320
	Risco moderado	75,8 (72)	24,2 (23)	
	Risco alto	68,4 (162)	31,6 (75)	
Índice de Massa Corporal				
	Eutrofia	58,3 (7)	41,7 (5)	0,030
	Sobrepeso	71,3 (72)	28,7 (29)	
	Obesidade I	62,6 (77)	37,4 (46)	
	Obesidade II	79,3 (46)	20,7 (12)	
	Obesidade III	84,1 (37)	15,9 (7)	

Teste Qui-quadrado de *Pearson*

Na avaliação da concentração de vitamina D com os componentes da Síndrome Metabólica (tabela 3) foi observado significância estatística entre a concentração de 25(OH)D com a pressão arterial diastólica ($p=0,009$) e com os triglicerídeos ($p=0,040$). Foi evidenciado que dentre os participantes com alteração nessas variáveis a maioria dos indivíduos apresentavam hipovitaminose

D. Vale ressaltar que não foram realizadas avaliações com a circunferência da cintura pelo fato desse componente corresponder a um critério obrigatório de diagnóstico da SM.

TABELA 3 – Avaliação dos componentes da síndrome metabólica com a concentração da vitamina D [25(OH)D], classificada em hipovitaminose ou suficiente, nos indivíduos com Síndrome Metabólica.

Componentes da SM	Concentração de 25(OH)D		pValor
	Hipovitaminose D % (n)	Suficiência % (n)	
Pressão arterial diastólica	Normal	62,6 (82)	0,009
	Elevada	75,8 (157)	
Pressão arterial sistólica	Normal	66,0 (35)	0,416
	Elevada	71,6 (204)	
Glicemia em jejum	Normal	72,8 (59)	0,629
	Elevada	70,0 (180)	
HDL-c	Normal	70,7 (70)	0,999
	Reduzido	70,7 (169)	
Triglicerídeos	Normal	65,9 (118)	0,040
	Elevado	76,1 (121)	

Legenda: SM: Síndrome Metabólica; PA: Pressão Arterial; HDL-c: Lipoproteína de Alta Densidade.
Teste Qui-quadrado de *Pearson*

Quando avaliamos a concentração da vitamina D com os fatores associados à Síndrome foi observado significância estatística com o índice Homa-IR ($p=0,018$), LDL-c ($p=0,043$) e Colesterol Total ($p=0,028$) (tabela 4). Logo, existiam mais indivíduos com esses marcadores elevados entre os participantes com a hipovitaminose D.

TABELA 4 – Avaliação dos fatores associados à síndrome metabólica com a concentração da vitamina D [25(OH)D], classificada em hipovitaminose ou suficiente, nos indivíduos com Síndrome Metabólica

Fatores Associados	Concentração de 25(OH)D		pValor
	Hipovitaminose D % (n)	Suficiência % (n)	
Insulina em Jejum			
Normal	71,3 (224)	28,7 (90)	0,359
Elevada	62,5 (15)	37,5 (9)	
Homa-IR			
Normal	63,4 (83)	36,6 (48)	0,018
Elevado	75,4 (156)	24,6 (51)	
LDL-c			
Normal	65,0 (117)	35,0 (63)	0,043
Elevada	75,3 (110)	24,7 (36)	
VLDL-c			
Normal	69,3 (169)	30,7 (75)	0,394
Elevada	74,6 (50)	25,4 (17)	
Colesterol Total			
Normal	65,3 (111)	34,7 (59)	0,028
Elevado	76,2 (128)	23,8 (40)	
Ureia			
Normal	71,2 (223)	28,8 (90)	0,444
Elevada	64,0 (16)	36,0 (9)	
Creatinina			
Normal	71,5 (221)	28,5 (88)	0,285
Elevada	62,1 (18)	37,9 (11)	
Ácido Úrico			
Normal	69,5 (146)	30,5 (64)	0,539
Elevado	72,7 (93)	27,3 (35)	
PCR			
Normal	66,3 (57)	33,7 (29)	0,296
Elevada	72,2 (182)	27,8 (70)	

Legenda: HDL-c: Lipoproteína de Baixa Densidade CT: Colesterol Total; PCR: proteína C reativa.
Teste Qui-quadrado de *Pearson*

Na Tabela 5 foi investigado a influência do quantitativo de componentes da síndrome metabólica na concentração de 25(OH)D, classificada em hipovitaminose ou suficiente, porém não foi observado significância estatística.

Tabela 5 – Avaliação da influência do quantitativo de componentes da Síndrome Metabólica na concentração da vitamina D [25(OH)D], classificada em hipovitaminose ou suficiente, nos indivíduos com Síndrome Metabólica

Nº de componentes da SM	Concentração de 25(OH)D		pValor
	Hipovitaminose D % (n)	Suficiência % (n)	
3	69,7 (46)	30,3 (20)	0,609
4	68,0 (85)	32,0 (40)	
5	73,5 (108)	26,5 (39)	

Legenda: SM: Síndrome Metabólica. Teste Qui-quadrado de *Pearson*

Quando avaliamos apenas o nível sérico de vitamina D [25(OH)D], independente da sua classificação, com os componentes da síndrome metabólica e fatores associados à síndrome, verificamos algumas associações significativas (tabela 6). Estiveram associadas a baixos níveis séricos de 25(OH)D, a pressão arterial diastólica elevada ($p=0,003$), os triglicerídeos ($p=0,022$), o Homa-IR ($p=0,016$), o LDL-c ($p=0,008$) e o colesterol total ($p=0,001$), ambos elevados/alterados. Vale destacar que, para essas análises, observamos valores de 25(OH)D abaixo de 30ng/mL nos pacientes com ou sem alteração nos componentes da SM e nos fatores associados à síndrome. Esses achados reforçam a forte associação existente entre SM e baixos níveis de vitamina D.

Tabela 6 – Associação entre o nível sérico de vitamina D [25(OH)D] com os componentes da síndrome metabólica e fatores associados à síndrome em uma amostra de indivíduos com Síndrome Metabólica.

COMPONENTES da SM		n	Nível sérico de 25(OH)D		pValor
			Média ± DP		
Pressão arterial diastólica					0,003
	Normal	131	27,69 ± 7,91		
	Elevada	270	25,02 ± 8,00		
Pressão arterial sistólica					0,695
	Normal	53	25,65 ± 7,69		
	Elevada	285	26,13 ± 8,13		
Glicemia em jejum					0,498
	Normal	81	25,52 ± 7,45		
	Elevada	257	26,22 ± 8,25		
HDL-c					0,686
	Normal	99	26,33 ± 7,51		
	Reduzido	239	25,94 ± 8,28		
Triglicerídeos					0,022
	Normal	179	26,99 ± 8,55		
	Elevado	159	24,99 ± 7,35		
FATORES ASSOCIADOS à SM					
Insulina em Jejum					0,244
	Normal	314	25,91 ± 7,97		
	Elevada	24	27,90 ± 9,12		
Homa-IR					0,016
	Normal	131	27,38 ± 8,46		
	Elevado	207	25,21 ± 7,69		
LDL-c					0,008
	Normal	180	27,33 ± 8,25		
	Elevada	146	24,96 ± 7,65		
VLDL-c					0,279
	Normal	244	26,288 ± 7,88		
	Elevada	67	25,11 ± 7,57		
Colesterol Total					0,001
	Normal	170	27,45 ± 8,05		
	Elevada	168	24,63 ± 7,83		
Ureia					0,656
	Normal	313	25,99 ± 7,83		
	Elevada	25	26,74 ± 10,70		
Creatinina					0,810
	Normal	309	26,08 ± 7,93		
	Elevada	29	25,71 ± 9,43		
Ácido Úrico					0,834
	Normal	210	25,98 ± 8,16		
	Elevado	128	26,17 ± 7,92		
PCR					0,626
	Normal	86	27,33 ± 7,25		
	Elevada	252	25,91 ± 8,63		

Legenda: SM: Síndrome Metabólica; PA: Pressão Arterial; HDL-c: Lipoproteína de alta densidade; LDL-c: Lipoproteína de baixa densidade; VLDL-c: Lipoproteína de muito baixa densidade; PCR: proteína C reativa; DP: desvio padrão.
Teste t de Student

DISCUSSÃO

A hipovitaminose D é uma importante preocupação de saúde a nível pandêmico global e a baixa concentração plasmática dessa vitamina tem sido encontrada em distintas populações e grupos etários (PALACIOS, GONZALEZ, 2014; CHEN et al., 2019). A principal conformação, 25(OH)D, reflete verdadeiramente o resultado funcional da ação dessa vitamina no organismo e em outras áreas específicas, além da sua ação clássica no metabolismo ósseo (YANG et al., 2013). Embora, historicamente a vitamina D tenha sido associada à regulação e manutenção da saúde osteomuscular, essa vitamina também está envolvida em muitos processos biológicos que regulam as respostas imunológicas e pró-inflamatórias (YANG et al., 2013) e tem sido fortemente associada à síndrome metabólica e a fatores associados à síndrome (CHEN et al., 2019; YANG et al., 2013).

No presente estudo foi encontrada alta prevalência de hipovitaminose D (70,1%) e associação significativa entre a baixa concentração de vitamina D 25(OH)D, elevação dos componentes da SM (pressão arterial diastólica e triglicerídeos), dos fatores clínicos associados à síndrome (Homa-IR, LDL-c colesterol total) e ao IMC. Assim percebe-se o porquê de muitos estudos tentarem elucidar como a concentração de vitamina D pode influenciar na etiopatogênese da SM e demais disfunções endocrinometabólicas, como hipertensão arterial, diabetes *mellitus*, dislipidemias e obesidade (VRANIĆ et al., 2019). No entanto ainda está incerta a direção da casualidade entre essas condições (JU, JEONG, KIM, 2014).

A deficiência de vitamina D encontrada nessa pesquisa é semelhante ao resultado do estudo realizado por Wieder-Huszla et al. (2019) em que, dentre as 119 mulheres participantes com SM, apenas 26,89% apresentaram níveis adequados, 52,94% possuíam deficiência e 20,16% foram identificados com níveis séricos elevados de vitamina D. Uma possível explicação para esse achado é que na Polônia, de março a setembro, uma exposição ao sol de 15 minutos com 18% do corpo exposto já é suficiente para alcançar as necessidades de vitamina D. Quanto a esta pesquisa, um estudo prévio realizado pelo nosso núcleo de pesquisa, com a mesma população com SM, para avaliar a exposição solar, as autoras identificaram que a maioria dos voluntários participantes apresentavam boa exposição ao sol, do tipo moderada (90,9%) (SANTOS, ARAÚJO, MELO, 2013). Isso significa que a alta prevalência de hipovitaminose D nesse estudo, provavelmente, não está relacionada com a exposição solar. Diaz et al. (2016) avaliaram 712 indivíduos hispânicos, dos quais, 289 apresentavam SM, com 22,7 ng/mL de nível sérico de 25(OH)D (insuficiente) ($p < 0,001$),

comparados com os que não possuíam SM (25,5 ng/mL). O que reforça o fato que possuir síndrome corresponde a um fator de risco para ter a concentração ainda mais reduzida dessa vitamina.

Pesquisas de abrangência populacional fornecem dados que explicam a baixa concentração sérica de vitamina D, que é uma condição multifatorial, relacionada aos hábitos de vida, cor da pele, fatores climáticos e étnicos, que tem como consequência possíveis implicações na saúde, tais como, aumento da incidência de doenças autoimunes, surgimento de cânceres e doenças cardiovasculares (SBEM, 2014). Some-se a isso, outra condição etiopatogênica, é a presença da obesidade, principalmente visceral, em que o tecido adiposo, que possui alta afinidade química com a vitamina D, aumenta sua captação, e, conseqüentemente, reduz seus níveis e biodisponibilidade (WIEDERHUSZLA et al., 2019). Dessa forma, tem sido sugerido que a hipovitaminose D seja consequência da obesidade (VRANIĆ et al., 2019) e que quanto maior o índice de massa corporal ou de medidas que reflitam o quantitativo de adiposidade corpórea, menores serão as concentrações plasmáticas de hidroxivitamina D no organismo (WALSH et al., 2017), afirmação que reflete o resultado encontrado nesta pesquisa. Pham et al. (2015) investigaram o efeito das concentrações basais de 25(OH)D em pacientes com síndrome metabólica e verificaram que a concentração da vitamina D predizia a incidência da síndrome, independentemente do IMC e do HOMA-IR. Ambos os componentes eram importantes para o reconhecimento do *status* da vitamina D como fatores causais na etiologia da SM, devido a sua relação direta com a adiposidade. Além disso, foi constatado que eventuais aumentos na concentração de 25(OH)D, durante o acompanhamento, reduziram o risco de síndrome metabólica (PHAM et al., 2015).

Ainda sobre a associação entre hipovitaminose D e o aumento do IMC, de forma contrária, Wang et al. (2020) verificaram que o IMC não atuou como um componente preditor à hipovitaminose D, e que apenas o sexo feminino, a idade mais jovem, e a estação do ano (inverno / primavera) estiveram associados. Uma das justificativas para a não associação entre IMC e hipovitaminose D, após a análise por sexo, foi que nas mulheres avaliadas, existia um fator dietético comum, a desnutrição, e no sexo masculino, os homens com sobrepeso, eram fisicamente ativos. Para os pesquisadores esses fatores podem ter sido determinantes, visto que a atividade física demonstrou aumentar efetivamente as concentrações de vitamina D nos participantes do estudo. Logo, homens com excesso de peso não apresentaram risco aumentado de hipovitaminose D em comparação a aqueles com IMC normal (WANG et al., 2020).

Considerando que 100% dos voluntários avaliados, no nosso estudo, apresentavam elevação da circunferência da cintura, condição altamente associada ao aumento do percentual de gordura e que pode potencializa a redução da biodisponibilidade da vitamina D, não encontramos nenhuma associação entre hipovitaminose D e a RCQ. Contudo, faz-se importante salientar que fatores genéticos e ambientais podem influenciar diretamente no peso corporal e adiposidade (OCHS-BALCOM et al., 2011) e, posteriormente, no aumento do índice de massa corporal e sobretudo na circunferência da cintura (YANG et al., 2007; OCHS-BALCOM et al., 2011). Dentro desse contexto, vale ressaltar que a circunferência da cintura elevada (PHAM et al., 2015) SM (BARBALHO et al., 2018) e a obesidade (WALSH et al., 2017; OCHS-BALCOM et al., 2011) podem estar diretamente associadas à deficiência de vitamina D. Estudos clínicos mostram correlação inversamente proporcional entre a concentração de vitamina D e RCQ (WALSH et al., 2017; VRANIĆ et al., 2019) circunferência da cintura, IMC e triglicerídeos (COUTINHO et al., 2017). Para esse último, foi verificado no nosso estudo também, uma associação inversamente proporcional entre triglicerídeos elevados e baixos níveis séricos de 25(OH)D.

Pesquisas bidirecionais de randomização mendeliana sugerem que os fatores de risco cardiometabólicos, como colesterol de lipoproteína de baixa densidade, colesterol remanescente alto e obesidade podem induzir causalmente reduzidas concentrações de vitamina D. Aqui, no presente estudo, encontramos fortes associações significativas entre a baixa concentração de vitamina D e fatores clínicos cardiometabólicos, associados à SM, com exceção da PCR. Constatamos que o LDL-c e o colesterol total, ambos elevados, estiveram associados a menores níveis de 25(OH)D nos pacientes. A esse respeito, Chen et al. (2019) apontaram que menores concentrações de 25(OH)D, provavelmente, não influenciavam no aumento das frações de colesterol sanguíneo. Os autores concluíram que a 25(OH)D sérica baixa pode ser uma consequência dos distúrbios cardiometabólicos, ao invés da causa das doenças cardiometabólicas.

Analisando um pouco mais esses dados, tem sido sugerido que o excesso de ácidos graxos livres presentes no indivíduo com SM pode interferir em determinados sistemas endocrinometabólicos, bem como afetar o metabolismo glicídico, a funcionalidade cardíaca e a contratilidade muscular. O excesso das moléculas de ácidos graxos circulantes pode promover alteração na síntese e depuração de lipoproteínas, desregular ainda mais o metabolismo lipídico e, conseqüentemente, ocasionar dislipidemias, que são: redução de HDL-c e hipertrigliceridemia, cofatores da SM, bem como aumento de VLDL e LDL (HOLICK, 2007). Assim, indivíduos com

hipovitaminose D e SM possuem maior susceptibilidade a desenvolverem dislipidemias (FARAJI, ALIZADEH, 2020). Essa afirmação explica os achados nesta pesquisa em que houve forte associação estatística entre hipovitaminose D e três marcadores lipídicos, sendo dois deles, fatores associados à síndrome (LDL-c e colesterol total) e um componente da SM (triglicerídeos). Comparativamente, no estudo de Barbalho et al. (2018) foi observada alta prevalência de dislipidemia em pacientes com hipovitaminose D e SM. As principais associações encontradas foram com a elevação de triglicerídeos, colesterol total, LDL e redução de HDL. Os autores sugeriram que a vitamina D exerce um papel no transporte de colesterol, regula a concentração sérica de apolipoproteína do tipo A-1 e é capaz de modular a redução da captação de LDL-c, bem como o desenvolvimento de células espumosas, que contribuem para o surgimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares (BARBALHO et al., 2018).

Um outro componente da SM que esteve associado a baixos níveis de 25(OH)D, neste estudo, foi a pressão arterial diastólica. Tem sido sugerido forte associação entre hipertensão arterial sistêmica com deficiência de vitamina D. Para tal, as vias de explicação incluem a participação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), homeostase do cálcio, função do endotélio vascular e inflamação (BURGAZ et al., 2011); ou ainda pela inibição da síntese de renina e endotelina e a proliferação de células musculares lisas (WIEDER-HUSZLA et al., 2019).

No nosso estudo também encontramos associação significativa entre as concentrações reduzidas de 25(OH)D com o índice Homa-IR elevado. A esse respeito, Yu et al. (2016) descreveram que a vitamina D pode influenciar na melhora da atividade metabólica das células β pancreáticas, aumentar a ligação da insulina com o seu receptor e, por conseguinte, otimizar parâmetros como HOMA-IR e demais marcadores de resistência insulínica. Ainda de acordo com autor, a concentração de vitamina D pode afetar indiretamente a resposta da insulina no tecido muscular, esquelético e adiposo (SCHMITT et al., 2018). A resistência insulínica influencia diretamente no perfil metabólico glicídico e promove baixa tolerância à glicose. Essa cascata metabólica também está associada com o surgimento do diabetes *mellitus* tipo 2, um componente de alta frequência da SM (PARK, KIM, KANG, 2016) e assim, dentro desse contexto, salienta-se que a concentração reduzida de vitamina D tem sido associada ao aumento da prevalência de síndrome metabólica (SZYMCZAK-PAJOR et al., 2020).

Conforme apresentado, vale destacar que o estado inflamatório característico da SM pode gerar muitas alterações nutricionais e metabólicas como desregulação e aumento da pressão arterial

sistêmica, resistência à insulina, hiperuricemia, dislipidemia, baixa integridade de membrana e hipovitaminose D, que foram condições associadas significativamente no nosso estudo. Diante disso, é importante observar que essas condições clínicas favorecem o aparecimento de doenças como diabetes *mellitus*, doença arterial coronariana que elevam, ainda mais, o risco cardiovascular do indivíduo com Síndrome Metabólica (DEMÉR, HSU, TINTUT, 2018; PREMANATH et al., 2014).

Como fatores limitantes desse trabalho, pontuo o desenho transversal da pesquisa que não permite o estabelecimento de uma relação causal entre a concentração de hidroxivitamina D e Síndrome Metabólica; a falta de um grupo controle sem Síndrome que não permite fazer outras inferências; e além disso, a dosagem de vitamina D, em mais de um momento, para cada participante.

CONCLUSÃO

Nossos resultados mostram que houve associação entre a concentração de vitamina D e os componentes da SM, pressão arterial diastólica e triglicérides, bem como aos fatores associados à síndrome, HOMA-IR, colesterol total e LDL-c, e ao índice de massa corporal. Não foi constatada significância estatística entre o quantitativo de componentes da síndrome com a concentração de vitamina D. Contudo, faz-se importante salientar que ainda que o paciente com SM já possua um alto risco cardiovascular, o estudo demonstra que nos indivíduos com hipovitaminose D parece que o risco poderá ser ainda maior, devido aos resultados aqui encontrados em relação à dislipidemia, RI, antropometria e pressão diastólica.

7. DISCUSSÃO GERAL (*artigo 1 e 2*)

De acordo com os resultados apresentados nos dois artigos, foi verificada maior prevalência de voluntários participantes do sexo feminino, adultos e negros (pretos/pardos). O maior quantitativo de adultos com SM nesse estudo pode estar relacionado ao crescimento exponencial quanto ao surgimento de doenças crônicas não transmissíveis, como obesidade, hipertensão arterial, dislipidemias e diabetes *mellitus*, doenças essas que anteriormente eram mais frequentes na população com idade avançada.

Na análise do artigo 1, dentre os vários polimorfismos estudados apesar de não ter sido encontrada associação significativa entre os SNP's avaliados com a concentração de vitamina D e com os componentes da SM, a literatura tem mostrado fortes associações o rs1544410 no gene do receptor da vitamina D, com a resistência insulínica, hiperinsulinemia, alteração do HOMA-IR e surgimento do diabetes *mellitus* tipo 2.

Além disso, a expressão gênica do receptor de vitamina D, influenciada diretamente pela forma ativa da vitamina D, tem sido associada a melhora de componentes da síndrome, como: hiperglicemia, hiperinsulinemia e progressão do DM2, que são gatilhos envolvidos na etiopatogênese da SM e dos seus respectivos componentes isoladamente, como obesidade e aumento do tecido adiposo.

Além dessas ações de extrema relevância à saúde humana que envolvem a expressão gênica deste importante gene (*VDR*), no metabolismo da vitamina D, faz-se ainda, de maior valia, a investigação desse e demais polimorfismos de nucleotídeo único em outros genes envolvidos direto ou indiretamente na concentração de vitamina D. Outros estudos em populações distintas têm encontrado associação entre os mesmos SNP's avaliados nessa pesquisa com a concentração de vitamina D em pacientes com doenças ósseas e não ósseas (SZYMCZAK-PAJOR et al., 2020; PARK, KIM, KANG, 2016; YU et al., 2016).

No artigo 2, algumas vias metabólicas que influenciam a concentração de vitamina D diretamente associado aos componentes da síndrome metabólica e fatores associados são discutidas. As funções da vitamina D são múltiplas e vão além do metabolismo ósseo. Essa importante vitamina com funções hormonais está envolvida em diversos processos fisiológicos e tem sido demonstrado cada vez mais a sua participação na prevenção e surgimento de doenças crônicas não transmissíveis. A hipovitaminose D tem sido associada ao desenvolvimento da síndrome metabólica e também dos componentes que compõem a síndrome isoladamente. A associação de baixas concentrações de 25(OH)D com doenças metabólicas como diabetes, obesidade, dislipidemias, doença cardiovascular e autoimunes e alguns tipos de câncer tem sido demonstrada em inúmeros estudo clínicos (WIMALAWANSA, 2018; ALZAHEB, 2018).

No nosso estudo, verificamos a associação significativa entre hipovitaminose D com dois componentes da síndrome metabólica (pressão arterial diastólica e triglicerídeos) e com três fatores associados à síndrome (Homa-IR, colesterol total e LDL-c). Além desses fatores clínicos observamos associação significativa do índice de massa corporal com a concentração de vitamina

D reduzida. Os nossos achados corroboram com dados da literatura que mostram que há uma forte associação inversa entre a concentração de vitamina D 25(OH)D com obesidade, glicemia de jejum, circunferência da cintura, triglicédeos (LÉGER-GUIST'HAU J, et al., 2016), IMC, HOMA-IR (PHAM et al., 2015), dislipidemias, como aumento de LDL-c e redução de HDL (FARAJI, ALIZADEH, 2020; BARBALHO et al., 2018).

8. LIMITAÇÕES (*artigo 1 e 2*)

A presente tese de doutorado possui algumas limitações: primeiro o desenho transversal da pesquisa que não permite o estabelecimento de uma relação causal entre a concentração de hidroxivitamina D e Síndrome Metabólica; a falta de um grupo controle sem Síndrome Metabólica que não permite fazer outras inferências; e além disso, a dosagem de vitamina D, em mais de um momento, para cada participante.

9. CONCLUSÃO (*artigo 1 e 2*)

Nossos resultados mostram que houve uma tendência à significância estatística entre o rs7041 do gene *GC/BDP* com a pressão arterial diastólica (PAD) e entre o gene *VDR*, variante rs1544410, com a pressão arterial sistólica (PAS). Não observamos nenhuma outra associação significativa entre os SNP nos genes estudados com a concentração de vitamina D 25(OH)D e com os componentes da SM, bem como na avaliação das frequências alélicas e genótípicas com a concentração de vitamina D.

Verificamos associação significativa entre a concentração de vitamina D com a pressão arterial diastólica, triglicédeos, HOMA-IR, colesterol total e LDL-c, assim como também houve associação com o índice de massa corporal. Não foi constatada significância estatística entre o quantitativo de componentes da síndrome com a concentração de vitamina D.

Mais estudos são necessários para investigar a associação entre esses SNP e a concentração de vitamina D em pacientes com síndrome metabólica. Estudos clínicos, de coorte, caso-controle e GWAs são necessários para obter conclusões mais fortes sobre esses achados.

9.1 CONFLITO DE INTERESSE (*artigo 1 e 2*)

Os autores declaram não haver.

9.2 AGRADECIMENTOS *(artigo 1 e 2)*

Aos pacientes voluntários do estudo, a toda equipe do núcleo de pesquisa GENUT/UNEB.

10. CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES *(artigo 1 e 2)*

As contribuições dos autores são as seguintes: CR Coutinho-Lima conduziu os procedimentos experimentais e a coleta de dados; CR Coutinho-Lima e EMQ Araújo, desenharam, conduziram a pesquisa e analisaram os dados; CR Coutinho-Lima, escreveu o manuscrito; EMQ Araújo forneceu materiais e equipamentos essenciais para a pesquisa; e todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

REFERÊNCIAS

- __ABESO: Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica. **Cálculo do Índice de Massa Corporal**. 2021. Disponível em: <https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/calculadora-imc/>; acesso 06 de dezembro de 2021.
- BOUCHER, B. J. Is vitamin D status relevant to metabolic syndrome?. **Dermato Endocrinology**. 4:2, 212-224; 2012.
- NEVES, J.P.R. et al. Variants rs1544410 and rs2228570 of the vitamin D receptor gene and glycemic levels in adolescents from Northeast Brazil. **Nutr Hosp**. 37(1): 21-27. 2020.
- BARBALHO, S.M. et al. Association between vitamin D status and metabolic syndrome risk factors. **Diabetes Metab Syndr**.. pii: S1871-4021(18)30032-8. 2018.
- SANTOS, B. R. et al. Vitamin D deficiency in girls from South Brazil: a cross-sectional study on prevalence and association with vitamin D receptor gene variants. **BMC Pediatrics**. 12:62. 2012.
- WIMALAWANSA, S.J. Associations of vitamin D with insulin resistance, obesity, type 2 diabetes, and metabolic syndrome. **J Steroid Biochem Mol Biol**. 175:177-189. 2018.
- HOSSEIN-NEZHAD, HOLICK MF. Vitamin D for health: a global perspective. **Mayo Clin Proc**. 88(7):720-55. 2013.
- ALZAHEB, R.A. The prevalence of hypovitaminosis D and its associated risk factors among women of reproductive age in Saudi Arabia: a systematic review and meta-analysis. **Clin Med Insights Womens Health**. 11: 1179562X18767884. 2018.
- BURGAZ A., ORSINI N., LARSSON SC, et al. Concentração de 25-hidroxivitamina D no sangue e hipertensão: uma meta-análise . **J Hypertens** . 29 (4): 636-645. 2011.
- BRINGHURST F, DEMAY M, KRONENBERG. Hormones and Disorders of Mineral Metabolism. In: Melmed S, Polonsky K, Larsen P, Kronenberg H, editors. *Williams Textbook of Endocrinology*. 12th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; p1237-1304. 2011.
- CASTRO, L. C. G. O sistema endocrinológico Vitamina D. **Arquivos Brasileiro de Endocrinologia Metabólica**. 55/8, 2011.
- CHIU KC et al. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. **Am J Clin Nutr**. 79:820–825. 2004. consortium. **PloS One**, v. 12, n. 2, p. e0170791, 2017.
- COOPER, J.D. et al. Inherited variation in vitamin D genes is associated with predisposition to autoimmune disease type 1 diabetes. **Diabetes**. May; 60(5):1624-31, 2011.

- CORREA, M.P. Radiação ultravioleta solar: propriedades, características e quantidades observadas no Brasil e na América do Sul. **Anais Brasileira de Dermatologia**. Rio de Janeiro, v. 3, n. 90, p. 297-313, 2015.
- DING, C. et al. Vitamin D signalling in adipose tissue. **The British Journal of Nutrition**, 108, 11:1915–1923. 2012.
- DEMER, L.L.; HSU, J.J.; TINTUT, Y. Steroid hormone vitamin D: Implications for cardiovascular disease. **Circ. Res.** 122, 1576–1585. 2018.
- LÉGER-GUIST'HAU J, et al. Low socio-economic status is a newly identified independent risk factor for poor vitamin D status in severely obese adults. **J Hum Nutr Diet.** 15: 123-134. 2016.
- MAESTRO, B. et al. Identification of a vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter. **J Steroid Biochem Mol Biol.** 84(2-3):223-30. 2003.
- FARAJI, S., ALIZADEH, M. Mechanistic Effects of Vitamin D Supplementation on Metabolic Syndrome Components in Patients with or without Vitamin D Deficiency. **J Obes Metab Syndr.** Dec 30; 29(4): 270–280. 2020.
- FULEIHAN, Gel-H. et al. Níveis de soro 25-hidroxivitamina D: variabilidade, lacunas de conhecimento e o conceito de um intervalo desejável. **J Mineiro de Ossos Res.** 30 (7): 1119-33. 2015.
- GELONEZE, B et al. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). **Diabetes Res Clin Pract.** 2005.
- GAKSCH, M. et al. Vitamin D and mortality: Individual participant data meta-analysis of standardized 25-hydroxyvitamin D in 26916 individuals from a European consortium. **PLoS One**, v. 12, n. 2, p. e0170791, 2017.
- HAUSSLER, M.R., JURUTKA P.W., MIZWICKI, M., et al. 1alpha, 25(OH)(D) vitamin D receptor (VDR)-mediated actions (3): genomic and non-genomic mechanisms. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.** 25 (4): 543-559. 2011.
- HOLICK, MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. **Am J Clin Nutr.** Dec; 80(6 Suppl):1678S-88S. 2004.
- HOLICK, MF. Vitamin D deficiency. **N Engl J Med.** Jul 19; 357(3):266-81. 2007.
- HOLICK, MF. Vitamin D: extraskeletal health. **Rheum Dis Clin North Am.** Feb; 38(1):141-60. 2012.
- HOSSEIN-NEZHAD, A, HOLICK, MF. Optimize dietary intake of vitamin D: an epigenetic perspective. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care.** Nov; 15(6):567-79. 2012.

HOSSEIN-NEZHAD, A, HOLICK, MF. Vitamin D for Health: A Global Perspective. **Mayo Clin Proc.** 88 (7): 720–755. 2013.

KAROHL, C. et al. Herdabilidade e variabilidade sazonal das concentrações de vitamina D em gêmeos machos. **Am J Clin Nutr.** dez; 92 (6): 1393-8. 2010.

JIN, T. et al. Association of vitamin D receptor polymorphisms with components related to metabolic syndrome: a cross-sectional study. **J Clin Lab Anal.** 35 (7): e23829. 2021

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

MEZZA, T et al. Vitamin D deficiency: A new risk factor for type 2 diabetes?. **Annals of Nutrition & Metabolism.** 61:337-348, 2012.

NEVES, Juliana Padilha Ramos et al. Concentrações de 25-hidroxivitamina D e níveis pressóricos em idosos hipertensos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia Metabólica.** 56/7, 2012.

OLIVEIRA, V. et al. Influência da vitamina D na saúde humana. **Acta Bioquímica Clínica Latinoamerica.** v. 3, n. 48, p. 339-347, 2014.

PALACIOS C, GONZALEZ L. Is vitamin D deficiency a major global public health problem? **J Steroid Biochem Mol Biol.** 144:138–145, 2014.

PARKER, J. et al., Vitamin D levels and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. **Maturitas.** Mar; 65 (3): 225-36. 2010.

PARK, S.; KIM, D.S.; KANG, S. Vitamin D deficiency impairs glucose-stimulated insulin secretion and increases insulin resistance by reducing PPAR- γ expression in nonobese Type 2 diabetic rats. **J Nutr Biochem.** 27:257–65. 2016.

PRABHU, AV. et al. DHCR7: uma chave enzimática vital entre a produção de colesterol e vitamina D. **Progress in Lipid Research.** v. 64, October, Pages 138-151. 2016.

PREMANATH, M. et al. Correlation of abdominal adiposity with components of metabolic syndrome, anthropometric parameters and Insulin resistance, in obese and (Mysore Visceral Adiposity in Diabetes Study). **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism,** v. 18, n. 5, p. 676–682, set. 2014.

RAHMADHANI, R. et al. Associations between VDR and BsmI polymorphisms and the risk of vitamin D deficiency, obesity and insulin resistance in adolescents living in a tropical country. **PLoS One**. 12:(6). 2017.

SCUTERI A., et al. Cardiovascular Health Study The metabolic syndrome in older individuals: Prevalence and prediction of cardiovascular events: The Cardiovascular Health Study. **Diabetes Care**.;28:882–887. 2005.

SOARES, Thays Soliman et al. Alimentary habits, physical activity, and Framingham global risk score in metabolic syndrome. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 102(4):374-382, 2014.

SANTOS, L. F.; ARAÚJO, E. M. Q.; MELO, J. B. Avaliação da prevalência de hipovitaminose D em pacientes portadores de síndrome metabólica do centro de estudos e atendimento dietoterápico de Salvador, Bahia. **Rev. Bras. Medic.**, [s.l], v.70, n. 7, 2013

SPEECKAERT M. et al. The biological and clinical aspects of vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. **Clin Chim Acta**. Out; 372 (1-2): 33-42. 2006.

SZYMCZAK-PAJOR et al. The Molecular Mechanisms by Which Vitamin D Prevents Insulin Resistance and Associated Disorders. **Int. J. Mol. Sci**. 21, 6644. 2020.

TALAEI A, MOHAMADI M, ADGI Z. The effect of vitamin D on insulin resistance in patients with type 2 diabetes. **Diabetol Metab Syndr**. Fev; 5 (1): 8. 2013.

TOTONCHI, H. et al. Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and the Risk of Metabolic Syndrome (MetS): A Meta-Analysis. **Endocr Metab Immune Disord Drug Targets**. 21(5):943-955. 2021.

UITTERLINDEN, A.G. et al. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. **Gene**. 338, 143–156. 2004.

VAN RAALTE, D. H.; VAN DER ZIJL, N. J.; DIAMANT, M. Pancreatic steatosis in humans: cause or marker of lipotoxicity? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 13, n. 4, p. 478–485, jul. 2010.

VRANIĆ, L.; Mikolašević, I.; Milić, S. Vitamin D Deficiency: Consequence or Cause of Obesity? **Medicina**. 55, 541. 2019.

WALSH, J.S.; Bowles, S.; Evans, A.L. Vitamin D in obesity. **Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes**. 24:000–000. 2017.

WANG, L. K. et al. Age, Gender and Season Are Good Predictors of Vitamin D Status Independent of Body Mass Index in office Workers in a Subtropical Region. **Nutrients**, 12, 2719; 2020.

- WANG, C. Role of vitamin D in Cardiometabolic Diseases. **Journal of Diabetes Research**. v2. 2013.
- WINZENBERG, T.; JONES, G. Em tempo: deficiência da Vitamina D: quem precisa de suplementação? **Revista Paulista de Pediatria**. São Paulo. v. 1, n. 34, p.3-4, 2016.
- YANG W. et al. Genetic epidemiology of obesity. **Epidemiol Rev**. 29:49–61. 2007.
- MALTA, D. C. et al. A vigilância e o monitoramento das principais doenças crônicas não transmissíveis no Brasil - Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Rev Bras de Epid**, [s.l.], v. 18, n. 2, p.3-16, dez. 2015.
- SILVA, Z. P. et al. Perfil sociodemográfico e padrão de utilização dos serviços de saúde do Sistema Único de Saúde (SUS). **Ciênc & Saúd Colet**: 6(9):3807-3816, 2011, [sl], v. 9, n. 6, p.3807-3816, set. 2011.
- ARAÚJO, E. M. Q. **Intervenção dietoterápica na síndrome metabólica e sua associação com o perfil genético da intolerância à lactose**. 2016. 165 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Salvador, 2016.
- Yu, F. et al. The genetic polymorphisms in vitamin D receptor and the risk of type 2 diabetes mellitus: an updated meta-analysis. **Asia Pac J Clin Nutr**. 25(3):614-24. 2016.
- OCHS-BALCOM, H. M. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with adiposity phenotypes. **Am J Clin Nutr**. 93:5–10. 2011.
- HU, Z. et al. The Association between Polymorphisms of Vitamin D MetabolicRelated Genes and Vitamin D3 Supplementation in Type 2 Diabetic Patients. **Journal of Diabetes Research**. ID 8289741, 8. 2019.
- FERREIRA, C. E. S. et al. Consensus – reference ranges of vitamin D [25(OH)D] from the Brazilian medical societies. Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine (SBPC/ML) and Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM). **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s.l.], v. 53, n. 6, p.377-381, 2018.
- FONSECA, M. I. H. Hipertensão arterial, risco cardiovascular e vitamina D. **Rev Bras Hipertens**, [s.l.], v. 22, n. 1, p.2-8, jan. 2015.
- ALZAHEB, R. A prevalência de hipovitaminose D e seus fatores de risco associados entre mulheres em idade reprodutiva na Arábia Saudita: revisão sistemática e metanálise. **Clin Med Insights Mulher Saúde**, [s;l], v. 11, n. 1, p.1-17, mar. 2018.
- WANG T. J. et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. **The Lancet**.376(9736):180–188. 2010.
- AHN J. et al. Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. **Human Molecular Genetics**.19(13):2739–2745. 2010.

HOLICK M. F. The vitamin D deficiency pandemic: approaches for diagnosis, treatment and prevention. **Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders.**;18(2):153–165. 2017.

WANG T. J. Vitamin D and cardiovascular disease. **Annual Review of Medicine.**;67(1):261–272. 2016.

CHALLOUMAS, D. Vitamin D supplementation and lipid profile: what does the best available evidence show? **Atherosclerosis** 235:130–139. 2014.

GRZEGORZEWSKA, A. et al. Clinical aspects of vitamin D-binding protein gene polymorphisms in hemodialysis patients. *Pol Arch Med Wewn.* v. 125, n. 1-2, p. 8- 17, 2015.

JORDE, R; GRIMNES, G., Vitamin D and metabolic health with special reference to the effect of vitamin D on serum lipids, **Prog. Lipid Res.** 50: 303–312. 2011.

WANG, C. et al. Role of vitamin D in Cardiometabolic Diseases. **Journal of Diabetes Research.** 2013.

SCHMITT, E. B. et al. Vitamin D deficiency is associated with metabolic syndrome in postmenopausal women, **Maturitas**, 107: 97–102. 2018

UITTERLINDEN, A. G. et al. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. **Gene**, 338, 143–156. 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA - **ABESO**. Diretrizes Brasileiras de Obesidade. São Paulo, jan. 2010.

AKPALU, J. et al. The metabolic syndrome among patients with cardiovascular disease in Accra. **Ghana Medical Journal.** v. 45, n.4, p.177-180, 2011.

ALI, N.S. et al. Retrospective analysis of metabolic syndrome: prevalence and distribution in executive population in urban Pakistan. Hindawi Publishing Corporation. **International Journal of Family Medicine**, Pakistan, p.407-414, jul. 2012.

ARAÚJO, E.M.P.Q. et al. Association Between Acanthosis Nigricans, Insulin Resistance, The Circumferences Of The Waist And Abdominal and Risk Factors Of Metabolic Syndrome^[1]. **Nutrire: Brazilian Soc. Food Nutr.** São Paulo, v. 39, Supl., p. 52, Maio 2014.

BARBOSA, A.A.L. et al. Estrutura dos casamentos em duas comunidades negras isoladas: Bananal e Barra. **Revista Brasileira de Genética**, (supl) v.20, n.3, p.319. 1997.

COUTINHO, C. R. et al. Associação entre níveis séricos de vitamina D e componentes da síndrome metabólica em pacientes atendidos no centro de estudos e atendimento dietoterápico da Universidade do Estado da Bahia. **Rev de Ciênc Méd e Biol.**, v. 16, n. 3, p. 367-373, set./dez. 2017.

COUTINHO, C.R. et al. Association Between C-Reactive Protein, Microalbuminuria and Risk Factors Of The Metabolic Syndrome. **Nutrire: Brazilian Soc. Food Nutr.** São Paulo. v. 39, Supl. p.19, maio, 2014.

DALLMEIER, D. et al. Metabolic syndrome and inflammatory biomarkers: a community-based cross-sectional study at the Framingham Heart Study. **Diabetology & Metabolic Syndrom**, Boston, p.1-9, jun. 2012.

DIRETRIZ BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO ARTERIAL. Malachias MVB, Souza WKSB, Plavnik FL, Rodrigues CIS, Brandão AA, Neves MFT, et al. VII Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arq Bras Cardiol.**;107(3 Supl.3):1-83; 2016.

GODALA, M. et al. Estimation of plasma 25(OH)D vitamin deficiency in patients with metabolic syndrome. **Pol. Merkur.** Lekarski, Polônia, v. 40, n. 239, p. 288-291, Mar. 2016.

HOLICK, M. F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin d deficiency: an endocrine society clinical practice guideline. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Oxford, v. 96, n. 7, p. 122-132, June 2011.

MILLER, A.S., DYKES D.D., POLESKY, H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*,v.16; n. 3,1988.

I DIRETRIZ BRASILEIRA DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA SÍNDROME METABÓLICA (I-DBSM). Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia.** v. 84, suplemento I, abri. 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (**IBGE**) – Censo demográfico 2010, acessado no link: <http://cod.ibge.gov.br/23QPH>.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. Metabolic syndrome-a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation (IDF). **Diabetic Medicine.** Caulfield. v.23, p.469-480, 2006.

IOM - INSTITUTO DE MEDICINA. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. **Nation Academ Press**, Washington. 2011.

KAUR, J. A. Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. **Cardiol Res Pract.**;1-2. 2014.

LIPSCHITZ, D. A. Screening for nutritional status in the elderly. **Prim Care.**;21:55-67. 1994.

NCEP. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol. **JAMA**, v.285, p. 2486-2497, sep, 2002.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. WHO expert consultation. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. **Lancet.**;363:157-163, 2004.

SALEHPOUR, A. et al. A 12-week double-blind randomized clinical trial of vitamin D3 supplementation on body fat mass in healthy overweight and obese women. **Nutr. J.**, Tehran, v.11, p. 78, Sept. 2012.

SANTOS, C.R.B. et al. Fatores dietéticos na prevenção e tratamento de comorbidades associadas à síndrome metabólica. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 3, p. 389-401, 2006.

SANTOS-JUNIOR et al. Epidemiologia da deficiência de vitamina D. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v.4, n.3, Pub.2, Julho 2011.

SBEM - SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2014;58/5.

SBPC/ML – SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL; SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA (SBEM). Intervalos de Referência da Vitamina D – 25 (OH)D - **Posicionamento oficial**. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/noticias-e-comunicacao/sbpcml-e-sbem-atualizam-posicionamento-de-vitamina-d/> acesso em 16 de abril de 2018.

MIÑAMBRES, I; SANCHEZ-QUESADA, J. L; PÉREZ, A. The association between hypovitaminosis D and metabolic syndrome: current understanding. **Clinical Lipidology**. 10:6, 513-524. 2015.

GRZEGORZEWSKA, A. et al. Clinical aspects of vitamin D-binding protein gene polymorphisms in hemodialysis patients. **Pol Arch Med Wewn**. v. 125, n. 1-2, p. 8- 17, 2015.

SCHUCH, NJ; GARCIA, VC; MARTINI, LA. Vitamina D e doenças endocrinometabólicas. **Arq Bras Endocrinol Metab**. 2009; 53(5): 625-33.

SILVA et al. Prevalência de Deficiência e Insuficiência de Vitamina D e sua Correlação com PTH, Marcadores de Remodelação Óssea e Densidade Mineral Óssea, em Pacientes Ambulatoriais. **Arq Bras Endocrinol Metab**.52/3; 2008.

THERMO FISHER SCIENTIFIC. Search Applied Biosystems TaqMan Assays [Internet]. USA: **Thermo Fisher Scientific Inc.**; 2017 [accessed 2018 Apr 24]. Available from: <https://www.thermofisher.com/br/pt/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcrassays.html>.

VERRUSIO, D. R. et al. Association between serum vitamin D and metabolic syndrome in middle-aged and elderly adults and role of vitamin D supplementation therapy. **Ann. Ist. Super Sanit.**, Madrid, v. 53, n.1, p.54-59, Dec. 2017.

JAMKA M., et al. Effects of Gene Variants Controlling Vitamin D Metabolism and Serum Levels on Hepatic Steatosis. **Digestion**. 97:298–308: 2018.

TOMEI, Sara, et al. The Role of Polymorphisms in Vitamin D-Related Genes in Response to Vitamin D Supplementation. **Nutrients**, 12(9), 2608, 2020.

RAHMADHANI, R. et al. The associations between VDR BsmI polymorphisms and the risk of vitamin D deficiency, obesity and insulin resistance in adolescents living in a tropical country. **PLoS One**; 12 (6): 2017.

HOLICK, M. F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin d deficiency: an endocrine society clinical practice guideline. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Oxford, v. 96, n. 7, p. 122-132, June, 2011.

HOLICK, M.F. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. **Rev. Endocr. Metab. Disord**. 2017, 18, 153–165.

DE-LUCA, HF Vitamin D: Historical Overview. **Vitam. Horm.**, 100 , 1–20: 2016.

MARQUES; A et al. A importância dos níveis de vitamina D nas doenças autoimunes. **Rev Bras Reumatol**, v.50,n.1,p.67 -80.

YANG, CY. Et al. A implicação da vitamina D e autoimunidade: uma revisão abrangente. **Clin. Rev. Allergy Immunol.**, 45 , 217–226: 2013.

PETERS; B.S.E; MARTINI, L.A. Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes Vitamina D. **Brasil International Life Sciences** ,v. 2, 2ed, 24p, São Paulo: ,2014.

WANG et al. Age, Gender and Season Are Good Predictors of Vitamin D Status Independent of Body Mass Index in Office Workers in a Subtropical Region. **Nutrients**, 12 (9), 2719: 2020.

WIMALAWANSA, SJ. Associations of vitamin D with insulin resistance, obesity, type 2 diabetes, and metabolic syndrome. **J Steroid Biochem Mol Biol.** ;175:177-189. 2018.

PRASAD, P., KOCHHAR, A., Interplay of vitamin D and metabolic syndrome: A review **Diabetes Metab Syndr. Abr-Jun**; 10 (2): 105-12: 2016.

SAPKOTA, B.R. et al. Genome-wide association study of 25(OH) Vitamin D concentrations in Punjabi Sikhs: Results of the Asian Indian diabetic heart study. **J Steroid Biochem Mol Biol.** April; 158: 149–156: 2016.

JIANG X. et al. Genome-wide association study in 79,366 European-ancestry individuals informs the genetic architecture of 25-hydroxyvitamin D levels. **Nature Communications.** 9;260: 2018.

WANG, T. J. et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. **Lancet.** July 17; 376(9736): 180–188: 2010.

LASKY-SU, J et al. Genome-wide association analysis of circulating vitamin D levels in children with asthma. **Hum Genet.** September ; 131(9): 1495–1505: 2012.

REVEZ, J.A et al. Genome-wide association study identifies 143 loci associated with 25 hydroxyvitamin D concentration. **Nature Communications,** 11, 1647: 2020.

O'BRIEN, KM. et al. Genome-Wide Association Study of Serum 25-Hydroxyvitamin D in US Women. **Front Genet.;** 9: 67; 2018.

WEBB, A. et al. Colour Counts: Sunlight and Skin Type as Drivers of Vitamin D Deficiency at UK Latitudes. **Nutr,** Manchester, v. 10, n. 4, p.457-464, 7 abr. 2018.

WIEDER-HUSZLA, S. et al. Relationships between Vitamin D3 and Metabolic Syndrome. **Intern Journ of Enviro Resear and publ Healt,** Poland, v. 16, n. 2, p.175-187, 9 jan. 2019.

PARKER J. et al. Revision levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. **Maturitas.** March; 65 (3): 225-36: 2010.

JU SY, Jeong HS, Kim DH. The status of vitamin D in the blood and the metabolic syndrome in the adult population in general: a dose-response meta-analysis. **J Clin Endocrinol Metab.** March de; 99 (3): 1053-63: 2014.

WORTSMAN, J et al. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. **Am J Clin Nutr.** Setembro; 72 (3): 690-3: 2000.

VIMALESWARAN KS et al. Causal relationship between obesity and vitamin D level: bidirectional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. **PLoS Med;** 10 (2): e1001383: 2013.

KRATZ, DB; SILVA, GS; TENFEN, A. Deficiência de vitamina D (25OH) e seu impacto na qualidade de vida: uma revisão de literatura. **Rev Bras de Anal Clín.** 50(2):118-23: 2018.

LATACZ, M. Polymorphism of the vitamin D receptor (VDR) gene in patients diagnosed with colorectal cancer. **Nutrientes**, 13 (1), 200: 2021.

JORGE, A. J. L. Vitamin D Deficiency and Cardiovascular Diseases, **International Journal of Cardiovascular Sciences**, 31(4)422-432: 2018.

HOLICK, M.F. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. **Rev. Endocr. Metab. Disord.**18, 153–165: 2017.

JENKINSON, C. The vitamin D metabolome: an update on analysis and function. **Cell Biochem. Funct.**, 37, 408–423: 2019.

STRANGE, RC; Shipman, KE; Ramachandran, S. Metabolic syndrome: a review of the role of vitamin D in mediating susceptibility and outcome. **World J Diabetes**, 6 (7): 896–911, 2015.

European Group for the Study of Insulin Resistance- EGIR. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR) **Diabet Med**; 16:442–443: 1999.

Organização Mundial da Saúde - OMS. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. **Diabet Med**;15:539–553: 1998.

American Association of Clinical Endocrinologists - AACE. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, Hellman R, Jellinger PS, Kendall D, Krauss RM, et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. **Endocr Pract**; 9:237–252, 2003.

National Cholesterol Education Program – NCEP. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**. 106:3143–3421, 2002.

IDF: International Diabetes Federation – IDF. The metabolic syndrome - a new worldwide definition. **Lancet**, 366:1059–1062, 2005.

ZIMMET P, Alberti KG, Serrano Ríos M. A New International Diabetes Federation (IDF) Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome: the Rationale and the Results. **Rev Esp Cardiol (Engl Ed)**;58:1371–1375: 2005.

ALBERTI KG et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. **Circulation**; 120:1640–1645: 2009.

RICCI, G. et al. 2017. Metabolic syndrome, hypertension, and nervous system injury: Epidemiological correlates. **Clinical and Experimental Hypertension**. 2017.

GRUNDY, S. M. Metabolic syndrome update. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 26, n. 4, p. 364-373, mai. 2016.

MARTÍNEZ-TORRES, J. et al. A cross-sectional study of the prevalence of metabolic syndrome and associated factors in Colombian collegiate students: the FUPRECOL-adults study. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 233, 2017.

KAZEMI-BAJESTANI, S. et al. The prevalence of metabolic syndrome increases with serum hs-CRP concentration in individuals without a history of cardiovascular disease: A report from a large Persian cohort. **Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine**, v. 54, n. 6, 2017.

OGUOMA, V. et al. Association between metabolic syndrome and 10-year risk of developing cardiovascular disease in a Nigerian population. **PLOS International Health**, abr. 2016.

CATRYSSSE, L.; VAN LOO, G. Inflammation and the Metabolic Syndrome: The tissue-specific functions of NF- κ B. **Trends in Cell Biology**, 2017.

GIL, A.; PLAZA-DIAZ, J.; MESA, M. D. Vitamin D: Classic and Novel Actions. **Annals of Nutrit and Metabolism**, [s.l.], v. 72, n. 2, p.87-95, 2018.

BIKLE, D. D.. Extraskelatal actions of vitamin D. **Annals Of The New York Academy of Scienc**, San Francisco, v. 1376, n. 1, p.29-52, jul. 2016.

KAUR, J. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. **Cardiol Research and Practic**, India, v. 2014, p.1-21, 2014.

YAMAOKA, K.; TANGO, T. Effects of lifestyle modification on metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. **BMC Medic**, Tokyo, 2012.

COUTINHO, C. R. O. et al. Associação entre níveis séricos de vitamina D e componentes da síndrome metabólica em pacientes atendidos no centro de estudos e atendimento dietoterápico da Universidade do Estado da Bahia. **Rev de Ciênc Médic e Biol**, Salvador, v. 16, n. 3, p.367-373, 19 dez. 2017.

CZECH, M. P. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. **Natur Medic**, [s.l.], v. 23, n. 7, p.804-814, jul. 2017.

WIEDER-HUSZLA, S. et al. Relationships between Vitamin D3 and Metabolic Syndrome. **Intern Journ of Enviro Resear and publ Healt**, Poland, v. 16, n. 2, p.175- 187, 9 jan. 2019.

HOSSEIN-NEZHAD A, SPIRA A, HOLICK MF. Influence of vitamin D status and vitamin D3 supplementation on genome wide expression of white blood cells: a randomized double-blind clinical trial. **PLoS One.**; 8(3); 58725: 2013.

QUERALES, MARVIN ISAAC et al . Deficiencia de vitamina D: ¿Factor de riesgo de síndrome metabólico?. **Rev. méd. Chile**, Santiago , v. 138, n. 10, p. 1312-1318, oct. 2010 .

ZEMEL, M. et al. Regulamento de adiposidade por cálcio dietético. **FASEB J**; 14: 1132-8:2000.

MELANSON, E. et al. Relação entre ingestão de cálcio e oxidação de gordura em humanos adultos. **Int J Obes Relat Metab Disord**; 77: 1448-52: 2003.

WEHMEIR, K. et al. Inibição da expressão do gene AI pela 1,25-diidroxivitamina D3. **Biochim Biophys Acta**; 1737: 16-26: 2005.

MOUSA, H. et al. Serum 25-Hydroxyvitamin D Is Inversely Associated with Monocyte Percentage to HDL Cholesterol Ratio among Young Healthy Adults in Qatar. **Nutrients** , 13(1), 127: 2021.

AL-QUAIZ, A.M. et al. Association between standardized vitamin 25(OH)D and dyslipidemia: A community-based study in Riyadh, Saudi Arabia. **Environ. Health Prev. Med.**, 25, 4: 2020.

JIANG, X. et al. Vitamin D deficiency is associated with dyslipidemia: A cross-sectional study in 3788 subjects. **Curr. Med. Res. Opin.** 2019, 35, 1059–1063.

LU, L. et al. Associação de vitamina D com risco de diabetes tipo 2: um estudo de randomização de Mendel em adultos europeus e chineses. **PLOS Med.** 15: 5; 1002566 2018.

ZMUDA, J. M.; CAULEY, J. A.; FERRELI, R. E. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. **Epidemiol Ver.**, 22(2): 203-217, 2000.

CREELY S. J. et al. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** 292: 740-747: 2007.

YE, W. Z. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity in type 2 diabetic subjects with early age of onset. **Eur J Endocrinol.** 145; 2; 181-86: 2001.

SANTOS, BP et al. Prevalence of vitamin D deficiency in women from southern Brazil and association with vitamin D-binding protein levels and GC-DBP gene polymorphisms. **PLoS One**; 14(12): e0226215. 2019.

LAFI, Z. M. et al. Association of rs7041 and rs4588 Polymorphisms of the Vitamin D Binding Protein and the rs10741657 Polymorphism of CYP2R1 with Vitamin D Status Among Jordanian Patients. **Genet Test Mol Biomarkers**.19(11):629-36. 2015.

Shea MK, Benjamin EJ, Dupuis J, Massaro JM, Jacques PF, D'Agostino RB Sr, Ordovas JM, O'Donnell CJ, Dawson-Hughes B, Vasan RS, Booth SL. Genetic and non-genetic correlates of vitamins K and D. **Eur J Clin Nutr** ;63:458–464. 2009.

Snellman G, Melhus H, Gedeberg R, Olofsson S, Wolk A, Pedersen NL, Michaëlsson K. Seasonal genetic influence on serum 25-hydroxyvitamin D levels: a twin study. **PLoS One**;4:e7747. 2009.

PHAM, T-M et al. The Effect of Changing Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations on Metabolic Syndrome: A Longitudinal Analysis of Participants of a Preventive Health Program. **Nutrients**, 7, 7271-7284; 2015.

THOMAZ A. M. Expressão Do Receptor De Vitamina D Recombinante: Um Importante Alvo Biológico. **Universidade Estadual de Feira de Santana/ BA**, 2013.

MOTTILLO, S. et al. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. **J. Am. Coll. Cardiol.**, 56, 1113–1132. 2010.

MAESTRO M. A., MOLNÁR F., CARLBERG C. Vitamina D e seus análogos sintéticos. **J Med Chem**. 62;15: 6854–6875. 2019.