



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA**

**ENEIDA MARIA BOTEON SCHMITT**

**Efeito da suplementação de vitamina D sobre o perfil  
de adipocinas em mulheres na pós-menopausa**

**DEFESA DE DOUTORADO**

**Orientadora: Profa. Associada Eliana Aguiar Petri Nahas**

**Coorientador: Prof. Claudio Lera Orsatti**

**Botucatu**

**2022**

**ENEIDA MARIA BOTEON SCHMITT**

**Efeito de suplementação de vitamina D  
sobre o perfil de adipocinas  
em mulheres na pós-menopausa**

**Defesa de tese apresentada à Faculdade de  
Medicina de Botucatu, Universidade  
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,  
Campus de Botucatu para obtenção do  
Título de Doutor no Programa de Pós-  
Graduação em Tocoginecologia.**

**Orientadora: Profa. Associada Eliana Aguiar Petri Nahas**

**Coorientador: Prof. Claudio Lera Orsatti**

**Botucatu**

**2022**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Schmitt, Eneida Maria Boteon.

Efeito de suplementação de vitamina D sobre o perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa / Eneida Maria Boteon Schmitt. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Eliana Aguiar Petri Nahas

Coorientador: Claudio Lera Orsatti

Capes: 40101150

1. Adipocinas. 2. Menopausa. 3. Vitamina D.

Palavras-chave: Adipocinas; Menopausa; Vitamina D.

## **DEDICATÓRIAS**

**À Deus,**

Que a cada dia está mais presente em meu caminho, obrigada por permitir que tudo aconteça segundo sua vontade e no seu devido tempo.

**Ao meu marido,**

Juliano Vilaverde Schmitt, pela ajuda e paciência, obrigado por ser meu parceiro de todas as horas e por fazer tudo parecer mais leve.

**Aos meus pais,**

Antonio e Maria Boteon, que com muito amor, estiveram sempre ao meu lado, incentivando, acreditando e vivenciando cada conquista.

**Aos meus filhos,**

Marina, Manuela e Lucas, vocês são minhas maiores inspirações para seguir em frente.

**Às minhas irmãs**

Elaine e Erica Boteon, minhas companheiras de toda hora, que com todo carinho e atenção sempre me apoiaram e ajudaram.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Às pacientes do ambulatório de Climatério e Menopausa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, que tornaram possível este trabalho.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Associada Eliana Aguiar Petri Nahás, um exemplo de pessoa, médica e pesquisadora, obrigada pelos conhecimentos transmitidos de forma serena e tranquila e pelo incentivo sempre presente.

Ao meu co-orientador Prof. Claudio Lera Orsatti pelo suporte técnico e auxílio na realização deste trabalho.

Aos colegas da disciplina de Ginecologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, pela verdadeira parceria em todo e qualquer momento.

A todos os meus familiares, pelos votos de confiança e incentivo.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, por todos os conhecimentos compartilhados.

Aos funcionários da Seção Técnica de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, em especial a Solange Sako Cagliari, pela competência com que nos auxilia na resolução de problemas institucionais.

Ao escritório de Apoio à Pesquisa (EAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, em especial a José Eduardo Corrente, pela assessoria estatística e análise dos resultados do estudo.

Às funcionárias da secretaria do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP sempre atenciosas e prestativas.

Às bibliotecárias da Biblioteca Central do Campus de Botucatu – UNESP pela elaboração da ficha catalográfica.

Esta pesquisa contou com o apoio financeiro:

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP

Auxílio à Pesquisa- Processo nº 2014/19382-3

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                             | <b>Página</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>Lista de Abreviaturas</b>                                                                                                                | <b>09</b>     |
| <b>Resumo</b>                                                                                                                               | <b>11</b>     |
| <b>Abstract</b>                                                                                                                             | <b>13</b>     |
| <b>1. Introdução</b>                                                                                                                        | <b>15</b>     |
| <b>2. Objetivos</b>                                                                                                                         | <b>33</b>     |
| <b>3. Métodos</b>                                                                                                                           | <b>34</b>     |
| <b>4. Resultados</b>                                                                                                                        |               |
| <b>4.1. Artigo Original</b>                                                                                                                 | <b>43</b>     |
| <i>Efeito da suplementação isolada de vitamina D sobre o perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa: ensaio clínico randomizado.</i> |               |
| <b>5. Conclusões</b>                                                                                                                        | <b>73</b>     |
| <b>6. Referências</b>                                                                                                                       | <b>74</b>     |
| <b>7. Anexos</b>                                                                                                                            |               |
| <b>7.1. Anexo I - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</b>                                                                            | <b>85</b>     |
| <b>7.2. Anexo II- Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMB</b>                                                                     | <b>86</b>     |
| <b>7.3. Anexo III-Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) 2010</b>                                                             | <b>89</b>     |

## LISTA DE ABREVIATURAS

**1,25(OH)<sub>2</sub>D** - 1,25-diidroxivitamina D, calcitriol

**25(OH)D** - 25 hidroxivitamina D, calcidiol

**AGL** - ácidos graxos livres

**CC** – Circunferência da cintura

**CDC** - *Centers for Disease Control and Prevention*

**CONSORT** - *Consolidated Standards of Reporting Trials*

**DAC** - Doença arterial coronariana

**DCV** - Doença cardiovascular

**DRC** - Doença renal crônica

**EAP** - Escritório de Apoio à Pesquisa

**EDTA** - ácido etilenodiaminotetracético

**FMB** - Faculdade de Medicina de Botucatu

**FR** - Fator de risco

**HOMA** - *Homeostasis Model Assessment*

**HOMA-IR** - *Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistant*

**HPLC** - Cromatografia líquida de alta eficiência

**IAM** - Infarto agudo do miocárdio

**ICAM-1** - molécula de adesão intercelular-1

**IL6** – Interleucina 6

**IL-10** – Interleucina 10

**IL-12** - Interleucina 12

**IL-1 $\beta$**  – interleucina 1  $\beta$

**IMC** – Índice de massa corpórea

**IOF** - *International Osteoporosis Foundation*

**LED** - *Light emitting diode*

**NCEP-ATP III** - *National Cholesterol Education Program: Adult Treatment Panel III*

**NF- $\kappa$ B** - fator nuclear kappa B

**PAD** - Pressão arterial diastólica

**PAI-1** - Inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1

**PAS** - Pressão arterial sistólica

**PCR** - Proteína C- reativa

**PL** - Placebo

**PTH** – Paratormônio

**REBEC** - Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos

**RI** - Resistência insulínica

**SAS** - *Statistical Analyses System*

**SBEM** - Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia

**SBPC** - Sociedade Brasileira de Patologia Clínica

**SM** - Síndrome metabólica

**SWAN** - *Study of Women's Health Across the Nation*

**TCLE** - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**TFPI** - Inibidor da via do fator tecidual total

**TGFβ** - fator de crescimento de transformação β

**TH** - Terapia hormonal

**TM** - Tempo de menopausa em anos

**TNF-α** - Fator de necrose tumoral alfa

**tPA** - plasminogênio tecidual

**UNESP** - Universidade Estadual Paulista

**uPA** - plasminogênio da uroquinase

**UVB** - Ultravioleta B

**VD** - Vitamina D

**VDR** - receptor nuclear de VD

**WOMAN** - *Woman on the Move through Activity and Nutrition*

## Resumo

**Objetivo:** Avaliar o efeito da suplementação isolada de vitamina D (VD) sobre o perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa.

**Métodos:** Foi conduzido ensaio clínico, duplo-cego, placebo-controlado envolvendo 160 mulheres com idade entre 50-65 anos e amenorreia  $\geq 12$  meses. Foram excluídas mulheres com histórico de doença cardiovascular, diabetes insulino dependente, doença renal crônica, doença hepática, doença autoimune, disfunção da paratireoide e usuárias de terapia hormonal da menopausa e de VD. As participantes foram randomizadas em dois grupos: VD, ingestão de colicalciferol 1.000 UI/dia via oral (n=80) ou placebo (n=80). O tempo de intervenção foi de 9 meses, com avaliações nos momentos inicial e final. Para avaliação do perfil de adipocinas foram dosadas adiponectina, resistina, adiposina e PAI-1 (Inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1). Os valores séricos de 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] foram mensurados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A análise estatística foi *per protocol*, empregando-se ANOVA e medidas repetidas por meio da Distribuição Gama seguido do teste de comparação múltipla de Wald.

**Resultados:** Os grupos foram similares nos parâmetros iniciais clínicos, bioquímicos e no perfil de adipocinas. A média de idade foi de  $58,8 \pm 6,6$  anos no grupo VD e de  $59,3 \pm 6,7$  anos no grupo placebo, com tempo de menopausa de  $12,0 \pm 8,8$  anos e  $12,3 \pm 8,4$  anos, respectivamente ( $p > 0.05$ ). Após 9 meses, valores médios de 25(OH)D aumentaram de  $15,0 \pm 7,5$  ng/ml para  $27,5 \pm 10,4$  ng/ml (+45,4%) no grupo VD, e diminuíram de  $16,9 \pm 6,7$  ng/ml para  $13,8 \pm 6,0$  ng/ml (-18,5%) no placebo ( $p < 0.001$ ). No grupo VD, na comparação entre momentos, observou-se aumento nos valores médios de adiponectina (18.6%) e redução de resistina (-32.4%) e PAI-1 (-39.3%), ( $p < 0.05$ ). E no grupo placebo houve

redução no PAI-1 (-25.5%) ( $p < 0.05$ ). Na comparação entre os grupos no momento final, foi observada diferença significativa entre os grupos placebo e VD nos valores médios de adiponectina e resistina ( $11.5 \pm 5.5$  ng/mL vs  $18.5 \pm 21.8$  ng/mL,  $p = 0.047$ , e  $16.5 \pm 3.5$  ng/mL vs  $11.7 \pm 3.3$  ng/mL,  $p = 0.027$ , respectivamente). Não foram observadas diferenças entre grupos e entre momentos nos valores de adiposina e PAI-1.

**Conclusões:** A suplementação diária e isolada de 1.000 UI de VD por 9 meses associou-se com aumento no valor de adiponectina e redução da resistina quando comparada ao placebo, sugerindo efeito benéfico sobre o perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa com deficiência de VD.

## Abstract

**Objective:** To evaluate the effect of supplementation of vitamin D (VD) alone on adipokines profile in postmenopausal women.

**Methods:** In this double-blind, placebo-controlled trial, 160 postmenopausal women were randomized into two groups: VD group, vitamin D<sub>3</sub> supplementation 1,000 IU/day orally (n=80) or placebo group (n=80). Women with amenorrhea  $\geq$  12 months and age 50-65 years were included. Those with established cardiovascular disease, insulin dependent diabetes, primary hyperparathyroidism, renal failure (or creatinine  $>1.4$  mg/dL), liver disorders, autoimmune diseases, and previous use of menopausal hormone therapy and VD were excluded. The intervention time was 9 months, with assessments at the start and end of treatment. Serum levels of adiponectin, resistin, adipsin and PAI-1 (Inhibitor of plasminogen activator type 1) were determined. The plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] were measured by HPLC (high-performance liquid chromatography). Statistical analysis was by intention-to-treat (ITT), using ANOVA and Gamma distribution in repeated measures design followed by multiple comparison Wald's test.

**Results:** The two groups were similar at baseline in terms of clinical and laboratory parameters. The mean age of the patients included was  $58.8 \pm 6.6$  years in the VD group and  $59.3 \pm 6.7$  years in the placebo group, with time since menopause of  $12.0 \pm 8.8$  years and  $12.3 \pm 8.4$  years, respectively ( $p>0.05$ ). After 10 months, there was increase in the 25(OH)D concentrations from  $15.0 \pm 7.5$  ng/ml to  $27.5 \pm 10.4$  ng/ml (+45.4%) in VD group, and decrease from  $16.9 \pm 6.7$  ng/ml to  $13.8 \pm 6.0$  ng/ml (-18.5%) in placebo group ( $p<0.001$ ). In the VD group, in the comparison between moments, there was significant

increase in adiponectin (+18.6%) and decrease in resistin (-32.4%) and PAI-1 (-39.3%) ( $p < 0.05$ ). And in the placebo group, there was decrease in PAI-1 (-25.5%) ( $p < 0.05$ ). In the comparison between groups at the end point, a significant difference was observed between the PL and VD groups in the mean values of adiponectin and resistin ( $11.5 \pm 5.5$  ng/mL vs  $18.5 \pm 21.8$  ng/mL,  $p = 0.047$ , and  $16.5 \pm 3.5$  ng/mL vs  $11.7 \pm 3.3$  ng/mL,  $p = 0.027$ , respectively). There were no significant intervention effects on serum levels of adiponectin and PAI-1.

**Conclusion:** In postmenopausal women with vitamin D deficiency, daily isolated supplementation of 1,000 IU of vitamin D<sub>3</sub> for 9 months was associated with an increase in adiponectin value and a decrease in resistin when compared to placebo, suggesting a beneficial effect on the adipokine profile.

## 1. Introdução

### 1.1. Vitamina D

A vitamina D (VD) é uma vitamina lipossolúvel, essencial para manutenção do esqueleto e para absorção de cálcio. Se proveniente da síntese em animais, é denominada de colecalfiferol (vitamina D<sub>3</sub>). É adquirida na dieta pela ingestão de alimentos ricos em óleo de peixe, fígado e ovos. Entretanto, a maior fonte decorre da ativação na pele (derme e epiderme). A partir da exposição aos raios UVB ocorre a ativação na pele (derme e epiderme), do composto 7-deidrocolesterol que se transforma em vitamina D<sub>3</sub>, sendo armazenada e liberada pelas células de gordura (Rosen, 2011; Bouillon et al, 2019). Essa forma, cuja ativação não é metabólica, necessita das funções hepáticas e renais preservadas. É transportada pela corrente sanguínea até o fígado, onde sofre uma hidroxilação no carbono 25, tornando-se 25 hidroxivitamina D [25(OH)D] ou calcidiol, forma inativa da VD. Para se tornar ativa, a 25(OH)D necessita ainda de uma hidroxilação na posição 1, nos túbulos proximais dos rins, sob a ação da enzima 1 $\alpha$ -hidroxilase, transformando-se em 1,25-diidroxivitamina D [1,25(OH)<sub>2</sub>D] ou calcitriol, que é responsável pelos efeitos biológicos (DeLuca, 2004; Heaney et al, 2010, Bouillon, 2019). A VD tem importante e reconhecido papel na mineralização óssea, na concentração de cálcio/fósforo e na regulação da paratireoide (Rosen, 2011; Cianferotti et al 2015).

Atualmente, a dosagem de 25(OH)D é empregada para avaliar e monitorizar o estado nutricional de VD no organismo humano, pois os valores plasmáticos são os principais indicadores das reservas corporais (Dawson-Hughes et al, 2005; Holick, 2010). Em diretriz clínica da *Task Force* Norte-Americana, a insuficiência de VD foi definida como valores entre 21–29 ng/ml (52,5–72,5 nmol/l) e a deficiência de VD como valores

inferiores a 20 ng/ml (50 nmol/l) (Holick e tal, 2011). Número crescente de estudos sugere que são necessários valores acima de 30ng/ml para garantir melhor disponibilidade de VD (Dawson-Hughes et al, 2010; Hanley et al, 2010; Holick, 2010). Recentemente, a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) e a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica (SBPC) recomendaram valores de referência para a concentração sérica de 25(OH)D, valores inferiores a 20 ng/mL como deficiência; valores entre 20-60 ng/mL como adequados para a população geral com idade inferior a 65 anos; valores entre 30 a 60 ng/mL como ideal para população de risco de osteoporose; e valores acima de 100 ng/mL de risco para intoxicação (Moreira et al, 2020).

Caracterizam-se como hipovitaminose D concentrações plasmáticas de 25(OH)D abaixo do limiar de 30ng/ml, ou seja, do limiar considerado suficiente para manutenção da secreção normal de paratormônio (PTH) pelas paratireoides (Holick e tal, 2011). Na insuficiência de VD evidencia-se elevação do PTH circulante, traduzindo um hiperparatireoidismo secundário, com redução da fração ativa de 1,25(OH)2D, que aumenta a reabsorção óssea (Dawson-Hughes et al, 2005; Holick, 2010). A suplementação diária de VD é capaz de reverter esse quadro de hiperparatireoidismo e impedir a perda óssea em mulheres com idade superior a 50 anos (Tang et al, 2007; Cianferotti et al, 2015). A deficiência da VD pode ser confirmada pela aferição dos níveis séricos de 25(OH)D. Por outro lado, as concentrações de 1,25(OH)2D estão usualmente dentro dos valores normais de referência ou mesmo aumentada em pacientes deficientes/insuficientes, razão pela qual não é utilizada como referência na prática clínica diária (Dawson-Hughes et al, 2005; Holick, 2010).

Reconhece-se que a deficiência de VD é condição médica frequente em todo mundo (Hilger et al, 2014). Imaginava-se que o Brasil, por ser um país tropical e

ensolarado, não apresentasse população exposta à deficiência de VD. No entanto, pesquisas brasileiras têm revelado números alarmantes (Russo et al, 2009; Unger et al, 2010; Maeda et al, 2013; Schmitt et al, 2018; Lima-Costa et al, 2020). O estado de hipovitaminose D é comumente encontrado em mulheres na pós-menopausa (Schmitt et al, 2018). Entre as prováveis causas descrevem-se: baixa exposição solar e capacidade reduzida de produção de VD; função renal diminuída; menor absorção de VD pelo trato gastrointestinal; e uso de múltiplas drogas que podem interferir na absorção e metabolização da VD. Outros fatores também influenciam a capacidade de produção de VD pela pele: uso de filtro solar, cor da pele, roupa e idade (Holick, 2004; Maeda et al, 2013).

Sabendo-se que as fontes dietéticas de vitamina D são inadequadas, é interessante que mulheres na pós-menopausa recebam suplementação para garantir a saúde óssea (Holick, 2010). A *International Osteoporosis Foundation* publicou posicionamento sobre a VD, com base em dados observacionais, recomendando manutenção de valores séricos de 25(OH)D de 30ng/ml para pessoas idosas e afirmando que o consumo de VD de até 2000UI/dia pode ser necessário para atingir valor recomendável em alguns pacientes (Dawson-Hughes et al, 2010). Em contraste, *Institute of Medicine* baseado em evidências a partir de estudos observacionais e randomizados sugere que nível sérico de 20 ng/ml protegeria 97,5% da população contra efeitos adversos na massa óssea, tais como fraturas e quedas (Rosen et al, 2012). A suplementação diária de 1000UI de VD (dentro de um período mínimo de seis meses) aumenta os valores séricos em torno de 10ng/ml, dose esta sugerida para pacientes com idade inferior a 65 anos. Com idade superior deveriam receber dose diária de 2000UI (Mason, 2011). Em geral, para cada 100UI de VD suplementada há aumento de 1ng/ml a

nível sérico de 25(OH)D e quanto menor os valores séricos basais, melhor a resposta a suplementação. A suplementação destina-se a elevar valores séricos de 25(OH)D acima de 30ng/ml de modo a aproveitar ao máximo os benefícios da VD (Bischof-Ferrari et al, 2006).

A relevante função desempenhada pela VD sobre a massa óssea está bem definida, contudo efeitos extraósseos da VD sobre os marcadores cardiometabólicos e imunoinflamatórios estão sob investigação atual. A forma ativa da VD regula a transcrição de número expressivo de genes que codificam proteínas transportadoras de cálcio e proteínas da matriz óssea e está envolvida em processos biológicos, incluindo o metabolismo ósseo, a modulação da resposta imune, e a regulação da proliferação e da diferenciação celular (Uitterlinden et al, 2004; Bouillon et al, 2019). Uma grande variedade de células extrarrenais expressa o receptor nuclear de VD (VDR), como adipócitos, células do sistema imunológico, cólon, pâncreas, pele e vasos, sintetizando a forma ativa da VD, a 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Esta produção local de VD é responsável pela modulação extraesquelética de vários outros processos fisiológicos (Mutt et al, 2014; Bouillon et al, 2019). Assim, hipovitaminose D estende os seus efeitos negativos para além da homeostase de cálcio e da saúde esquelética desempenhando um papel fisiopatológico em diferentes outras doenças crônicas não transmissíveis (Krivosíková et al, 2015; Bouillon et al, 2019; Surdu et al, 2021).

## **1.2. Menopausa, Obesidade e Vitamina D**

A deficiência de VD e o aumento na prevalência da obesidade são considerados importantes questões de saúde pública (Ding et al, 2012; Vranić et al, 2019). A obesidade parece afetar a bioatividade da VD (Bassuk et al, 2020). O excesso de peso corporal se

correlaciona com níveis mais baixos de 25(OH)D total e livre (Walsh et al, 2016; Bonnet et al, 2019). No entanto, a contribuição precisa da hipovitaminose D para a obesidade e saúde em geral não estão bem estabelecidas (Boullion et al, 2019). Evidências sugerem o envolvimento da hipovitaminose D em diversas doenças crônicas não transmissíveis como obesidade, hipertensão, diabetes e consequentemente a síndrome metabólica e a doença cardiovascular (DCV) (Vacek et al, 2012; Wang, 2013; Strange et al, 2015; Park et al, 2018; Schmitt et al, 2018; Ferreira et al; 2020; Surdu et al 2021).

Por outro lado, a transição menopausal é caracterizada por aumento do risco cardiovascular, ganho de peso e de adiposidade para muitas mulheres (Everson-Rose et al, 2021). Recente metanálise, incluindo 11 estudos longitudinais e 2472 mulheres, demonstrou que a massa gordurosa total aumentou significativamente entre mulheres na pós-menopausa na maioria das avaliações, incluindo índice de massa corpórea (IMC), porcentagem de gordura corporal, circunferência da cintura e gordura visceral (Ambikairajah et al, 2019). Em análise longitudinal, o estudo SWAN (*Study of Women's Health Across the Nation*), com seguimento médio de 11,8 anos, analisou a mudança da composição corporal na transição menopausal. A gordura abdominal aumentou 1,2% ao ano na pré-menopausa e 5,5% ao ano na transição menopausal, com aumento também na gordura visceral de 6,2% ao ano. Assim, esse período de transição menopausal esteve associado ao desenvolvimento da obesidade abdominal (Greendale et al, 2021).

Estudos epidemiológicos demonstraram que indivíduos obesos têm menores concentrações séricas de 25(OH)D, com associação inversa entre a concentração de VD e o índice de massa corpórea (IMC) e a circunferência da cintura (Botella-Carretero et al, 2007; Goldner et al, 2008; McGill et al, 2008; Taheri et al, 2012; Stokić et al, 2015a). Uma revisão sistemática e metanálise de dados transversais avaliando a relação entre os níveis

séricos de VD e o índice de massa corpórea, em adultos de ambos os sexos, demonstrou que existe fraca correlação inversa, porém significativa, entre os valores de 25(OH)D e massa corporal na população adulta (Saneei et al, 2013). Os mecanismos envolvidos não estão completamente descritos (Cimini et al, 2017). É possível que o sequestro de metabólitos da VD no tecido adiposo diminua sua biodisponibilidade (Worstman et al, 2000; Blum et al, 2008; Vranić et al, 2019).

Diferentes explicações foram sugeridas para a insuficiência de VD associada à obesidade incluindo: 1) Diluição volumétrica, significa que os valores séricos de VD diminuem como o tamanho corporal (Drincic et al, 2012); 2) Diferenças no estilo de vida entre pessoas obesas e magras. Pessoas obesas podem ser sensíveis sobre a forma do corpo, participar de menos atividades ao ar livre, encobrir e usar mais roupas do que indivíduos magros, o que minimiza sua exposição ao sol (Abbas, 2017); 3) Diferenças na capacidade de ativar a VD entre indivíduos magros e obesos. Nestes o nível de expressão das enzimas ativadoras de VD (25-hidroxilase CYP2J2 e 1 $\alpha$ -hidroxilase CYP27B1) foram menores no tecido adiposo visceral em comparação a indivíduos magros (Wamberg et al, 2013); 4) Sequestro de VD dentro do tecido adiposo, indicando que a VD sintetizada está fortemente ligada aos depósitos de gordura, não sendo liberada na circulação para manter concentrações séricas de 25(OH)D. Indivíduos obesos apresentam uma resposta mais fraca a dose padrão de radiação UVB que pessoas com peso normal (Wortsman et al, 2000). Contudo, os mecanismos que controlam a deposição e a liberação de VD a partir do tecido adiposo ainda são desconhecidos (Malmberg et al, 2014; Walsh et al, 2016; Vranić et al, 2019).

O tecido adiposo e os músculos são os principais locais de armazenamento da VD (Abbas, 2017). O tecido adiposo funciona como um sistema de armazenamento de VD

que previne a síntese descontrolada de 25(OH)D no fígado. A liberação lenta de VD a partir de tecido adiposo em condições de jejum pode limitar a potencial toxicidade das quantidades em excesso da VD. Nos seres humanos, cerca de 20% da dose de VD administrada por via oral é armazenada em tecido adiposo e o resto é consumido ou metabolizado (Heaney e tal, 2011). Concentrações plasmáticas elevadas de 25(OH)D foram associadas a menores quantidades de tecido adiposo visceral e tamanho reduzido de adipócitos (Cheng et al, 2010; Caron-Jobin et al, 2011; Earthman et al, 2012; Stokić et al, 2015b), sugerindo uma ligação entre os níveis de VD e distribuição de gordura (Cimini et al, 2017).

### **1.3. Adipocinas**

O tecido adiposo é considerado um órgão endócrino, sendo capaz de sintetizar e liberar citocinas, complementos e fatores de crescimento, proteínas da matriz extracelular e agentes vasoativos, coletivamente conhecidos como adipocinas (Cimini et al, 2017; Recinella et al, 2020). Estas têm diferentes funções, como regulação de apetite e balanço energético, imunidade, sensibilidade à insulina, angiogênese, inflamação e metabolismo de lipídeos (Rahimlou et al, 2016; Recinella et al, 2020). As adipocinas secretadas pelo tecido adiposo estão associadas à resistência à insulina, síndrome metabólica e DCV (Everson-Rose et al, 2021). Entre as adipocinas temos a adiponectina que influencia a sensibilização insulínica e tem propriedades anti-inflamatórias e antiaterogênicas (Trujillo & Scherer, 2006; Ziemke et al, 2010; Turer et al, 2012; Fang & Judd, 2018); a resistina que interfere no desenvolvimento à resistência insulínica e tem atividade pró-inflamatória (Park et al, 2017); a adipsina participa na manutenção da homeostase do tecido adiposo (Tafere et al, 2020); e o inibidor do ativador de

plasminogênio 1 (PAI-1), associado a fibrinólise e inflamação (Kaji, 2016; Chen et al, 2017).

### **1.3.1. Adiponectina**

A adiponectina é uma proteína composta de 244 aminoácidos, sintetizada no tecido adiposo por adipócitos diferenciados, e que circula com valores séricos relativamente altos, entre 5-30 µg/mL (Pittas et al, 2004; Ziemke et al, 2010; Fang & Judd, 2018). Regula a gordura hepática pelo seu efeito na sensibilização a insulina, possui ação anti-inflamatória reduzindo os níveis séricos de interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), além do efeito antifibrogênico (Berg et al, 2002; Turer et al, 2012; Abbas, 2017). Um dos mecanismos propostos para ação da adiponectina na melhora da resistência à insulina (RI) é a diminuição de ácidos graxos livres (AGL) por meio do aumento da oxidação no músculo esquelético (Pittas et al, 2004; Fang & Judd, 2018). Valores reduzidos de adiponectina foram associados com RI, diabetes, dislipidemia e obesidade (Trujillo & Scherer, 2006; Milewicz et al, 2010; Ziemke et al, 2010). Por outro lado, valores elevados estiveram associados à diminuição do risco de doença cardiovascular (DCV). A adiponectina parece inibir a formação da placa ateromatosa em função da sua capacidade de inibir a formação de células espumosas (*"foam cell"*) e estimular a proliferação de células musculares lisas (Trujillo & Scherer, 2006).

Em estudo avaliando 925 mulheres com diagnóstico de diabetes tipo II, os autores observaram que valores elevados de adiponectina foram associados com melhor controle glicêmico, perfil lipídico mais favorável e redução do processo inflamatório (Mantzoros et al, 2005). Li et al, em metanálise, concluíram que elevados valores de adiponectina estiveram associados a baixo risco de diabetes (Li et al, 2011). Estudos sugerem que

baixos valores plasmáticos da adiponectina correlacionem com o estabelecimento da síndrome metabólica (Funahashi et al, 2004; Geloneze et al, 2009), uma vez que indivíduos obesos apresentam valores plasmáticos de adiponectina menores em comparação a indivíduos com peso adequado (Weyer et al, 2001). Mulheres possuem valores mais elevados de adiponectina que os homens (Nop et al, 2003).

Com o objetivo de encontrar um valor de corte apropriado de adiponectina sérica para o rastreamento da síndrome metabólica (SM), 290 mulheres na peri e pós-menopausa (média de idade  $54,25 \pm 8,6$  anos) foram recrutadas. Nas participantes com SM, a obesidade abdominal foi o principal critério diagnóstico. A adiponectina sérica foi menor em mulheres com SM quando comparada àquelas sem SM ( $6,0 \pm 4,6$  vs  $9,2 \pm 5,2$   $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente;  $p < .0001$ ). Os autores concluem que adiponectina sérica é um bom biomarcador para SM, e recomendam um valor de corte para adiponectina sérica inferior a  $7,15 \mu\text{g/mL}$  para triagem de SM (Wattanapol et al, 2020).

Recente estudo transversal avaliou a associação entre valores de adiponectina com a espessura da íntima-média da artéria carótida em 1399 mulheres na pós-menopausa participantes do estudo SWAN. Valores mais baixos de adiponectina associaram-se a maior espessura da íntima-média da artéria carótida. Essa associação foi atenuada após o ajuste para fatores de risco cardiovascular (Everson-Rose et al, 2021).

### **1.3.2. Resistina**

A resistina é uma pequena proteína secretada que regula o metabolismo da glicose (Acquarone et al, 2019). A resistina foi descoberta em 2001 e representa a mais nova das adipocinas. Foi assim denominada pela sua capacidade de promover resistência à insulina (Carvalho et al, 2006). Altos níveis de resistina induzem resistência à insulina

(RI) e exercem efeitos pró-inflamatórios (Acquarone et al, 2019). É uma adipocina pró-inflamatória, pertencente à família das moléculas resistin-like35, secretada principalmente nos adipócitos em roedores e nos monócitos e macrófagos em humanos (Patel et al, 2003). Promove RI, diminuindo a gliconeogênese hepática e tem ação regulatória da adipogênese devido à sua alta expressão nos pré-adipócitos (McTernan et al, 2002). É considerada marcador de inflamação, uma vez que pode induzir a expressão do TNF- $\alpha$ , da IL-6 e da interleucina 12 (IL-12) (Bokarewa et al, 2005; Larochelle et al, 2007; Acquarone et al, 2019). Nas células endoteliais, a resistina aumenta a expressão de vários fatores pró-inflamatórios, incluindo endotelina-1 e metaloproteinases de matriz, bem como moléculas de adesão celular, como molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1) e P-selectina (Manduteanu et al, 2010; Hsu et al, 2011). Especificamente, a resistina promove a formação de células espumosas, onde se desencadeia processos inflamatórios ativando o inflamassoma, um complexo de proteínas responsável pela ativação de processos inflamatórios (Lee et al, 2009).

### **1.3.3. Adipsina**

Adipsina foi a primeira adipocina descrita em 1987 (Cook et al, 1987). Posteriormente foi identificada como fator do complemento D (White et al, 1992). Os fatores do complemento, incluindo C3, C3aR e D, também são produzidos pelo tecido adiposo sugerindo efeitos nas células imunes e nos adipócitos (Patrick et al, 2009). A adipsina é produzida por adipócitos diferenciados predominantemente na gordura visceral (Legakis et al, 2016). Estudo *in vitro* demonstrou que a adipsina promoveu o acúmulo de lipídios e a diferenciação de adipócitos, atuando em C3aR, indicando que os

fatores de complemento exercem ações duais em células imunes e adipócitos (Song et al, 2016).

A adiposina, juntamente com a proteína estimulante da acetilação, promove a absorção de glicose nos adipócitos e aumenta a síntese de triglicerídeos regulando os níveis séricos desses metabólitos (Calan et al, 2016; Vasilenko et al, 2017). A adiposina está envolvida na manutenção da homeostase do tecido adiposo e no aumento da secreção de insulina em resposta à glicose (Tafere et al, 2020). De acordo com diferentes estudos experimentais e clínicos, as concentrações plasmáticas de adiposina são baixas em animais e pacientes com diabetes melitus (Tafere et al, 2020). Estudo *in vitro* observou que adiposina teria um papel benéfico na manutenção da função das células  $\beta$  e identificou C3a, um peptídeo produzido pela adiposina, como potente secretor de insulina. Esses achados indicam que a via da adiposina/C3a conecta a função do adipócito à fisiologia da célula  $\beta$  (Lo et al 2014). Além disso, a adiposina pode ser importante para melhorar a hiperglicemia, preservando e melhorando a sobrevivência das células  $\beta$  (Tafere et al, 2020).

#### **1.3.4. Inibidor de ativação do plasminogênio (PAI)-1**

No grupo das adipocinas com função predominantemente cardiovascular, destaca-se o inibidor de ativação do plasminogênio (PAI)-1 (Song et al, 2017). O PAI-1, uma glicoproteína de 50 kDa, é um importante regulador do sistema fibrinolítico (Chen et al, 2011). É o principal inibidor do ativador do plasminogênio tecidual (tPA) e do ativador do plasminogênio da uroquinase (uPA) na circulação, desempenhando papel na fibrinólise e na hemostasia (Kaji, 2016; Chen et al, 2017). Embora as fontes mais importantes do PAI-1 sejam os hepatócitos e as células endoteliais, os adipócitos também contribuem para os

níveis circulantes desta proteína, que estão elevados na obesidade (Chen et al, 2017). O PAI-1 derivado de adipócitos, expresso predominantemente na gordura visceral, é liberado na circulação em paralelo com o aumento da massa gorda e funciona como uma adipocina, afetando negativamente a biologia vascular (Kaji, 2016). O PAI-1 apresenta correlação positiva com os parâmetros de RI, particularmente a insulinemia, além do IMC e o acúmulo de gordura visceral, que explica 28% da variância da atividade do PAI-1 (Laumen et al. 2008; Kaji, 2016). Entretanto, o aumento do PAI-1 na obesidade visceral é independentemente dos níveis de insulina, triglicerídeos e glicose (Chen et al, 2017).

Em condições normais, PAI-1 está presente no plasma em concentrações muito baixas. Níveis elevados de PAI-1 são causados por uma série de mecanismos, incluindo a estimulação por fatores pró-fibróticos, como fator de crescimento de transformação  $\beta$  (TGF $\beta$ ) e fatores inflamatórios, como TNF $\alpha$  e a interleucina-1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) (Kasza et al, 2002; Hou et al, 2004). Níveis elevados de PAI-1 induzem resistência à insulina e anormalidades metabólicas durante processos pró-inflamatórios envolvendo várias citocinas e quimiocinas (Kaji, 2016). O PAI-1 pode ser considerado um indicador da resposta inflamatória (Chen et al, 2011). O PAI-1 poderia ser o elo causal entre obesidade e DCV. As anormalidades da fibrinólise induzida pelo PAI-1, associadas à obesidade e síndrome metabólica, levam à DCV por meio da coagulação vascular desregulada, disfunção endotelial e anormalidades metabólicas (Kaji, 2016). Estudos relataram a correlação de PAI-1 com múltiplos fatores de risco da DCV como obesidade, diabetes e síndrome metabólica (Smits et al, 2013; Kaji, 2016; Yarmolinsky et al, 2016).

#### 1.4. Adipocinas e Vitamina D

Os metabólitos de VD podem influenciar a produção de adipocinas e a resposta inflamatória no tecido adiposo (Ding et al, 2012). Assim, a deficiência de VD comprometeria o funcionamento metabólico normal do tecido adiposo. E pela importância do tecido adiposo no balanço de energia, no metabolismo de lipídios e na inflamação, a concentração de VD pode ter impacto significativo na manutenção da saúde metabólica (Strange et al, 2015). Estudos *in vitro* mostraram que a VD exerce ação anti-inflamatória nos adipócitos de ratos e de humanos, diminuindo a expressão de quimiocinas e citocinas através do envolvimento da p38 MAP quinase e da via inflamatória clássica NF- $\kappa$ B (Vitseva et al, 2008; Lorente-Cebrián et al, 2012; Karkeni et al, 2015). Pesquisa demonstrou que a VD modula a expressão de microRNA em adipócitos *in vitro* e em tecido adiposo *in vivo* através da via de sinalização de NF- $\kappa$ B, representando, assim, novo mecanismo de regulação da inflamação do tecido adiposo pela VD (Karkeni et al, 2018).

Os valores baixos de 25(OH)D e adiponectina estão ambos associados à obesidade (Young et al 2009; Brochu-Gaudreau et al, 2010; Matsuzawa, 2010; Vaidya et al, 2012; Karonova et al, 2018; Wattanapol et al, 2020). Estudos transversais sugeriram que as concentrações de 25(OH)D estão positivamente associadas à adiponectina e que essa relação pode se fortalecer com o aumento do IMC (Gannage-Yared et al, 2009; Nimitphong et al, 2009). Por outro lado, estudos populacionais indicam relação direta entre valores séricos de 25(OH)D e adiponectina, independentemente do IMC (Vaidya et al, 2012; Husemoen et al, 2014). Estudo realizou análises transversais em 1206 mulheres (idade 30-55 anos) do *Nurse's Health Study I* e em 439 homens (idade 40-75 anos) do *Health Professionals Follow-Up Study*, para avaliar a associação entre 25(OH)D e

adiponectina, controlado pelo IMC. Os valores médios de 25(OH)D foram de  $24,4 \pm 9,4$  ng/mL em mulheres e  $28,7 \pm 9,9$  ng/mL em homens, consistente com insuficiência de VD. As mulheres apresentaram maiores concentrações de adiponectina que os homens ( $17,9 \pm 7,7$  vs  $10,0 \pm 8,1$  µg/mL, respectivamente). As mulheres na pós-menopausa apresentaram maiores valores séricos de adiponectina que mulheres na pré-menopausa ( $18,3 \pm 7,7$  vs.  $15,7 \pm 7,0$  µg/mL, respectivamente). As concentrações de 25(OH)D foram positivamente associadas à adiponectina em ambas as populações, sendo que o IMC não modificou essa associação (Vaidya et al, 2012).

Estudo de corte transversal avaliou 452 participantes saudáveis de ambos os sexos, com idade entre 18-80 anos, quanto aos fatores de risco cardiometabólicos e valores de 25(OH)D. Adiponectina, resistina, IL-6, TNF- $\alpha$  e PCR foram determinados. A média de 25(OH)D e de adiponectina diminuiu com o aumento do número de fatores de risco cardiometabólicos (diabetes, hipertensão e RI), enquanto a PCR e a resistina aumentaram. Contudo, os autores não observaram associação entre os valores de 25(OH)D e adipocinas (Krivosíková e tal 2015). Pesquisa, avaliando a associação entre dieta hipossódica e valores plasmáticos de resistina e VD em 177 indivíduos hipertensos, observou que a redução na ingestão de sódio reduziu os níveis de resistina, possivelmente por suprimir o sistema renina-angiotensina. E que a concentração de 25(OH)D foi positivamente associada à resistina, podendo a VD estar envolvido na regulação da resistina por mecanismo desconhecido (Vaidya et al 2011).

Associação entre valores reduzidos de 25(OH)D e aumento de PAI-1 foi demonstrada em estudos observacionais (Jorde et al, 2007; Hypponen et al, 2010). Pesquisa experimental observou que 1,25(OH) $_2$ D $_3$  faz *downregulation* no PAI-1 ao bloquear a ativação de NF-kB. A inibição da produção de PAI-1 pode contribuir para os

efeitos cardioprotetores da VD (Chen et al, 2011). Em coorte prospectiva multicêntrica de adultos norte-americanos, participantes do *Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*, foi avaliado se a deficiência de 25(OH)D está associada a perfil biológico pró-trombótico. Foram incluídos 6443 indivíduos, sem DCV estabelecida, com 62,1 anos em média, 46,6% homens e IMC médio de 28,3 kg/m<sup>2</sup>. Foram avaliados dez marcadores hemostáticos: dímero-D, fibrinogênio, fator VIII, plasmina-antiplasmina, homocisteína, fator de von Willebrand, fator tecidual solúvel, inibidor da via do fator tecidual total (TFPI) e PAI-1. Para cada redução de 10 ng/ml nos valores de 25(OH)D foram observados elevação de 3,7% na homocisteína, 7,0% no PAI-1 e 2,1% no TFPI. Não foram observadas associações significativas entre VD e outros biomarcadores hemostáticos (Blondon et al, 2016).

### **1.5. Suplementação de Vitamina D e Adipocinas**

Alguns estudos clínicos, em populações de ambos os sexos, avaliaram a suplementação da VD sobre as adipocinas em pacientes diabéticos (Breslavsky et al 2013; Tabesh et al, 2015; Hussain et al 2019), idosos (Waterhouse et al, 2015) e obesos (Mai et al, 2017; Mousa et al, 2020). Breslavsky et al., avaliando 47 pacientes com diabetes tipo 2, com 65 anos em média, observaram aumento nas concentrações de 25(OH)D e de adiponectina apenas no grupo suplementado (1000UI VD/dia, 12 meses) quando comparado ao placebo (Breslavsky et al 2013). Recente ensaio clínico examinou o efeito da suplementação de VD sobre as concentrações de adipocinas em 65 adultos, sobrepeso ou obesos, com deficiência de VD. Foram randomizados para VD (100.000 UI dose única, seguido por 4.000 UI/dia) ou placebo, por 16 semanas. A suplementação de VD aumentou as concentrações de 25(OH)D em comparação ao placebo. Em análise não ajustada não houve diferenças entre os grupos nos valores de adiponectina, resistina ou adiposina.

Após ajustes para idade, sexo e porcentagem de gordura corporal, houve aumento na adiponectina (OR 13.7, IC 95% 2.0-255,  $p = 0,02$ ) no grupo da VD em comparação ao placebo. Os autores concluem que são necessários mais estudos para esclarecer as interações moleculares entre a VD e as adipocinas e as implicações clínicas dessas interações no contexto da obesidade (Mousa et al, 2020).

Por outro lado, Tabesh et al. em ensaio clínico, randomizado, controlado por placebo, estudando o efeito da suplementação de cálcio (1000mg/dia) e VD (50.000UI/semana) em 118 indivíduos com diabetes tipo 2, não encontraram alteração nos valores de adiponectina ao final de 8 semanas. Waterhouse et al. acompanharam 644 indivíduos (idade entre 65-84 anos) randomizados para receber placebo ( $n=214$ ) ou VD 30.000UI/mês ( $n=215$ ) ou 60.000UI/mês ( $n= 215$ ) durante 12 meses. Não houve diferenças significantes nos valores de PCR, IL-6, IL-10, e adiponectina entre o grupo placebo e os grupos suplementados.

Até o momento não foram apresentados estudos na população específica de mulheres na pós-menopausa, importante grupo de risco tanto para deficiência de VD (Lipps e tal, 2006; Pérez-López et al, 2020) quanto para obesidade abdominal (Zhang et al, 2008; Greendale et al, 2021). Poucas pesquisas e com número pequeno de participantes estudaram o impacto da suplementação de VD sobre as adipocinas em mulheres na pré-menopausa (Witham e tal, 2013; Greco et al, 2018; Seyyed et al, 2018) e um estudo em mulheres na pós-menopausa (Duggan et al, 2015). Witham e tal. realizaram estudo duplo-cego, placebo controlado, com 50 mulheres (41 anos em média) com deficiência de VD, randomizadas para receber dose única de 100.000 UI de VD ou placebo. Foram avaliados a função endotelial pelo doppler da artéria braquial e dosagens da RI, lipídios séricos, marcadores inflamatórios e adipocinas. Após 8 semanas, não houve alterações

significativas no fluxo arterial, na RI e nos marcadores inflamatórios no grupo da VD em relação ao placebo. Contudo, níveis de PAI-1 reduziram significativamente apenas no grupo suplementado (Witham e tal, 2013). Seyyed et al. avaliaram 44 mulheres com síndrome dos ovários policísticos (idade entre 20-38 anos), com valores de 25(OH) <20 ng/mL, randomizadas para 50.000 UI de VD oral/semana ou placebo. Após 8 semanas de intervenção, no grupo VD houve diminuição significativa da glicose de jejum, melhora da RI pelo HOMA e aumento significativo da adiponectina e dos valores séricos de VD em comparação ao grupo placebo (Seyyed et al, 2018). Greco et al. acompanharam 31 mulheres na pré-menopausa (média de 33.7±8.0 anos), não obesas, com valores de 25(OH)D < 20ng/mL que foram suplementadas com VD (1.500-2.000UI/dia) por 3 meses. Os autores observaram melhora significativa do perfil de adipocinas séricas, com aumento na adiponectina (+50,6%, p <0,0001) e diminuição na resistina (-24,3%, p <0,0001) (Greco et al, 2018).

Por outro lado, Duggan et al. avaliaram 208 mulheres na pós menopausa, com sobrepeso e hipovitaminose D que foram randomizadas a intervenção de perda de peso com ou sem suplementação de VD (2.000 UI/dia). Foram avaliadas adipocinas e biomarcadores inflamatórios. Aos 12 meses não houve efeitos da intervenção sobre adiponectina ou leptina. A suplementação de vitamina D3 em combinação com perda de peso de pelo menos 5% do peso inicial foi associada a reduções significativas apenas nos níveis de IL6 (Duggan et al, 2015). Revisão sistemática e metanálise objetivou avaliar o papel da suplementação de VD sobre as adipocinas. Foram incluídos nove estudos clínicos, com 484 participantes de ambos os sexos. A metanálise de sete estudos não encontrou alteração significativa nas concentrações de adiponectina plasmática após a suplementação de VD. As alterações observadas foram consideradas independentes da

duração do tratamento e dos valores de 25(OH)D. Para os autores, uma vez que as adipocinas estão associadas como melhor controle glicêmico e outros indicadores metabólicos, mais estudos são necessários procurando se a suplementação de VD poderia ter um impacto nos níveis de adipocinas, principalmente em pacientes com síndrome metabólica ou obesidade (Dinca et al, 2016).

### **1.6. Justificativa**

A relevante função desempenhada pela VD sobre a massa óssea está bem definida, no entanto, receptores de VD são encontrados na maioria das células e tecidos humanos, indicando efeitos extra esqueléticos e que estão sob investigação atual. Resultados de ensaios clínicos apoiam o papel da VD na redução da incidência de algumas doenças, mas, globalmente, as conclusões são inconsistentes, indicando a necessidade de mais estudos para definir melhor se o estado da VD pode ser otimizado para melhorar aspectos da saúde humana além da massa óssea. A literatura carece de estudos direcionados às mulheres na pós-menopausa, importante grupo de risco para hipovitaminose D e obesidade abdominal. Poucos estudos até o momento avaliaram a relação entre os valores séricos de VD, o perfil de adipocinas e o impacto da suplementação de VD em população específica de mulheres na pós-menopausa. Pesquisas de natureza clínica são importantes repercutindo no sentido de melhorar a qualidade de vida de mulheres na pós-menopausa e reduzir custos assistenciais de saúde.

### **1.7. Hipótese**

A hipótese desse estudo é que a suplementação de VD proporciona significativa melhora no perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa com deficiência de VD.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Principal**

Avaliar o efeito da suplementação isolada de vitamina D sobre o perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa.

### **2.2. Objetivos Específicos**

2.2.1. Investigar a correlação entre os valores de 25(OH)D e o perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa.

2.2.2. Estudar o impacto da suplementação de vitamina D sobre o perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa.

### 3. MÉTODOS

#### **3.1. Desenho do estudo e Seleção da Amostra**

Trata-se de ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado, para avaliar os efeitos da suplementação isolada de VD (1000IU/dia). O grupo populacional foi constituído de pacientes atendidas no Ambulatório de Climatério & Menopausa da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB)-UNESP nos anos de 2016-2018. Foram incluídas mulheres com data da última menstruação há pelo menos 12 meses e idade  $\geq$  45 anos que aceitaram participar do estudo. Os critérios de exclusão foram: presença de DAC manifesta atual ou prévia; doença arterial cerebrovascular; doença aneurismática; doença arterial periférica; diabetes insulínica; doença renal crônica ou creatinina  $> 1,4$  mg/dl; doença hepática; síndrome de má absorção; doenças autoimunes; disfunção da paratireoide; obesidade grau III; câncer; uso de terapia hormonal da menopausa ou de doses farmacológicas de VD ( $>100$  UI/dia); etilistas ou drogaditas. Todas as voluntárias participantes do estudo foram informadas sobre os objetivos da pesquisa, procedimentos e confidencialidade dos dados, sem quaisquer prejuízos para as mesmas. Foi solicitada a todas as participantes a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo I), de acordo com exigência da resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMB-UNESP sob número do parecer 2.709.692 (Anexo II). O estudo foi registrado e aprovado pelo Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC) sob o número de registro RBR-4MHS32. Este ensaio clínico foi realizado de acordo com o *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT) 2010 (Anexo III) (Schulz et al, 2010).

### **3.2. Dados Clínicos**

Inicialmente, no dia da consulta foram coletados por meio de entrevista os seguintes dados clínicos: idade, idade da menopausa, tempo de menopausa, paridade, tabagismo atual, uso de terapia hormonal ou de suplementação de VD, histórico de doenças crônicas (hipertensão, diabetes, doença cardiovascular, doenças autoimunes, doenças de má absorção), atividade física, pressão arterial, peso e altura. A medida da pressão arterial foi aferida no braço direito com o antebraço apoiado no nível do precórdio, palma da mão para cima, com uso de esfigmomanômetro aneróide padrão, com a paciente na posição sentada. Foram definidas como tabagistas as pacientes com o hábito de fumar diariamente, não importando o número de cigarros fumados. Foram consideradas ativas as mulheres que praticam exercícios físicos aeróbicos de intensidade moderada, pelo menos 30 minutos, cinco vezes na semana (150/min/sem) ou exercícios de resistência três dias por semana (CDC).

Foram obtidos os seguintes dados para avaliação antropométrica: peso, altura, índice de massa corpórea ( $IMC = \text{peso} / \text{altura}^2$ ) e circunferência da cintura. Para mensuração do peso, foi utilizada balança antropométrica eletrônica microdigital tipo plataforma (Filizola®, Brasil), com capacidade de 150 kg com precisão 0,1 Kg e 0,5 cm (peso e estatura), com a paciente descalça e com o mínimo de roupa. Para medir a estatura, a paciente permaneceu com os braços ao longo do corpo ereto, mantendo os olhos fixos em plano horizontal paralelo ao chão, medida por haste vertical com graduação de 0,5 cm, acoplada à balança. Foram empregados os critérios da *World Health Organization* de 2002 para classificação das pacientes, conforme o IMC: menor que 24,9 kg/m<sup>2</sup> normal, de 25 a 29,9 kg/m<sup>2</sup> sobrepeso, de 30 a 34,9 kg/m<sup>2</sup> obesidade grau I, de 35 a 39,9 kg/m<sup>2</sup> obesidade grau II e maior ou igual a 40 kg/m<sup>2</sup> obesidade grau III. Para a

medida da cintura foi considerada a menor circunferência entre a última costela e a crista ilíaca anterossuperior, sendo a leitura feita no momento da expiração. Foi considerada aumentada acima de 88 cm (NCEP-ATP III, 2001).

### **3.3. Protocolo de suplementação**

Após a seleção inicial, todas as participantes receberam uma numeração (1-160) de acordo com a ordem de inclusão no estudo. Um processo de randomização computadorizado centralizado foi conduzido empregando software específico para o protocolo do estudo (*SAS for Windows, v. 9.2 using Procedure Plan*). As pacientes foram randomizadas, em sequência de numeração pré-estabelecida, em dois grupos: VD, com suplementação de vitamina D<sub>3</sub> (n=80) e PL, usuárias de placebo (n=80) (Figura 1). Os investigadores e as pacientes não tinham conhecimento prévio dos referidos grupos e das diferentes numerações, apenas o farmacêutico responsável pela manipulação do placebo. Assim, 80 pacientes receberam diariamente 1.000 UI de VD (colecalfiferol), cinco gotas via oral (cada gota contém 200 UI, frasco de 20 ml), durante 9 meses. As outras 80 pacientes receberam placebo (composição de água e óleo mineral com essência de limão, em 20 ml), com mesma característica e sabor, cinco gotas, via oral.

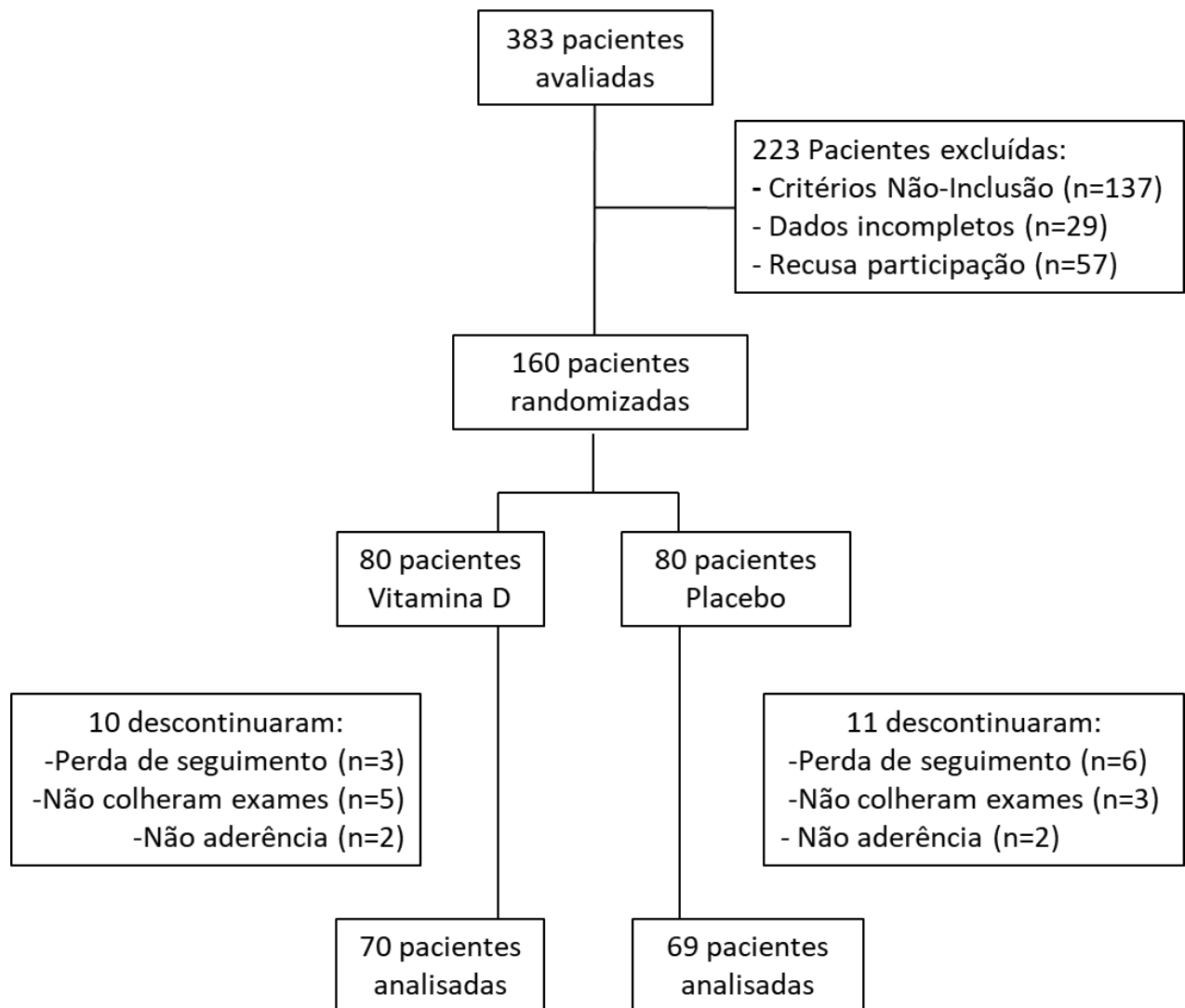


Figura 1- Fluxograma das pacientes incluídas no estudo

Os frascos foram idênticos, embalados e numerados em código pelo farmacêutico para não identificação do grupo pelas participantes do estudo (Figura 2). Para o controle da suplementação, as pacientes foram orientadas a trazer os frascos a cada retorno para avaliar a medicação usada e determinar a aderência. O tempo de seguimento foi de 9 meses com avaliações clínicas em dois momentos, inicial e final.

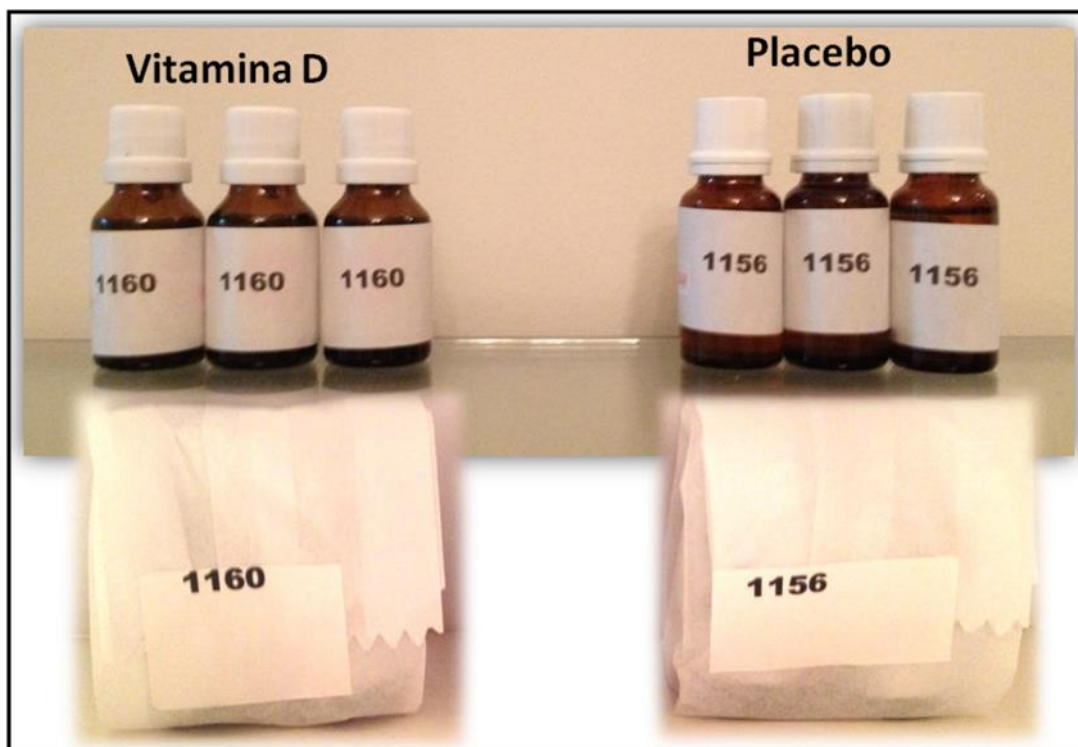


Figura 2 – A semelhança dos suplementos e a maneira como foi entregue para as pacientes.

### **3.4. Avaliação Laboratorial**

Amostras sanguíneas foram colhidas nos momentos basal e 9 meses, pela manhã, após 12 horas de jejum. Por meio de punção venosa, em sistema fechado a vácuo (*Vacutainer®*, England), foram obtidos 30 ml de sangue, diretamente em dois tubos secos (10 ml) com gel separador de soro e um tubo heparinizado com EDTA (10 ml) para obtenção de plasma. Ao final de cada colheita, foram centrifugadas por 10 min (3.000 rpm). Um tubo com o soro obtido seguiu para dosagens bioquímicas imediatas e outro tubo com soro e um tubo com plasma foram congelados a  $-80^{\circ}\text{C}$  até a leitura das dosagens do perfil de adipocinas (soro) e dosagem da VD (plasma).

Foi realizada avaliação do perfil glicídico pela mensuração de glicose e insulina, para cálculo da resistência insulínica, baseada na medida estática desses dois

constituintes plasmáticos, além de dosagem da creatinina. Todas as avaliações bioquímicas foram realizadas pelo Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu. A mensuração da glicose foi processada pelo analisador bioquímico automático (*Technicon®*, *RA-XT System*; *Global Medical Instrumentation, Minnessota, USA*) e quantificada pelo método enzimático colorimétrico, utilizando-se reagente comercial específico (*Sera-Pak®*, *Bayer Corporation, Diagnostics Division, NY, USA*). O valor considerado ótimo foi glicose < 100mg/dL. Para dosagem de creatinina foi empregado o método da química seca com equipamento de automatização, modelo Vitros 950® (Johnson-Johnson, Rochester, NY, USA). O valor da concentração sérica da creatinina foi considerado dentro do limite da normalidade de 0,7 a 1,2 mg/dL. A insulina foi quantificada pelo Sistema Immulite® (*DPC®, USA*), que emprega imunoensaio, em fase sólida, por quimioluminescência, para uso em analisador automático, designado para leitura quantitativa. A taxa de normalidade segundo o método empregado foi de 6,0 a 27,0 µU/ml. Para a avaliação da resistência insulínica foi empregado o HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistant*), calculado pela fórmula:  $\text{Insulina } (\mu\text{UI/mL}) \times \text{glicose de jejum (mg/dl)} / 405$ . Valores que indicam RI foi definido como  $\text{HOMA-IR} > 2,71$  (Geloneze et al, 2006).

### **3.5. Análise de Vitamina D**

Os valores de 25(OH)D foram dosados no momento basal e aos 9 meses (para avaliar a biodisponibilidade e aderência ao tratamento). A 25(OH)D foi dosada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), pelo sistema HPLC Isocrático com injetor manual Rheodyne®, modelo 7725i, com loop de 20 µL e detector de UV-VIS Waters, modelo M-484, com coluna RP 18 com 4.0 mm x 15 cm e partículas de 5 micros (Sigma-

Aldrich® Co. LLC, St. Louis, MO, USA). O limite de detecção foi de 2,5 ng/ml e o coeficiente de variação < 7,0%. Foram considerados suficientes valores de 25(OH)D  $\geq$  30 ng/mL, insuficiência de 21 a 29 ng/mL e deficiência < 20 ng/mL (Dawson-Hughes et al, 2005; Bischoff-Ferrari et al, 2006). Todas as dosagens foram realizadas em único momento para minimizar variações interensaios.

### **3.6. Análise das Adipocinas**

As adipocinas [adiponectina, resistina, adiposina e inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 (PAI-1)] foram quantificadas utilizando o instrumento de teste analítico Magpix®, que utiliza a tecnologia xMAP® (Luminex Corp., Austin, TX, USA) e o software xPONENT 4.2 (Luminex), seguindo os protocolos específicos dos Kits fornecidos por Millipore (Millipore Corp., Billerica, MA, USA). A tecnologia xMAP (*Multi-Analyte Profiling*) usa microesferas magnéticas codificadas por fluorescência revestidas com anticorpos de captura específicos para medir simultaneamente múltiplos analitos em uma amostra. Depois que as microesferas capturaram os analitos, um anticorpo de detecção biotinizado liga-se a esse complexo. A estreptavidina PE liga-se então como uma molécula de sinalização. Dentro do instrumento de leitura, as microesferas magnéticas são mantidas em uma monocamada por um ímã, onde dois LEDs (*Light Emitting Diode*) são usados para excitar o corante interno de microesfera e o corante da molécula de sinalização, respectivamente. Uma câmera captura essas imagens, que são analisadas pelo software Milliplex Analyst (Millipore Corp., Billerica, MA, USA) (Shetty et al, 2013).

As concentrações das adipocinas foram determinadas com base no ajuste de uma curva padrão para a intensidade média de fluorescência em ng/ml. Foram realizados dois controles de qualidade para cada ensaio (controle 1, nível baixo e controle 2, nível

elevado). Todas as adipocinas encontravam-se dentro da curva de controle de qualidade. Todas as dosagens foram realizadas pelo mesmo pesquisador biomédico especializado (Orsatti CL) para minimizar variações intraensaios.

### 3.7. Análise Estatística

O cálculo do tamanho amostral foi embasado no estudo de Breslavsky *et al* (2013) que demonstraram aumento nos valores de adiponectina pós-suplementação de VD (pré  $10.4 \pm 6.6$  ng/mL e pós  $13.1 \pm 7.2$  ng/mL). Considerando a diferença entre os valores, e para um poder de 90%, margem de erro de 5% e confiabilidade de 95%, estimou-se tamanho amostral de no mínimo 50 mulheres por grupo. Considerando perda de seguimento ao redor de 30%, o tamanho amostral adotado foi de 80 mulheres por grupo.

O método de análise estatística utilizado foi *per protocol*. A partir dos dados foram construídas tabelas das variáveis clínicas e dos parâmetros avaliados. As variáveis foram analisadas quanto à normalidade de distribuição pelo Teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade pelo Teste de Levene. Para análise dos dados foi calculado média e desvio-padrão para variáveis quantitativas e, frequência e porcentagem para variáveis qualitativas. Foram analisadas variáveis clínicas (idade e tempo de menopausa, pressão arterial, peso, altura, IMC, exercício físico, tabagismo e doenças) e laboratoriais [25(OH)D, bioquímicos e perfil de adipocinas].

Para comparação entre os grupos em relação às características iniciais foi empregado o Teste *t-student* (variáveis quantitativas), distribuição Gama (variáveis quantitativas assimétricas) e o teste do Qui-quadrado (variáveis qualitativas). Na comparação dos valores de 25(OH)D entre os momentos (basal e 9 meses) e entre os grupos, utilizou-se o delineamento em medidas repetidas no tempo (ANOVA) seguido do

teste de comparação múltipla de Tukey ajustado para interação entre grupo x momento. E na comparação do perfil de adipocinas (variáveis assimétricas) foi empregado o mesmo delineamento em medidas repetidas através da distribuição Gama seguido do teste de comparação múltipla de Wald. As correlações entre as variáveis foram realizadas por análise de correlação bivariada de Pearson ( $r$ ). Em todos os testes foi adotado o nível de significância de 5% ou o P-valor correspondente. As análises foram realizadas utilizando-se o programa *Statistical Analyses System* (SAS) for windows, versão 9.4, pelo Escritório de Apoio à Pesquisa (EAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu que deu o atendimento metodológico e conduziu os procedimentos estatísticos.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Artigo Original

**Efeito da suplementação isolada de vitamina D sobre o perfil de adipocinas  
em mulheres na pós-menopausa: ensaio clínico randomizado.**

*Effect of isolated vitamin D supplementation on adipokines in postmenopausal women: a  
randomized clinical trial*

Schmitt EMB, Orsatti CL, Nahas EAP

## Resumo

*Objetivo:* Avaliar o efeito da suplementação isolada de vitamina D (VD) sobre o perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa.

*Métodos:* Neste ensaio clínico randomizado, 160 mulheres (idade 50-65 anos, amenorreia  $\geq 12$  meses) foram incluídas. Mulheres com histórico de doença cardiovascular, diabetes insulínica, doença renal crônica ou hepática, e usuárias de terapia hormonal e de VD foram excluídas. As participantes foram randomizadas para suplementação com colicalciferol 1.000UI/dia/oral (VD, n=80) ou placebo (PL, n=80). O tempo de intervenção foi de 9 meses, com avaliações nos momentos inicial e final. Para avaliação do perfil de adipocinas foram dosadas adiponectina, resistina, adiposina e PAI-1 (Inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1).

*Resultados:* Após 9 meses, valores médios de 25(OH)D aumentaram de  $15,0 \pm 7,5$  ng/ml para  $27,5 \pm 10,4$  ng/ml (+45,4%) no grupo VD, e diminuíram de  $16,9 \pm 6,7$  ng/ml para  $13,8 \pm 6,0$  ng/ml (-18,5%) no placebo ( $p < 0.001$ ). No grupo VD observou-se aumento nos valores de adiponectina (+18,6%) e redução de resistina (-32,4%) e PAI-1 (-39,3%) ( $p < 0.05$ ). E no grupo PL houve redução no PAI-1 (-25,5%) ( $p < 0.05$ ). Ao final, foi observada diferença significativa entre os grupos PL e VD nos valores de adiponectina e resistina ( $11,5 \pm 5,5$  ng/mL vs  $18,5 \pm 21,8$  ng/mL,  $p = 0.047$ , e  $16,5 \pm 3,5$  ng/mL vs  $11,7 \pm 3,3$  ng/mL,  $p = 0.027$ , respectivamente). Não foram observadas diferenças entre grupos e entre momentos nos valores de adiposina e PAI-1.

*Conclusões:* A suplementação diária e isolada de 1.000 UI de VD associou-se com aumento de adiponectina e redução da resistina, sugerindo efeito benéfico sobre o perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa com deficiência de VD.

**Palavras-chave:** Adipocinas; Ensaio clínico randomizado; Menopausa; Vitamina D.

## Abstract

*Objective:* To evaluate the effect of supplementation of vitamin D (VD) alone on adipokines profile in postmenopausal women.

*Methods:* In this randomized clinical trial, 160 women were randomized into two groups: VD, cholecalciferol supplementation 1,000IU/day/orally (n=80) or placebo (PL, n=80). Women with amenorrhea  $\geq 12$  months and age 50-65 years were included. Those with established cardiovascular disease, insulin dependent diabetes, renal failure, liver disorders, and previous use of menopausal hormone therapy and VD were excluded. The intervention time was 9 months, with assessments at the start and end of treatment. Serum levels of adiponectin, resistin, adipsin and PAI-1 (Inhibitor of plasminogen activator type 1) were determined.

*Results:* After 9 months, there was increase in the 25(OH)D concentrations from  $15.0 \pm 7.5$  ng/ml to  $27.5 \pm 10.4$  ng/ml (+45.4%) in VD group and decrease from  $16.9 \pm 6.7$  ng/ml to  $13.8 \pm 6.0$  ng/ml (-18.5%) in PL group ( $p < 0.001$ ). In the VD group, there was increase in adiponectin (+18.6%) and decrease in resistin (-32.4%) and PAI-1 (-39.3%) ( $p < 0.05$ ). And in the placebo group, there was decrease in PAI-1 (-25.5%) ( $p < 0.05$ ). At the end point, a difference was observed between the PL and VD groups in the mean values of adiponectin and resistin ( $11.5 \pm 5.5$  ng/mL vs  $18.5 \pm 21.8$  ng/mL,  $p = 0.047$ , and  $16.5 \pm 3.5$  ng /mL vs  $11.7 \pm 3.3$  ng/mL,  $p = 0.027$ , respectively). There were no significant intervention effects on serum levels of adipsin and PAI-1.

*Conclusion:* Daily isolated supplementation of 1,000 IU of VD was associated with an increase in adiponectin and decrease in resistin, suggesting a beneficial effect on the adipokine profile in postmenopausal women with VD deficiency,

**Keywords:** Adipokines; Randomized clinical trial; Menopause; Vitamin D.

## Introdução

A deficiência de vitamina D (VD) é bastante prevalente<sup>1,2</sup>, com especial importância para mulheres na pós-menopausa<sup>3,4</sup>. Reconhecidamente, a hipovitaminose D estende seus efeitos negativos para além da homeostase de cálcio e da saúde esquelética<sup>1,5-7</sup>. Uma grande variedade de células expressa o receptor nuclear de VD (VDR), como adipócitos, células do sistema imunológico, cólon, pâncreas e vasos, sintetizando a forma ativa da VD, a 1,25-diidroxivitamina D [1,25(OH)2D]. Esta produção local de VD é responsável pela modulação extraesquelética de vários outros processos fisiológicos, inclusive no tecido adiposo<sup>6,8</sup>. Evidências sugerem o envolvimento da hipovitaminose D em diversas doenças crônicas não transmissíveis como obesidade, hipertensão, diabetes e consequentemente a síndrome metabólica e a doença cardiovascular (DCV)<sup>3, 7, 9-12</sup>.

A menopausa é caracterizada pelo aumento do risco de DCV, ganho de peso e de adiposidade para muitas mulheres<sup>13</sup>, associado ao aumento da gordura abdominal e visceral<sup>14,15</sup>. A obesidade parece afetar a bioatividade da VD<sup>16</sup>. O excesso de peso corporal se correlaciona com níveis plasmáticos mais baixos 25-hidroxivitamina D [25(OH)D]<sup>17,18</sup>. No entanto, a contribuição precisa da hipovitaminose D na obesidade e saúde em geral não estão bem estabelecidas<sup>6</sup>. Concentrações plasmáticas elevadas de 25(OH)D foram associadas a menores quantidades de tecido adiposo visceral e tamanho reduzido de adipócitos<sup>19-21</sup>, sugerindo uma ligação entre os níveis de VD e o tecido adiposo<sup>22</sup>.

O tecido adiposo é considerado um órgão endócrino, sendo capaz de sintetizar e liberar citocinas, complementos e fatores de crescimento, proteínas da matriz extracelular e agente vasoativos, coletivamente conhecidos como adipocinas<sup>22-24</sup>. Algumas adipocinas secretadas pelo tecido adiposo podem associar-se à resistência à

insulina, síndrome metabólica e DCV<sup>13</sup> como a adiponectina, a resistina, a adiposina e o inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 (PAI-1). Por outro lado, os metabólitos de VD podem influenciar a produção de adipocinas e a resposta inflamatória no tecido adiposo<sup>25</sup>. Assim, a deficiência de VD comprometeria o funcionamento metabólico normal do tecido adiposo. E pela importância do tecido adiposo no balanço de energia, no metabolismo de lipídios e na inflamação, a concentração de VD pode ter impacto significativo na manutenção da saúde metabólica<sup>9,13,26</sup>.

Alguns estudos clínicos, em populações de ambos os sexos, avaliaram a suplementação da VD sobre as adipocinas em pacientes idosos<sup>27</sup> e com comorbidades como diabéticos<sup>28-30</sup> e obesos<sup>31,32</sup>. Estudo de revisão sistemática avaliando o papel da suplementação de VD sobre as adipocinas incluiu nove estudos com 484 participantes de ambos os sexos. Em sete estudos não foram encontradas alterações significativas nas concentrações de adiponectina após a suplementação de VD. Para os autores, mais estudos são necessários procurando se a suplementação de VD poderia ter um impacto nos valores de adipocinas, principalmente em pacientes com síndrome metabólica ou obesidade<sup>33</sup>.

Até o momento não foram apresentados estudos na população específica de mulheres na pós-menopausa, importante grupo de risco tanto para deficiência de VD<sup>3,34</sup> quanto para obesidade abdominal<sup>13,15</sup>. Poucas pesquisas e com número pequeno de participantes avaliaram o impacto da suplementação de VD sobre as adipocinas em mulheres na menacme<sup>35-37</sup> e apenas um estudo em mulheres na pós-menopausa<sup>38</sup>. Sendo assim, mais estudos de intervenção são necessários para esclarecer as interações entre a VD e as adipocinas e o impacto da suplementação da VD especialmente em mulheres na pós-menopausa. Baseado nesses dados, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da

suplementação isolada de vitamina D sobre o perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa.

## **Métodos**

### *Desenho do estudo e Seleção da Amostra*

Neste ensaio clínico randomizado foram incluídas mulheres com data da última menstruação há pelo menos 12 meses e idade  $\geq 45$  anos atendidas em Ambulatório de Climatério e Menopausa, entre 2016-2018. Foram excluídas aquelas com DCV manifesta atual ou prévia, diabetes insulínica, doença hepática ou renal crônica ou creatinina  $> 1,4$  mg/dl, síndrome de má absorção, doenças autoimunes, disfunção da paratireoide, obesidade grau II, câncer, e uso de terapia hormonal (TH) da menopausa ou de doses farmacológicas de VD ( $>100$  UI/dia). Foi solicitada, a todas as participantes, a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMB-UNESP. O estudo foi registrado e aprovado pelo Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC) sob o número de registro RBR-4MHS32. Este ensaio clínico foi realizado de acordo com o *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT) 2010<sup>39</sup>.

### *Dados Clínicos*

Foram coletados por meio de entrevista os seguintes dados clínicos: idade, idade da menopausa, tempo de menopausa, tabagismo atual, uso de TH ou de suplementação de VD, histórico de doenças crônicas (hipertensão, diabetes, doença cardiovascular), atividade física, pressão arterial, peso e altura. Foram definidas como tabagistas as pacientes com o hábito de fumar diariamente, não importando o número de cigarros

fumados. Foram consideradas ativas as mulheres que praticam exercícios físicos aeróbicos de intensidade moderada, pelo menos 30 minutos, cinco vezes na semana (150/min/sem) ou exercícios de resistência três dias por semana (CDC).

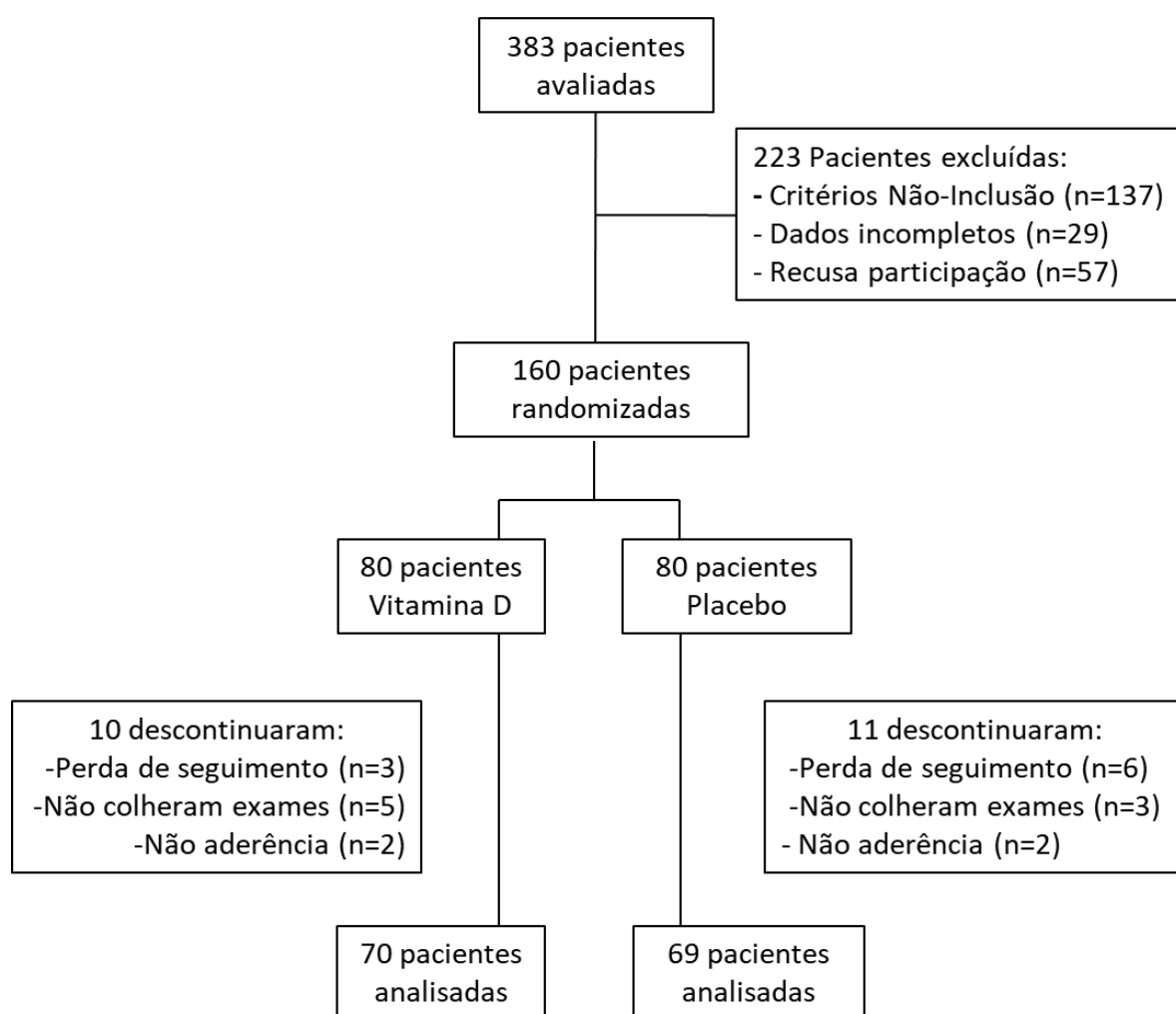
Foram obtidos os seguintes dados para avaliação antropométrica: peso, altura, índice de massa corpórea ( $IMC = \text{peso}/\text{altura}^2$ ) e circunferência da cintura. Foram empregados os critérios da *World Health Organization* de 2002 para classificação das pacientes, conforme o IMC: menor que 24,9 kg/m<sup>2</sup> normal, de 25 a 29,9 kg/m<sup>2</sup> sobrepeso, de 30 a 34,9 kg/m<sup>2</sup> obesidade grau I, de 35 a 39,9 kg/m<sup>2</sup> obesidade grau II e maior ou igual a 40 kg/m<sup>2</sup> obesidade grau III. Para a medida da cintura foi considerada a menor circunferência entre a última costela e a crista ilíaca anterossuperior, sendo a leitura feita no momento da expiração. Foi considerada aumentada acima de 88 cm<sup>40</sup>.

#### *Protocolo de suplementação*

Após a seleção inicial, todas as participantes receberam uma numeração (1-160) de acordo com a ordem de inclusão no estudo. Um processo de randomização computadorizado centralizado foi conduzido empregando software específico para o protocolo do estudo (*SAS for Windows, v. 9.2 using Procedure Plan*). As pacientes foram randomizadas, em sequência de numeração pré-estabelecida, em dois grupos: VD, com suplementação de vitamina D (n=80) e PL, usuárias de placebo (n=80) (**Figura 1**). Os investigadores e as pacientes não tinham conhecimento prévio dos referidos grupos e das diferentes numerações, apenas o farmacêutico responsável pela manipulação do placebo. Assim, 80 pacientes receberam diariamente 1.000 UI de VD (colecalfiferol), cinco gotas via oral (cada gota contém 200 UI, frasco de 20 ml), durante 9 meses. As outras 80

pacientes receberam placebo (composição de água e óleo mineral com essência de limão, em 20 ml), com mesma característica e sabor, cinco gotas, via oral.

Os frascos foram idênticos, embalados e numerados em código pelo farmacêutico para não identificação do grupo pelas participantes do estudo. Para o controle da suplementação, as pacientes foram orientadas a trazer os frascos a cada retorno para avaliar a medicação usada e determinar a aderência. O tempo de seguimento foi de 9 meses com avaliações clínicas em dois momentos, inicial e final.



**Figura 1-** Fluxograma das pacientes incluídas no estudo

### *Avaliação Laboratorial*

Amostras sanguíneas foram colhidas nos momentos basal e 9 meses, pela manhã, após 12 horas de jejum. Foi realizada avaliação do perfil glicídico pela mensuração de glicose e insulina, para cálculo da resistência insulínica, baseada na medida estática desses dois constituintes plasmáticos, além de dosagem da creatinina. A mensuração da glicose foi processada pelo analisador bioquímico automático (*Technicon®*, *RA-XT System*; *Global Medical Instrumentation, Minnessota, USA*) e quantificada pelo método enzimático colorimétrico, utilizando-se reagente comercial específico (*Sera-Pak®*, *Bayer Corporation, Diagnostics Division, NY, USA*). O valor considerado ótimo foi glicose < 100mg/dL. Para dosagem de creatinina foi empregado o método da química seca com equipamento de automatização, modelo Vitros 950® (*Johnson-Johnson, Rochester, NY, USA*). O valor da concentração sérica da creatinina foi considerado dentro do limite da normalidade de 0,7 a 1,2 mg/dL. A insulina foi quantificada pelo Sistema Immulite® (*DPC®, USA*), que emprega imunoensaio, em fase sólida, por quimioluminescência, para uso em analisador automático, designado para leitura quantitativa. A taxa de normalidade segundo o método empregado foi de 6,0 a 27,0 µIU/ml. Para a avaliação da resistência insulínica foi empregado o HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistant*), calculado pela fórmula:  $\text{Insulina } (\mu\text{UI/mL}) \times \text{glicose de jejum (mg/dl)} / 405$ . Valores que indicam RI foi definido como  $\text{HOMA-IR} > 2,71^{41}$ .

### *Análise de Vitamina D*

Os valores de 25(OH)D foram dosados no momento basal e aos 9 meses (para avaliar a biodisponibilidade e aderência ao tratamento). A 25(OH)D foi dosada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), pelo sistema HPLC Isocrático com injetor

manual Rheodyne®, modelo 7725i, com loop de 20 µL e detector de UV-VIS Waters, modelo M-484, com coluna RP 18 com 4.0 mm x 15 cm e partículas de 5 micros (Sigma-Aldrich® Co. LLC, St. Louis, MO, USA). O limite de detecção foi de 2,5 ng/ml e o coeficiente de variação < 7,0%. Foram considerados suficientes valores de 25(OH)D  $\geq$  30 ng/mL, insuficiência de 21 a 29 ng/mL e deficiência < 20 ng/mL<sup>42,43</sup>. Todas as dosagens foram realizadas em único momento para minimizar variações interensaios.

### *Análise das Adipocinas*

As adipocinas - adiponectina, resistina, adipsina e PAI-1 - foram quantificadas utilizando o instrumento de teste analítico Magpix®, que utiliza a tecnologia xMAP® (Luminex Corp., Austin, TX, USA) e o software xPONENT 4.2 (Luminex), seguindo os protocolos específicos dos Kits fornecidos por Millipore (Millipore Corp., Billerica, MA, USA). A tecnologia xMAP (*Multi-Analyte Profiling*) usa microesferas magnéticas codificadas por fluorescência revestidas com anticorpos de captura específicos para medir simultaneamente múltiplos analitos em uma amostra. Uma câmera captura as imagens, que são analisadas pelo software Milliplex Analyst (Millipore Corp., Billerica, MA, USA)<sup>44</sup>. As concentrações das adipocinas foram determinadas com base no ajuste de uma curva padrão para a intensidade média de fluorescência em ng/ml. Foram realizados dois controles de qualidade para cada ensaio (controle 1, nível baixo e controle 2, nível elevado). Todas as adipocinas encontravam-se dentro da curva de controle de qualidade. Todas as dosagens foram realizadas pelo mesmo pesquisador biomédico especializado (Orsatti CL) para minimizar variações intraensaios.

### *Análise Estatística*

O cálculo do tamanho amostral foi embasado no estudo de Breslavsky *et al* (2013) que demonstraram aumento nos valores de adiponectina pós-suplementação de VD (pré  $10.4 \pm 6.6$  ng/mL e pós  $13.1 \pm 7.2$  ng/mL)<sup>28</sup>. Considerando a diferença entre os valores, e para um poder de 90%, margem de erro de 5% e confiabilidade de 95%, estimou-se tamanho amostral de no mínimo 50 mulheres por grupo. Considerando perda de seguimento ao redor de 30%, o tamanho amostral adotado foi de 80 mulheres por grupo.

O método de análise estatística utilizado foi por *per protocol*. A partir dos dados foram construídas tabelas das variáveis clínicas e dos parâmetros avaliados. As variáveis foram analisadas quanto à normalidade de distribuição pelo Teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade pelo Teste de Levene. Para análise dos dados foi calculado média e desvio-padrão para variáveis quantitativas e, frequência e porcentagem para variáveis qualitativas. Foram analisadas variáveis clínicas (idade e tempo de menopausa, pressão arterial, peso, altura, IMC, exercício físico, tabagismo e doenças) e laboratoriais [25(OH)D, bioquímicos e perfil de adipocinas].

Para comparação entre os grupos em relação às características iniciais foi empregado o Teste *t-student* (variáveis quantitativas), distribuição Gama (variáveis quantitativas assimétricas) e o teste do Qui-quadrado (variáveis qualitativas). Na comparação dos valores de 25(OH)D entre os momentos (basal e 9 meses) e entre os grupos, utilizou-se o delineamento em medidas repetidas no tempo (ANOVA) seguido do teste de comparação múltipla de Tukey ajustado para interação entre grupo x momento. E na comparação do perfil de adipocinas (variáveis assimétricas) foi empregado o mesmo delineamento em medidas repetidas através da distribuição Gama seguido do teste de

comparação múltipla de Wald. As correlações entre as variáveis foram realizadas por análise de correlação bivariada de Pearson ( $r$ ). Em todos os testes foi adotado o nível de significância de 5% ou o P-valor correspondente. As análises foram realizadas utilizando-se o programa *Statistical Analyses System* (SAS) for windows, versão 9.4, pelo Escritório de Apoio à Pesquisa (EAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu que deu o atendimento metodológico e conduziu os procedimentos estatísticos.

## Resultados

A comparação das características clínicas e laboratoriais iniciais entre as mulheres submetidas à suplementação de VD ( $n=80$ ) ou ao placebo ( $n=80$ ) está demonstrada na Tabela 1. Observa-se que os grupos foram homogêneos para as todas as variáveis avaliadas ( $p>0,05$ ). A média de idade das pacientes incluídas foi de  $58,8 \pm 6,6$  anos para o grupo VD e de  $59,3 \pm 6,7$  anos para o grupo placebo, com tempo de menopausa  $12,0 \pm 8,8$  anos e  $12,3 \pm 8,4$  anos, respectivamente ( $p>0,05$ ). Em ambos os grupos, as pacientes foram classificadas, em média, como sobrepeso (IMC de 25 a  $29,9 \text{ kg/m}^2$ ) e com deposição central de gordura ( $CC > 88 \text{ cm}$ ). Nos dois grupos os valores médios de 25(OH)D indicavam insuficiência de VD ( $<20,0 \text{ ng/mL}$ ). Não foram encontradas diferenças significativas nos parâmetros bioquímicos avaliados (Tabela 1).

Na análise de correlação no momento basal, o valor de 25(OH)D foi negativamente associado com IMC ( $r=-0,18$ ) e circunferência da cintura ( $r=-0,21$ ) ( $p<0,05$ ). Em relação ao perfil de adipocinas, foi observada correlação positiva da resistina com a insulina ( $r= 0,16$ ) e com o HOMA ( $r= 0,16$ ). E houve correlação negativa da adiposina com a glicose ( $r= -0,18$ ) ( $p<0,05$ ) (Tabela 2).

A Tabela 3 demonstra a comparação das características antropométricas e dos valores de 25(OH)D entre grupos e entre momentos. Observou-se aumento significativo na concentração plasmática de 25(OH)D para o grupo suplementado com VD, com variação positiva de 45,4%. E para o grupo placebo houve diminuição dos valores de 25(OH)D, com variação negativa de 18,5%, com diferença significativa entre os grupos ( $p=0.049$ ) e entre o momento final ( $p<0.001$ ). No momento final, pela estratificação dos valores plasmáticos de 25(OH)D demonstrou-se que 62,5% das pacientes do grupo placebo apresentavam insuficiência de VD contra 26,3% daquelas do grupo suplementado (Tabela 3). A deficiência de VD foi encontrada apenas no grupo placebo em 21,3% (dado não demonstrado). Também foi observada redução significativa da insulina (-13,7%,  $p=0,008$ ) e HOMA-IR (-17,9%,  $p=0,007$ ), apenas no grupo suplementado com vitamina D, porém sem diferença entre os grupos ao final da intervenção. Por outro lado, no grupo placebo houve aumento da glicose (+6,2%,  $p=0,009$ ), com diferença significativa entre os grupos e entre o momento final ( $p<0,001$ ). Não foram observadas diferenças no IMC e CC entre grupos e entre momentos (Tabela 3).

Na comparação entre os grupos do perfil de adipocinas no momento inicial não foram observadas diferenças ( $p>0.05$ ). No grupo de mulheres suplementadas com VD, na comparação entre os momentos inicial e final, observou-se aumento significativo nos valores médios de adiponectina (+18.6%) e redução significativa de resistina (-32.4%) e PAI-1 (-39.3%) ( $p<0.05$ ). E no grupo placebo houve redução significativa no momento final de PAI-1 (-25.5%) ( $p<0.05$ ). Na comparação entre os grupos no momento final, foi observada diferença significativa entre os grupos placebo e VD nos valores médios de adiponectina e de resistina ( $11.5 \pm 5.5$  ng/mL vs  $18.5 \pm 21.8$  ng/mL,  $p=0.047$ , e  $16.5 \pm 3.5$

ng/mL vs  $11.7 \pm 3.3$  ng/mL,  $p=0.027$ , respectivamente). Não foram observadas diferenças entre grupos e entre momentos nos valores de adiposina (Tabela 4).

A taxa de adesão foi de 92% para o estudo, sem diferenças entre os grupos de tratamento (VD ou placebo). Das 160 mulheres analisadas, 21 descontinuaram o estudo antes de 10 meses (Figura 1). Os eventos adversos notificados foram leves e igualmente distribuídos entre os grupos de suplementação e do placebo. No grupo VD, duas participantes, e no grupo placebo, três participantes, descontinuaram o estudo por queixas gastrointestinais e dor epigástrica. Nenhum outro efeito adverso foi relatado.

**Tabela 1.** Comparação das características clínicas e laboratoriais iniciais entre as mulheres na pós-menopausa submetidas à suplementação de vitamina D (n=80) ou placebo (n=80).

|                               | Vitamina D   | Placebo      | Valor de <i>P</i> * |
|-------------------------------|--------------|--------------|---------------------|
| <b>Parâmetros Clínicos</b>    |              |              |                     |
| Idade (anos)                  | 58.8 (6.6)   | 59.3 (6.7)   | 0.654 <sup>a</sup>  |
| Idade menopausa (anos)        | 46.8 (6.2)   | 46.9 (5.6)   | 0.882 <sup>a</sup>  |
| Tempo de Menopausa (anos)     | 12.0 (8.8)   | 12.3 (8.4)   | 0.804 <sup>b</sup>  |
| PAS (mmHg)                    | 134.3 (19.8) | 136.5 (21.0) | 0.499 <sup>a</sup>  |
| PAD (mmHg)                    | 81.5 (12.6)  | 81.0 (10.8)  | 0.794 <sup>a</sup>  |
| IMC (kg/m <sup>2</sup> )      | 29.4 (5.4)   | 29.9 (4.7)   | 0.505 <sup>a</sup>  |
| CC (cm)                       | 94.0 (12.1)  | 94.1 (10.3)  | 0.994 <sup>a</sup>  |
| Tabagismo n (%)               | 21 (26.2)    | 19 (23.8)    | 0.457 <sup>c</sup>  |
| Exercício físico n (%)        | 25 (31.2)    | 21 (26.2)    | 0.428 <sup>c</sup>  |
| Hipertensão n (%)             | 44 (55.0)    | 49 (61.2)    | 0.423 <sup>c</sup>  |
| Diabetes n (%)                | 12 (15.0)    | 16 (20.0)    | 0.405 <sup>c</sup>  |
| <b>Parâmetros Bioquímicos</b> |              |              |                     |
| 25(OH)D (ng/mL)               | 15.0 (7.5)   | 16.9 (6.7)   | 0.086 <sup>a</sup>  |
| Creatinina (mg/dL)            | 0.7 (0.2)    | 0.7 (0.1)    | 0.955 <sup>a</sup>  |
| Glicose (mg/dL)               | 92.5 (10.6)  | 93.5 (10.9)  | 0.564 <sup>a</sup>  |
| Insulina (μUI/mL)             | 11.7 (8.1)   | 10.1 (5.8)   | 0.085 <sup>b</sup>  |
| HOMA-IR                       | 2.7 (2.1)    | 2.4 (1.5)    | 0.125 <sup>b</sup>  |

Valores médios (± desvio padrão) ou número (%).

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; IMC, índice de massa corporal; CC, circunferência da cintura; 25(OH)D, 25-hidroxivitamina D.

\*Diferença significativa se  $P < 0,05$  (<sup>a</sup>Teste *t-Student*, <sup>b</sup>Teste de Distribuição Gama ou <sup>c</sup>Teste do Qui-Quadrado).

**Tabela 2-** Correlação entre os valores plasmáticos de 25(OH)D e parâmetros clínicos e o perfil de adipocinas em 160 mulheres na pós-menopausa no momento inicial.

| Variáveis | 25(OH) D | Adiponectina | <i>Resistina</i> | <i>Adipsina</i> | <i>PAI-1</i> |
|-----------|----------|--------------|------------------|-----------------|--------------|
| 25(OH)D   | 1.0      | 0.048        | -0.004           | -0.003          | 0.056        |
| Idade     | -0.038   | 0.025        | 0.002            | -0.098          | -0.119       |
| TM        | -0.005   | 0.009        | -0.081           | -0.075          | -0.087       |
| IMC       | -0.178*  | -0.026       | -0.016           | -0.050          | -0.051       |
| CC        | -0.213*  | -0.063       | 0.073            | -0.068          | 0.041        |
| Glicose   | 0.043    | -0.037       | 0.099            | -0.182*         | 0.132        |
| Insulina  | 0.058    | -0.055       | 0.162*           | -0.069          | 0.084        |
| HOMA      | 0.053    | 0.060        | 0.165*           | -0.007          | 0.107        |

25(OH)D, 25-hidroxivitamina D; TM, tempo de menopausa; IMC, índice de massa corpórea; CC, circunferência da cintura; PAI-1, Inibidor do ativador do plasminogênio Tipo 1. Coeficiente de Correlação de Pearson (r). \* p < 0.05.

**Tabela 3.** Comparação das concentrações de 25(OH)D, das medidas antropométricas e do perfil glicídico entre as mulheres na pós-menopausa submetidas à suplementação de vitamina D (n=80) ou ao placebo (n=80) nos momentos basal e após 10 meses de intervenção.

| Indicador/Grupo               | Basal                    | 10 meses                 | Variação (%)  | *Valor de p      |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------|------------------|
| <i>25(OH)D (ng/mL)</i>        |                          |                          |               |                  |
| Placebo                       | 16.9 (6.7) <sup>a</sup>  | 13.8 (5.9) <sup>a</sup>  | -3.2 (-18.5%) | <b>0.049</b>     |
| Vitamina D                    | 15.0 (7.5) <sup>a</sup>  | 27.5 (10.4) <sup>b</sup> | 12.5 (45.4%)  | <b>&lt;0.001</b> |
| <i>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</i> |                          |                          |               |                  |
| Placebo                       | 29.9 (4.7) <sup>a</sup>  | 30.2 (4.6) <sup>a</sup>  | 0.21 (0.7%)   | 0.993            |
| Vitamina D                    | 29.2 (5.3) <sup>a</sup>  | 29.6 (5.6) <sup>a</sup>  | 0.36 (1.2%)   | 0.968            |
| <i>CC (cm)</i>                |                          |                          |               |                  |
| Placebo                       | 93.9 (10.5) <sup>a</sup> | 94.5 (10.7) <sup>a</sup> | 0.57 (0.6%)   | 0.989            |
| Vitamina D                    | 93.4 (12.3) <sup>a</sup> | 94.5 (13.4) <sup>a</sup> | 1.05 (1.1%)   | 0.942            |
| <i>Glicose (mg/dL)</i>        |                          |                          |               |                  |
| Placebo                       | 93.5 (10.9) <sup>a</sup> | 99.6 (15.6) <sup>a</sup> | 6.1 (6.2%)    | <b>0.009</b>     |
| Vitamina D                    | 92.5 (10.6) <sup>a</sup> | 92.0 (8.5) <sup>b</sup>  | 0.5 (0.5%)    | 0.994            |
| <i>Insulina (μUI/mL)</i>      |                          |                          |               |                  |
| Placebo                       | 10.1 (5.8) <sup>a</sup>  | 10.6 (6.7) <sup>a</sup>  | 0.6 (4.7%)    | 0.344            |
| Vitamina D                    | 11.7 (8.1) <sup>a</sup>  | 10.1 (7.6) <sup>a</sup>  | -1.6 (-13.7%) | <b>0.008</b>     |
| <i>HOMA-IR</i>                |                          |                          |               |                  |
| Placebo                       | 2.4 (1.5) <sup>a</sup>   | 2.7 (1.5) <sup>a</sup>   | 0.3 (11.1%)   | 0.054            |

|            |                        |                        |               |              |
|------------|------------------------|------------------------|---------------|--------------|
| Vitamina D | 2.8 (2.1) <sup>a</sup> | 2.3 (1.6) <sup>a</sup> | -0.5 (-17.9%) | <b>0.007</b> |
|------------|------------------------|------------------------|---------------|--------------|

---

Valores médios (desvio padrão).

IMC, índice de massa corporal; CC, circunferência da cintura.

Variação Absoluta: valores finais subtraídos dos valores basais.

\*p-valor mostra a diferença significativa entre momentos ( $p < 0.05$ ) e (a,b) mostram diferenças significante entre grupos e (a,a) sem diferença ( $p > 0,05$ ) (ANOVA no desenho de medidas repetidas seguido pelo teste de Tukey ajustado)

**Tabela 4.** Comparação do perfil de adipocinas entre as mulheres na pós-menopausa submetidas à suplementação de vitamina D (n=80) ou associada ao Placebo (n=80) nos momentos basal e após 10 meses de intervenção.

| Indicador/Grupo             | Basal        | 10 meses     | Variação (%)  | *Valor de p      |
|-----------------------------|--------------|--------------|---------------|------------------|
| <i>Adiponectina (ng/mL)</i> |              |              |               |                  |
| Placebo                     | 13.2 (7.9)a  | 11.5 (5.5)a  | -1.7 (-12.8%) | 0.142            |
| Vitamina D                  | 15.6 (13.3)a | 18.5 (21.8)b | 2.9 (18.6%)   | <b>0.002</b>     |
| <i>Resistina (ng/ml)</i>    |              |              |               |                  |
| Placebo                     | 17.6 (2.7)a  | 16.5 (3.5)a  | -1.1 (-6.2%)  | 0.520            |
| Vitamina D                  | 17.3 (2.6)a  | 11.7 (3.3)b  | -5,6 (-32.4%) | <b>&lt;.0001</b> |
| <i>Adipsina (ng/ml)</i>     |              |              |               |                  |
| Placebo                     | 23.4 (18.1)a | 25.1 (11.6)a | 1.7 (7.3%)    | 0.087            |
| Vitamina D                  | 18.3 (5.8)a  | 19.2 (14.8)a | 0.9 (4.9%)    | 0.138            |
| <i>PAI-1 (ng/ml)</i>        |              |              |               |                  |
| Placebo                     | 9.0 (3.0)a   | 6.7 (3.1)a   | -2.3 (-25.5%) | <b>&lt;.0001</b> |
| Vitamina D                  | 8.9 (2.8)a   | 5.4 (2.8)a   | -3.5 (-39.3%) | <b>&lt;.0001</b> |

Valores médios (desvio padrão).

PAI-1, Inibidor do ativador do plasminogênio Tipo 1.

Variação Absoluta: valores finais subtraídos dos valores basais.

\*p-valor mostra a diferença significativa entre momentos ( $p < 0.05$ ) e (a,b) mostram diferenças significante entre grupos e (a,a) sem diferença ( $p > 0,05$ ) (Medidas repetidas por meio da distribuição Gama seguido do teste de comparação múltipla de Wald).

## Discussão

No presente estudo, a suplementação isolada de VD por 9 meses resultou no aumento dos valores séricos de adiponectina e redução dos valores de resistina quando comparado ao placebo. Não foram observadas diferenças entre os grupos em relação à adiposina e ao PAI-1. As adipocinas liberadas pelo tecido adiposo apresentam diferentes funções, como regulação de apetite e balanço energético, sensibilidade à insulina, angiogênese, inflamação e metabolismo de lipídeos<sup>22,24,45</sup>. Entre as adipocinas temos a adiponectina que influencia a sensibilização insulínica e tem propriedades anti-inflamatórias<sup>46-48</sup>. E a resistina que interfere no desenvolvimento à resistência insulínica e tem atividade pró-inflamatória<sup>49</sup>. Assim, os resultados obtidos neste estudo sugerem que em mulheres na pós-menopausa com deficiência de VD, a suplementação de VD pode ter efeito benéfico sobre o perfil de adipocinas.

A descoberta que a suplementação de VD aumenta as concentrações de adiponectina é apoiada por várias linhas de evidência. A adiponectina regula a gordura hepática pelo seu efeito na sensibilização a insulina, além de possuir ação anti-inflamatória reduzindo os níveis séricos de interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )<sup>47, 50</sup>. Valores reduzidos de adiponectina foram associados com a presença de resistência à insulina, diabetes, dislipidemia e obesidade<sup>33,46,51,52</sup>. Um dos mecanismos propostos para ação da adiponectina na melhora da resistência à insulina é a diminuição de ácidos graxos livres (AGL) por meio do aumento da oxidação no músculo esquelético<sup>51,48</sup>. Por outro lado, o tecido adiposo e os músculos são os principais locais de armazenamento da VD<sup>50</sup>. O tecido adiposo funciona como um sistema de armazenamento de VD que previne a síntese descontrolada de 25(OH)D no fígado. Aproximadamente 20% da dose de VD administrada por via oral é armazenada em tecido

adiposo e o resto é consumido ou metabolizado<sup>53</sup>. Os mecanismos que controlam a deposição e a liberação de VD a partir do tecido adiposo ainda são desconhecidos<sup>17,54,55</sup>.

Demonstrando interação entre VD e adiponectina, estudos observacionais encontraram que valores baixos de 25(OH)D e de adiponectina estão ambos associados à obesidade<sup>23,56-58</sup>. Recente estudo, avaliando a relação entre adipocinas, VD e adiposidade visceral em 318 mulheres na pós-menopausa observaram associação positiva entre valores séricos 25(OH)D com adiponectina. A análise de regressão linear múltipla indicou que VD e HOMA são fatores independentes que afetam significativamente os níveis de adiponectina<sup>23</sup>. A VD pode afetar a adiponectina através do sistema renina-angiotensina<sup>37</sup>. A atividade do sistema renina-angiotensina do tecido adiposo aumenta com a adiposidade, e pode representar mecanismo potencial para redução da adiponectina relativa observada na obesidade. A relação positiva entre as concentrações de 25(OH)D e adiponectina circulantes pode ser mediada pela regulação negativa do sistema renina-angiotensina do tecido adiposo pela VD, com diminuição na produção de angiotensina e aumento na produção de adiponectina<sup>56</sup>.

Entre as mulheres na pós menopausa avaliadas nesta pesquisa foi observada elevação dos valores de adiponectina e redução da resistina apenas no grupo suplementado com VD. Em concordância aos nossos resultados, alguns estudos avaliaram o efeito da suplementação de VD sobre a adiponectina e resistina em mulheres na menopausa<sup>36-37</sup>. Seyyed et al. avaliaram 44 mulheres com síndrome dos ovários policísticos (idade entre 20-38 anos) e com deficiência de VD, randomizadas para 50.000 UI de VD oral/semana ou placebo. Após oito semanas de intervenção, no grupo VD houve diminuição significativa da glicose, melhora da resistência da insulina pelo HOMA e aumento significativo da adiponectina e dos valores séricos de VD em comparação ao

grupo placebo<sup>37</sup>. Greco et al. acompanharam 31 mulheres na menacme (média de 33.7±8.0 anos), não obesas, com deficiência de VD e que foram suplementadas com VD (1.500-2000UI/dia) por 3 meses. Os autores observaram melhora significativa do perfil de adipocinas séricas, com aumento na adiponectina (+50,6%) e diminuição na resistina (-24,3%)<sup>36</sup>. Por outro lado, Duggan et al. avaliaram 208 mulheres na pós menopausa, com sobrepeso e hipovitaminose D que foram randomizadas a intervenção de perda de peso com ou sem suplementação de VD (2.000 UI/dia). Foram avaliadas adipocinas e biomarcadores inflamatórios. Aos 12 meses não houve efeitos da intervenção sobre adiponectina ou leptina. A suplementação de VD em combinação com perda de peso de pelo menos 5% do peso inicial foi associada a reduções significativas apenas nos níveis de IL6<sup>38</sup>.

Em nosso estudo foi observada correlação positiva entre os valores de resistina com a insulina ( $r=0.16$ ) e com o HOMA ( $r=0.16$ ). A resistina é secretada pelos adipócitos e regula o metabolismo da glicose. Altos níveis de resistina induzem a resistência à insulina e exercem efeitos pró-inflamatórios<sup>59</sup>. É considerada marcador de inflamação, uma vez que pode induzir a expressão do TNF- $\alpha$ , da IL-6 e IL-12<sup>59-61</sup>. Recente estudo observacional investigou a associação entre níveis séricos de VD e de resistina em 161 mulheres na pós-menopausa, idade entre 50-70 anos. Houve uma correlação negativa significativa entre a resistina sérica e a VD em mulheres na pós-menopausa com osteoporose. A VD sérica foi considerada um preditor independente dos níveis séricos de resistina<sup>62</sup>.

A suplementação de VD repercutindo com o aumento da adiponectina e redução da resistina em nossa população, possivelmente influenciou o efeito positivo sobre a resistência à insulina, que foi observado pela redução significativa dos valores séricos de

insulina (-13,7%) e do HOMA-IR (-17,9%). Não foram observadas alterações significativas nas medidas antropométricas entre grupos, com as pacientes classificadas, em média, como sobrepeso e com deposição central de gordura. Resultados esses corroborados por estudos prévios, de corte transversal<sup>57,63</sup>. Em estudo avaliando 925 mulheres na pós-menopausa, com diagnóstico de diabetes tipo II, participantes do *Nurses' Health Study*, os autores observaram que valores elevados de adiponectina foram associados com melhor controle glicêmico, perfil lipídico mais favorável e redução do processo inflamatório<sup>63</sup>. Em 2021, uma revisão sistemática e metanálise avaliou o efeito da suplementação de VD na concentração sérica de adiponectina, sendo incluídos nove estudos, com diferentes perfis de pacientes, de ambos os sexos, e com tipos e doses de VD variáveis. Os resultados indicaram que a VD pode ser considerada um secretagogo (que promove ou estimula a secreção) de adiponectina entre os pacientes com diabetes e esse efeito pode ser potencializado se a ingestão de VD for diária<sup>64</sup>.

No presente estudo, apesar de uma redução significativa em ambos os grupos nos valores séricos de PAI-1, não houve diferenças entre momentos e entre grupos em relação a suplementação de VD ou placebo. O PAI-1 é um importante regulador do sistema fibrinolítico, embora as fontes mais importantes sejam os hepatócitos e as células endoteliais, os adipócitos contribuem para os níveis circulantes de PAI-1, podendo ser o elo causal entre obesidade abdominal e DCV<sup>65,66</sup>. Níveis elevados de PAI-1 induzem resistência à insulina e anormalidades metabólicas durante processos pró-inflamatórios envolvendo várias citocinas e quimiocinas<sup>67</sup>. Estudos relataram correlação de PAI-1 com fatores de risco da DCV como obesidade, diabetes e síndrome metabólica<sup>67-69</sup>.

Pesquisa experimental observou que 1,25(OH)2D3 faz *downregulation* no PAI-1 ao bloquear a ativação de NF-κB. A inibição da produção de PAI-1 pode contribuir para os

efeitos cardioprotetores da VD<sup>70</sup>. Associação entre valores reduzidos de 25(OH)D e aumento de PAI-1 foi demonstrada em coorte prospectiva norte-americana do *Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*<sup>71</sup>. Estudo clínico incluindo 35 adultos com insuficiência em VD que receberam suplementação de 2000 UI/dia por 12 semanas não encontrou alterações significativas em relação ao PAI-1<sup>72</sup>. Por outro lado, ensaio clínico randomizado, avaliando 50 mulheres, média de idade de 41 anos, com deficiência de VD, demonstrou que, após 8 semanas de dose única de 100.000UI de VD ou placebo, níveis de PAI-1 reduziram significativamente apenas no grupo suplementado<sup>35</sup>.

Nesta pesquisa não foram observadas diferenças entre os grupos em relação à adiposina e a suplementação de VD. Contudo, foi demonstrada correlação negativa entre valores séricos de adiposina e a glicose ( $r=-0.18$ ). A adiposina é produzida por adipócitos diferenciados predominantemente na gordura visceral<sup>73</sup>, e está envolvida na manutenção da homeostase do tecido adiposo e no aumento da secreção de insulina em resposta à glicose<sup>74</sup>. Estudo *in vitro* observou que adiposina teria um papel benéfico na manutenção da função das células  $\beta$  e identificou C3a, um peptídeo produzido pela adiposina, como potente secretor de insulina. Esses achados indicam que a via da adiposina/C3a conecta a função do adipócito à fisiologia da célula  $\beta$ <sup>75</sup>. Além disso, a adiposina pode ser importante para melhorar a hiperglicemia, preservando e melhorando a sobrevivência das células  $\beta$ <sup>74</sup>.

Em concordância com nossos resultados, recente ensaio clínico examinou o efeito da suplementação de VD sobre as concentrações de adipocinas em 65 adultos, sobrepeso ou obesos, com deficiência de VD, randomizados para VD (100.000 UI dose única, seguido por 4.000 UI/dia) ou placebo, por 16 semanas. Em análise não ajustada não houve diferenças entre os grupos nos valores de adiponectina, resistina ou adiposina. Após ajustes para idade, sexo e porcentagem de gordura corporal, houve aumento na

adiponectina (OR 13.7, IC 95% 2.0-255,  $p = 0,02$ ) no grupo da VD em comparação ao placebo. Os autores concluem que são necessários mais estudos para esclarecer as implicações clínicas e as interações moleculares entre a VD e as adipocinas<sup>32</sup>.

Os pontos fortes do presente estudo incluem seu desenho prospectivo, duplo-cego e placebo-controlado e um conjunto de adipocinas que foram avaliadas em mulheres na pós-menopausa e sem comorbidades. Consequentemente, nossos resultados podem ser mais relevantes para a população de mulheres na pós-menopausa residentes na comunidade do que os estudos focados em pessoas com doenças específicas. A duração da intervenção e a dose administrada foram suficientes para provocar aumentos mensuráveis nos valores séricos de 25(OH)D. Este estudo também apresentou altas taxas de adesão (92% das participantes), sem diferenças entre os grupos de intervenção (VD ou placebo). E entre as limitações deste estudo, relaciona-se a representatividade da amostra. Por tratar de um grupo de mulheres na pós-menopausa atendidas em serviço público de saúde, entende-se que estão em contato periódico com profissionais médicos e em cuidado permanente com a saúde em geral. E por tratar-se de uma população de estudo relativamente homogênea, nossos resultados não podem ser generalizados para outros grupos raciais/étnicos.

Em conclusão, a suplementação diária e isolada de 1.000 UI de vitamina D<sub>3</sub> por 9 meses associou-se com aumento nos valores de adiponectina e redução da resistina quando comparada ao placebo em mulheres na pós-menopausa com deficiência de VD. Esses resultados sugerem que o tratamento da deficiência de VD pode ser benéfico para regular as concentrações circulantes de adipocinas. Contudo, mais estudos são necessários para esclarecer as interações moleculares entre a VD e as adipocinas e as implicações clínicas dessas interações no contexto da menopausa.

## Referências

1. Roth DE, Abrams SA, Aloia J, Bergeron G, Bourassa MW, Brown KH, Calvo MS, Cashman KD, Combs G, De-Regil LM, Jefferds ME, Jones KS, Kapner H, Martineau AR, Neufeld LM, Schleicher RL, Thacher TD, Whiting SJ. Global prevalence and disease burden of vitamin D deficiency: a roadmap for action in low- and middle-income countries. *Ann N Y Acad Sci*. 2018 Oct;1430(1):44-79.
2. Amrein, Karin et al. "Vitamin D deficiency 2.0: an update on the current status worldwide." *European Journal of Clinical Nutrition* (2020): 1 - 16.
3. Schmitt EB, Nahas-Neto J, Bueloni-Dias F, Poloni PF, Orsatti CL, Petri Nahas EA. Vitamin D deficiency is associated with metabolic syndrome in postmenopausal women. *Maturitas*. 2018; 107:97-102.
4. M. T. López-Baena, G. R. Pérez-Roncero, F. R. Pérez-López, E. Mezones-Holguín & P. Chedraui (2020) Vitamin D, menopause, and aging: *quo vadis?* *Climacteric*, 23:2, 123-129
5. Krivošíková Z, Gajdoš M, Šebeková K. Vitamin D Levels Decline with Rising Number of Cardiometabolic Risk Factors in Healthy Adults: Association with Adipokines, Inflammation, Oxidative Stress and Advanced Glycation Markers. *PLoS ONE* 2015;10(6): e0131753.
6. Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, Bikle D, White JH, Dawson-Hughes B, Lips P, Munns CF, Lazaretti-Castro M, Giustina A, Bilezikian J. Skeletal and extraskeletal actions of vitamin D: current evidence and outstanding questions. *Endocr Rev*. 2019; 40(4):1109-51.
7. Surdu AM, Pînzariu O, Ciobanu DM, Negru AG, Căinap SS, Lazea C, Iacob D, Săraci G, Tirinescu D, Borda IM, Cismaru G. Vitamin D and Its Role in the Lipid Metabolism and the Development of Atherosclerosis. *Biomed*. 2021;9(2):172.
8. Mutt SJ, Hyppönen E, Saarnio J, Järvelin MR, Herzig KH. Vitamin D and adipose tissue-more than storage. *Front Physiol*. 2014; 5:228
9. Strange RC, Shipman KE, Ramachandran S. Metabolic syndrome: A review of the role of vitamin D in mediating susceptibility and outcome. *World J Diabetes* 2015; 6(7): 896-911.
10. Park JE, Pichiah PBT, Cha Y. Vitamin D and Metabolic Diseases: Growing Roles of Vitamin D. *J Obes Metab Syndr* 2018;27(4):223-232.
11. Bueloni-Dias FN, Orsatti CL, Cangussu LM, Poloni PF, Spadoto-Dias D, Nahas-Neto J, Nahas EAP. Isolated vitamin D supplementation improves the immune-inflammatory biomarkers in younger postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Menopause*. 2018 Aug;25(8):897-903.
12. Ferreira PP, Cangussu L, Bueloni-Dias FN, Orsatti CL, Schmitt EB, Nahas-Neto J, Nahas EAP. Vitamin D supplementation improves the metabolic syndrome risk profile in postmenopausal women. *Climacteric*. 2020;23(1):24-31.
13. Everson-Rose SA, Barinas-Mitchell EJM, El Khoudary SR, Huang HH, Wang Q, Janssen I, Thurston RC, Jackson EA, Lewis ME, Karvonen-Gutierrez C, Mancuso P, Derby CA. Adipokines

- and Subclinical Cardiovascular Disease in Post-Menopausal Women: Study of Women's Health Across the Nation. *Am Heart Assoc.* 2021;10(7): e019173.
14. Ambikairajah A, Walsh E, Tabatabaei-Jafari H, Cherbuin N. Fat mass changes during menopause: a meta-analysis. *Am J Obst Gynecol.* 2019;221(5):393-409.
  15. Greendale GA, Han W, Finkelstein JS, Burnett-Bowie SM, Huang M, Martin D, Karlamangla AS. Changes in Regional Fat Distribution and Anthropometric Measures Across the Menopause Transition. *J Clin Endocrinol Metab* 2021;106(9):2520-2534
  16. Bassuk SS, Chandler PD, Buring JE, Manson JE; VITAL Research Group. The VITamin D and Omega-3 Trial (VITAL): Do Results Differ by Sex or Race/Ethnicity? *Am J Lifestyle Med.* 2020;15(4):372-391.
  17. Walsh JS, Evans AL, Bowles S, Naylor KE, Jones KS, Schoenmakers I, Jacques RM, Eastell R. Free 25-hydroxyvitamin D is low in obesity, but there are no adverse associations with bone health. *Am J Clin Nutr.* 2016; 103:1465-1471.
  18. Bonnet L, Hachemi MA, Karkeni E, Couturier C, Astier J, Defoort C, Svilar L, Martin JC, Tourniaire F, Landrier JF. Diet induced obesity modifies vitamin D metabolism and adipose tissue storage in mice. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2019; 185:39-46.
  19. Caron-Jobin M, Morisset AS, Tremblay A, Huot C, Légaré D, Tchernof A. Elevated serum 25(OH)D concentrations, vitamin D, and calcium intakes are associated with reduced adipocyte size in women. *Obesity (Silver Spring)* 2011; 19: 1335-1341.
  20. Earthman CP, Beckman LM, Masodkar K, Sibley SD. The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications. *Int J Obes (Lond)* 2012; 36: 387-396.
  21. Stokić E, Kupusinac A, Tomic-Naglic D, Smiljenic D, Kovacev-Zavisc B, Srdic-Galic B, Soskic S, Isenovic ER. Vitamin D and Dysfunctional Adipose Tissue in Obesity. *Angiol* 2015a; 66: 613-618.
  22. Cimini FA, Barchetta I, Carotti S, Bertocchini L, Baroni MG, Vespasiani-Gentilucci U, Cavallo M, Morini S. Relationship between adipose tissue dysfunction, vitamin D deficiency and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2017; 23(19): 3407-3417.
  23. Lwow F, Bohdanowicz-Pawlak A. Vitamin D and selected cytokine concentrations in postmenopausal women in relation to metabolic disorders and physical activity. *Exp Gerontol.* 2020; 141:111107.
  24. Recinella L, Orlando G, Ferrante C, Chiavaroli A, Brunetti L, Leone S. Adipokines: New Potential Therapeutic Target for Obesity and Metabolic, Rheumatic, and Cardiovascular Diseases. *Front Physiol.* 2020; 11:578966.
  25. Ding C, Gao D, Wilding J, Trayhurn P, Bing C. Vitamin D signaling in adipose tissue. *Br J Nutr* 2012;108(11):1915-23

26. Cheng S, Massaro JM, Fox CS, Larson MG, Keyes MJ, McCabe EL, Robins SJ, O'Donnell CJ, Hoffmann U, Jacques PF, Booth SL, Vasan RS, Wolf M, Wang TJ. Adiposity, cardiometabolic risk, and vitamin D status: the Framingham Heart Study. *Diabetes* 2010; 59: 242-248
27. Waterhouse M, Tran B, Ebeling P, English D, Lucas R, Venn A, Webb P, Whiteman D, Neal R. Effect of vitamin D supplementation on selected inflammatory biomarkers in older adults: a secondary analysis of data from a randomised, placebo-controlled trial. *Br J Nutrition* 2015; 114:693–699.
28. Breslavsky A, Frand J, Matas Z, Boaz M, Barnea Z, Shargorodsky M. Effect of high doses of vitamin D on arterial properties, adiponectin, leptin and glucose homeostasis in type 2 diabetic patients. *Clin Nutr* 2013;32(6):970-5
29. Tabesh M, Azadbakht L, Faghihimani E, Tabesh M, Esmailzadeh A. Calcium-Vitamin D cosupplementation influences circulating inflammatory biomarkers and adipocytokines in vitamin D-insufficient diabetics: A randomized controlled clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(12): E2485–E2493
30. Hussain M, Iqbal J, Malik SA, Waheed A, Shabnum S, Akhtar L, Saeed H. Effect of vitamin D supplementation on various parameters in non-alcoholic fatty liver disease patients. *Pak J Pharm Sci.* 2019;32(3 Special):1343-1348.
31. Mai S, Walker GE, Vietti R, Cattaldo S, Mele C, Priano L, Mauro A, Bona G, Aimaretti G, Scacchi M, Marzullo P. Acute Vitamin D<sub>3</sub> Supplementation in Severe Obesity: Evaluation of Multimeric Adiponectin. *Nutrients.* 2017;9(5):459.
32. Mousa, Aya, et al. "Vitamin D supplementation increases adipokine concentrations in overweight or obese adults." *European Journal of Nutrition* 59.1 (2020): 195-204.
33. Dinca M, Serban MC, Sahebkar A, Mikhailidis DP, Toth PP, Martin SS, Blaha MJ, Blüher M, Gurban C, Penson P, Michos ED, Hernandez AV, Jones SR, Banach M; for Lipid Blood Pressure Meta-Analysis Collaboration LBPMC Group. Does vitamin D supplementation alter plasma adipokines concentrations? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Group.Pharmacol Res.* 2016;107:360-371.
34. Pérez-López FR, Chedraui P, Pilz S. Vitamin D supplementation after the menopause. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2020; 11:2042018820931291
35. Witham MD, Adams F, Kabir G, Kennedy G, Belch J, Khan F. Effect of short-term vitamin D supplementation on markers of vascular health in South Asian women living in the UK: A randomised controlled trial. *Atherosclerosis* 2013; 230:293e299.
36. Greco D, Kocyigit D, Adorni MP, Marchi C, Ronda N, Bernini F, Gurses KM, Canpinar H, Guc D, Oguz SH, Gurlek A, Strazzella A, Simonelli S, Tokgozoglu L, Zimetti F. Vitamin D replacement ameliorates serum lipoprotein functions, adipokine profile and subclinical atherosclerosis in pre-menopausal women. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2018;28(8):822-829.
37. Seyyed Abootorabi M, Ayremlou P, Behrooz-Lak T, Nourisaeidlou S. The effect of vitamin D supplementation on insulin resistance, visceral fat and adiponectin in vitamin D deficient women with polycystic ovary syndrome: a randomized placebo-controlled trial. *Gynecol Endocrinol.* 2018;34(6):489-494.

38. Duggan C, de Dieu Tapsoba J, Mason C, et al. Effect of Vitamin D3 Supplementation in Combination with Weight Loss on Inflammatory Biomarkers in Postmenopausal Women: A Randomized Controlled Trial. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2015;8(7):628-635.
39. Schulz KF, Altman DG, Moher D, Group C. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Ann Intern Med*. 2010;152(11):726-32.
40. NCEP - Expert Panel on Detection E, Treatment of High Blood Cholesterol in A. Executive Summary of The 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). *JAMA* 2001;285(19):2486-97.
41. Geloneze B, Repetto EM, Geloneze SR, Tambascia MA, Ermetice MN. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixture population IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes Res Clin Pract* 2006;72(2):219-20.
42. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, et al. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2005; 16:713–716.
43. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, et. al. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr*. 2006; 84:18 –28.
44. Shetty G, Beasley GM, Sparks S, Barfield M, Masoud M, Mosca PJ, Pruitt SK, Salama AK, Chan C, Tyler DS, Weinhold KJ. Plasma cytokine analysis in patients with advanced extremity melanoma undergoing isolated limb infusion. *Ann Surg Oncol*. 2013;20(4):1128-35.
45. Rahimlou M, Mirzaei K, Keshavarz SA, Hossein-nezhad A. Association of circulating adipokines with metabolic dyslipidemia in obese versus non-obese individuals. *Diabetes Metab Syndrome Clin Res Rev* 2016; 10S:S60–S65.
46. Ziemke F and Mantzoros Christos S. Adiponectina in insulin resistance: lessons from translational research. *Am J Clin Nutr* 2010;91(suppl):258s-61s.
47. Turer AT, Scherer PE. Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia* 2012;55(9):2319-26.
48. Fang H, Judd RL. Adiponectin Regulation and Function. *Compr Physiol*. 2018;8(3):1031-1063.
49. Park HK, Kwak MK, KimHJ, Ahima RS. Linking resistin, inflammation, and cardiometabolic diseases. *Korean J Intern Med* 2017; 32:239-247.
50. Abbas MA. Physiological functions of Vitamin D in adipose tissue. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017; 165:369–381.
51. Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(2):447-52.
52. Milewicz A, Jedrzejuk D, Dunajska K, Lwow F. Waist circumference and serum adiponectin levels in obese and non-obese postmenopausal women. *Maturitas* 2010;65(3):272-5.

53. Heaney RP, Recker RR, Grote J, Horst RL, Armas LA. Vitamin D(3) is more potent than vitamin D(2) in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96: E447–452
54. Malmberg P, Karlsson T, Svensson H, Lonn M, Carlsson NG, Sandberg A, Jennische E, Osmancevic A, Holmång A. A new approach to measuring vitamin D in human adipose tissue using time-of-flight secondary ion mass spectrometry: a pilot study. *J Photochem Photobiol B* 2014; 138:295–301.
55. Vranić L, Mikolašević I, Milić S. Vitamin D Deficiency: Consequence or Cause of Obesity? *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(9):541.
56. Vaidya A, Williams JS, Forman JP. The independent association between 25-hydroxyvitamin D and adiponectin and its relation with BMI in two large cohorts: the NHS and the HPFS. *Obesity (Silver Spring)* 2012; 20(1):186-91.
57. Karonova T, Belyaeva O, Jude EB, Tsiberkin A, Andreeva A, Grineva E, Pludowski P. Serum 25(OH)D and adipokines levels in people with abdominal obesity. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2018; 175:170-176.
58. Wattanapol P, Vichinsartvichai P, Sakoonwatanyoo P. Serum adiponectin is a potential biomarker for metabolic syndrome in peri-and postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol*. 2020;36(7):620-625.
59. Acquarone E, Monacelli F, Borghi R, Nencioni A, Odetti P. Resistin: A reappraisal. *Mech Ageing Dev*. 2019; 178:46-63.
60. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol* 2005; 174:5789-5795.
61. Larochelle J, Freiler J, Dice J, Hagan L. Plasma resistin levels in asthmatics as a marker of disease state. *J Asthma* 2007; 44: 509-13.
62. Tariq S, Tariq S, Khaliq S, Baig M, Murad MA, Lone KP. Association Between Vitamin D and Resistin in Postmenopausal Females With Altered Bone Health. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Jan 15; 11:615440.
63. Mantzoros CS, Li T, Manson JE, Meigs JB, Hu FB. Circulating adiponectin levels are associated with better glycemic control, more favorable lipid profile and reduced inflammation in women with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(8):4542-8.
64. Nikooyeh B, Neyestani TR. Can vitamin D be considered an adiponectin secretagogue? A systematic review and meta-analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2021; 212:105925.
65. Chen R, Yan J, Liu P, Wang Z, Wang C. Plasminogen activator inhibitor links obesity and thrombotic cerebrovascular diseases: The roles of PAI-1 and obesity on stroke. *Metab Brain Dis* 2017; 32:667–673.
66. Song C, Burgess S, Eicher J, CHARGE Consortium Hemostatic Factor Working Group; ICBP Consortium; CHARGE Consortium Subclinical Working Group; O'Donnell CJ, Johnson AD. Causal Effect of plasminogen activator inhibitor type 1 on coronary heart disease. *JAMA*. 2017;6: e004918.

67. Kaji H. Adipose Tissue-Derived Plasminogen Activator Inhibitor-1 Function and Regulation. *Compr Physiol*. 2016;6(4):1873-1896.
68. Smits MM, Woudstra P, Utzschneider KM, Tong J, Gerchman F, Faulenbach M, Carr DB, Aston-Mourney K, Chait A, Knopp RH, Meigs JB, Boyko EJ, Kahn SE. Adipocytokines as features of the metabolic syndrome determined using confirmatory factor analysis. *Ann Epidemiol*. 2013; 23:415–421.
69. Yarmolinsky J, Bordin Barbieri N, Weinmann T, Ziegelmann PK, Duncan BB, Ines Schmidt M. Plasminogen activator inhibitor-1 and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Sci Rep*. 2016; 6:17714.
70. Chen Y, Kong J, Sun T, Li G, Szeto F, Liu W, Deb D, Wang Y, Zhao Q, Thadhani R, Chun Li Y. 1,25-dihydroxyvitamin D3 suppresses inflammation-induced expression of plasminogen activator inhibitor-1 by blocking nuclear factor- $\kappa$ B activation. *Arch Biochem Biophys*. 2011;507(2): 241–247.
71. Blondon M, Cushman M, Jenny N, Michos E, Smith N, Kestenbaum B, de Boer I. Associations of serum 25-hydroxyvitamin D with hemostatic and inflammatory biomarkers in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101: 2348–2357.
72. Amarasekera AT, Assadi-Khansari B, Liu S, Black M, Dymott G, Rogers NM, Sverdlow AL, Horowitz JD, Ngo DTM. Vitamin D supplementation lowers thrombospondin-1 levels and blood pressure in healthy adults. *PLoS One*. 2017;12(5): e0174435.
73. Legakis I, Mantzouridis T, Bouboulis G, Chrousos GP. Reciprocal changes of serum adipon and visfatin levels in patients with type 2 diabetes after an overnight fast. *Arch Endocrinol Metab* 2016;60(1):76-8
74. Tafere GG, Wondafrash DZ, Zewdie KA, Assefa BT, Ayza MA. Plasma Adipon as a Biomarker and Its Implication in Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020; 13:1855-1861.
75. Lo JC, Ljubcic S, Leibiger B, Kern M, Leibiger IB, Moede T, Kelly ME, Bhowmick DC, Murano I, Cohen P, Banks AS, Khandekar MJ, Dietrich A, Flier JS, Cinti S, Blüher M, Danial N, Berggren PO, Spiegelman BM. Adipon is an adipokine that improves  $\beta$  cell function in diabetes. *Cell* 2014;158(1): 41–53.

## 5. Conclusões

No presente estudo, em mulheres na pós-menopausa com deficiência de VD, a suplementação diária e isolada de 1.000 UI de vitamina D<sub>3</sub> por 10 meses associou-se com aumento nos valores de adiponectina e redução da resistina quando comparada ao placebo. Esses resultados sugerem que o tratamento da deficiência de vitamina D pode ser benéfico para regular as concentrações circulantes de adipocinas. Contudo, mais estudos são necessários para esclarecer as interações moleculares entre a vitamina D e as adipocinas e as implicações clínicas dessas interações no contexto da menopausa.

## 6. Referências

- Abbas MA. Physiological functions of Vitamin D in adipose tissue. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017; 165:369–381.
- Acquarone E, Monacelli F, Borghi R, Nencioni A, Odetti P. Resistin: A reappraisal. *Mech Ageing Dev*. 2019; 178:46-63.
- Amarasekera AT, Assadi-Khansari B, Liu S, Black M, Dymott G, Rogers NM, Sverdllov AL, Horowitz JD, Ngo DTM. Vitamin D supplementation lowers thrombospondin-1 levels and blood pressure in healthy adults. *PLoS One*. 2017;12(5): e0174435.
- Ambikairajah A, Walsh E, Tabatabaei-Jafari H, Cherbuin N. Fat mass changes during menopause: a meta-analysis. *Am J Obst Gynecol*. 2019;221(5):393-409.
- Baziar N, Jafarian K, Shadman Z, Qorbani M, Khoshniat Nikoo M, Abd Mishani M (2014) Effect of therapeutic dose of vitamin d on serum adiponectin and glycemia in vitamin d-insufficient or deficient type 2 diabetic patients. *Iran Red Crescent Med J*. 2014;16(9): e21458.
- Bassuk SS, Chandler PD, Buring JE, Manson JE; VITAL Research Group. The VITamin D and Omega-3 Trial (VITAL): Do Results Differ by Sex or Race/Ethnicity? *Am J Lifestyle Med*. 2020;15(4):372-391.
- Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2002; 13: 84-9.
- Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, et. al. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr*. 2006; 84:18 –28.
- Blondon M, Cushman M, Jenny N, Michos E, Smith N, Kestenbaum B, de Boer I. Associations of serum 25-hydroxyvitamin D with hemostatic and inflammatory biomarkers in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101: 2348–2357.
- Blum M, Dolnikowski G, Seyoum E, Harris SS, Booth SL, Peterson J, Saltzman E, Dawson-Hughes B. Vitamin D3 in fat tissue. *Endocrine* 2008;33(1): 90–4.
- Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol* 2005; 174:5789-5795.
- Bonnet L, Hachemi MA, Karkeni E, Couturier C, Astier J, Defoort C, Svilar L, Martin JC, Tourniaire F, Landrier JF. Diet induced obesity modifies vitamin D metabolism and adipose tissue storage in mice. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019; 185:39-46.
- Botella-Carretero JJ, Alvarez-Blasco F, Villafruela JJ, Balsa JA, Vázquez C, Escobar-Morreale HF. Vitamin D deficiency is associated with the metabolic syndrome in morbid obesity. *Clin Nutr* 2007; 26: 573-580.
- Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, Bikle D, White JH, Dawson-Hughes B, Lips P, Munns CF, Lazaretti-Castro M, Giustina A, Bilezikian J. Skeletal and extraskeletal actions of vitamin D: current evidence and outstanding questions. *Endocr Rev*. 2019; 40(4):1109-51.

- Breslavsky A, Frand J, Matas Z, Boaz M, Barnea Z, Shargorodsky M. Effect of high doses of vitamin D on arterial properties, adiponectin, leptin and glucose homeostasis in type 2 diabetic patients. *Clin Nutr* 2013;32(6):970-5.
- Brochu-Gaudreau K, Rehfeldt C, Blouin R, Bordignon V, Murphy BD, Palin MF. Adiponectin action from head to toe. *Endocrine* 2010; 37(1):11–32.
- Calan OG, Calan M, Senses PY, Kocabas GU, Ozden E, Sari KR, Kocar M, Imamoglu C, Senses YM, Bozkaya G, Bilgir O. Increased adiponectin is associated with carotid intima media thickness and metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 2016; 85:910–917.
- Caron-Jobin M, Morisset AS, Tremblay A, Huot C, Légaré D, Tchernof A. Elevated serum 25(OH)D concentrations, vitamin D, and calcium intakes are associated with reduced adipocyte size in women. *Obesity (Silver Spring)* 2011; 19: 1335-1341.
- Carvalho MH, Colaço AL, Fortes ZB. Cytokines, Endothelial Dysfunction, and Insulin Resistance. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006;50(2):304-12.
- Chen Y, Kong J, Sun T, Li G, Szeto F, Liu W, Deb D, Wang Y, Zhao Q, Thadhani R, Chun Li Y. 1,25-dihydroxyvitamin D3 suppresses inflammation-induced expression of plasminogen activator inhibitor-1 by blocking nuclear factor- $\kappa$ B activation. *Arch Biochem Biophys*. 2011;507(2): 241–247.
- Chen R, Yan J, Liu P, Wang Z, Wang C. Plasminogen activator inhibitor links obesity and thrombotic cerebrovascular diseases: The roles of PAI-1 and obesity on stroke. *Metab Brain Dis* 2017; 32:667–673.
- Cheng S, Massaro JM, Fox CS, Larson MG, Keyes MJ, McCabe EL, Robins SJ, O'Donnell CJ, Hoffmann U, Jacques PF, Booth SL, Vasan RS, Wolf M, Wang TJ. Adiposity, cardiometabolic risk, and vitamin D status: the Framingham Heart Study. *Diabetes* 2010; 59: 242-248.
- Cianferotti L, Cricelli C, Kanis JA, Nuti R, Reginster JY, Ringe JD, Rizzoli R, Brandi ML. The clinical use of vitamin D metabolites and their potential developments: a position statement from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) and the International Osteoporosis Foundation (IOF). *Endocrine*. 2015;50(1):12-26.
- Cimini FA, Barchetta I, Carotti S, Bertocchini L, Baroni MG, Vespasiani-Gentilucci U, Cavallo M, Morini S. Relationship between adipose tissue dysfunction, vitamin D deficiency and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2017; 23(19): 3407-3417.
- Cook KS, Min HY, Johnson D, Chaplinsky RJ, Flier JS, Hunt CR, Spiegelman BM. Adipsin a circulating serine protease homolog secreted by adipose tissue and sciatic nerve. *Science*. 1987; 237:402–405.
- Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, et al. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2005; 16:713–716.
- Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour JP, Boonen S, Burckhardt P, Fuleihan GE, et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteopor Int* 2010;21(7):1151-4.

- DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004;80(6 Suppl):1689S-96S.
- Dinca M, Serban MC, Sahebkar A, Mikhailidis DP, Toth PP, Martin SS, Blaha MJ, Blüher M, Gurban C, Penson P, Michos ED, Hernandez AV, Jones SR, Banach M; for Lipid Blood Pressure Meta-analysis Collaboration LBPMC Group. Does vitamin D supplementation alter plasma adipokines concentrations? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Group.Pharmacol Res*. 2016;107:360-371.
- Ding C, Gao D, Wilding J, Trayhurn P, Bing C. Vitamin D signaling in adipose tissue. *Br J Nutr* 2012;108(11):1915-23.
- Drincic AT, Armas LA, Van Diest EE, Heaney RP. Volumetric dilution rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. *Obesity* 2012; 20:1444–1448.
- Duggan C, de Dieu Tapsoba J, Mason C, et al. Effect of Vitamin D3 Supplementation in Combination with Weight Loss on Inflammatory Biomarkers in Postmenopausal Women: A Randomized Controlled Trial. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2015;8(7):628-635.
- Earthman CP, Beckman LM, Masodkar K, Sibley SD. The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications. *Int J Obes (Lond)* 2012; 36: 387-396.
- Everson-Rose SA, Barinas-Mitchell EJM, El Khoudary SR, Huang HH, Wang Q, Janssen I, Thurston RC, Jackson EA, Lewis ME, Karvonen-Gutierrez C, Mancuso P, Derby CA. J Adipokines and Subclinical Cardiovascular Disease in Post-Menopausal Women: Study of Women's Health Across the Nation. *Am Heart Assoc*. 2021;10(7): e019173.
- Fang H, Judd RL. Adiponectin Regulation and Function. *Compr Physiol*. 2018;8(3):1031-1063.
- Ferreira PP, Cangussu L, Bueloni-Dias FN, Orsatti CL, Schmitt EB, Nahas-Neto J, Nahas EAP. Vitamin D supplementation improves the metabolic syndrome risk profile in postmenopausal women. *Climacteric*. 2020;23(1):24-31.
- Funahashi T, Matsuzawa Y, Kihara S. Adiponectin as a potential key player in metabolic syndrome insights into atherosclerosis, diabetes and cancer. *Int Congress Series*. 2004; 1262: 368-71.
- Gannage-Yared MH, Chedid R, Khalife S, Azzi E, Zoghbi F, Halaby G. Vitamin D in relation to metabolic risk factors, insulin sensitivity and adiponectin in a young Middle-Eastern population. *Eur J Endocrinol* 2009; 160(6):965–71.
- Geloneze B, Repetto EM, Geloneze SR, Tambascia MA, Ermetice MN. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixture population IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes Res Clin Pract* 2006;72(2):219-20.
- Geloneze B, Pereira JA, Pareja JC, Lima MMO, Lazarin MACT, Souza ICP, et al. Reversão da síndrome metabólica na obesidade mórbida: adiponectina como um marcador da sensibilização à insulina e do aumento do HDL-colesterol após o bypass gástrico. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009; 53(2): 293-300.

- Goldner WS, Stoner JA, Thompson J, Taylor K, Larson L, Erickson J, McBride C. Prevalence of vitamin D insufficiency and deficiency in morbidly obese patients: a comparison with nonobese controls. *Obes Surg* 2008; 18: 145-150.
- Greco D, Kocyigit D, Adorni MP, Marchi C, Ronda N, Bernini F, Gurses KM, Canpinar H, Guc D, Oguz SH, Gurlek A, Strazzella A, Simonelli S, Tokgozoglu L, Zimetti F. Vitamin D replacement ameliorates serum lipoprotein functions, adipokine profile and subclinical atherosclerosis in pre-menopausal women. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2018;28(8):822-829.
- Greendale GA, Han W, Finkelstein JS, Burnett-Bowie SM, Huang M, Martin D, Karlamangla AS. Changes in Regional Fat Distribution and Anthropometric Measures Across the Menopause Transition. *J Clin Endocrinol Metab* 2021;106(9):2520-2534.
- Hanley DA, Cranney A, Jones G, Whiting SJ, Leslie WD, Cole DE, Atkinson SA, Josse RG, Feldman S, Kline GA, Rosen C; Guidelines Committee of the Scientific Advisory Council of Osteoporosis Canada. Vitamin D in adult health and disease: a review and guideline statement from Osteoporosis Canada. *CMAJ* 2010;182(12): E610-8.
- Heaney RP, Recker RR, Grote J, et. al. Vitamin D3 is more potent than vitamin D2 in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;96(3):447-52.
- Heaney RP, Recker RR, Grote J, Horst RL, Armas LA. Vitamin D(3) is more potent than vitamin D(2) in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96: E447-452.
- Hertle E, van Greevenbroek M J, Stehouwer CDA. Complement C3: an emerging risk factor in cardiometabolic disease. *Diabetol* 2012; 55:881-884.
- Hilger J, Friedel A, Herr R, Rausch T, Roos F, Wahl DA, et al. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br J Nutr* 2014;111(1):23-45.
- Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6 Suppl):1678S-88S.
- Holick MF. Vitamin D, deficiency. *N Engl J Med* 2007;357 (3):266-281.
- Holick MF. The D-lemma: to screen or not to screen for 25-hydroxyvitamin D concentrations. *Clin Chemistry*. 2010;56(5):729-31.
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM; Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911-30.
- Hou B, Eren M, Painter CA, Covington JW, Dixon JD, Schoenhard JA, Vaughan DE. Tumor necrosis factor alpha activates the human plasminogen activator inhibitor-1 gene through a distal nuclear factor kappaB site. *J Biol Chem*. 2004;279(18):18127-36.
- Hsu WY, Chao YW, Tsai YL, Lien CC, Chang CF, Deng MC, Ho LT, Kwok CF, Juan CC. Resistin induces monocyte-endothelial cell adhesion by increasing ICAM-1 and VCAM-1 expression in endothelial cells via p38MAPK-dependent pathway. *J Cell Physiol* 2011; 226:2181-2188.

- Husemoen LLN, Skaaby T, Martinussen T, Jorgensen T, Thuesen BH, Kistorp C, Jeppesen J, Thyssen JP, Meldgaard M, Szecsi PB, Fenger M, Linneberg A. Investigating the causal effect of vitamin D on serum adiponectin using a mendelian randomization approach. *Eur J Clin Nutr.* 2014; 68(2):189–95.
- Hussain M, Iqbal J, Malik SA, Waheed A, Shabnum S, Akhtar L, Saeed H. Effect of vitamin D supplementation on various parameters in non-alcoholic fatty liver disease patients. *Pak J Pharm Sci.* 2019;32(3 Special):1343-1348.
- Hypponen E, Berry D, Cortina-Borja M, Power C. 25-hydroxyvitamin D and pre-clinical alterations in inflammatory and hemostatic markers: a cross sectional analysis in the 1958 British birth cohort. *PLoS One* 2010;5: e10801.
- Jorde R, Haug E, Figenschau Y, Hansen JB. Serum levels of vitamin D and haemostatic factors in healthy subjects: the Tromso study. *Acta Haematol* 2007; 117:91e7.
- Jorde R, Sneve M, Torjesen PA, Figenschau Y, Gøransson LG, Omdal R. No effect of supplementation with cholecalciferol on cytokines and markers of inflammation in overweight and obese subjects. *Cytokine* 2010; 50:175-80.
- Kaji H. Adipose Tissue-Derived Plasminogen Activator Inhibitor-1 Function and Regulation. *Compr Physiol.* 2016;6(4):1873-1896.
- Karkeni E, Marcotorchino J, Tourniaire F, Astier J, Peiretti F, Darmon P, Landrier JF. Vitamin D limits chemokine expression in adipocytes and macrophage migration in vitro and in male mice. *Endocrinol.* 2015; 156: 1782-1793.
- Karkeni E, Bonnet L, Marcotorchino J, Tourniaire F, Astier J, Ye J, Landrier JF. Vitamin D limits inflammation-linked microRNA expression in adipocytes in vitro and in vivo: A new mechanism for the regulation of inflammation by vitamin D. *Epigenetics* 2018;13(2):156-162.
- Karonova T, Belyaeva O, Jude EB, Tsiberkin A, Andreeva A, Grineva E, Pludowski P. Serum 25(OH)D and adipokines levels in people with abdominal obesity. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2018; 175:170-176.
- Kasza A, Kiss DL, Gopalan S, Xu W, Rydel RE, Koj A, Kordula T. Mechanism of plasminogen activator inhibitor-1 regulation by oncostatin M and interleukin-1 in human astrocytes. *J Neurochem.* 2002;83(3):696-703.
- Krivošíková Z, Gajdoš M, Šebeková K. Vitamin D Levels Decline with Rising Number of Cardiometabolic Risk Factors in Healthy Adults: Association with Adipokines, Inflammation, Oxidative Stress and Advanced Glycation Markers. *PLoS ONE* 2015;10(6): e0131753.
- Larochelle J, Freiler J, Dice J, Hagan L. Plasma resistin levels in asthmatics as a marker of disease state. *J Asthma* 2007; 44: 509-13.
- Laumen H, Skurk T, Hauner H. The HMG-CoA reductase inhibitor rosuvastatin inhibits plasminogen activator inhibitor-1 expression and secretion in human adipocytes. *Atherosclerosis* 2008; 196:565–573.

- Lee TS, Lin CY, Tsai JY, Wu YL, Su KH, Lu KY, Hsiao SH, Pan CC, Kou YR, Hsu YP, Ho LT. Resistin increases lipid accumulation by affecting class A scavenger receptor, CD36 and ATP-binding cassette transporter-A1 in macrophages. *Life Sci* 2009; 84: 97-104.
- Legakis I, Mantzouridis T, Bouboulis G, Chrousos GP. Reciprocal changes of serum adipon and visfatin levels in patients with type 2 diabetes after an overnight fast. *Arch Endocrinol Metab* 2016;60(1):76-8.
- Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2009;302(2):179-88.
- Lima-Costa MF, Mambrini JVM, de Souza-Junior PRB, et al. Nationwide vitamin D status in older Brazilian adults and its determinants: The Brazilian Longitudinal Study of Aging (ELSI). *Sci Rep*. 2020;10(1):13521.
- Lipps P, Hosking D, Lippuner K, Norquist JM, Wehren L, Maalouf G, Ragi-Eis S, Chandler J.. The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis: an international epidemiological investigation. *J Intern Med*. 2006;260(3):245-54.
- Lo JC, Ljubicic S, Leibiger B, Kern M, Leibiger IB, Moede T, Kelly ME, Bhowmick DC, Murano I, Cohen P, Banks AS, Khandekar MJ, Dietrich A, Flier JS, Cinti S, Blüher M, Danial N, Berggren PO, Spiegelman BM. Adipsin is an adipokine that improves  $\beta$  cell function in diabetes. *Cell* 2014;158(1): 41–53.
- Lorente-Cebrián S, Eriksson A, Dunlop T, Mejhert N, Dahlman I, Aström G, Sjölin E, Wåhlén K, Carlberg C, Laurencikienė J, Hedén P, Arner P, Rydén M. Differential effects of  $1\alpha,25$ -dihydroxycholecalciferol on MCP-1 and adiponectin production in human white adipocytes. *Eur J Nutr* 2012; 51: 335-342
- Lwow F, Bohdanowicz-Pawlak A. Vitamin D and selected cytokine concentrations in postmenopausal women in relation to metabolic disorders and physical activity. *Exp Gerontol*. 2020; 141:111107.
- Maeda SS, Saraiva GL, Kunii IS, Hayashi LF, Cendoroglo MS, Ramos LR, Lazaretti-Castro M. Factors affecting vitamin D status in different populations in the city of Sao Paulo, Brazil: the Sao Paulo vitamin D Evaluation Study (SPADES). *BMC Endocrine Disorders*. 2013;13(1):14.
- Mai S, Walker GE, Vietti R, Cattaldo S, Mele C, Priano L, Mauro A, Bona G, Aimaretti G, Scacchi M, Marzullo P. Acute Vitamin D<sub>3</sub> Supplementation in Severe Obesity: Evaluation of Multimeric Adiponectin. *Nutrients*. 2017;9(5):459.
- Malmberg P, Karlsson T, Svensson H, Lonn M, Carlsson NG, Sandberg A, Jennische E, Osmancevic A, Holmäng A. A new approach to measuring vitamin D in human adipose tissue using time-of-flight secondary ion mass spectrometry: a pilot study. *J Photochem Photobiol B* 2014; 138:295–301.
- Manduteanu I, Pirvulescu M, Gan AM, Stan D, Simion V, Dragomir E, Calin M, Manea A, Simionescu M. Similar effects of resistin and high glucose on P-selectin and fractalkine expression and monocyte adhesion in human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391:1443-1448.

- Mansouritorghabe H, Bonakdaran S, Hossieni SJ. Correlation between serum 25-hydroxyvitamin D level and plasminogen activator inhibitor 1 in type 2 diabetic patients. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2013;13(3):264-8.
- Mantzoros CS, Li T, Manson JE, Meigs JB, Hu FB. Circulating adiponectin levels are associated with better glycemic control, more favorable lipid profile and reduced inflammation in women with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(8):4542-8.
- Mason RS. Vitamin D: a hormone for all seasons. *Climacteric* 2011;14(2):197-203.
- Matsuzawa Y. Adiponectin: a key player in obesity related disorders. *Curr Pharm Des* 2010; 16(17):1896–901.
- McGill AT, Stewart JM, Lithander FE, Strik CM, Poppitt SD. Relationships of low serum vitamin D3 with anthropometry and markers of the metabolic syndrome and diabetes in overweight and obesity. *Nutr J* 2008; 7:4.
- McTernan PG, McTernan CL, Chetty R, Jenner K, Fisher FM, Lauer MN, Crocker J, Barnett AH, Kumar S. Increased resistin gene and protein expression in human abdominal adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metabol*. 2002; 87: 2407-10.
- Milewicz A, Jedrzejuk D, Dunajska K, Lwow F. Waist circumference and serum adiponectin levels in obese and non-obese postmenopausal women. *Maturitas* 2010;65(3):272-5.
- Moreira CA, Ferreira CEDS, Madeira M, Silva BCC, Maeda SS, Batista MC, Bandeira F, Borba VZC, Lazaretti-Castro M. Reference values of 25-hydroxyvitamin D revisited: a position statement from the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM) and the Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine (SBPC). *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2020;64(4):462-78.
- Mousa A, Naderpoor N, Wilson K, Plebanski M, de Courten MPJ, Scragg R, de Courten B. Vitamin D supplementation increases adipokine concentrations in overweight or obese adults. *Eur J Nutr*. 2020;59(1):195-204.
- Mutt SJ, Hyppönen E, Saarnio J, Järvelin MR, Herzig KH. Vitamin D and adipose tissue-more than storage. *Front Physiol*. 2014; 5:228
- NCEP - Expert Panel on Detection E, Treatment of High Blood Cholesterol in A. Executive Summary of The 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). *JAMA* 2001;285(19):2486-97.
- Nimitphong H, Chanprasertyothin S, Jongjaroenprasert W, Ongphiphadhanakul B. The association between vitamin D status and circulating adiponectin independent of adiposity in subjects with abnormal glucose tolerance. *Endocrine* 2009; 36(2):205–10.
- Nop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia*. 2003; 46: 459-69.
- Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):85–97.

- Park HK, Kwak MK, Kim HJ, Ahima RS. Linking resistin, inflammation, and cardiometabolic diseases. *Korean J Intern Med* 2017; 32:239-247
- Park JE, Pichiah PBT, Cha Y. Vitamin D and Metabolic Diseases: Growing Roles of Vitamin D. *J Obes Metab Syndr* 2018;27(4):223-232.
- Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 300:472-476.
- Patrick M, Luckett J, Yue L, Stover C. Dual role of complement in adipose tissue. *Mol Immunol*. 2009; 46: 755–760.
- Pérez-López FR, Chedraui P, Pilz S. Vitamin D supplementation after the menopause. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2020; 11:2042018820931291
- Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(2):447-52.
- Pittas AG, Chung M, Trikalinos T, Mitri J, Brendel M, Patel K, Lichtenstein AH, Lau J, Balk EM. Systematic review: Vitamin D and cardiometabolic outcomes. *Ann Intern Med* 2010;152(5):307-14.
- Rahimlou M, Mirzaei K, Keshavarz SA, Hossein-nezhad A. Association of circulating adipokines with metabolic dyslipidemia in obese versus non-obese individuals. *Diabetes Metab Syndrome Clin Res Rev* 2016; 10S:S60–S65.
- Recinella L, Orlando G, Ferrante C, Chiavaroli A, Brunetti L, Leone S. Adipokines: New Potential Therapeutic Target for Obesity and Metabolic, Rheumatic, and Cardiovascular Diseases. *Front Physiol*. 2020; 11:578966
- Rosen CJ. Clinical practice. Vitamin D insufficiency. *N Engl J Med*. 2011;364(3):248-54.
- Rosen CJ, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, Kovacs CS, Manson JE, Mayne ST, Ross AC, Shapses SA, Taylor CL. IOM committee members respond to Endocrine Society vitamin D guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(4):1146-52.
- Russo LA, Gregorio LH, Lacativa PG, Marinheiro LP. Concentration of 25-hydroxyvitamin D in postmenopausal women with low bone mineral density. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2009;53(9):1079-87.
- Saneei P, Salehi-Abargouei A, Esmailzadeh A. Serum 25- hydroxy vitamin D levels in relation to body mass index: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*. 2013;14: 393–404.
- Schmitt EB, Nahas-Neto J, Bueloni-Dias F, Poloni PF, Orsatti CL, Petri Nahas EA. Vitamin D deficiency is associated with metabolic syndrome in postmenopausal women. *Maturitas*. 2018; 107:97-102.
- Schulz KF, Altman DG, Moher D, Group C. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Ann Intern Med*. 2010;152(11):726-32.

- Seyyed Abootorabi M, Ayremlou P, Behrooz-Lak T, Nourisaeidlou S. The effect of vitamin D supplementation on insulin resistance, visceral fat and adiponectin in vitamin D deficient women with polycystic ovary syndrome: a randomized placebo-controlled trial. *Gynecol Endocrinol*. 2018;34(6):489-494.
- Shetty G, Beasley GM, Sparks S, Barfield M, Masoud M, Mosca PJ, Pruitt SK, Salama AK, Chan C, Tyler DS, Weinhold KJ. Plasma cytokine analysis in patients with advanced extremity melanoma undergoing isolated limb infusion. *Ann Surg Oncol*. 2013;20(4):1128-35.
- Smits MM, Woudstra P, Utzschneider KM, Tong J, Gerchman F, Faulenbach M, Carr DB, Aston-Mourney K, Chait A, Knopp RH, Meigs JB, Boyko EJ, Kahn SE. Adipocytokines as features of the metabolic syndrome determined using confirmatory factor analysis. *Ann Epidemiol*. 2013; 23:415–421.
- Song NJ, Kim S, Jang BH, Chang SH, Yun UJ, Park KM, Waki H, Li DY, Tontonoz P, Park KW. Small Molecule-Induced Complement Factor D (Adipsin) Promotes Lipid Accumulation and Adipocyte Differentiation. *PLoS ONE* 2016;11(9): e0162228.
- Song C, Burgess S, Eicher J, CHARGE Consortium Hemostatic Factor Working Group; ICBP Consortium; CHARGE Consortium Subclinical Working Group; O'Donnell CJ, Johnson AD. Causal Effect of plasminogen activator inhibitor type 1 on coronary heart disease. *JAMA*. 2017;6: e004918.
- Stokić E, Kupusinac A, Tomic-Naglic D, Smiljenic D, Kovacev-Zavisc B, Srdic-Galic B, Soskic S, Isenovic ER. Vitamin D and Dysfunctional Adipose Tissue in Obesity. *Angiol* 2015a; 66: 613-618.
- Stokić E, Kupusinac A, Tomić-Naglić D, Zavišić BK, Mitrović M, Smiljenić D, Soskić S, Isenović E. Obesity and vitamin D deficiency: trends to promote a more proatherogenic cardiometabolic risk profile. *Angiol* 2015b; 66: 237-243.
- Strange RC, Shipman KE, Ramachandran S. Metabolic syndrome: A review of the role of vitamin D in mediating susceptibility and outcome. *World J Diabetes* 2015; 6(7): 896-911.
- Surdu AM, Pînzariu O, Ciobanu DM, Negru AG, Căinap SS, Lazea C, Iacob D, Săraci G, Tirinescu D, Borda IM, Cismaru G. Vitamin D and Its Role in the Lipid Metabolism and the Development of Atherosclerosis. *Biomed*. 2021;9(2):172.
- Tabesh M, Azadbakht L, Faghihimani E, Tabesh M, Esmailzadeh A. Calcium-Vitamin D cosupplementation influences circulating inflammatory biomarkers and adipocytokines in vitamin D-insufficient diabetics: A randomized controlled clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(12): E2485–E2493.
- Tafere GG, Wondafrash DZ, Zewdie KA, Assefa BT, Ayza MA. Plasma Adipsin as a Biomarker and Its Implication in Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020; 13:1855-1861.
- Taheri E, Saedisomeolia A, Djalali M, Qorbani M, MadaniCivi M. The relationship between serum 25-hydroxy vitamin D concentration and obesity in type 2 diabetic patients and healthy subjects. *J Diabetes Metab Dis* 2012;11(1):16.

- Tang BM, Eslick GD, Nowson C, Smith C, Bensoussan A. Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. *Lancet* 2007;370(9588):657-66.
- Trujillo ME, Scherer PE. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. *Endoc Rev* 2006;27(7):762-78.
- Turer AT, Scherer PE. Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia* 2012;55(9):2319-26.
- Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004;338(2):143-56.
- Unger MD, Cuppari L, Titan SM, Magalhaes MC, Sasaki AL, dos Reis LM, Jorgetti V, Moysés RM. Vitamin D status in a sunny country: where has the sun gone? *Clin Nutr* 2010;29(6):784-8.
- Vacek JL, Vanga SR, Good M, Lai SM, Lakkireddy D, Howard PA. Vitamin D deficiency and supplementation and relation cardiovascular health. *Am J Cardiol* 2012;109(3):359-63.
- Vaidya A, Pojoga L, Underwood PC, Forman JP, Hopkins PN, Williams GH, Williams JS. The association of plasma resistin with dietary sodium manipulation, the rennin-angiotensin aldosterone system and 25-hydroxyvitamin D3 in human hypertension. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011;74(3): 294–299
- Vaidya A, Williams JS, Forman JP. The independent association between 25-hydroxyvitamin D and adiponectin and its relation with BMI in two large cohorts: the NHS and the HPFS. *Obesity (Silver Spring)* 2012; 20(1):186-91.
- Vasilenko MA, Kirienkova EV, Skuratovskaia DA, Zatolokin PA, Mironyuk NI, Litvinova LS. The role of production of adipon and leptin in the development of insulin resistance in patients with abdominal obesity. *Dokl Biochem Biophys* 2017; 475: 271–276.
- Vitseva OI, Tanriverdi K, Tchkonja TT, Kirkland JL, McDonnell ME, Apovian CM, Freedman J, Gokce N. Inducible Toll-like receptor and NF-kappaB regulatory pathway expression in human adipose tissue. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16: 932-937.
- Vranić L, Mikolašević I, Milić S. Vitamin D Deficiency: Consequence or Cause of Obesity? *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(9):541.
- Walsh JS, Evans AL, Bowles S, Naylor KE, Jones KS, Schoenmakers I, Jacques RM, Eastell R. Free 25-hydroxyvitamin D is low in obesity, but there are no adverse associations with bone health. *Am J Clin Nutr*. 2016; 103:1465-1471.
- Wamberg L, Christiansen T, Paulsen SK, Fisker S, Rask P, Rejnmark L, Richelsen B, Pedersen SB. Expression of vitamin D-metabolizing enzymes in human adipose tissue-the effect of obesity and diet-induced weight loss. *Int J Obes*. 2013; 37:651–657.
- Wang C. Role of vitamin d in cardiometabolic diseases. *J Diabetes Res*. 2013; 2013:243934.
- Waterhouse M, Tran B, Ebeling P, English D, Lucas R, Venn A, Webb P, Whiteman D, Neal R. Effect of vitamin D supplementation on selected inflammatory biomarkers in older adults: a

- secondary analysis of data from a randomised, placebo-controlled trial. *Br J Nutrition* 2015; 114:693–699.
- Wattanapol P, Vichinsartvichai P, Sakoonwatanyoo P. Serum adiponectin is a potential biomarker for metabolic syndrome in peri-and postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol*. 2020;36(7):620-625.
- Weyer C, Funahashi T, Tanaka S. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 1930-5.
- White RT, Damm D, Hancock N, Rosen BS, Lowell BB, Usher P, Flier JS, Spiegelman BM. Human adipisin is identical to complement factor D and is expressed at high levels in adipose tissue. *J Biol Chem* 1992; 267:9210–9213.
- Witham MD, Adams F, Kabir G, Kennedy G, Belch J, Khan F. Effect of short-term vitamin D supplementation on markers of vascular health in South Asian women living in the UK: A randomised controlled trial. *Atherosclerosis* 2013; 230:293e299.
- Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000;72(3):690-3.
- Yarmolinsky J, Bordin Barbieri N, Weinmann T, Ziegelmann PK, Duncan BB, Ines Schmidt M. Plasminogen activator inhibitor-1 and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Sci Rep*. 2016; 6:17714.
- Young KA, Engelman CD, Langefeld CD, Hairston KG, Haffner SM, Bryer-Ash M, Norris JM. Association of Plasma Vitamin D Levels with Adiposity in Hispanic and African Americans. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(9):3306-13.
- Zhang C, Rexrode KM, van Dam RM, Li TY, Hu FB. Abdominal obesity and the risk of all-cause, cardiovascular, and cancer mortality: sixteen years of follow-up in US women. *Circulation* 2008;117(13):1658-67.
- Zheng S, Wang B, Han W, Zhu Z, Wang X, Jin X, Antony B, Cicuttini F, Wluka A, Winzenberg T, Aitken D, Blizzard L, Jones G, Ding C. Vitamin D supplementation and inflammatory and metabolic biomarkers in patients with knee osteoarthritis: post hoc analysis of a randomised controlled trial. *Br J Nutr*. 2018;120(1):41-48.
- Ziemke F and Mantzoros Christos S. Adiponectina in insulin resistance: lessons from translational research. *Am J Clin Nutr* 2010;91(suppl):258s-61s.

## 7. Anexos

### 7.1. Anexo I- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Você está sendo convidada a participar do estudo “O efeito da suplementação isolada de vitamina D sobre o perfil de adipocinas em mulheres na pós-menopausa” que será realizado sob a responsabilidade da Dra. Eneida Boteon Schmitt e do biomédico Claudio Lera Orsatti.

Este estudo deseja conhecer se o uso da vitamina D tem benefício para seu corpo. Como a senhora já participou de estudo anterior em que usou a Vitamina D, agora está sendo convidada a participar desta pesquisa. No estudo em que a senhora participou foi colhido sangue, que se encontra congelado, e com a sua autorização será utilizado para este novo estudo. Para seu conhecimento, serão coletados dados do seu prontuário que serão confidenciais e apenas dados em conjunto serão divulgados nas publicações em revistas médicas, sem identificação da sua pessoa. Os pesquisadores responsáveis estarão disponíveis para responder a quaisquer perguntas e sua participação é voluntária e tem o direito de receber informações adicionais sobre o estudo se achar necessário. A senhora pode retirar-se deste estudo, sem perder seus cuidados médicos. Caso não se sinta satisfeita poderá entrar em contato com os médicos responsáveis pela pesquisa e com Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu pelo telefone 14-38801608.

Eu.....tendo sido satisfatoriamente informada, concordo em participar deste estudo. Declaro ter lido e compreendido este consentimento, no qual me foram informados os dados importantes sobre este estudo. Foi-me oferecida ampla oportunidade de fazer perguntas e recebi respostas que me satisfizeram totalmente. Estou ciente de que este consentimento será produzido em duas vias iguais, em que uma será entregue a mim e outra será arquivada pelos pesquisadores.

Botucatu, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

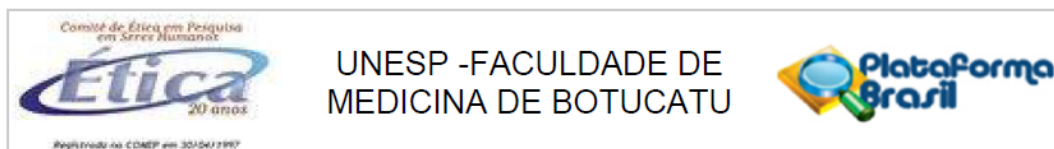
\_\_\_\_\_

Assinatura da Participante

\_\_\_\_\_

Assinatura do Pesquisador

## 7.2. Anexo II – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMB.



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** O papel da Vitamina D sobre os marcadores cardiometabólicos e imuno-inflamatórios em mulheres na pós-menopausa - Coordenadora Eliana Aguiar Petri Nahas  
 Subprojeto 1- O efeito da suplementação isolada de vitamina D sobre os marcadores imuno-inflamatórios em mulheres na pós-menopausa.  
 Subprojeto 2- O efeito da suplementação isolada de vitamina D sobre os marcadores cardiometabólicos em mulheres na pós-menopausa.  
 Subprojeto 3- Associação entre a deficiência de vitamina D e os marcadores da síndrome metabólica em mulheres na pós-menopausa.  
 Subprojeto 4- Efeito da suplementação isolada de vitamina D sobre o perfil de adipocinas e moléculas de adesão celular em mulheres na pós-menopausa.

**Pesquisador:** Eliana Aguiar Petri Nahas

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 38486914.0.0000.5411

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP

**Patrocinador Principal:** FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.709.692

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de emenda ao projeto original intitulado "O papel da Vitamina D sobre os marcadores cardiometabólicos e imuno-inflamatórios em mulheres na pós-menopausa" aprovado em 02/12/2014 (nº parecer 895.001), sob coordenação da Profa. Eliana Aguiar Petri Nahas, do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da FMB-UNESP.

O projeto original era constituído por três subprojetos já finalizados. A proposta inicial do Subprojeto 1, intitulado "O efeito da suplementação isolada de vitamina D sobre os marcadores imuno-inflamatórios em mulheres na pós-menopausa", contemplou um grande número de marcadores inflamatórios descritos no projeto principal e que foram dosados durante sua execução. Entretanto, para a finalização do trabalho da aluna Flávia Dias, autora do Subprojeto 1, foi utilizada parte das citocinas inflamatórias dosadas.

Para contemplar os resultados de todos marcadores avaliados no projeto principal, está sendo

**Endereço:** Chácara Butignolli, s/n

**Bairro:** Rubião Junior

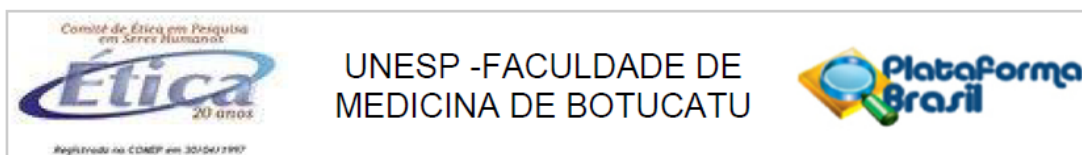
**CEP:** 18.618-970

**UF:** SP

**Município:** BOTUCATU

**Telefone:** (14)3880-1609

**E-mail:** cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.709.692

proposto nesta emenda um Subprojeto 4 intitulado "Efeito da suplementação isolada de vitamina D sobre o perfil de adipocinas e moléculas de adesão celular em mulheres na pós-menopausa" como projeto de doutorado da aluna Eneida Boteon Schmitt, tendo como orientadora a Profa. Eliana Aguiar Petri Nahas e co-orientador, Claudio Lera Orsatti.

O estudo principal caracteriza-se por ser um ensaio clínico, duplo-cego, placebo-controlado, randomizado, para avaliar os efeitos da suplementação isolada de Vitamina D (1000IU/dia). O grupo populacional foi constituído de pacientes atendidas no Ambulatório de Climatério & Menopausa da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) – UNESP nos anos de 2012 a 2014. Foram incluídas mulheres com data da última menstruação há pelo menos 12 meses e idade 45 anos que aceitaram participar do estudo. E critérios de exclusão foram: presença DAC manifesta atual ou prévia; doença arterial cerebrovascular; doença aneurismática; doença arterial periférica; doença renal crônica; diabetes insulino dependente; doença hepática; doenças autoimunes; disfunção da paratireóide; etilista ou drogaditas; uso de doses farmacológicas de Vitamina D. Todas as participantes do estudo receberam as informações necessárias e assinaram o TCLE, de acordo com exigência da Resolução nº 466/2012. As participantes também autorizaram a utilização dos dados e autorizaram utilizar o sangue congelado para as dosagens dos marcadores imuno-inflamatórios. Salienta-se que não existe mais sangue estocado e que todas as dosagens propostas no projeto principal já foram realizadas.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

O objetivo do estudo principal, relatado anteriormente, é avaliar o papel da vitamina D sobre os marcadores cardiometabólicos e imuno-inflamatório em mulheres na pós-menopausa.

O Subprojeto 4, de que se trata essa emenda, tem por objetivo avaliar o efeito da suplementação isolada de vitamina D sobre o perfil de adipocinas e de moléculas de adesão celular em mulheres na pós-menopausa.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

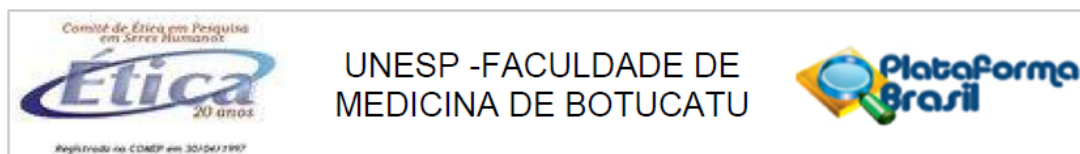
Os riscos e benefícios dos Subprojetos 1, 2 e 3 já foram relatados anteriormente.

O Subprojeto 4 não apresenta riscos e benefícios adicionais àqueles anteriormente relatados, uma vez que não haverá nova etapa de coleta de dados, sendo prevista apenas a análise de marcadores inflamatórios já dosados para o projeto principal.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de pedido de inclusão do Subprojeto 4 ao projeto original intitulado "O papel da Vitamina D sobre os marcadores cardiometabólicos e imuno-inflamatórios em mulheres na pós-

|                                          |                                 |
|------------------------------------------|---------------------------------|
| <b>Endereço:</b> Chácara Butignolli, s/n | <b>CEP:</b> 18.618-970          |
| <b>Bairro:</b> Rubião Junior             |                                 |
| <b>UF:</b> SP                            | <b>Município:</b> BOTUCATU      |
| <b>Telefone:</b> (14)3880-1609           | <b>E-mail:</b> cep@fmb.unesp.br |



Continuação do Parecer: 2.709.692

menopausa". O projeto principal já foi finalizado, atendendo às prerrogativas éticas necessárias: foi apreciado e aprovado por esse colegiado em dezembro de 2014, foi registrado e aprovado pelo Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC) sob o número de registro RBR-4MHS32, as participantes receberam as informações necessárias e assinaram o TCLE, as participantes também autorizaram a utilização dos dados e autorizaram a utilização do sangue congelado para as dosagens dos marcadores imuno-inflamatórios.

Para o Subprojeto 4 não é prevista nova ou ampliação da coleta de dados. Serão analisados os resultados de alguns marcadores que já foram dosados no Subprojeto 1, mas não foram contemplados na versão final do trabalho. Os pesquisadores informam, ainda, que não há amostras de sangue congeladas. Dessa forma, julga-se pertinente o pedido de dispensa do TCLE para a realização do Subprojeto 4.

O projeto contou com financiamento da FAPESP e seu custo estimado foi de R\$ 84.500,00.

O cronograma de execução é adequado, com início da análise dos marcadores previamente dosados para setembro de 2018.

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

Em relação à documentação anteriormente apresentada e apreciada por esse colegiado, foram acrescentados:

- Projeto de Pesquisa referente ao Subprojeto 4;
- Ofício de pedido de dispensa do TCLE, uma vez que o Subprojeto prevê a utilização de material previamente coletado e dosado, com a devida autorização das participantes.

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

A emenda apresentada encontra-se APROVADA.

#### **Considerações Finais a critério do CEP:**

Conforme deliberação do Colegiado em reunião ordinária do Comitê de Ética em Pesquisa da FMB/UNESP, realizada em 04 de junho de 2018, o documento enviado na forma de "Emenda", encontra-se APROVADO, sem necessidade de envio à CONEP.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

**Endereço:** Chácara Butignolli, s/n

**Bairro:** Rubião Junior

**UF:** SP

**Município:** BOTUCATU

**Telefone:** (14)3880-1609

**CEP:** 18.618-970

**E-mail:** cep@fmb.unesp.br

### 7.3. Anexo III – CONSORT 2010



#### Lista de informações CONSORT 2010 para incluir no relatório de um estudo randomizado

| Seção/Tópico                                                                  | Item No | Itens da Lista                                                                                                                                                                                                           | Relatado na pg No |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| <b>Título e Resumo</b>                                                        |         |                                                                                                                                                                                                                          |                   |
|                                                                               | 1a      | Identificar no título como um estudo clínico randomizado                                                                                                                                                                 | _____             |
|                                                                               | 1b      | Resumo estruturado de um desenho de estudo, métodos, resultados e conclusões para orientação específica, consulte CONSORT para resumos                                                                                   | _____             |
| <b>Introdução</b>                                                             |         |                                                                                                                                                                                                                          |                   |
| Fundamentação e objetivos                                                     | 2a      | Fundamentação científica e explicação do raciocínio                                                                                                                                                                      | _____             |
|                                                                               | 2b      | Objetivos específicos ou hipóteses                                                                                                                                                                                       | _____             |
| <b>Métodos</b>                                                                |         |                                                                                                                                                                                                                          |                   |
| Desenho do estudo                                                             | 3a      | Descrição do estudo clínico (como paralelo, factorial) incluindo a taxa de alocação                                                                                                                                      | _____             |
|                                                                               | 3b      | Alterações importantes nos métodos após ter iniciado o estudo clínico (como critérios de elegibilidade), com as razões                                                                                                   | _____             |
| Participantes                                                                 | 4a      | Critérios de elegibilidade para participantes                                                                                                                                                                            | _____             |
|                                                                               | 4b      | Informações e locais de onde foram coletados os dados                                                                                                                                                                    | _____             |
| Intervenções                                                                  | 5       | As intervenções de cada grupo com detalhes suficientes que permitam a replicação, incluindo como e quando eles foram realmente administrados                                                                             | _____             |
| Desfechos                                                                     | 6a      | Medidas completamente pré-especificadas definidas de desfechos primários e secundários, incluindo como e quando elas foram avaliadas                                                                                     | _____             |
|                                                                               | 6b      | Quaisquer alterações nos desfechos após o estudo clínico ter sido iniciado, com as razões                                                                                                                                | _____             |
| Tamanho da amostra                                                            | 7a      | Como foi determinado o tamanho da amostra                                                                                                                                                                                | _____             |
|                                                                               | 7b      | Quando aplicável, deve haver uma explicação de qualquer análise de interim e diretrizes de encerramento                                                                                                                  | _____             |
| <b>Randomização:</b>                                                          |         |                                                                                                                                                                                                                          |                   |
| Seqüência geração                                                             | 8a      | Método utilizado para geração de seqüência randomizada de alocação                                                                                                                                                       | _____             |
|                                                                               | 8b      | Tipos de randomização, detalhes de qualquer restrição (tais como randomização por blocos e tamanho do bloco)                                                                                                             | _____             |
| Alocação mecanismo de ocultação                                               | 9       | Mecanismo utilizado para implementar a seqüência de alocação randomizada (como recipientes numerados seqüencialmente), descrevendo os passos seguidos para a ocultação da seqüência até as intervenções serem atribuídas | _____             |
| <b>Implementação</b>                                                          |         |                                                                                                                                                                                                                          |                   |
|                                                                               | 10      | Quem gerou a seqüência de alocação randomizada, quem inscreveu os participantes e quem atribuiu as intervenções aos participantes                                                                                        | _____             |
| Cegamento                                                                     | 11a     | Se realizado, quem foi cegado após as intervenções serem atribuídas (ex. Participantes, cuidadores, assessores de resultado) e como                                                                                      | _____             |
|                                                                               | 11b     | Se relevante, descrever a semelhança das intervenções                                                                                                                                                                    | _____             |
| Métodos estatísticos                                                          | 12a     | Métodos estatísticos utilizados para comparar os grupos para desfechos primários e secundários                                                                                                                           | _____             |
|                                                                               | 12b     | Métodos para análises adicionais, como análises de subgrupo e análises ajustadas                                                                                                                                         | _____             |
| <b>Resultados</b>                                                             |         |                                                                                                                                                                                                                          |                   |
| Fluxo de participantes (é fortemente recomendado a utilização de um diagrama) | 13a     | Para cada grupo, o número de participantes que foram randomicamente atribuídos, que receberam o tratamento pretendido e que foram analisados para o desfecho primário                                                    | _____             |
|                                                                               | 13b     | Para cada grupo, perdas e exclusões após a randomização, junto com as razões                                                                                                                                             | _____             |
| Recrutamento                                                                  | 14a     | Definição das datas de recrutamento e períodos de acompanhamento                                                                                                                                                         | _____             |
|                                                                               | 14b     | Dizer os motivos de o estudo ter sido finalizado ou interrompido                                                                                                                                                         | _____             |
| Dados de Base                                                                 | 15      | Tabela apresentando os dados de base demográficos e características clínicas de cada grupo                                                                                                                               | _____             |
| Números analisados                                                            | 16      | Para cada grupo, número de participantes (denominador) incluídos em cada análise e se a análise foi realizada pela atribuição original dos grupos                                                                        | _____             |
| Desfechos e estimativa                                                        | 17a     | Para cada desfecho primário e secundário, resultados de cada grupo e o tamanho efetivo estimado e sua precisão (como intervalo de confiança de 95%)                                                                      | _____             |
|                                                                               | 17b     | Para desfechos binários, é recomendada a apresentação de ambos os tamanhos de efeito, absolutos e relativos                                                                                                              | _____             |
| Análises auxiliares                                                           | 18      | Resultados de quaisquer análises realizadas, incluindo análises de subgrupos e análises ajustadas, distinguindo-se as pré-especificadas das exploratórias                                                                | _____             |
| Danos                                                                         | 19      | Todos os importantes danos ou efeitos indesejados em cada grupo (observar a orientação específica CONSORT para danos)                                                                                                    | _____             |
| <b>Discussão</b>                                                              |         |                                                                                                                                                                                                                          |                   |
| Limitações                                                                    | 20      | Limitações do estudo clínico, abordando as fontes dos potenciais vieses, imprecisão, e, se relevante, relevância das análises                                                                                            | _____             |
| Generalização                                                                 | 21      | Generalização (validade externa, aplicabilidade) dos achados do estudo clínico                                                                                                                                           | _____             |
| Interpretação                                                                 | 22      | Interpretação consistente dos resultados, balanço dos benefícios e danos, considerando outras evidências relevantes                                                                                                      | _____             |

**Outras informações**

|           |    |                                                                                                 |       |
|-----------|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Registro  | 23 | Número de inscrição e nome do estudo clínico registrado                                         | _____ |
| Protocolo | 24 | Onde o protocolo completo do estudo clínico pode ser acessado, se disponível                    | _____ |
| Fomento   | 25 | Fontes de financiamento e outros apoios (como abastecimento de drogas), papel dos financiadores | _____ |

\* Recomendamos fortemente a leitura desta norma em conjunto com o CONSORT 2010. Explicação e Elaboração de esclarecimentos importantes de todos os itens. Se relevante, também recomendamos a leitura das extensões do CONSORT para estudos cluster randomizados, estudos de não-inferioridade e de equivalência, tratamentos não-farmacológicos, intervenções de ervas e estudos pragmáticos. Extensões adicionais estão por vir: para aquelas e até dados de referências relevantes a esta lista de informações, ver [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org)