



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

Barbara Perez Vogt

**Efeitos da suplementação de vitamina D e treinamento
físico aeróbico sobre a função muscular e composição
corporal de pacientes em hemodiálise crônica**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, *Campus* de
Botucatu, para obtenção do título de Doutora
em Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientador(a): Profa. Adjunta Jacqueline Costa Teixeira Caramori

Coorientador(a): Prof. Adjunto. Luís Cuadrado Martin

**Botucatu
2017**

Barbara Perez Vogt

Efeitos da suplementação de vitamina D e treinamento físico aeróbico sobre a função muscular e composição corporal de pacientes em hemodiálise crônica

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, *Campus* de Botucatu, para obtenção do título Doutora em Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientador (a): Profa. Adjunta Jacqueline Costa Teixeira Caramori

Coorientador(a): Prof. Adjunto. Luís Cuadrado Martin

Botucatu

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Vogt, Barbara Perez.

Efeitos da suplementação de vitamina D e treinamento físico aeróbico sobre a função muscular e composição corporal de pacientes em hemodiálise crônica / Barbara Perez Vogt. - Botucatu, 2017

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

Orientador: Jacqueline Costa Teixeira Caramori

Coorientador: Luís Cuadrado Martín

Capes: 40101002

1. Colecalciferol. 2. Vitamina D. 3. Hemodiálise.
4. Exercícios aeróbicos. 5. Aptidão física. 6. Composição corporal.

Palavras-chave: Colecalciferol ; Composição corporal ; Força de preensão manual ; Hemodiálise; Treinamento físico.

Dedicatória

A todos os pacientes com doença renal crônica e em diálise.

Minha verdadeira e principal motivação para a conclusão desse trabalho é muito mais do que a realização profissional.

É o sentimento de ser útil a eles ao fazer pesquisa com objetivo de diminuir as complicações decorrentes da doença e melhorar sua qualidade de vida.

Se não fosse por pessoas e para pessoas, não existiria um verdadeiro sentido.

Agradecimentos

À minha família: pai, mãe, avó, irmão e irmã, primas e tia, por todo incentivo, confiança, compreensão e apoio recebidos em todos esses anos (quase intermináveis) de estudo. Vó, não vou parar de estudar!

Às queridas amigas fisioterapeutas e companheiras de projeto Fernanda e Viviana, muito obrigada por todo apoio, ajuda, colaboração. Vocês são a alma desse trabalho! Sem vocês, nada disso teria saído do papel!

À minha querida orientadora, mãe loira, Jacque, que sempre me apoiou nos meus planos loucos, principalmente o de ganhar o mundo! Obrigada pela compreensão em todas as fases da pós-graduação! Obrigada por não ser somente orientadora, mas também conselheira e amiga! Tenho muita sorte de ter uma orientadora como você!

Ao meu co-orientador, Dr. Cuadrado, pela confiança no meu trabalho, pelo apoio e auxílio. Admiro a sua humanidade e cuidado com as pessoas, sem nunca negar nada. O mundo precisa de mais pessoas como o senhor!

A minha co-orientadora no exterior dra. Alice Smith, pela ajuda, apoio e compreensão e aos membros do Leicester Kidney Exercise Team, que me acolheram tão bem e onde tive oportunidade de aprender muito! E a todos pacientes participantes dos estudos que pude acompanhar em Leicester.

À minha querida amiga Carina. Obrigada por ter cruzado meu caminho (e ter ficado nele)! Obrigada pela irmandade e companheirismo, por estar do meu lado nos momentos difíceis ou ouvindo meus problemas mesmo de longe, e também pelos momentos felizes!

À querida amiga Mariana Borges pela amizade, ajuda na coleta de dados, hospedagens, e pela grande parceria no trabalho e nas cervejinhas! Somos uma dupla e tanto!

À querida amiga Cassiana, contemporânea de graduação e pós, companheira de problemas de pós-graduação, de sessões de terapia na sala da pós, discussões dobre metodologia, surtos com estatística e pela grande amizade!

À querida amiga Marcela, obrigada pela amizade, parceria, hospedagens, companhia e apoio! Responsabilidade agora que você é a mais velha da pós!

Às minhas queridas co-orientadas de iniciação científica Karina e Suellen, pela ajuda na coleta de dados, pela dedicação e responsabilidade com esse trabalho! Fico muito feliz de vê-las formadas e voando alto!

À querida amiga Juliana Civitatti pelas hospedagens, pelas conversas, planos de viagem e pela amizade!

À querida amiga Mariana Cassani (a mais teimosa e irônica!) obrigada pela amizade!

Às queridas amigas Thaysse, Nara, Natália Baraldi, Maryanne, obrigada pela amizade sincera e por todo o tempo de convivência em Botucatu!

À querida amiga enfermeira Bel, responsável por me manter cega no trabalho, se responsabilizando pela suplementação dos pacientes! Obrigada pela ajuda fundamental e amizade!

À querida amiga Natália Cleto, obrigada pela hospedagem quase eterna, pela amizade tardia, mas que valeu muito esperar! Saudades da convivência!

Aos meus queridos amigos brasileiros que conheci em Leicester (Juliana, Igor, Luciano, Edvard, Giordano, Karina, Tiago, Renato, Jeanne e Cassiano) e que foram minha família e apoio durante esse ano inesquecível. Sinto muita falta de vocês!

À Lilian Cuppari e Lilietes, por despertarem em mim o amor pela nutrição em nefrologia e pela pesquisa!

Aos professores Marcos F. Minicucci, Paula S. Azevedo e Sérgio R. Paiva pelo apoio e confiança na realização dos estágios docência.

A toda equipe de nefrologia do Hospital das Clínicas da FMB UNESP pelo excelente trabalho na assistência dos pacientes.

À UNESP, pela excelência na formação de seus alunos. Em especial ao Instituto de Biociências de Botucatu e Faculdade de Medicina de Botucatu que foram responsáveis pela minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelas bolsas de doutorado e doutorado sanduíche concedidas neste período.

A todos pacientes que participaram desse trabalho, que me fazem encontrar a verdadeira motivação e satisfação em fazer pesquisa.

A todos que colaboraram de alguma forma com a realização dessa pesquisa.

“Um navio no porto está seguro, mas não é para isso que os navios foram feitos”.

William Shedd

“The size of your dreams must always exceed your current capacity to achieve them. If your dreams do not scare you, they are not big enough.”

Ellen Johnson Sirleaf

“Nothing in life is to be feared, it is only to be understood. Now is the time to understand more, so that we may fear less”

Marie Curie

Listas de ilustrações

Revisão de literatura

Figura 1: representação do metabolismo clássico da vitamina D. Primeiramente, ocorre a conversão fotoquímica do precursor 7-deidrocolesterol presente na pele a vitamina D₃. A vitamina D₃ e vitamina D₂ são transportadas pela proteína carreadora de vitamina D até o fígado, onde um grupo hidroxila será adicionado ao carbono 25, gerando a 25-hidroxivitamina D, que por sua vez, recebe uma nova hidroxilação nos rins pela ação da enzima 1- α hidroxilase e passa a ser o metabolito ativo da vitamina D, a 1,25 diidroxivitamina D. A 1,25 diidroxivitamina D age por meio da ligação com um receptor nuclear, o receptor de vitamina D (VDR).

Ensaio clínico: Efeitos da suplementação de vitamina D e treinamento aeróbio sobre perfil lipídico, função muscular e composição corporal de pacientes em hemodiálise crônica: ensaio randomizado controlado

Figura 1: fluxograma das inclusões, exclusões e randomização dos participantes do ensaio clínico (Grupos: suplementação de vitamina D e treinamento aeróbico intradialítico (VD+TAID) n=5; placebo e treinamento aeróbico intradialítico (PL+TAID) n=4; suplementação de vitamina D (VD) n=5; e placebo (PL) n=6; Abreviações: Transplante renal: Tx).....página 41

Figura 2: correlação entre variação da concentração sérica de 25-hidroxivitamina D e variação da força de preensão manual (A) e entre variação da concentração sérica de 25-hidroxivitamina D variação da proteína C-reativa (B).....página 44

Figura 3: evolução da média da força de preensão manual dos quatro grupos (Suplementação de vitamina D e treinamento aeróbico intradialítico (VD+TAID) n=5; placebo e treinamento aeróbico intradialítico (PL+TAID) n=4; suplementação de vitamina D (VD) n=5; e placebo (PL) n=6.).....página 47.

Artigo submetido: Effect of vitamin D supplementation and intra dialytic aerobic training on lipid profile, muscle function and body composition in maintenance hemodialysis patients: a randomized controlled trial

Figure 1: Flowchart of clinical trial participants inclusion, exclusion and randomization..... Página 79

Figure 2: correlation graphs of 25-hydroxitamin D serum level variation with handgrip strength variation (A) and of 25-hydroxitamin D serum level variation with C-reactive protein variation (B).....página 80

Figure 3: alteration of mean handgrip strength of the four groups..... Página 81

Lista de tabelas

Ensaio clínico: Efeitos da suplementação de vitamina D e treinamento aeróbio sobre perfil lipídico, função muscular e composição corporal de pacientes em hemodiálise crônica: ensaio randomizado controlado

Tabela 1: características demográficas e clínicas iniciais da população estudada e comparação entre os quatro grupos.....página 40

Tabela 2: variação das características bioquímicas relacionadas ao metabolismo mineral ósseo dos 4 grupos (n=20).....página 45

Tabela 3: variação das características bioquímicas relacionadas ao perfil lipídico e inflamação dos 4 grupos (n=20).....página 46

Tabela 4: variação das características da avaliação nutricional dos 4 grupos (n=20).....página 48

Artigo submetido: Effect of vitamin D supplementation and intra dialytic aerobic training on lipid profile, muscle function and body composition in maintenance hemodialysis patients: a randomized controlled trial

Table 1: Baseline demographic and clinical characteristics of the patients and comparison among the four groups.....página 82

Table 2: variation of bone mineral metabolism biochemical parameters of four groups (n=20).....página 83

Table 3: variation of lipid profile and inflammation parameters of four groups (n=20).....página 84

Table 4: variation of nutritional assessment parameters of four groups (n=20).....página 85

Colaboradores

Os colaboradores descritos abaixo contribuíram com a realização dos seguintes exames e avaliações:

Fernanda Stinguetta Belik – fisioterapeuta, responsável pela intervenção treinamento aeróbico intradialítico .

Viviana Rugolo Oliveira Silva – fisioterapeuta, responsável pela intervenção treinamento aeróbico intradialítico.

Jean Carlos Thiago da Silva– educador físico, responsável pela intervenção treinamento aeróbico intradialítico.

Renato de Souza Gonçalves – médico cardiologista, responsável pela realização do exame teste ergométrico.

Mariana Clementoni Costa Borges – nutricionista, colaboração na avaliação nutricional dos pacientes .

Marcela Tatiana Watanabe - nutricionista, colaboração na avaliação nutricional dos pacientes.

Karina Jesus Antonio – aluna de graduação em nutrição, colaboração nas avaliações dos pacientes.

Suellen C. Alves Nogueira – aluna de graduação em nutrição, colaboração nas avaliações dos pacientes.

Ana Lúcia Lopes Maia – técnica em radiologia, responsável pela realização dos exames de DEXA.

Isabel Cristina A. Silva - enfermeira, responsável pela suplementação de vitamina D e cegamento dos pesquisadores.

Projetos vinculados

Este estudo foi realizado juntamente com os seguintes projetos:

- Influência do treinamento aeróbico intradialítico no fluxo sanguíneo cerebral e o reflexo sobre a função cognitiva e qualidade de vida em pacientes renais crônicos

Responsável: Roberto Jorge da Silva Franco

Discente: Fernanda Stringuetta Belik

- Impacto do treinamento aeróbico sobre a capacidade funcional, rigidez arterial, aldosterona, marcadores de disfunção endotelial e de inflamação em portadores de doença renal crônica em hemodiálise.

Responsável: Roberto Jorge da Silva Franco

Discente: Viviana Rugolo Oliveira e Silva

Sumário

Revisão de literatura: Perspectiva histórica da vitamina D na doença renal crônica: reconhecimento das funções clássicas ao papel extra ósseo	1
Resumo.....	2
Abstract.....	3
Contexto histórico da descoberta da vitamina D.....	4
Funções e metabolismo clássicos da vitamina D.....	5
Recentes protagonistas na fisiologia da vitamina D – FGF 23 e Klotho.....	10
Status de vitamina D	11
Deficiência de vitamina D na doença renal crônica	13
Reconhecimento das funções extra ósseas da vitamina D	16
Prevenção de quedas.....	16
Força e função muscular	17
Terapias em potencial para perda de massa e função muscular – foco nos efeitos da vitamina D sobre o músculo	18
Perda de massa e função muscular na doença renal crônica – desnutrição e sobrevida	21
Considerações finais	22
Referências	23
Ensaio clínico: Efeitos da suplementação de vitamina D e treinamento aeróbio sobre perfil lipídico, função muscular e composição corporal de pacientes em hemodiálise crônica: ensaio randomizado controlado	30
Resumo.....	31
Introdução	32
Métodos	34
Pacientes	34
Avaliação cardíaca	34
Delineamento	35
Randomização e cegamento	35
Treinamento aeróbico intradialítico	36
Suplementação de vitamina D	36
Avaliação nutricional	37
Parâmetros laboratoriais	38
Análise estatística	38

Resultados	39
Discussão	49
Referências	53
Artigo submetido: Effect of vitamin D supplementation and intra dialytic aerobic training on lipid profile, muscle function and body composition in maintenance hemodialysis patients: a randomized controlled trial	58
Abstract.....	60
Introduction	61
Methods	62
Participants	63
Cardiac assessment	63
Study design	64
Randomization and blinding.....	64
Intradialytic aerobic training	65
Vitamin D supplementation	65
Nutritional assessment	65
Laboratorial parameters	66
Statistical analysis	67
Results	68
Discussion.....	70
References	74
Figures	79
Tables	82
Anexo 1.....	86

Revisão de literatura

Perspectiva histórica da vitamina D na doença

renal crônica: reconhecimento das funções

clássicas ao papel extra ósseo

Resumo

A vitamina D foi reconhecida a partir da revolução industrial na Europa, quando a sua deficiência ficou evidente com o aumento de casos de raquitismo em crianças de países em que a radiação solar é baixa. A partir desse fato, o metabolismo dessa vitamina foi elucidado, e a síntese cutânea e posterior ativação enzimática hepática e renal foram esclarecidas. Atualmente, com a identificação do gene e proteína Klotho e FGF-23, novos mecanismos fisiológicos têm sido estudados e descritos. Apesar de todos esses esforços, cerca de um bilhão de pessoas são deficientes em vitamina D no mundo. A deficiência de vitamina D é conhecida por trazer consequências para a saúde óssea, porém, novas condições vêm sendo associadas, como câncer, doenças cardiovasculares, distúrbios do metabolismo de glicose e diabetes, doenças autoimunes, alergias, fragilidade, depressão, doenças neurodegenerativas, complicações na gravidez, e mortalidade. A partir de estudos que avaliaram o efeito da suplementação de vitamina D sobre a diminuição do risco de quedas, houve um aumento no interesse sobre os efeitos dessa vitamina sobre o músculo. Concentração sérica de vitamina D foi associada com melhor massa e função muscular em diferentes populações, e alguns ensaios clínicos tem resultados positivos em relação ao efeito da vitamina D sobre a força muscular e mecanismos celulares e moleculares. Pacientes com doença renal crônica apresentam maior risco de deficiência de vitamina D principalmente devido a diminuição da ativação renal e ao mesmo tempo apresentam redução de massa e função musculares, que, por sua vez afetam significativamente o risco de mortalidade dessa população. Portanto, a suplementação com vitamina D é uma terapia promissora para a saúde muscular e deve ser profundamente estudada em pacientes com doença renal e em terapia dialítica.

Palavras chave: colecalciferol, doença renal crônica, hemodiálise, músculo, vitamina D.

Abstract

Vitamin D has been recognized during industrial revolution in Europe, when its deficiency becomes evident with the increase of rickets in children in countries where solar radiation is low. From this fact, the metabolism of this vitamin has been elucidated and its cutaneous synthesis and subsequent liver and kidney enzyme activation were clarified. Currently, after the identification of Klotho gene and protein and FGF-23, new physiological mechanisms have been studied and described. Despite all these efforts, thereabout 1 billion people worldwide are vitamin D deficient. Vitamin D deficiency is known to have consequences for bone health. Nevertheless, new conditions have been associated, such as cancer, cardiovascular diseases, glucose metabolism disorders and diabetes, autoimmune diseases, allergies, frailty, depression, neurodegenerative diseases, complications in pregnancy, and mortality. Since studies evaluating the effect of vitamin D supplementation on reducing the risk of falls, there was an increased concern about the effects of this vitamin on muscle. Vitamin D serum levels were associated with improved muscle mass and function in different populations, and some clinical trials have positive results regarding the effect of vitamin D on muscle strength and cellular and molecular mechanisms. Patients with chronic kidney disease are at increased risk for vitamin D deficiency due to decrease in kidney activation. At the same time, they have reduced muscle mass and function, which affect significantly the risk of mortality in this population. Therefore, vitamin D supplementation is a promising therapy for muscle health and can be further studied in CKD and dialysis.

Keywords: cholecalciferol, chronic kidney disease, hemodialysis, muscle, vitamin D.

A perda de massa e função muscular na doença renal crônica (DRC) é um aspecto importante na qualidade de vida e sobrevida desses pacientes. Vários estudos abordam intervenções com o objetivo de manutenção ou ganho de massa e função muscular, porém nenhum deles explorou a relação dos resultados obtidos com o status de vitamina D dos participantes. Visto que a vitamina D é um importante fator na saúde muscular e que esse grupo de pacientes tem alto risco de deficiência de vitamina D, essa revisão tem por objetivo unir os conhecimentos acerca da fisiologia da vitamina D na DRC e influência da vitamina D no metabolismo muscular,

Contexto histórico da descoberta da vitamina D

A partir da metade do século 17, o raquitismo passou a ser endêmico no Reino Unido, tendo sido explicado pela urbanização concomitante à poluição atmosférica resultante da revolução industrial que diminuiu a exposição solar da população e a tornou vulnerável a doença (1,2). Já haviam referências de raquitismo desde os séculos I e II em que Soranus de Efesus e Claudius Galeno de Pergamus, ambos médicos de origem grega, observaram deformações ósseas sugestivas dessa condição em crianças de Roma (3,4). Porém, mesmo com diversas descrições e hipóteses sobre a causa do raquitismo desde então, a verdadeira etiologia da doença ainda não havia sido descoberta (3). Somente no século 20, experimentos começaram a explorar as causas do raquitismo (4).

O primeiro estudo experimental sobre o assunto foi realizado por Edward Mellanby, que sugeriu que o raquitismo seria decorrente de deficiência vitamínica da dieta da Escócia, onde a incidência era ainda maior. Ele realizou um experimento com cães, que foram alimentados com dieta semelhante à escocesa, e mais tarde desenvolveram raquitismo, idêntico a doença humana. Porém, durante o experimento, os cães não foram expostos à luz solar. Após o desenvolvimento da doença, foi dado óleo de fígado de bacalhau aos cães, que foram curados (1). Edward Mellanby assumiu então, que a vitamina A, já conhecida naquela época, era responsável pela

prevenção do raquitismo (3,5). Mais tarde, Elmer V. McCollum decidiu testar essa hipótese. Ele destruiu a vitamina A do óleo de fígado de bacalhau e percebeu que essa preparação não prevenia xeroftalmia, mas ainda era capaz de prevenir raquitismo. Então, concluiu corretamente que havia outro fator que curava o raquitismo, e o chamou de vitamina D, porque foi o quarto fator na sequência de vitaminas descobertas (3,5,6).

Enquanto isso, Kurt Huldshinsky na Alemanha e Dame H. Chick na Inglaterra descobriram que crianças que apresentavam raquitismo mostraram melhora radiológica com exposição à luz solar ou luz ultravioleta artificial (1,5,7,8). Alfred F. Hess e Lester J. Unger expuseram crianças raquíticas à luz do sol na cobertura de um hospital em Nova York, e também mostraram melhora significativa nas radiografias dessas crianças (8). Nos Estados Unidos, Harry Steenbock trabalhava com cabras e percebeu que durante o verão, quando elas eram mantidas expostas ao sol, o balanço de cálcio era positivo, e durante o inverno, quando elas eram mantidas sem sol, o balanço de cálcio era negativo. Foi então que se conseguiu estabelecer relação entre exposição solar e retenção de cálcio (5).

Funções e metabolismo clássicos da vitamina D

Vitamina D é uma vitamina lipossolúvel que na sua forma ativa age como um hormônio esteróide. Para os humanos, ela é proveniente da exposição solar aos raios ultravioleta B (UVB) e da dieta. Porém, poucos alimentos são naturalmente ricos nessa vitamina (2,9). Peixes gordos e óleo de fígado de peixes são as melhores fontes de origem animal, e menores quantidades de vitamina D também podem ser encontradas em fígado bovino, derivados de leite e gema de ovo. Alguns cogumelos e leveduras expostos à luz solar também fornecem vitamina D, entretanto mais de 90% da necessidade de vitamina D da maioria das pessoas é fornecida pela produção endógena por meio da exposição da pele a radiação solar (9,10). A vitamina D gerada na pele (vitamina D3 ou colecalciferol) ou ingerida por meio da dieta (vitamina D3, de

origem animal, ou vitamina D2 - ergocalciferol, de origem vegetal) é biologicamente inativa (11), e passa por uma série de processos até sua ativação final nos rins.

Primeiramente, ocorre a conversão fotoquímica do precursor 7-dehidrocolesterol presente na membrana plasmática das células da epiderme (65%) e derme e sua isomerização térmica para vitamina D3, por meio da energia dos menores comprimentos de onda de luz solar ultravioleta (11). Esse processo é sujeito a uma série de fatores que podem limitá-lo: cor da pele, idade, quantidade de radiação UVB, latitude, altitude, estação do ano, poluição do ar com quantidades aumentadas de ozônio e dióxido de nitrogênio, uso de protetor ou bloqueador solar e de roupas (8,11–13). O uso de protetor solar aplicado corretamente com fator de proteção 30 reduz a habilidade da pele em produzir vitamina D em 95 a 99%. Pessoas com a pele mais escura tem eficiência 90% menor na produção de vitamina D na pele comparados a indivíduos com pele clara (13). Idosos estão em risco aumentado de desenvolver insuficiência de vitamina D porque a concentração de 7-dehidrocolesterol na sua pele é reduzida, e, portanto, a síntese de vitamina D não é tão eficiente, além do estilo de vida que propicia mais tempo em ambientes fechados e ingestão inadequada da vitamina (8,14). A síntese de vitamina D é reduzida em cerca de 75% em um indivíduo de 70 anos de idade (15).

Exposição excessiva à luz do sol degrada a pré vitamina D3 e a vitamina D3 em fotoprodutos inativos. Portanto, a exposição excessiva a luz solar também é um fator que limita a produção de vitamina D na pele. Exposição dos braços e pernas por 5 a 30 minutos, duas vezes por semana, entre as 10 horas da manhã e 3 horas da tarde, parece ser suficiente para manter a concentração sérica de 25(OH)D adequada, mas ainda depende dos fatores estação do ano, latitude e pigmentação da pele (15).

Uma vez gerada, a vitamina D3 é ejetada para fora da membrana plasmática dos queratinócitos e é puxada para o leito capilar da derme pela proteína carreadora de vitamina D, que a transportará até o fígado. A vitamina D proveniente da dieta é incorporada aos quilomícrons, que são lançados no sistema linfático, e entram na

circulação venosa, onde se ligam a proteína carreadora de vitamina D e lipoproteínas e também serão transportados até o fígado. No fígado, um grupo hidroxila será adicionado ao carbono 25, gerando a 25-hidroxivitamina D (ou calcidiol – 25(OH)D), o principal metabolito circulante da vitamina D (13,15,16).

Para finalmente se tornar ativa, o calcidiol recebe uma nova hidroxilação nos rins pela ação da enzima 1- α hidroxilase e passa a ser o metabolito ativo da vitamina D, o hormônio calcitriol (1,25 diidroxivitamina D – 1,25(OH)₂D) (2,10). A atividade da 1- α hidroxilase é aumentada pela diminuição da concentração sérica de cálcio e de fósforo e aumento da concentração sérica de hormônio da paratireoide (PTH) (17).

Além dos rins, outros tecidos e células possuem a enzima 1- α hidroxilase. A produção local de 1,25(OH)₂D pode ser responsável pela regulação de mais de 200 genes, que podem justificar muitos dos benefícios pleiotrópicos na saúde que estão associados à vitamina D₃ (12,14).

Por fim, para exercer seus efeitos biológicos, o calcitriol age por meio da ligação com um receptor nuclear, o receptor de vitamina D (VDR) (10). VDR está presente na maioria dos tecidos e células do corpo, e regula a expressão de diversos genes, incluindo aqueles envolvidos na homeostase de cálcio e fósforo e proliferação e diferenciação celular, além de efeitos não genômicos na sinalização intracelular e fluxo de cálcio (16). Muitos desses órgãos e células onde o VDR está presente também tem a capacidade de produzir 1,25(OH)₂D (13). O metabolismo da vitamina D desde a conversão cutânea e ingestão de vitamina D até ligação do metabólito ativo aos receptores está resumido na figura 1.

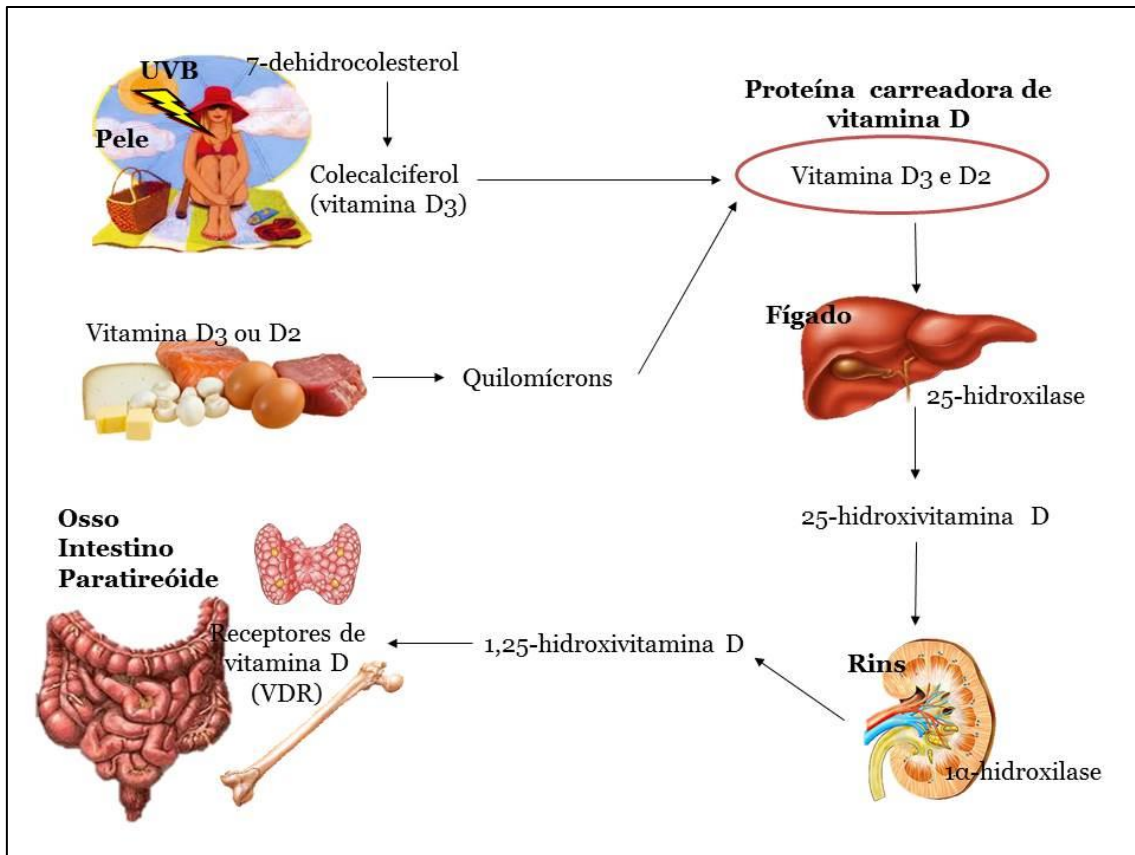


Figura 1: representação do metabolismo clássico da vitamina D. Primeiramente, ocorre a conversão fotoquímica do precursor 7-deidrocolesterol presente na pele a vitamina D₃. A vitamina D₃ e vitamina D₂ são transportadas pela proteína carreadora de vitamina D até o fígado, onde um grupo hidroxila será adicionado ao carbono 25, gerando a 25-hidroxivitamina D, que por sua vez, recebe uma nova hidroxilação nos rins pela ação da enzima 1- α hidroxilase e passa a ser o metabolito ativo da vitamina D, a 1,25 diidroxivitamina D. A 1,25 diidroxivitamina D age por meio da ligação com um receptor nuclear, o receptor de vitamina D (VDR).

A função classicamente conhecida da 1,25(OH)₂D é a manutenção do cálcio sérico por meio de série de efeitos diretos na absorção e excreção do cálcio e de inter-relações com o fosfato e PTH (10). A 1,25(OH)₂D age no intestino, aumentando a absorção de cálcio e fosfato, e paralelamente, nos rins, estimulando a reabsorção

destes íons do filtrado glomerular. No osso, a 1,25(OH)₂D age sinergicamente com o PTH, estimulando a atividade dos osteoclastos e a reabsorção óssea (17).

A ação da 1,25(OH)₂D na regulação do metabolismo ósseo acontece pela sua interação com o VDR nos osteoblastos e assim, liberação de sinais bioquímicos, levando a formação de osteoclastos maduros. Osteoclastos removem cálcio dos ossos, mantendo assim a concentração sérica de cálcio e fornecendo substratos para a mineralização óssea (10).

As concentrações séricas de cálcio e fosfato são determinadas pelo balanço entre a absorção intestinal da ingestão dietética, mobilização dos ossos e excreção renal pela urina. Todo esse metabolismo é regulado por fatores endócrinos, os sabidamente reconhecidos são PTH e vitamina D. 1,25(OH)₂D aumenta a absorção intestinal de fósforo. Junto com o cálcio mobilizado dos ossos pelos osteoclastos, fosfato também é mobilizado e removido, aumentando o nível sérico de ambos (18).

A 1,25(OH)₂D ainda pode estimular sua própria destruição nos rins e nas células que tem VDR em resposta a 1,25(OH)₂D aumentada. Ocorre um aumento na expressão da enzima 25(OH)D–24-hidroxilase, que metaboliza tanto 25(OH)D quanto 1,25(OH)₂D em forma inativas e hidrossolúveis, para que possam ser excretadas na bile (13,15).

PTH e vitamina D são intimamente relacionados. A principal função do PTH é regular a concentração de cálcio no plasma, o que também é responsável por controlar a sua síntese (17). Alterações nos níveis extracelulares de cálcio são sentidas pelos receptores sensíveis a cálcio da glândula paratireóide para regular a síntese e secreção de PTH (19). O PTH exerce suas funções nos ossos, rins e intestino. Nos ossos, o PTH provoca aumento de formação óssea, por meio de ação direta sobre os osteoblastos, e aumento da reabsorção por ação indireta sobre os osteoclastos. Portanto, o efeito global do PTH no osso é o de promover a reabsorção óssea, para fornecer cálcio e fosfato. No intestino, as funções do PTH não são diretas: o PTH estimula a absorção intestinal de cálcio por meio da estimulação da atividade

renal da 1-hidroxilase e consequente ativação da vitamina D. Já nos rins, promove a síntese de calcitriol, estimula a reabsorção de cálcio e promove fosfatúria pela inibição da reabsorção de fosfato (17). 1,25(OH)₂D, por sua vez, suprime a produção e secreção de PTH, fechando então a volta do feedback negativo (19). Diferentemente da vitamina D, o PTH não induz um balanço positivo de fósforo, porque simultaneamente, induz a fosfatúria (18). A absorção intestinal de cálcio mediada pelo calcitriol reduz a atividade da paratireoide (9).

Até recentemente, foi pensado que o metabolismo de fosfato era regulado somente pelos hormônios reguladores do cálcio, vitamina D e PTH. (19). A identificação do fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23) como um hormônio fosfático e do seu co-receptor Klotho transformou a visão clássica da regulação da homeostase de fósforo (19).

Recentes protagonistas na fisiologia da vitamina D – FGF 23 e Klotho

A relativamente recente identificação do gene Klotho por Kuro-o et al (20) e das interações endócrinas envolvendo Klotho e FGF-23 transformou a visão clássica do metabolismo de cálcio, fosfato, PTH e vitamina D.

Klotho foi identificado acidentalmente durante a produção de um modelo de ratos hipertensos. A interrupção do locus do gene resultou em fenótipo de morte prematura com múltiplos distúrbios que se assemelham a síndromes de envelhecimento prematuro como hipogonadismo, calcificação ectópica, involução prematura do timo, diminuição da mineralização óssea, atrofia da pele, enfisema pulmonar, neurodegeneração, perda de pelos e sarcopenia (18,20).

O nome Klotho se refere uma deusa da mitologia grega que tece o fio da vida. De fato, o gene Klotho, que codifica a proteína Klotho, é responsável pela regulação do envelhecimento. Esse gene é expresso primariamente em células renais (21), mas já foi identificado em células do cérebro, placenta, músculo esquelético, pituitária,

aorta, pâncreas, testículos, ovário, bexiga, colón, glândula tireóide, mama, e ouvido de ratos (20).

O FGF-23 foi recentemente identificado como um novo fator endócrino regulador de fosfato. FGF-23 é secretado por osteócitos e osteoblastos e age nos rins, induzindo a fosfatúria pela diminuição da reabsorção tubular renal, e contra regulando a síntese de vitamina D ao diminuir a codificação de 1α -hidroxilase e aumentar a codificação da 25(OH)D-24-hidroxilase, a enzima que inativa a 1,25(OH) $_2$ D. Como resultado, FGF-23 reduz 1,25(OH) $_2$ D sérica, o que, por sua vez, diminui a absorção intestinal de fosfato (18,22). Portanto, FGF-23 induz um balanço negativo de fosfato por funcionar como um hormônio fosfatúrico bem como um hormônio contra regulatório da vitamina D (18). Por ser um mecanismo contra regulatório, aumento da ingestão de fósforo dietético e aumento da 1,25-dihidroxivitamina D aumentam concentração de FGF-23, enquanto restrição dietética de fósforo tem o efeito contrário (22).

Ratos deficientes em FGF-23 desenvolvem não somente hiperfosfatemia, mas também o fenótipo de envelhecimento semelhantemente ao fenótipo observado nos ratos deficientes em Klotho, no qual hiperfosfatemia associada à calcificação vascular também se manifesta (23). Portanto, ratos deficientes em FGF-23 e em Klotho são fenotipicamente idênticos. Essas observações revelaram a relação entre FGF-23 e Klotho: Klotho forma um complexo binário com receptores de FGF-23 e funciona como um co-receptor obrigatório para o FGF-23. Portanto, FGF-23 e Klotho são fatores fundamentais na recente identificação do eixo endócrino osso-rim responsável pela homeostase de fosfato (19).

Status de vitamina D

Dosagem da concentração sérica de 25(OH)D é o método aceito para determinar o status de vitamina D. Apesar da forma biologicamente ativa ser a 1,25(OH) $_2$ D, sua quantificação não fornece informação sobre o status de vitamina D,

porque é geralmente normal ou até mesmo elevada mesmo em crianças e adultos deficientes (13), e a produção de 1,25(OH)₂D continua normal quando a concentração do substrato 25OHD é de pelo menos 15 ng/mL (24). Além disso, a meia vida da 25(OH)D (2 a 3 semanas) é maior do que da 1,25(OH)₂D (4 a 6 horas) (25).

Deficiência de vitamina D resulta em anormalidades no metabolismo de cálcio, fósforo e ósseo. Especificamente, a deficiência de vitamina D causa diminuição na eficiência da absorção intestinal de cálcio e fósforo, resultando no aumento dos níveis de PTH (26). As consequências endócrino-esqueléticas da insuficiência de 25(OH)D incluem hiperparatireoidismo secundário, aumento da remodelação, perda óssea e aumento do risco de fraturas (13).

A alta prevalência de insuficiência de vitamina D é particularmente uma questão importante de saúde pública, além de estar associada com uma série de doenças, a hipovitaminose D é um fator de risco independente para mortalidade na população geral (27).

Apesar de muitos benefícios da vitamina D para a saúde, ainda existem controvérsias sobre a definição de concentração sérica que definem a deficiência de vitamina D. De acordo com as diretrizes da Sociedade de Endocrinologia, deficiência de vitamina D é definida como nível sérico de 25(OH)D abaixo de 20 ng/ml (50 nmol/l), e insuficiência como 25(OH)D de 21 a 29 ng/ml (52.5–72.5 nmol/l) e o limite superior de até 100 ng/mL é seguro (26).

Porém, o valor de corte para a concentração sérica de 25(OH)D₃ de 30 ng/ml não foi estabelecido em relação à incidência ou prevalência de problemas de saúde de grupos populacionais. Ele foi sugerido por ser o nível associado com a supressão máxima do PTH sérico (27). Em outras palavras, níveis de 25(OH)D₃ abaixo de 20 ng/mL (limite entre insuficiência e deficiência de vitamina D, conforme a maioria dos critérios adotados) desencadeiam elevação dos níveis de PTH acima do estabelecido como normal, mas não representam, necessariamente, aumento no risco de aparecimento de doenças não ósseas (28).

Acredita-se que os ancestrais humanos na África tinham alta exposição aos raios UVB, e, portanto apresentavam níveis adequados de vitamina D. Os valores séricos de 25(OH)D de indivíduos de tribos africanas, cujo estilo de vida é semelhante aos antepassados, varia entre 30 e 45 ng/ml. Devido à intensidade de radiação UVB na África, mecanismos adaptativos para proteção contra o excesso de vitamina D provavelmente foram desenvolvidos durante a evolução humana. Isso explicaria a raridade de toxicidade de vitamina D em humanos. Em contraste, a evolução humana fora da África expôs os seres humanos a menores quantidades de radiação UVB, selecionando assim a despigmentação da pele, favorecendo a pele branca, e a síntese de melanina adaptativa, que é expressa com a exposição solar, no lugar da expressão de melanina constitutiva (24).

Nesse sentido, ainda é necessário identificar os valores séricos de referência levando em consideração não somente os benefícios da vitamina D sobre o metabolismo mineral e ósseo, mas também em outros sistemas e condições.

Deficiência de vitamina D na doença renal crônica

Com a progressão da doença renal crônica (DRC) e diminuição da enzima 1 α -hidroxilase devido ao comprometimento da estrutura renal, a conversão final da vitamina D em calcitriol é prejudicada. A deficiência de vitamina D pode estar presente em quaisquer estádios da DRC, e é um dos fatores que contribui com a patogênese da doença mineral óssea da DRC. Nessa condição a concentração sérica de fosfato e PTH tendem a ser aumentados e concentração sérica de cálcio diminuída, culminado no hiperparatireoidismo secundário e doença mineral óssea (25). Além disso, a doença mineral óssea promove a calcificação vascular, aumenta a incidência de fraturas ósseas e aumenta o risco de morbidade e mortalidade cardiovascular nesse grupo de pacientes.

Hiperfosfatemia é mais evidente em estádios avançados da DRC. Nos estágios mais precoces, aumento do FGF-23 precede aumento do PTH sérico, que por sua vez,

precede hiperfosfatemia, indicando que a desregulação do metabolismo de fosfato já acontece em estágios precoces da DRC, mesmo sem aumento da concentração sérica de fosfato. A injúria renal inicial é um estímulo para a secreção de FGF-23. Mas com a diminuição importante da função renal na DRC avançada, FGF-23 não consegue exercer sua ação fosfatúrica, resultando em hiperfosfatemia (29).

Além da influência sobre o metabolismo mineral ósseo, baixa concentração sérica de 25(OH)D e 1,25(OH)₂D per se foram associados com maior risco de mortalidade em pacientes com DRC não dialítica (30) e pacientes incidentes em hemodiálise (31). A prevalência de suficiência de vitamina D (25(OH)D > 30 ng/ml) nesses pacientes incidentes em hemodiálise foi de apenas 22% (31).

Ensaios clínicos mostram que a suplementação de colecalciferol ou mesmo ergocalciferol em pacientes em hemodiálise é capaz de normalizar a concentração sérica de 25(OH)D (32,33), e aumentar concentração sérica de 1,25(OH)₂D (34). Não houve alterações significativas no fosfato e cálcio séricos (32–34), mostrando que a suplementação da vitamina D não ativa é segura. O efeito da suplementação de colecalciferol sobre a concentração de PTH ainda é controverso em DRC (35) e diálise (36,37).

Alguns autores defendem que o FGF-23 é o primeiro marcador do metabolismo mineral alterado na DRC, mesmo nos estágios mais precoces (22). Essa elevação do FGF-23 é uma resposta inicial adaptativa à DRC para prevenção da retenção de fosfato. Como consequência à elevação do FGF-23, ocorre diminuição da ativação renal de vitamina D pela inibição da enzima 1 α -hidroxilase. Isso indica que nos estágios precoces da DRC, o nível sérico de fosfato é mantido normal pelo aumento do FGF-23 para compensar a habilidade reduzida dos rins em excretar fosfato, e isso resulta na redução da ativação renal de 1,25(OH)₂D (21,22). Porém, há indícios de que a diminuição da expressão da proteína Klotho e de 1 α -hidroxilase ocorrem já com os danos iniciais aos rins, resultando em aumento do FGF-23 e consequentemente do PTH (38–40). Além disso, com a produção insuficiente de Klotho, aconteceria

resistência ao FGF-23, que precisa de seu cofator para exercer suas funções, como a supressão do PTH (41). Sendo assim, é difícil determinar qual dos dois marcadores é o primeiro a ser alterado pela DRC.

A diminuição da concentração sérica de 1,25(OH)₂D também é responsável pelo aumento do PTH devido à diminuição da absorção intestinal de cálcio. PTH mantém a calcemia à custa de estimulação da remodelação óssea, redução da excreção renal de cálcio e aumento da atividade de 1 α -hidroxilase. 1,25(OH)₂D também age como regulador do Klotho, e com sua diminuição, expressão de Klotho também é reduzida (21,22).

Em resumo, na DRC todos esses mecanismos resultam em alto PTH, baixo calcitriol e baixo Klotho que, por sua vez, promovem aumento do fosfato sérico, e consequentemente, mais estímulo ao aumento do FGF-23. Apesar de já ocorrerem alterações nos marcadores nos estágios iniciais da DRC, ainda não há déficit significativo na eliminação renal de fosfato. Porém, nos estágios mais avançados da doença, fosfato sérico permanece cronicamente elevado, mantendo esse ciclo (21,22).

Além dos efeitos deletérios já conhecidos causados pelo aumento da concentração sérica de fosfato, a elevação do FGF-23 e diminuição de Klotho também têm sido associadas com desfechos adversos (42). O aumento do FGF-23 na DRC não dialítica está associado positivamente com hipertrofia ventricular esquerda (43), progressão da DRC (44) e maiores risco de atingir o estágio final da DRC e de mortalidade (45). Enquanto menores concentrações séricas de Klotho foram associadas com progressão mais rápida da DRC e maior risco de mortalidade em DRC não dialítica (46), doença arterial coronariana e hipertrofia ventricular esquerda em pacientes em diálise (47), e maior risco de mortalidade por todas as causas e cardiovascular em pacientes em hemodiálise (48).

A partir dos resultados obtidos em estudos observacionais, é necessário investigar a real implicação de FGF-23 e Klotho na saúde dos indivíduos com DRC, bem como os mecanismos que promovem complicações, para assim, propor novas

intervenções com objetivo de atenuá-las. Além disso, a suplementação de vitamina D tem se mostrado uma intervenção em potencial na regulação do metabolismo mineral ósseo da população com DRC.

Reconhecimento das funções extra ósseas da vitamina D

Recentemente, o interesse da comunidade científica voltou-se para a possível associação da vitamina D com manifestações clínicas não ósseas, cujas consequências para a saúde pública podem ser significativas (28), já que se estima que um bilhão de pessoas sejam deficientes em vitamina D no mundo (15). Baixa concentração sérica de 25(OH)D já foi associada com aumento do risco de patologias não ósseas como alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares, quedas, desordens do metabolismo de glicose e diabetes, doenças autoimunes, alergias, fragilidade, depressão, doenças neurodegenerativas, complicações na gravidez e mortalidade (13,15,27,49).

Doenças crônicas podem levar à reclusão dos pacientes, baixa exposição solar, sedentarismo, anorexia, piora da alimentação e do estado nutricional, que os predis põem à queda dos níveis circulantes de 25(OH)D (28,50). Também existem algumas evidências de que condições inflamatórias reduzem a concentração da proteína ligante de vitamina D, e isso pode contribuir para algumas associações com essas doenças (50).

Apesar da associação de baixa concentração sérica de vitamina D com diversas doenças não ósseas, a relação de causa-efeito entre elas precisa ser mais explorada com estudos epidemiológicos de grande porte e ensaios clínicos randomizados e controlados (28).

Prevenção de quedas

Estudos relacionaram a suplementação de vitamina D com diminuição de fraturas, não somente pelos efeitos na saúde óssea que essa vitamina exerce, mas

possivelmente pela diminuição no risco de quedas. Bischoff-Ferrari *et al.* (51) mostraram em metanálise com oito ensaios randomizados controlados (2426 indivíduos) que a suplementação de vitamina D (colecalfiferol ou ergocalciferol) em idosos diminuiu o risco de quedas em 13%. Ao analisar somente os estudos em que foi administrada suplementação com doses de vitamina D entre 700-1000 IU, o risco de quedas foi reduzido em 19%. Atingir a concentração sérica de pelo menos 60 nmol/l (24 ng/ml) resulta em 23% de redução do risco de queda.

A partir dessas evidências da vitamina D na prevenção de quedas, não somente de fraturas ósseas, estudos começaram a verificar o efeito da vitamina D sobre o músculo.

Força e função muscular

Apesar da existência de VDR em células musculares ter sido questionada (52), estudos mais recentes mostram dados convincentes confirmando a presença desses receptores no músculo (53,54).

Para exercer seus efeitos biológicos, o calcitriol age por meio da ligação com o VDR e induzindo efeitos genômicos, levando à síntese de novas proteínas que afetam a contratilidade da célula muscular, sua proliferação e diferenciação. O calcitriol também está ligado à regulação do transporte de cálcio no retículo sarcoplasmático (55).

Manifestações musculares como fraqueza muscular proximal, dor muscular difusa e prejuízo de marcha são sintomas clínicos bem conhecidos da deficiência de vitamina D (56). De fato, análises transversais mostraram resultados que associam positivamente concentração sérica de vitamina D com maior massa muscular (57–61), força muscular (58,61–64) e capacidade física (58,59,65).

Ensaio clínicos controlados, duplo-cegos, em diversas populações mostram o efeito benéfico da suplementação de vitamina D sobre a função e força muscular (66,67) e conservação da massa muscular (66). Porém outros ensaios mostraram

resultados contrários, sem efeitos sobre a força e função (68,69). Estudos avaliaram com biópsia muscular os efeitos da vitamina D nas células musculares, e mostraram que a suplementação com vitamina D promoveu aumento da área das fibras musculares (53,70), principalmente do tipo II (67,70). As fibras musculares do tipo II são as fibras de contração rápida e forte, recrutadas em prevenção de quedas. Isso explica o efeito da vitamina D nesta situação, já mostrado por metanálises (51,71,72).

Sabe-se que a concentração de 25(OH)D depende de uma série de fatores ambientais e comportamentais. Porém, mais recentemente, constituição genética tem sido associada com status de vitamina D (73), bem como polimorfismos de genótipos com fenótipos musculoesqueléticos. Polimorfismos do VDR foram associados com quedas (74), força muscular (75,76) e massa muscular (77). Portanto, padrões genéticos individuais podem explicar inconsistências nos resultados de alguns estudos que relacionam status de vitamina D com função, força e massa muscular.

Terapias em potencial para perda de massa e função muscular – foco nos efeitos da vitamina D sobre o músculo

Ensaio clínico com suplementação de vitamina D mostram resultados positivos no músculo: em mulheres na menopausa, houve aumento significativo na quantidade de VDR intramionucleares no grupo suplementado com colecalciferol por quatro meses (53). A suplementação com colecalciferol em homens jovens e deficientes em vitamina D após um dano muscular promoveu aumento significativo na recuperação de torque (78). Agergaard et al (70) verificaram diminuição na expressão de mRNA de miostatina em adultos jovens, ensaio cuja intervenção contou com treinamento de resistência além da suplementação de vitamina D. Sinha *et al* (79) mostraram que a terapia com colecalciferol em indivíduos com deficiência severa de vitamina D e sintomáticos resultou em aumento da função mitocondrial, além da melhora dos sintomas de miopatia e fadiga em todos os pacientes.

No ensaio clínico que avaliou o efeito da suplementação com colecalciferol sobre a força muscular e capacidade física de pacientes em hemodiálise, não houve resultados favoráveis para a suplementação (33). Enquanto, em pacientes com diabetes e DRC, Mager et al (80) verificaram aumento da função física avaliada pelo questionário SF-36 em pacientes suplementados diariamente com colecalciferol durante seis meses.

Em estudo transversal, Gordon et al (61) verificaram que pacientes com DRC em hemodiálise que recebiam calcitriol ou paracalcitol apresentaram melhores resultados em testes de desempenho físico, maior força e massa muscular do que aqueles que não recebiam.

Ensaio clínico em pacientes em hemodiálise mostram que a suplementação com vitamina D apresentou efeitos positivos sobre o perfil inflamatório (36,37,81), o que poderia indiretamente influenciar o estado nutricional, já que a desnutrição na DRC está intimamente relacionada com inflamação.

Estudos experimentais mostram uma série de efeitos moleculares e celulares da vitamina D sobre o músculo. Girgis et al (54) verificaram que ratos com ausência de VDR apresentaram menor força e tamanho muscular e maior expressão de miostatina, independente da concentração sérica de cálcio e fósforo. Também foi verificado que tanto os animais sem VDR quanto os animais com VDR e deficientes em vitamina D apresentaram regulação negativa dos genes responsáveis pelo fluxo de cálcio, confirmando o papel da vitamina D no fluxo de cálcio para o meio intramuscular também via mecanismos genômicos.

Domingues-Faria et al (82) mostraram que ratos idosos deficientes em vitamina D apresentaram diminuição da expressão de VDR muscular, além da diminuição de expressão de mRNA de genes que regulam apoptose, metabolismo, anabolismo, miogênese, proliferação celular e estrutura da célula muscular. Em relação à composição corporal, houve aumento da gordura corporal e diminuição da massa magra, particularmente nas fibras musculares do tipo II.

Owens et al (78) verificaram experimentalmente que a vitamina D teve efeito melhorando a velocidade e distância de migração de células derivadas do músculo de tecido humano de biópsias, submetido à injúria mecânica; a migração de células musculares progenitoras para o sítio onde ocorreu o dano é o evento inicial para a reparação e remodelação muscular.

Em estudo in vitro, Garcia et al (83) mostraram que calcitriol aumentou a expressão de VDR, diminuiu a proliferação e promoveu diferenciação miogênica em células musculares de ratos, incluindo inibição da miostatina e estimulação da folistatina. A miostatina é a principal miocina que inibe o crescimento da massa muscular esquelética. Sua expressão pode induzir um balanço negativo entre síntese e quebra proteica do músculo esquelético. A folistatina, por sua vez, é uma miocina inibidora da atividade da miostatina e promove crescimento muscular.

Nível sérico de miostatina foi associado negativamente com força de preensão manual em pacientes em hemodiálise, e não foi associado com massa muscular (84). Em pacientes em diálise peritoneal, miostatina foi associada negativamente com uso de calcitriol e alfacalcidol, bem como com sua dose (85).

Uma das características do fenótipo de envelhecimento expresso pela redução da concentração circulante de Klotho em modelos animais é a sarcopenia. De fato, concentração plasmática de Klotho foi associada positivamente com força muscular em idosos (86,87) e o declínio da força muscular foi menor em indivíduos idosos com nível plasmático de Klotho mais alto (87). O papel de Klotho na força muscular ainda não é bem compreendido. A avaliação de Klotho em ensaios que suplementem vitamina D pode colaborar na explicação dos mecanismos de influência de ambos sobre o músculo e em novas estratégias terapêuticas para prevenção da perda de massa e força muscular.

Portanto, efeitos morfológicos, moleculares e fisiológicos da vitamina D sobre o músculo, tanto em estudos em animais quanto em humanos, já foram descritos. Os resultados indicam que a vitamina D pode ser um terapêutico em potencial para

aumentar massa e função muscular. Já é bem estabelecida a presença de VDR em células musculares e o efeito da vitamina D sobre o músculo é importante, embora ainda haja a necessidade de evidências mais consistentes sobre o tema.

Perda de massa e função muscular na doença renal crônica – desnutrição e sobrevida

Além dos distúrbios no metabolismo mineral ósseo, pacientes com DRC estão em risco aumentado de *protein energy wasting* (PEW), caracterizado principalmente pela perda de estoques corporais de proteína e de energia, frequentemente induzida pela inflamação (88).

Vários fatores estão relacionados com o desenvolvimento do PEW: diminuição da ingestão alimentar, processo inflamatório, perda de nutrientes para o dialisato, acidose metabólica, e desordens endócrinas, dentre elas o hiperparatireoidismo (88). A DRC parece afetar mecanismos moleculares e celulares que regulam o crescimento e degradação muscular, como diminuir a função das células satélites do músculo, diminuição dos marcadores de síntese muscular (*mammalian target of rapamycin* - mTor e quinase s6), aumento da atividade do sistema de degradação muscular ubiquitina proteosoma e estimulação da quebra muscular pela acidose metabólica (89).

Marcadores de massa e força muscular são importantes preditores de piores desfechos em população em hemodiálise (90–95), bem como métodos compostos para avaliação do estado nutricional (96,97). Portanto, PEW é um importante fator na predição de morbidade e mortalidade nessa população (88).

A perda de massa muscular está associada com diminuição da qualidade de vida (95) e da capacidade funcional (88) em pacientes em hemodiálise, que por sua vez, leva a perpetuação do estilo de vida sedentário, favorecendo um círculo vicioso de perda de massa muscular. Já foi verificado que o ganho de peso em pacientes em hemodiálise à custa de ganho de massa muscular diminui o risco de mortalidade, esse

risco não aumenta quando ocorre perda de peso corporal acompanhado de ganho de massa muscular, mas aumenta quando ocorre ganho de peso corporal acompanhado de diminuição de massa muscular (98). Esses resultados mostram a importância do aumento da massa magra em pacientes em hemodiálise.

Por isso, ensaios clínicos com intervenções que tenham como objetivo promover o ganho de massa muscular, bem como o aumento da capacidade física e função muscular precisam ser investigadas, para assim, verificar se também promovem maior qualidade de vida e menor risco de mortalidade em pacientes com DRC e em terapia dialítica.

Considerações finais

Desde o reconhecimento da vitamina D, há cerca de um século, até os estudos mais atuais, novos mecanismos de ação e funções foram identificados e atribuídos à vitamina D. Porém, devido às diversas associações encontradas em condições clínicas diversas, é necessário maior nível de evidências, e acurada interpretação fisiopatológica partindo de delineamentos que verifiquem o real efeito da vitamina D. Muito tem se falado sobre seus efeitos no músculo, mas parece haver grande importância da vitamina D no sistema cardiovascular, imunidade, prevenção de câncer e diversas outras condições clínicas. Para pacientes com doença renal crônica, cujo metabolismo da vitamina D é reconhecidamente prejudicado, e que apresentam altas taxas de doença cardiovascular, envelhecimento precoce e risco de mortalidade aumentado, essa importância é ainda maior. Por isso, estudos longitudinais são necessários para verificar o efeito do status de vitamina D em desfechos, bem como ensaios randomizados e controlados a fim de verificar os efeitos da suplementação de vitamina D.

Referências

1. Chick DH. Study of rickets in Vienna 1919-1922. *Med Hist.* 1976 ;20(1):41–51.
2. Rajakumar K, Greenspan SL, Thomas SB, Holick MF. SOLAR ultraviolet radiation and vitamin D: a historical perspective. *Am J Public Health.* 2007;97(10):1746–54.
3. Martins e Silva J. [Brief history of rickets and of the discovery of vitamin D]. *Acta Reumatol Port.* 2007;32(3):205–29.
4. Rajakumar K. Vitamin D, cod-liver oil, sunlight, and rickets: a historical perspective. *Pediatrics.* 2003 ;112(2):e132-135.
5. Deluca HF. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites. *Bone Key Rep.* 2014;3:479.
6. McCollum EV. The paths to the discovery of vitamins A and D. *J Nutr.* 1967; 91(2):Suppl 1:11-16.
7. Hess AF, Unger LJ, Pappenheimer AM. Experimental rickets in rats : VII. The prevention of rickets by sunlight, by the rays of the mercury vapor lamp, and by the carbon arc lamp. *J Exp Med.* 1922 30;36(4):427–46.
8. Wacker M, Holick MF. Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermatoendocrinol.* 2013 ;5(1):51–108.
9. Borel P, Caillaud D, Cano NJ. Vitamin D bioavailability: state of the art. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2015;55(9):1193–205.
10. Cuppari L, Garcia-Lopes MG. Hypovitaminosis D in chronic kidney disease patients: prevalence and treatment. *J Ren Nutr.* 2009;19(1):38–43.
11. Cuppari L, Garcia Lopes MG, Kamimura MA. Vitamin D biology: from the discovery to its significance in chronic kidney disease. *J Ren Nutr.* 2011; 21(1):113–6.
12. Alves M, Bastos M, Leitão F, Marques G, Ribeiro G, Carrilho F. Vitamina D—importância da avaliação laboratorial. *Rev Port Endocrinol Diabetes E Metab.* 2013;8(1):32–9.
13. Hossein-nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc.* 2013;88(7):720–55.
14. Nair R, Maseeh A. Vitamin D: The “sunshine” vitamin. *J Pharmacol Pharmacother.* 2012;3(2):118–26.
15. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007 ;357(3):266–81.
16. Girgis CM, Clifton-Bligh RJ, Hamrick MW, Holick MF, Gunton JE. The roles of vitamin D in skeletal muscle: form, function, and metabolism. *Endocr Rev.* 2013; 34(1):33–83.
17. Constanzo, Linda. Fisiologia endócrina. In: *Fisiologia.* 4th ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2011. p. 379–442.

18. Kuro-o M. Klotho and aging. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1790(10):1049–58.
19. John GB, Cheng C-Y, Kuro-o M. Role of Klotho in aging, phosphate metabolism, and CKD. *Am J Kidney Dis*. 2011;58(1):127–34.
20. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*. 1997;390(6655):45–51.
21. Kuro-o M. Klotho and the aging process. *Korean J Intern Med*. 2011; 26(2):113–22.
22. Diniz H, Frazão JM. The role of fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease-mineral and bone disorder. *Nefrol*. 2013;33(6):835–44.
23. Kuro-o M. Klotho as a regulator of fibroblast growth factor signaling and phosphate/calcium metabolism. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2006;15(4):437–41.
24. Bouillon R, Van Schoor NM, Gielen E, Boonen S, Mathieu C, Vanderschueren D, et al. Optimal vitamin D status: a critical analysis on the basis of evidence-based medicine. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(8):E1283-1304.
25. Goldsmith DJA. Pro: Should we correct vitamin D deficiency/insufficiency in chronic kidney disease patients with inactive forms of vitamin D or just treat them with active vitamin D forms? *Nephrol Dial Transplant*. 2016 ;31(5):698–705.
26. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911–30.
27. Melamed ML, Michos ED, Post W, Astor B. 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med*. 2008;168(15):1629–37.
28. Lichtenstein A, Ferreira-Júnior M, Sales MM, Aguiar FB de, Fonseca LAM, Sumita NM, et al. Vitamin D: non-skeletal actions and rational use. *Rev Assoc Médica Bras*. 2013;59(5):495–506.
29. Isakova T, Wahl P, Vargas G, Gutierrez OM, Sciala J, Xie H, et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2011 ;79:1370–78.
30. Ravani P, Malberti F, Tripepi G, Pecchini P, Cutrupi S, Pizzini P, et al. Vitamin D levels and patient outcome in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2009;75(1):88–95.
31. Wolf M, Shah A, Gutierrez O, Ankers E, Monroy M, Tamez H, et al. Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2007; 72(8):1004–13.
32. Bhan I, Dobens D, Tamez H, Deferio JJ, Li YC, Warren HS, et al. Nutritional vitamin D supplementation in dialysis: a randomized trial. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10(4):611–9.

33. Hewitt NA, O'Connor AA, O'Shaughnessy DV, Elder GJ. Effects of cholecalciferol on functional, biochemical, vascular, and quality of life outcomes in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013;8(7):1143–9.
34. Massart A, Debelles FD, Racapé J, Gervy C, Husson C, Dhaene M, et al. Biochemical parameters after cholecalciferol repletion in hemodialysis: results From the VitaDial randomized trial. *Am J Kidney Dis*. 2014;64(5):696–705.
35. Garcia-Lopes MG, Pillar R, Kamimura MA, Rocha LA, Canziani MEF, Carvalho AB, et al. Cholecalciferol supplementation in chronic kidney disease: restoration of vitamin D status and impact on parathyroid hormone. *Ann Nutr Metab*. 2012;61(1):74–82.
36. Buchares S, Barberato SH, Stinghen AEM, Gruber B, Piekala L, Dambiski AC, et al. Impact of cholecalciferol treatment on biomarkers of inflammation and myocardial structure in hemodialysis patients without hyperparathyroidism. *J Ren Nutr*. 2012;22(2):284–91.
37. Matias PJ, Jorge C, Ferreira C, Borges M, Aires I, Amaral T, et al. Cholecalciferol supplementation in hemodialysis patients: effects on mineral metabolism, inflammation, and cardiac dimension parameters. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(5):905–11.
38. Pavik I, Jaeger P, Ebner L, Wagner CA, Petzold K, Spichtig D, et al. Secreted Klotho and FGF23 in chronic kidney disease Stage 1 to 5: a sequence suggested from a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(2):352–9.
39. Shimamura Y, Hamada K, Inoue K, Ogata K, Ishihara M, Kagawa T, et al. Serum levels of soluble secreted α -Klotho are decreased in the early stages of chronic kidney disease, making it a probable novel biomarker for early diagnosis. *Clin Exp Nephrol*. 2012;16(5):722–9.
40. Rotondi S, Pasquali M, Tartaglione L, Muci ML, Mandanici G, Leonangeli C, et al. Soluble α -Klotho Serum Levels in Chronic Kidney Disease. *Int J Endocrinol*. 2015;2015:872193.
41. Kuro-O M. Phosphate and Klotho. *Kidney Int*. 2011;79(121):S20–23.
42. Salanova Villanueva L, Sánchez González C, Sánchez Tomero JA, Aguilera A, Ortega Junco E. Bone mineral disorder in chronic kidney disease: Klotho and FGF23; cardiovascular implications. *Nefrol*. 2016;36(4):368–75.
43. Faul C, Amaral AP, Oskoue B, Hu M-C, Sloan A, Isakova T, et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest*. 2011;121(11):4393–408.
44. Fliser D, Kollerits B, Neyer U, Ankerst DP, Lhotta K, Lingenhel A, et al. Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18(9):2600–8.
45. Isakova T, Xie H, Yang W, Xie D, Anderson AH, Scialla J, et al. Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *JAMA*. 2011;305(23):2432–9.

46. Kim HR, Nam BY, Kim DW, Kang MW, Han J-H, Lee MJ, et al. Circulating α -klotho levels in CKD and relationship to progression. *Am J Kidney Dis.* 2013; 61(6):899–909.
47. Buiten MS, de Bie MK, Bouma-de Krijger A, van Dam B, Dekker FW, Jukema JW, et al. Soluble Klotho is not independently associated with cardiovascular disease in a population of dialysis patients. *BMC Nephrol.* 2014 11;15:197.
48. Otani-Takei N, Masuda T, Akimoto T, Honma S, Watanabe Y, Shiizaki K, et al. Association between Serum Soluble Klotho Levels and Mortality in Chronic Hemodialysis Patients. *Int J Endocrinol.* 2015;2015:406269.
49. Caprio M, Infante M, Calanchini M, Mammi C, Fabbri A. Vitamin D: not just the bone. Evidence for beneficial pleiotropic extraskelatal effects. *Eat Weight Disord.* 2016.
50. Scott MG, Gronowski AM, Reid IR, Holick MF, Thadhani R, Phinney K. Vitamin D: the more we know, the less we know. *Clin Chem.* 2015;61(3):462–5.
51. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, Orav JE, Stuck AE, Theiler R, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ.* 2009;339:b3692.
52. Wang Y, DeLuca HF. Is the vitamin d receptor found in muscle? *Endocrinology.* 2011;152(2):354–63.
53. Ceglia L, Niramitmahapanya S, da Silva Morais M, Rivas DA, Harris SS, Bischoff-Ferrari H, et al. A randomized study on the effect of vitamin D₃ supplementation on skeletal muscle morphology and vitamin D receptor concentration in older women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(12):E1927-1935.
54. Girgis CM, Cha KM, Houweling PJ, Rao R, Mokbel N, Lin M, et al. Vitamin D Receptor Ablation and Vitamin D Deficiency Result in Reduced Grip Strength, Altered Muscle Fibers, and Increased Myostatin in Mice. *Calcif Tissue Int.* 2015; 97(6):602–10.
55. Cipriani C, Pepe J, Piemonte S, Colangelo L, Cilli M, Minisola S. Vitamin d and its relationship with obesity and muscle. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:841248.
56. Beaudart C, Buckinx F, Rabenda V, Gillain S, Cavalier E, Slomian J, et al. The effects of vitamin D on skeletal muscle strength, muscle mass, and muscle power: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(11):4336–45.
57. Shantavasinkul PC, Phanachet P, Puchaiwattananon O, Chailurkit L, Lapananon T, Chanprasertyotin S, et al. Vitamin D status is a determinant of skeletal muscle mass in obesity according to body fat percentage. *Nutr.* 2015;31(6):801–6.
58. Janssen HCJP, Emmelot-Vonk MH, Verhaar HJJ, van der Schouw YT. Vitamin D and muscle function: is there a threshold in the relation? *J Am Med Dir Assoc.* 2013;14(8):627.e13-18.
59. Tieland M, Brouwer-Brolsma EM, Nienaber-Rousseau C, van Loon LJC, De Groot LCPGM. Low vitamin D status is associated with reduced muscle mass and impaired physical performance in frail elderly people. *Eur J Clin Nutr.* 2013; 67(10):1050–5.

60. Gordon PL, Doyle JW, Johansen KL. Association of 1,25-dihydroxyvitamin D levels with physical performance and thigh muscle cross-sectional area in chronic kidney disease stage 3 and 4. *J Ren Nutr.* 2012;22(4):423–33.
61. Gordon PL, Sakkas GK, Doyle JW, Shubert T, Johansen KL. Relationship between vitamin D and muscle size and strength in patients on hemodialysis. *J Ren Nutr.* 2007;17(6):397–407.
62. Dhanwal DK, Dharmshaktu P, Gautam VK, Gupta N, Saxena A. Hand grip strength and its correlation with vitamin D in Indian patients with hip fracture. *Arch Osteoporos.* 2013;8:158.
63. von Hurst PR, Conlon C, Foskett A. Vitamin D status predicts hand-grip strength in young adult women living in Auckland, New Zealand. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;136:330–2.
64. Grimaldi AS, Parker BA, Capizzi JA, Clarkson PM, Pescatello LS, White MC, et al. 25(OH) vitamin D is associated with greater muscle strength in healthy men and women. *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45(1):157–62.
65. Houston DK, Tooze JA, Davis CC, Chaves PHM, Hirsch CH, Robbins JA, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and physical function in older adults: the Cardiovascular Health Study All Stars. *J Am Geriatr Soc.* 2011;59(10):1793–801.
66. Cangussu LM, Nahas-Neto J, Orsatti CL, Bueloni-Dias FN, Nahas E a. P. Effect of vitamin D supplementation alone on muscle function in postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Osteoporos Int J.* 2015;26(10):2413–21.
67. Sato Y, Iwamoto J, Kanoko T, Satoh K. Low-dose vitamin D prevents muscular atrophy and reduces falls and hip fractures in women after stroke: a randomized controlled trial. *Cerebrovasc Dis.* 2005;20(3):187–92.
68. Knutsen KV, Madar AA, Lagerløv P, Brekke M, Raastad T, Stene LC, et al. Does vitamin D improve muscle strength in adults? A randomized, double-blind, placebo-controlled trial among ethnic minorities in Norway. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(1):194–202.
69. Goswami R, Vatsa M, Sreenivas V, Singh U, Gupta N, Lakshmy R, et al. Skeletal muscle strength in young Asian Indian females after vitamin D and calcium supplementation: a double-blind randomized controlled clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(12):4709–16.
70. Agergaard J, Trøstrup J, Uth J, Iversen JV, Boesen A, Andersen JL, et al. Does vitamin-D intake during resistance training improve the skeletal muscle hypertrophic and strength response in young and elderly men? - a randomized controlled trial. *Nutr Metab.* 2015;12:32.
71. Murad MH, Elamin KB, Abu Elnour NO, Elamin MB, Alkatib AA, Fatourehchi MM, et al. Clinical review: The effect of vitamin D on falls: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(10):2997–3006.
72. O'Donnell S, Moher D, Thomas K, Hanley DA, Cranney A. Systematic review of the benefits and harms of calcitriol and alfacalcidol for fractures and falls. *J Bone Miner Metab.* 2008;26(6):531–42.

73. Brouwer-Brolsma EM, Vaes AMM, van der Zwaluw NL, van Wijngaarden JP, Swart KMA, Ham AC, et al. Relative importance of summer sun exposure, vitamin D intake, and genes to vitamin D status in Dutch older adults: The B-PROOF study. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;164:168–76.
74. Onder G, Capoluongo E, Danese P, Settanni S, Russo A, Concolino P, et al. Vitamin D receptor polymorphisms and falls among older adults living in the community: results from the iSIRENTE study. *J Bone Miner Res.* 2008; 23(7):1031–6.
75. Geusens P, Vandevyver C, Vanhoof J, Cassiman JJ, Boonen S, Raus J. Quadriceps and grip strength are related to vitamin D receptor genotype in elderly nonobese women. *J Bone Miner Res.* 1997;12(12):2082–8.
76. Wang P, Ma LH, Wang HY, Zhang W, Tian Q, Cao DN, et al. Association between polymorphisms of vitamin D receptor gene Apal, BsmI and TaqI and muscular strength in young Chinese women. *Int J Sports Med.* 2006;27(3):182–6.
77. Roth SM, Zmuda JM, Cauley JA, Shea PR, Ferrell RE. Vitamin D receptor genotype is associated with fat-free mass and sarcopenia in elderly men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2004;59(1):10–5.
78. Owens DJ, Sharples AP, Polydorou I, Alwan N, Donovan T, Tang J, et al. A systems-based investigation into vitamin D and skeletal muscle repair, regeneration, and hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2015; 309(12):E1019-1031.
79. Sinha A, Hollingsworth KG, Ball S, Cheetham T. Improving the vitamin D status of vitamin D deficient adults is associated with improved mitochondrial oxidative function in skeletal muscle. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(3):E509-513.
80. Mager DR, Jackson ST, Hoffmann MR, Jindal K, Senior PA. Vitamin D3 supplementation, bone health and quality of life in adults with diabetes and chronic kidney disease: Results of an open label randomized clinical trial. *Clin Nutr.* 2016.
81. Meireles MS, Kamimura MA, Dalboni MA, Giffoni de Carvalho JT, Aoike DT, Cuppari L. Effect of cholecalciferol on vitamin D-regulatory proteins in monocytes and on inflammatory markers in dialysis patients: A randomized controlled trial. *Clin Nutr.* 2016; 35(6):1251-8.
82. Domingues-Faria C, Chanet A, Salles J, Berry A, Giraudet C, Patrac V, et al. Vitamin D deficiency down-regulates Notch pathway contributing to skeletal muscle atrophy in old wistar rats. *Nutr Metab.* 2014;11(1):47.
83. Garcia LA, King KK, Ferrini MG, Norris KC, Artaza JN. 1,25(OH)₂vitamin D₃ stimulates myogenic differentiation by inhibiting cell proliferation and modulating the expression of promyogenic growth factors and myostatin in C2C12 skeletal muscle cells. *Endocrinology.* 2011;152(8):2976–86.
84. Han D-S, Chen Y-M, Lin S-Y, Chang H-H, Huang T-M, Chi Y-C, et al. Serum myostatin levels and grip strength in normal subjects and patients on maintenance haemodialysis. *Clin Endocrinol.* 2011;75(6):857–63.

85. Yamada S, Tsuruya K, Yoshida H, Tokumoto M, Ueki K, Ooboshi H, et al. Factors Associated with the Serum Myostatin Level in Patients Undergoing Peritoneal Dialysis: Potential Effects of Skeletal Muscle Mass and Vitamin D Receptor Activator Use. *Calcif Tissue Int.* 2016;99(1):13–22.
86. Semba RD, Cappola AR, Sun K, Bandinelli S, Dalal M, Crasto C, et al. Relationship of low plasma klotho with poor grip strength in older community-dwelling adults: the InCHIANTI study. *Eur J Appl Physiol.* 2012;112(4):1215–20.
87. Semba RD, Ferrucci L, Sun K, Simonsick E, Turner R, Miljkovic I, et al. Low Plasma Klotho Concentrations and Decline of Knee Strength in Older Adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2016;71(1):103–8.
88. Fouque D, Kalantar-Zadeh K, Kopple J, Cano N, Chauveau P, Cuppari L, et al. A proposed nomenclature and diagnostic criteria for protein-energy wasting in acute and chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2008;73(4):391–8.
89. Wang XH, Mitch WE. Mechanisms of muscle wasting in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10(9):504–16.
90. Isoyama N, Qureshi AR, Avesani CM, Lindholm B, Bàràny P, Heimbürger O, et al. Comparative associations of muscle mass and muscle strength with mortality in dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2014;9(10):1720–8.
91. Vogt BP, Borges MCC, Goés CR de, Caramori JCT. Handgrip strength is an independent predictor of all-cause mortality in maintenance dialysis patients. *Clin Nutr.* 2016;35(6):1429–33.
92. Matos CM, Silva LF, Santana LD, Santos LS, Protásio BM, Rocha MT, et al. Handgrip strength at baseline and mortality risk in a cohort of women and men on hemodialysis: a 4-year study. *J Ren Nutr.* 2014;24(3):157–62.
93. Araújo IC de, Kamimura MA, Draibe SA, Canziani MEF, Manfredi SR, Avesani CM, et al. Nutritional parameters and mortality in incident hemodialysis patients. *J Ren Nutr.* 2006;16(1):27–35.
94. Beddhu S, Pappas LM, Ramkumar N, Samore M. Effects of body size and body composition on survival in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(9):2366–72.
95. Noori N, Kopple JD, Kovesdy CP, Feroze U, Sim JJ, Murali SB, et al. Mid-arm muscle circumference and quality of life and survival in maintenance hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010 ;5(12):2258–68.
96. Vogt BP, Caramori JCT. Are Nutritional Composed Scoring Systems and Protein-Energy Wasting Score Associated With Mortality in Maintenance Hemodialysis Patients? *J Ren Nutr.* 2016;26(3):183–9.
97. Kalantar-Zadeh K, Kopple JD, Block G, Humphreys MH. A malnutrition-inflammation score is correlated with morbidity and mortality in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2001;38(6):1251–63.
98. Kalantar-Zadeh K, Streja E, Molnar MZ, Lukowsky LR, Krishnan M, Kovesdy CP, et al. Mortality prediction by surrogates of body composition: an examination of the obesity paradox in hemodialysis patients using composite ranking score analysis. *Am J Epidemiol.* 2012;175(8):793–803.

Ensaio clínico

*Efeitos da suplementação de vitamina D e
treinamento aeróbio sobre perfil lipídico, função
muscular e composição corporal de pacientes em
hemodiálise crônica: ensaio randomizado controlado*

Resumo

Introdução: Depleção de massa e de função muscular é comum em pacientes em hemodiálise, bem como a deficiência de vitamina D. A suplementação de vitamina D tem efeitos positivos no músculo e ensaios clínicos que combinaram suplementação de vitamina D e treinamento físico promoveram melhora em testes de capacidade funcional e qualidade do músculo em idosos.

Objetivo: Avaliar os efeitos da suplementação de vitamina D e treinamento aeróbico intradialítico (TAID) sobre parâmetros bioquímicos, composição corporal e função muscular de pacientes em hemodiálise.

Metodologia: ensaio clínico com dois braços: randomizado, controlado e duplo cego para vitamina D, e randomizado, controlado e aberto para TAID em indivíduos em hemodiálise. Os pacientes foram randomizados em um dos quatro grupos: suplementação com vitamina D + TAID, placebo + TAID, suplementação com vitamina D, e placebo. Massa muscular foi avaliada por DEXA e função muscular foi avaliada pela força de preensão manual. A intervenção teve duração de 16 semanas. O programa de exercício aeróbico foi realizado em bicicleta ergométrica, três vezes por semana, durante a sessão de hemodiálise. A suplementação de vitamina D foi de 50.000 UI/semana de colecalciferol e status de vitamina D foi avaliado pela concentração sérica de 25-hidroxivitamina D (25(OH)D).

Resultados: vinte e nove pacientes foram incluídos no ensaio. Nove foram excluídos durante a intervenção. Vitamina D sérica aumentou em ambos os grupos suplementados com colecalciferol (pré-intervenção: 30.1 ± 6.26 ng/ml; pós-intervenção: 41.3 ± 9.85 ng/ml; $p < 0.001$). Houve interação significativa entre as intervenções melhorando triglicerídeos e HDL-colesterol. Foi encontrada correlação negativa entre alteração de 25(OH)D sérica e do PCR e positiva entre alteração de 25(OH)D sérica e da força de preensão manual. Suplementação de vitamina D

apresentou efeito significativo no aumento da força de preensão manual e do IMC. Não foi possível identificar se o ganho de peso correspondeu à massa magra ou gordura corporal, porque não houve diferença significativa entre os grupos.

Conclusão: suplementação de colecalciferol e TAID interagiram na melhora do perfil lipídico em pacientes em hemodiálise crônica. Suplementação de colecalciferol promoveu melhora da função muscular e aumento de peso corporal.

Palavras-chave: colecalciferol, composição corporal, força de preensão manual, hemodiálise, treinamento físico.

Introdução

A principal causa de mortalidade em pacientes com doença renal crônica (DRC) é cardiovascular, devido à presença de inúmeros fatores de risco tradicionais e não tradicionais. Dentre os tradicionais, idade avançada, hipertensão arterial, dislipidemia e diabetes mellitus. E dentre os não tradicionais, inflamação crônica, aumento do estresse oxidativo, hipertrofia ventricular esquerda, sobrecarga de volume, anemia, calcificação vascular e presença de desnutrição energético proteica. Essa última é caracterizada principalmente pela depleção de massa muscular. (1)

Depleção de massa muscular tem alta prevalência entre os pacientes com DRC e está associada com morbidade e mortalidade em pacientes em hemodiálise (2-4). Intervenções com objetivo de aumentar a massa muscular desses pacientes têm sido exploradas (5). Não somente a diminuição de massa, mas força e função muscular diminuídas tem associação com maior risco de mortalidade (6-8), independente da massa muscular (8). Por isso, intervenções que busquem o

incremento da função muscular também podem ser significativas para a melhora da qualidade de vida e diminuição do risco de mortalidade.

Com a progressão da DRC, a ativação da vitamina D torna-se prejudicada. Concentração sérica do estoque de vitamina D, avaliada pelo metabólito 25-hidroxivitamina D [25(OH)D], tem sido associada positivamente com massa (9-12), força e função muscular (10-16) na população geral e em diferentes situações clínicas, como obesidade, idosos, fratura de quadril e DRC. Gordon et al (17) verificaram em estudo transversal de pacientes com DRC em hemodiálise que recebiam calcitriol ou paricalcitol apresentaram melhores resultados em testes de desempenho físico, força e massa muscular do que aqueles que não recebiam.

Alguns ensaios, em mulheres menopausadas, homens jovens e uma revisão sistemática que incluiu estudos em populações diversas, verificaram que a suplementação de vitamina D tem efeitos positivos no músculo (18-20). Porém, isso ainda não foi verificado em ensaios clínicos randomizados e controlados em pacientes em hemodiálise. Recentemente, verificou-se que a suplementação de vitamina D associada ao treinamento físico promoveu melhora em testes de capacidade funcional (21) e qualidade do músculo (22) em idosos.

Suplementação de vitamina D e treinamento físico afetam massa e função muscular. Portanto, a hipótese apresentada é que agiriam sinergicamente no incremento muscular de pacientes em hemodiálise. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de vitamina D e treinamento aeróbico intradialítico, sozinhos ou associados, sobre parâmetros bioquímicos, composição corporal e função muscular global de pacientes em hemodiálise.

Métodos

Pacientes

Foram incluídos indivíduos maiores de 18 anos, de ambos os sexos, com diagnóstico de DRC independente da etiologia que realizam hemodiálise por pelo menos três meses no Hospital das clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HC-FMB), Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil. Foram excluídos indivíduos incapazes de compreender os procedimentos realizados, diagnóstico prévio de doença arterial coronariana, teste ergométrico positivo para isquemia cardíaca, pacientes que sofreram acidente vascular encefálico, portadores de neoplasia, insuficiência hepática, infecção aguda ou crônica em atividade, hipertensão arterial estágios II ou III (sistólica ≥ 160 mm Hg ou diastólica ≥ 100 mm Hg), amputados, que foram suplementados com colecalciferol ou ergocalciferol no último ano e em uso de medicamentos que influenciam a composição corporal, como corticosteroides e terapia antirretroviral.

O período de inclusão no estudo foi de março de 2013 a março de 2015. Durante esse período, os prontuários eletrônicos de todos os pacientes prevalentes em hemodiálise no serviço foram revisados, para selecionar os pacientes aptos a serem convidados a participar da pesquisa.

Pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (4441-2012) (anexo 1), e foi obtido termo de consentimento livre e esclarecido dos pacientes. O ensaio clínico foi registrado e aprovado pelo Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (RBR - 8ykyws)

Avaliação cardíaca

Os resultados do teste ergométrico foram utilizados para exclusão no caso de identificação de isquemia miocárdica. O exame foi realizado segundo as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia de 2010 com protocolo de Bruce (23). O teste foi realizado em esteira ergométrica com monitorização eletrocardiográfica, da pressão arterial e da sensação subjetiva de cansaço. Todos os pacientes foram orientados a utilizar sua medicação como de costume, para que a frequência cardíaca máxima obtida no teste representasse a realidade de cada paciente durante a realização das atividades físicas. O teste foi interrompido em casos de alterações atípicas da pressão arterial e da frequência cardíaca, manifestações clínicas de desconforto torácico, dispneia desproporcional à intensidade do esforço e alteração importante no eletrocardiograma (23).

Delineamento

Ensaio clínico em hemodiálise, com dois braços: randomizado, duplo cego e controlado com placebo para vitamina D e randomizado e aberto para treinamento físico divididos em quatro grupos:

- Grupo VD+TAID: submetidos à suplementação com vitamina D e treinamento aeróbico intradialítico;
- Grupo PL+TAID: submetidos a placebo e treinamento aeróbico intradialítico;
- Grupo VD: submetidos à suplementação com vitamina D e
- Grupo PL: submetidos a placebo de vitamina D.

Os indivíduos foram avaliados antes e após o período de intervenção.

Randomização e cegamento

A alocação do paciente em um dos quatro grupos foi definida após a inclusão do participante no estudo e após o teste ergométrico. Os participantes foram continuamente randomizados por listas previamente impressas geradas por um site de randomização. Essa lista estava em poder de uma pessoa que não era membro do estudo. Primeiro, a alocação foi sorteada quanto ao grupo de treinamento físico (treino ou controle), a partir de uma lista. Posteriormente, foi definida a alocação quanto à suplementação de vitamina D ou placebo por outra lista. Taxa de alocação era de 1:1 para os grupos com ou sem treinamento aeróbico e para vitamina D e placebo. A equipe responsável pelo treinamento físico e avaliação nutricional desconhecia a alocação da suplementação de vitamina D.

Treinamento aeróbico intradialítico

O programa de exercícios foi realizado três vezes por semana, durante as duas primeiras horas da sessão de hemodiálise. O treino aeróbico consistiu na realização de exercício em bicicleta ergométrica (Foot Hand Bike – Polimet®) adaptada à cadeira de hemodiálise, durante 30 minutos e aumentado progressivamente até atingir 45 minutos. A faixa de treinamento foi mantida entre 65 e 75% da frequência cardíaca máxima obtida no teste ergométrico, controlada por monitor cardíaco Polar FS3C®. A duração do protocolo de treinamento foi de 16 semanas.

Suplementação de vitamina D

Uma cápsula contendo 50000 UI de colecalciferol (vitamina D3) (Farmácia Cruz Vermelha, Botucatu, Brasil) foi administrado na primeira sessão de hemodiálise da semana, durante as 16 semanas de intervenção. O placebo era comprimido idêntico ao de colecalciferol, porém contendo talco farmacêutico (Farmácia Cruz Vermelha, Botucatu, Brasil).

Avaliação nutricional

A avaliação nutricional consistiu de avaliação antropométrica, avaliação subjetiva global, teste de força de preensão manual, e avaliação da composição corporal.

A avaliação antropométrica foi realizada cerca de trinta minutos após a sessão de hemodiálise. Peso corporal e estatura foram mensurados e índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo o peso corporal pelo quadrado da estatura. Avaliação subjetiva global de 7 pontos adaptada para DRC (24) foi aplicada para avaliar o estado nutricional.

Avaliação da função muscular global foi realizada pela medida de força de preensão manual, utilizando dinamômetro hidráulico Jamar®. O paciente foi orientado a premir o aparelho com os braços entendidos ao lado do corpo e o dinamômetro voltado para a frente. Com força máxima e com a mão dominante ou sem fístula implantada, a preensão foi realizada três vezes com intervalos de cerca de 30 segundos. O maior valor obtido foi considerado.

Composição corporal foi quantificada por absorptometria de raio-X de dupla energia (DEXA), realizada após a sessão de hemodiálise. Foi realizada varredura do corpo total com obtenção de imagens de todas as áreas em aparelho Hologic® QDR-2000 (Waltham, MA, USA). Densidade óssea, massa magra total e massa gorda total foram calculadas pelo software integrado, bem como de compartimentos (membros inferiores direito e esquerdo, membros superiores direito e esquerdo, tronco, cabeça). Índice de massa muscular apendicular foi calculado dividindo a soma da massa magra de membros superiores e inferiores pelo quadrado da altura.

Formulário para registro alimentar de 72 horas foi entregue aos participantes, que receberam instruções de como preenchê-lo. Orientações nutricionais foram continuamente realizadas pela equipe de nutrição, de acordo com *guidelines* internacionais de nutrição em hemodiálise (25,26).

Parâmetros laboratoriais

Concentrações séricas de creatinina, ureia, albumina, bicarbonato, colesterol total e frações, triglicerídeos, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina (calorimétrico enzimático, química seca Vitros 950, Johnson & Johnson®), PTH (quimioluminescência, Architect i2000, Abbott), hemoglobina sérica (Pentra 120, ABX Horiba), proteína C-reativa (imunoquímico de ponto fixo, Vitros 950, Johnson & Johnson), 25-hidroxivitamina-D [25(OH)D] sérica (imunoensaio quimioluminescência; Architect i2000, Abbott) foram determinadas. A coleta de sangue foi realizada antes da sessão de diálise. Todas as medidas foram realizadas no laboratório especializado do HC-FMB. Kt/V foi calculado pela fórmula de Daugirdas (27).

Análise estatística

Cálculo amostral foi feito baseado no trabalho de Cangussu et al (18). Com poder de 95%, nível de significância de 5% e assumindo uma perda de 25%, o tamanho amostral foi estimado em 14 pacientes por grupo para detectar aumento da força muscular após suplementação de colecalciferol.

Dados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão, frequências e alterações nos parâmetros após as intervenções foram expressos em porcentagem. Foi calculada a porcentagem das variáveis no momento pós-intervenção equivalente aos valores do momento pré-intervenção ($\% = \text{valor pós-intervenção} * 100 / \text{valor pré-intervenção}$).

Normalidade foi testada pelo teste Kolmogorov-Smirnov. Variáveis com distribuição não paramétrica passaram por transformação logarítmica para normalizar sua distribuição. Teste qui-quadrado foi utilizado para comparação de proporções. Correlação de Pearson ou Spearman foi utilizada para verificar se houve correlação entre a alteração da concentração sérica de 25(OH)D com alteração das demais variáveis bioquímicas e nutricionais. Essas análises foram realizadas com o software SPSS for Windows (Version 22.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

ANOVA de duas vias foi utilizado para comparação das características dos pacientes dos quatro grupos e para comparar as porcentagens das variáveis no momento pós-intervenção equivalente aos valores do momento pré-intervenção. Este teste fornece três p-valores: um relativo à intervenção suplementação, um relativo a treinamento aeróbico intradialítico e por último, relativo à interação entre estas intervenções. Quando um dos p-valores foi significativo, os grupos foram comparados usando *post-hoc* Tukey. Essa análise foi realizada com o software SigmaStat for Windows (Version 3.5, Systat Software Inc., CA, USA). Significância estatística foi considerada quando $p < 0.05$

Resultados

Seleção e inclusão de pacientes está resumida na Figura 1. Havia 248 pacientes prevalentes em hemodiálise, destes 62 foram considerados elegíveis para o estudo. Trinta pacientes se recusaram a participar, e três foram excluídos após o teste ergométrico, devido ao aumento importante da pressão arterial. Portanto, 29 pacientes foram apresentados para randomização. Destes, nove foram excluídos durante a intervenção, seis por serem submetidos a transplante renal, um infarto agudo do miocárdio, um diagnóstico de neoplasia e uma desistência.

Não houve diferença significativa na comparação das características iniciais dos pacientes que foram incluídos (n=29) e os pacientes que completaram a intervenção (n=20). Características demográficas e clínicas iniciais dos pacientes que completaram a intervenção e comparações entre os quatro grupos estão detalhadas na tabela 1. As principais causas de doença renal em estágio final foram nefropatia diabética (30%), seguida por glomerulonefrites (25%) e nefroesclerose hipertensiva (20%).

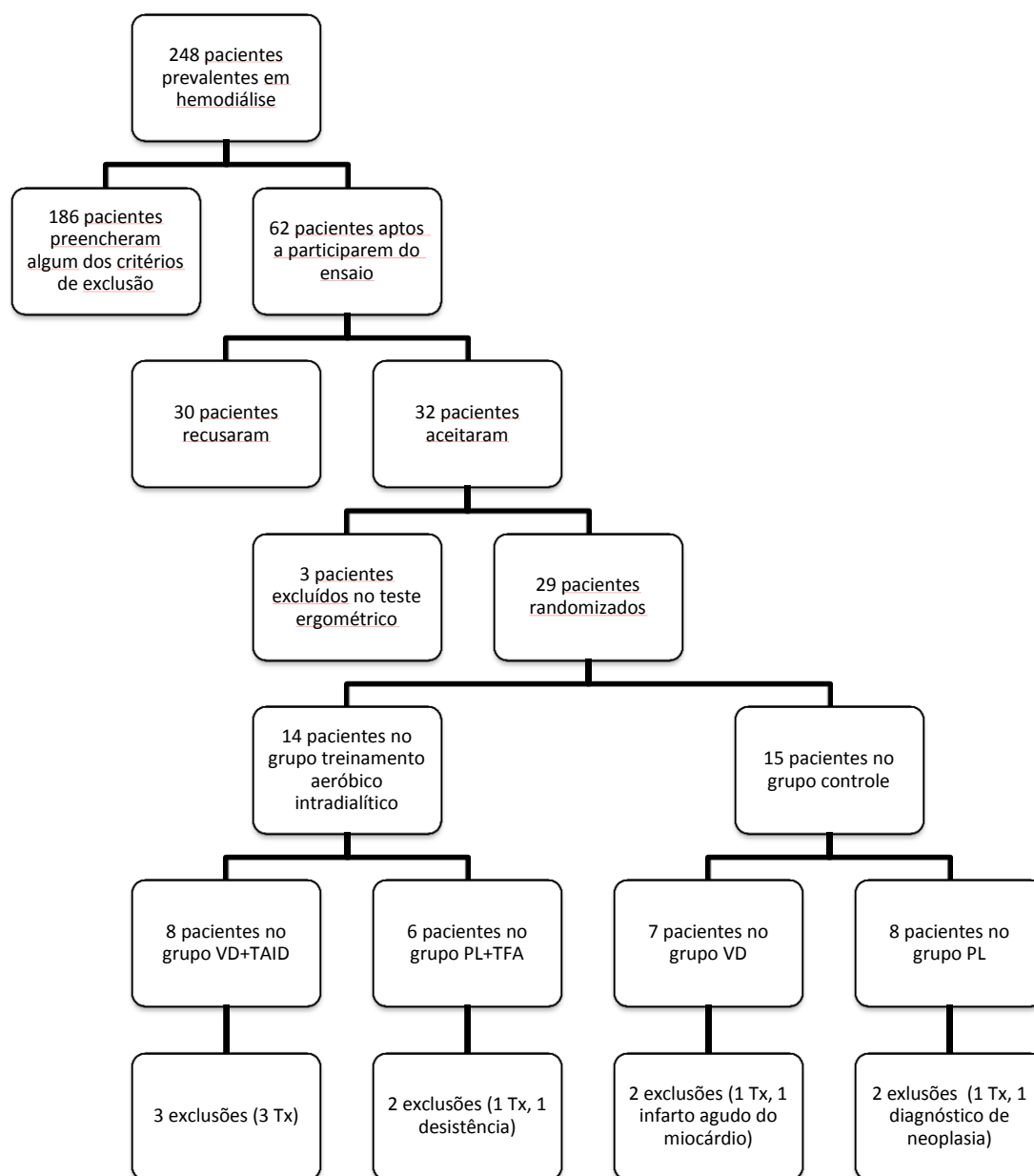


Figura 1: fluxograma das inclusões, exclusões e randomização dos participantes do ensaio clínico (Grupos: suplementação de vitamina D e treinamento aeróbico intradialítico (VD+TAID) n=5; placebo e treinamento aeróbico intradialítico (PL+TAID) n=4; suplementação de vitamina D (VD) n=5; e placebo (PL) n=6; Abreviações: Transplante renal: Tx)

Tabela 1: características demográficas e clínicas iniciais da população estudada e comparação entre os quatro grupos

Característica	Todos pacientes (n=20)	VD + TAID (n=5)	PL + TAID (n=4)	VD (n=5)	PL (n=6)
Sexo [masculino (%)]	11 (55)	4 (80)	2 (50)	1 (20)	4 (66.7)
Idade (anos)	60.1 ± 14.2	58.3 ± 9.4	63.2 ± 9.0	45.5 ± 14.1	71.9 ± 9.8 [#]
Diabetes n (%)	7 (35)	2 (40)	2 (50)	0 (0)	3 (50)
Uso de calcitriol n (%)	11 (55)	4 (80)	2 (50)	3 (60)	2 (33.3)
Tempo em diálise (meses)	34 ± 28.9	12 ± 9.4	28 ± 17.5	54 ± 42.4	39 ± 23.7
Ureia sérica (mg/dl)	111 ± 29.2	119 ± 29.3	109 ± 44.5	110 ± 18.7	106 ± 31.3
Creatinina sérica (mg/dl)	9.8 ± 2.6	10.6 ± 1.6	7.9 ± 1.2	10.4 ± 3.9	9.7 ± 2.6
Albumina sérica (g/dl)	4.0 ± 0.4	4.1 ± 0.4	4.1 ± 0.1	3.9 ± 0.5	3.8 ± 0.2
Hemoglobina (g/dl)	11.7 ± 1.5	12.0 ± 1.7	12.0 ± 0.6	11.2 ± 1.5	11.7 ± 1.9
25-hidroxivitamina D sérica (ng/ml)	34.6 ± 10.1	31.7 ± 3.8	35.3 ± 13.9	28.5 ± 8.2	33.2 ± 12.2
Índice de massa corporal (kg/m ²)	27.6 ± 4.7	25.7 ± 4.8	29.3 ± 6.8	28.4 ± 4.5	27.4 ± 3.7
Força de preensão manual (kg)	22.4 ± 7.8	20.6 ± 8.0	21.5 ± 9.1	24.8 ± 10.3	22.5 ± 5.9

Suplementação de vitamina D e treinamento aeróbico intradialítico (VD+TAID) n=5; placebo e treinamento aeróbico intradialítico (PL+TAID) n=4; suplementação de vitamina D (VD) n=5; e placebo (PL) n=6.

[#]p<0.05 comparado ao grupo VD

Todos os pacientes apresentavam pontuação de 6 ou 7 na avaliação subjetiva global, o que corresponde a bom estado nutricional. A média geral de 25(OH)D sérica foi 34.6 ± 10.1 ng/ml e após a intervenção aumentou 37.4% nos pacientes suplementados com colecalciferol (pré-intervenção: 30.1 ± 6.26 ng/ml; pós-intervenção: 41.3 ± 9.85 ng/ml; $p < 0.001$), enquanto diminuiu 2.6% nos que receberam placebo.

Concentração sérica 25(OH)D aumentou significativamente em ambos os grupos que foram suplementados, independente do treinamento. Não houve diferença significativa nos grupos que receberam placebo. Parâmetros bioquímicos relacionados ao metabolismo mineral ósseo (fósforo, cálcio, PTH e fosfatase alcalina séricos) não foram alterados significativamente pela suplementação de vitamina D ou pelo treinamento aeróbico e não houve interação significativa (Tabela 2). Não foi possível avaliar a ingestão alimentar dos participantes, devido à baixa adesão na entrega do registro alimentar de 72 horas (25% dos pacientes não entregaram o registro alimentar no momento pré-intervenção e 50% não entregaram pós-intervenção).

Variação do HDL-colesterol foi significativamente maior no grupo VD+TAID comparado com o grupo PL+TAID ($p = 0.010$) e no grupo VD comparado com PL ($p = 0.043$). Variação de triglicerídeos do grupo VD+TAID foi menor comparado com VD ($p = 0.011$) (Tabela 3). Houve interação significativa entre as intervenções nos triglicerídeos e HDL-colesterol. Os demais parâmetros bioquímicos não foram diferentes entre os momentos e entre os grupos e não foram alterados pelas intervenções.

Apesar das intervenções não apresentarem efeito sobre o estado inflamatório, avaliado pela PCR (Tabela 3), foi encontrada correlação negativa significante entre alteração da concentração sérica de 25(OH)D e alteração no PCR (Figura 2B). Foi encontrada correlação positiva entre alteração da concentração sérica de 25(OH)D e

alteração da força de preensão manual (Figura 2A). Não houve correlação significativa entre a alteração da concentração sérica de 25(OH)D e os outros parâmetros bioquímicos e nutricionais.

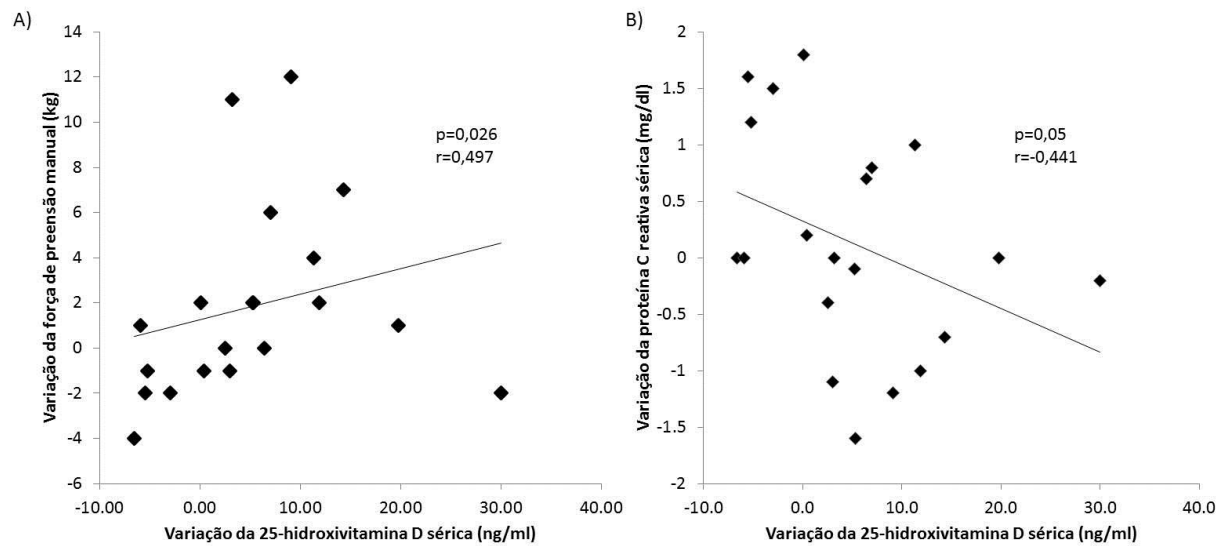


Figura 2: correlação entre variação da concentração sérica de 25-hidroxivitamina D e variação da força de preensão manual (A) e entre variação da concentração sérica de 25-hidroxivitamina D variação da proteína C-reativa (B).

Tabela 2: variação das características bioquímicas relacionadas ao metabolismo mineral ósseo dos 4 grupos (n=20)

Característica	Grupo	Momento		% de variação	p valor		
		Pré intervenção	Pós intervenção		Suplementação	Treinamento	Interação
25-hidroxivitamina D sérica (ng/mL)	VD+TAID	31.7±3.80	40.1±7.49	126.4 ± 15.2	0.003	0.139	0.462
	PL+TAID	35.3±13.92	33.0±11.87	95.9 ± 14.6			
	VD	28.5±8.21	42.5±12.58	152.4 ± 41.1			
	PL	33.2±12.21	33.3±7.90	104.9 ± 17.5			
Cálcio (mg/dl)	VD+TAID	8.8±0.4	8.6±0.8	98.8 ± 12.5	0.699	0.777	0.855
	PL+TAID	9.9±1.49	9.7±1.0	97.8 ± 7.9			
	VD	9.0±0.9	9.0±0.4	101 ± 11.2			
	PL	9.1±0.4	9.0±0.7	98.3 ± 8.5			
Fósforo (mg/dl)	VD+TAID	5.2±0.9	4.6±1.8	91.6 ± 38.3	0.446	0.155	0.652
	PL+TAID	5.5±1.18	4.8±1.5	86.1 ± 14.9			
	VD	5.7±0.9	6.9±2.2	123.1 ± 51.5			
	PL	5.2±1.3	5.1±0.7	102.9 ± 26.8			
PTH (pg/ml)	VD+TAID	431 ± 251	414.4±304.6	130.4 ± 113.0	0.963	0.456	0.902
	PL+TAID	495 ± 409	676.0±755.7	133.4 ± 59.6			
	VD	537 ± 264	473.4±285.1	105.8 ± 78.6			
	PL	202 ± 143	154.4±98.6	99.1 ± 78.3			
Fosfatase Alcalina (U/l)	VD+TAID	134.2±62.3	157.4±101.3	115.7 ± 19.50	0.760	0.123	0.685
	PL+TAID	109.7±47.46	132.0±69.1	117.2 ± 7.27			
	VD	139.8±82.7	115.6±25.4	98.3 ± 17.6			
	PL	113.7±42.4	98.2±40.4	87.9 ± 7.49			

Suplementação de vitamina D e treinamento aeróbico intradialítico (VD+TAID) n=5; placebo e treinamento aeróbico intradialítico (PL+TAID) n=4; suplementação de vitamina D (VD) n=5; e placebo (PL) n=6.

Tabela 3: variação das características bioquímicas relacionadas ao perfil lipídico e inflamação dos 4 grupos (n=20)

Característica	Grupo	Momento		% de variação	p valor		
		Pré intervenção	Pós intervenção		Suplementação	Treinamento	Interação
Colesterol total (mg/dl)	VD+TAID	158 ± 39	149 ± 42	97.8 ± 33.3	0.805	0.676	0.552
	PL+TAID	157 ± 32	157 ± 20	101.1 ± 9.5			
	VD	145 ± 54	154 ± 57	107.4 ± 10.6			
	PL	116 ± 19	113 ± 12	99.4 ± 18.3			
HDL-colesterol (mg/dl)	VD+TAID	38 ± 7	44 ± 16	114.4 ± 20.1	0.142	0.720	0.013
	PL+TAID	42 ± 6	35 ± 13	81.1 ± 19.3*			
	VD	40 ± 11	37 ± 7	95.8 ± 12.0			
	PL	27 ± 5.1	28 ± 4	105.3 ± 16.2#			
Triglicerídeos (mg/dl)	VD+TAID	185 ± 53	127 ± 49	69.2 ± 18.2	0.169	0.971	0.012
	PL+TAID	182 ± 46	253 ± 43	145.1 ± 39.4			
	VD	168 ± 85	195 ± 113	118.8 ± 57.9*			
	PL	186 ± 91	165 ± 80	94.1 ± 32.3			
Proteína C reativa (mg/dl)	VD+TAID	1.32 ± 0.78	1.34 ± 0.52	126.3 ± 71.9	0.108	0.318	0.661
	PL+TAID	0.6 ± 0.20	1.25 ± 0.90	238.9 ± 193.2			
	VD	1.48 ± 0.69	0.92 ± 0.50	70.2 ± 34.3			
	PL	0.83 ± 0.40	1.27 ± 0.75	194.1 ± 156.7			

Suplementação de vitamina D e treinamento aeróbico intradialítico (VD+TAID) n=5; placebo e treinamento aeróbico intradialítico (PL+TAID) n=4; suplementação de vitamina D (VD) n=5; e placebo (PL) n=6.

* P<0.05 quando comparado com VD+TAID; #p<0.05 comparado ao grupo VD.

Força de preensão manual aumentou significativamente no grupo VD+TAID comparado com o grupo PL+TAID ($p=0.05$), e a intervenção suplementação de vitamina D apresentou efeito significativo no aumento da força de preensão manual (Tabela 4). A alteração dos valores brutos da força de preensão manual foi marginalmente significativa no grupo VD+TAID ($p=0.057$). Alteração das médias da força de preensão manual dos grupos nos momentos pré e pós intervenção está na figura 3. Suplementação de vitamina D ainda apresentou efeito no aumento do IMC, porem não foi possível identificar se esse aumento de peso correspondeu à massa magra ou gordura corporal, já que ambos não apresentaram diferenças entre os grupos (Tabela 4).

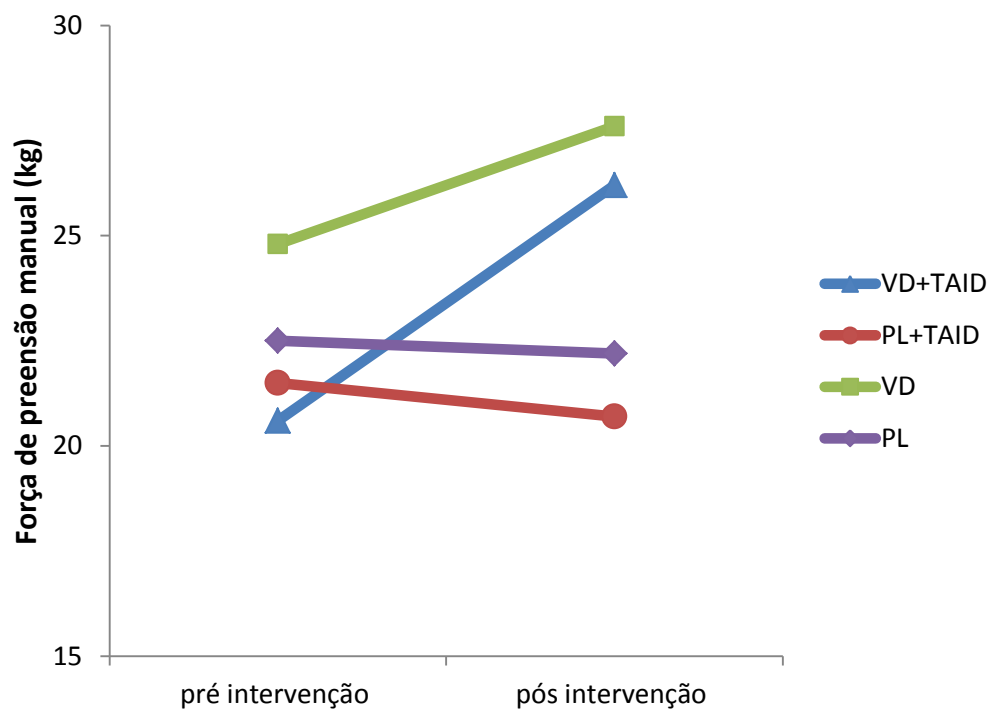


Figura 3: evolução da média da força de preensão manual dos quatro grupos (Suplementação de vitamina D e treinamento aeróbico intradialítico (VD+TAID) $n=5$; placebo e treinamento aeróbico intradialítico (PL+TAID) $n=4$; suplementação de vitamina D (VD) $n=5$; e placebo (PL) $n=6$).

Tabela 4: variação das características da avaliação nutricional dos 4 grupos (n=20)

Característica	Grupo	Momento		% de variação	Suplementação	p valor	
		Pré intervenção	Pós intervenção			Treinamento	Interação
Força de preensão manual (kg)	VD+TAID	20.6±8.0	26.2±9.5	130.5 ± 33.6	0.023	0.622	0.553
	PL+TAID	21.5±9.1	20.7±9.1	97.9 ± 15.1*			
	VD	24.8±10.3	27.6±8.0	118.9 ± 34.1			
	PL	22.5±5.9	22.2±6.4	98.1 ± 7.6			
Índice de massa corporal (kg/m ²)	VD+TAID	25.7±4.8	27 ± 5.2	105.1 ± 4.8	0.043	0.214	0.824
	PL+TAID	29.3±6.8	29.8±7.7	101.3 ± 3.5			
	VD	28.5±4.6	29.2±4.1	102.7 ± 1.9			
	PL	27.4±3.7	27.4±4.2	99.7 ± 2.8			
Massa magra (kg)	VD+TAID	50.3±9.7	48.5±8.5	96.8 ± 3.8	0.172	0.090	0.906
	PL+TAID	47.8±10.2	47.8±9.8	100.1 ± 6.3			
	VD	47.6±5.3	48.0±6.1	100.9 ± 5.8			
	PL	45.7±4.3	47.3±5.3	103.4 ± 3.8			
Índice de massa muscular apendicular (kg/m ²)	VD+TAID	7.9 ± 1.7	7.7 ± 1.6	97.2 ± 3.8	0.952	0.237	0.560
	PL+TAID	7.7 ± 1.3	7.4 ± 1.0	96.1 ± 8.0			
	VD	7.9 ± 0.6	7.8 ± 0.8	98.6 ± 3.8			
	PL	7.7 ± 0.9	7.7 ± 0.9	100 ± 3.2			
Gordura corporal total (kg)	VD+TAID	21.4±8.0	23.9±9.5	109.9 ± 10.1	0.167	0.190	0.608
	PL+TAID	24.5±12.9	25.6±13.5	102.8 ± 5.7			
	VD	25.9±7.0	26.7±6.2	102.5 ± 7.3			
	PL	22.1±9.5	22.1±9.7	98.7 ± 5.9			

Suplementação de vitamina D e treinamento aeróbico intradialítico (VD+TAID) n=5; placebo e treinamento aeróbico intradialítico (PL+TAID) n=4; suplementação de vitamina D (VD) n=5; e placebo (PL) n=6.

* P<0.05 quando comparado com VD+TAID

Discussão

O presente estudo avaliou a influência de dois tipos de intervenção, treinamento aeróbico intradialítico e suplementação de vitamina D, isoladas ou associadas, sobre parâmetros bioquímicos, função muscular e composição corporal de pacientes em hemodiálise. As intervenções agiram sinergicamente no incremento do perfil lipídico, e suplementação de vitamina D agiu na melhora da função muscular e no aumento de peso corporal, sem alteração da composição corporal. Pelo nosso conhecimento, esse é o primeiro ensaio realizado em pacientes em hemodiálise que avaliou o efeito dessas duas intervenções sobre esses desfechos.

Os efeitos anti-inflamatórios do exercício físico (28) e da vitamina D (29-31) já foram descritos previamente em pacientes em hemodiálise, e podemos associar uma melhora no perfil inflamatório dos pacientes com melhora do apetite e consequentemente aumento da ingestão alimentar, promovendo assim o aumento do peso corporal. De fato, houve uma correlação negativa significativa entre a variação na concentração sérica de 25(OH)D e variação da PCR. Dados de avaliação de ingestão alimentar e marcadores inflamatórios específicos seriam úteis para interpretar melhor alguns resultados. Não se confirmou nessa série o aumento da ingestão alimentar dos participantes, devido à baixa adesão na entrega do registro alimentar de 72 horas. Frey et al (32) notaram aumento da ingestão calórica e proteica de pacientes em hemodiálise submetidos a exercício aeróbico intradialítico.

Apesar do aumento de peso corporal associado à suplementação de vitamina D, perfil lipídico melhorou no grupo VD+TAID (aumento do HDL-colesterol e diminuição de triglicerídeos). No grupo PL+ TAID houve piora do HDL-colesterol, mostrando o efeito benéfico da interação entre as intervenções. Estudos transversais mostram associação negativa entre 25(OH)D e triglicerídeos séricos, e associação positiva entre 25(OH)D e HDL-colesterol (33). Efeito da suplementação de vitamina D

sobre o perfil lipídico já foi verificado em ensaios, mas os resultados ainda são controversos (34). Em pacientes em hemodiálise, dois ensaios verificaram o efeito da suplementação de calcitriol sobre o perfil lipídico (35,36), e em ambos houve diminuição da concentração sérica de triglicerídeos. Porém, em nosso estudo o efeito da vitamina D sobre o perfil lipídico foi significativo somente em conjunto com o treinamento aeróbico.

Os efeitos da vitamina D sobre o músculo esquelético ainda não são completamente esclarecidos. Apesar da existência de receptores de vitamina D (VDR) em células musculares ter sido questionada (37), estudos mais recentes em ratos e em humanos mostram a presença desses receptores em amostras de músculo (38,39) e as consequências da deleção desse receptor (39). Análises transversais mostraram resultados que associam positivamente concentração sérica de 25(OH)D com maior força muscular (11,13,14,16).

Alguns ensaios clínicos controlados, duplo-cegos, mostram o efeito da suplementação de vitamina D sobre o músculo (18,19,38,40), enquanto outros ensaios revelam resultados contrários (41,42). Contudo, a maioria dos estudos considera satisfatório o nível sérico de 25(OH)D entre 20 e 30 ng/ml (50 e 75 nmol/L, respectivamente). Esse valor de referência foi definido baseado na manutenção de concentração sérica normal de PTH e cálcio (43), e não há ponto de corte específico baseado na saúde muscular. A sociedade de endocrinologia (*The Endocrine Society*) sugere que a concentração sérica deve ser mantida acima de 30 ng/ml para maximizar o efeito da vitamina D no metabolismo muscular (43). Bataille et al (44) verificaram que pacientes em hemodiálise com níveis séricos de 25(OH)D $\leq$ 30 ng/mL apresentavam menor força muscular avaliada pela força de preensão manual. Pacientes com 25(OH)D >40 ng/mL não foram mais fortes do que pacientes com níveis de 25(OH)D entre 30 e 40 ng/mL, mostrando que pode haver um efeito platô (44). Estudos epidemiológicos sugerem nível sérico entre 30 e 40 ng/ml para a

prevenção de quedas devido a melhor função dos membros inferiores (45). Os pacientes do grupo VD+ TAID atingiram concentração sérica que variou de 32 ng/ml até 51.7 ng/ml, enquanto no grupo VD apenas um paciente finalizou a intervenção com concentração sérica < 30 ng/ml (24.7 ng/ml). Os outros apresentaram concentração sérica que variou de 36 a 55.6 ng/ml.

A suplementação com vitamina D é capaz de aumentar a concentração de VDR intramionucleares, principalmente nas fibras tipo II (38), aumentando assim, o efeito da vitamina D sobre o músculo. A força de preensão manual foi o método utilizado para avaliação da função muscular. É uma medida simples e confiável da função muscular, frequentemente utilizado em situações clínicas para avaliar o estado nutricional (46). A força muscular ainda tem a vantagem de ser um marcador que precede a perda de massa muscular, possibilitando intervenções mais precoces.

Além da influência da suplementação de vitamina D sobre a expressão de VDR em células musculares, existem indícios de que o exercício físico também pode aumentar expressão desses receptores no músculo. Em um estudo realizado em ratos, Makanae et al (47) verificaram que após uma sessão aguda de contrações musculares houve aumento da expressão dos VDR no mesmo músculo e de proteínas relacionadas com sua expressão. Contudo, esse efeito não foi verificado após uma sessão de treinamento aeróbico. Mais estudos ainda são necessários para aprofundar a contribuição do exercício físico na expressão de VDR, mas hipotetizamos que o exercício de resistência poderia apresentar interação com a suplementação de vitamina D no incremento da função muscular. O exercício de resistência é a estratégia mais consistente para o ganho de massa e força muscular (48), enquanto exercício aeróbico promove melhora da capacidade física e funcional (28,49,50), mesmo que não haja aumento da massa muscular. Alguns estudos cuja intervenção foi o treinamento aeróbico, mostram aumento da área transversal das fibras

musculares (51,52), enquanto outros mostram manutenção da massa magra (49,53), o que aconteceu em nosso trabalho.

Alguns estudos encontraram associação de concentração sérica de 25(OH)D com força muscular, mas não com massa muscular (15,20). De fato, a força muscular não é dependente somente da quantidade de massa muscular e a taxa de declínio da força é desassociada da perda de massa muscular (54). A importância do ganho de força muscular com essa intervenção relativamente simples e de baixo custo é que, além de maior força ser associada menor risco de declínio da capacidade funcional, dependência para atividades da vida diária e desabilidade (55), ela também está associada com menor risco de mortalidade em pacientes em hemodiálise (6-8).

As principais limitações desse trabalho são o pequeno tamanho amostral, o fato dos pacientes serem prevalentes e não incidentes em hemodiálise e as perdas em todos os grupos. Apesar disso, com uma intervenção relativamente simples mostramos resultados positivos em relação ao aumento de força muscular e melhora do perfil lipídico.

O fato de que alguns pacientes já faziam uso do calcitriol previamente pode ser o viés mais importante deste ensaio. Porém, considerando que o uso de calcitriol foi homogêneo entre os grupos e que, durante a intervenção, somente um paciente do grupo PL deixou de usar calcitriol e calcitriol foi prescrito a outro paciente desse mesmo grupo, consideramos que esse viés poderia somente atenuar os resultados encontrados. Apesar do uso de calcitriol por alguns pacientes, os resultados foram significativos. Ainda, o calcitriol é uma medicação comumente usada em hemodiálise devido às consequências da deficiência na ativação da vitamina D, e um ponto forte desse ensaio é que se trata de um “real world clinical trial”, ou seja, a eficácia das intervenções implementadas foram avaliadas nas condições usuais de assistência

clínica. Ainda, os resultados correspondem à realidade do tratamento dos pacientes em hemodiálise e são facilmente traduzíveis para a prática clínica (56).

Por outro lado, esse estudo envolve uma amostra criteriosamente selecionada, pois os pacientes incluídos apresentavam bom estado de saúde geral e não apresentavam doença cardiovascular prévia. Assim, a maioria das perdas de pacientes durante o período de intervenção ocorreu devido a transplante renal, visto estarem em adequadas condições clínicas.

Em conclusão, a suplementação de colecalciferol e treinamento aeróbico intradialítico interagiram na melhora do perfil lipídico em pacientes em hemodiálise crônica. Suplementação de colecalciferol promoveu melhora da função muscular, avaliada pela força de preensão manual, e aumento de peso corporal.

Mais estudos são necessários para verificar o efeito de outras modalidades de treinamento físico em conjunto com a suplementação de colecalciferol sobre a composição corporal e função muscular, bem como maior tempo de intervenções e o impacto delas sobre os desfechos duros.

Referências

1. Sarnak MJ. Cardiovascular complications in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis.* 2003;41(5 Suppl):11–7.
2. Noori N, Kopple JD, Kovesdy CP, Feroze U, Sim JJ, Murali SB, et al. Mid-arm muscle circumference and quality of life and survival in maintenance hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* . 2010;5(12):2258–68.
3. Beddhu S, Pappas LM, Ramkumar N, Samore M. Effects of body size and body composition on survival in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2003; 14(9):2366–72.
4. Araújo IC de, Kamimura MA, Draibe SA, Canziani MEF, Manfredi SR, Avesani CM, et al. Nutritional parameters and mortality in incident hemodialysis patients. *J Ren Nutr.* 2006;16(1):27–35.

5. Workeneh BT, Mitch WE. Review of muscle wasting associated with chronic kidney disease. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(4):1128S–1132S.
6. Vogt BP, Borges MCC, Goés CR de, Caramori JCT. Handgrip strength is an independent predictor of all-cause mortality in maintenance dialysis patients. *Clin Nutr;* 35(6):1429-33.
7. Matos CM, Silva LF, Santana LD, Santos LS, Protásio BM, Rocha MT, et al. Handgrip strength at baseline and mortality risk in a cohort of women and men on hemodialysis: a 4-year study. *J Ren Nutr.* 2014;24(3):157–62.
8. Isoyama N, Qureshi AR, Avesani CM, Lindholm B, Bàràny P, Heimbürger O, et al. Comparative associations of muscle mass and muscle strength with mortality in dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014 ;9(10):1720–8.
9. Shantavasinkul PC, Phanachet P, Puchaiwattananon O, Chailurkit L, Lapananon T, Chanprasertyotin S, et al. Vitamin D status is a determinant of skeletal muscle mass in obesity according to body fat percentage. *Nutr.* 2015;31(6):801–6.
10. Visser M, Deeg DJH, Lips P, Longitudinal Aging Study Amsterdam. Low vitamin D and high parathyroid hormone levels as determinants of loss of muscle strength and muscle mass (sarcopenia): the Longitudinal Aging Study Amsterdam. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(12):5766–72.
11. Janssen HCJP, Emmelot-Vonk MH, Verhaar HJJ, van der Schouw YT. Vitamin D and muscle function: is there a threshold in the relation? *J Am Med Dir Assoc.* 2013;14(8):627.e13-18.
12. Gordon PL, Doyle JW, Johansen KL. Association of 1,25-dihydroxyvitamin D levels with physical performance and thigh muscle cross-sectional area in chronic kidney disease stage 3 and 4. *J Ren Nutr.* 2012;22(4):423–33.
13. Dhanwal DK, Dharmshaktu P, Gautam VK, Gupta N, Saxena A. Hand grip strength and its correlation with vitamin D in Indian patients with hip fracture. *Arch Osteoporos.* 2013;8:158.
14. Grimaldi AS, Parker BA, Capizzi JA, Clarkson PM, Pescatello LS, White MC, et al. 25(OH) vitamin D is associated with greater muscle strength in healthy men and women. *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45(1):157–62.
15. Gumieiro DN, Murino Rafacho BP, Buzati Pereira BL, Cavallari KA, Tanni SE, Azevedo PS, et al. Vitamin D serum levels are associated with handgrip strength but not with muscle mass or length of hospital stay after hip fracture. *Nutr.* 2015;31(7–8):931–4.
16. von Hurst PR, Conlon C, Foskett A. Vitamin D status predicts hand-grip strength in young adult women living in Auckland, New Zealand. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;136:330–2.
17. Gordon PL, Sakkas GK, Doyle JW, Shubert T, Johansen KL. Relationship between vitamin D and muscle size and strength in patients on hemodialysis. *J Ren Nutr.* 2007;17(6):397–407.
18. Cangussu LM, Nahas-Neto J, Orsatti CL, Bueloni-Dias FN, Nahas E a. P. Effect of vitamin D supplementation alone on muscle function in postmenopausal

- women: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Osteoporos Int J*. 2015;26(10):2413–21.
19. Owens DJ, Sharples AP, Polydorou I, Alwan N, Donovan T, Tang J, et al. A systems-based investigation into vitamin D and skeletal muscle repair, regeneration, and hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015; 309(12):E1019-1031.
 20. Beaudart C, Buckinx F, Rabenda V, Gillain S, Cavalier E, Slomian J, et al. The effects of vitamin D on skeletal muscle strength, muscle mass, and muscle power: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(11):4336–45.
 21. Bunout D, Barrera G, Leiva L, Gattas V, de la Maza MP, Avendaño M, et al. Effects of vitamin D supplementation and exercise training on physical performance in Chilean vitamin D deficient elderly subjects. *Exp Gerontol*. 2006; 41(8):746–52.
 22. Agergaard J, Trøstrup J, Uth J, Iversen JV, Boesen A, Andersen JL, et al. Does vitamin-D intake during resistance training improve the skeletal muscle hypertrophic and strength response in young and elderly men? - a randomized controlled trial. *Nutr Metab*. 2015;12:32.
 23. Meneghelo RS, Araújo CGS, Stein R, Mastrocolla LE, Albuquerque PF, Serra SM. III Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre teste ergométrico. *Arq Bras Cardiol*. 2010;95(5):1–26.
 24. Steiber A, Leon JB, Secker D, McCarthy M, McCann L, Serra M, et al. Multicenter study of the validity and reliability of subjective global assessment in the hemodialysis population. *J Ren Nutr*. 2007;17(5):336–42.
 25. Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. K/DOQI, National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis*. 2000 ;35(6 Suppl 2):S1-140.
 26. Fouque D, Vennegoor M, ter Wee P, Wanner C, Basci A, Canaud B, et al. EBPG guideline on nutrition. *Nephrol Dial Transplant*. 2007 ;22 Suppl 2:ii45-87.
 27. Daugirdas JT. Second generation logarithmic estimates of single-pool variable volume Kt/V: an analysis of error. *J Am Soc Nephrol* . 1993 ;4(5):1205–13.
 28. Liao M-T, Liu W-C, Lin F-H, Huang C-F, Chen S-Y, Liu C-C, et al. Intradialytic aerobic cycling exercise alleviates inflammation and improves endothelial progenitor cell count and bone density in hemodialysis patients. *Medicine*. 2016; 95(27):e4134.
 29. Meireles MS, Kamimura MA, Dalboni MA, Giffoni de Carvalho JT, Aoike DT, Cuppari L. Effect of cholecalciferol on vitamin D-regulatory proteins in monocytes and on inflammatory markers in dialysis patients: A randomized controlled trial. *Clin Nutr*. 2016; 35(6): 1251-8.
 30. Matias PJ, Jorge C, Ferreira C, Borges M, Aires I, Amaral T, et al. Cholecalciferol supplementation in hemodialysis patients: effects on mineral metabolism, inflammation, and cardiac dimension parameters. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; 5(5):905–11.

31. Buchares S, Barberato SH, Stinghen AEM, Gruber B, Piekala L, Dambiski AC, et al. Impact of cholecalciferol treatment on biomarkers of inflammation and myocardial structure in hemodialysis patients without hyperparathyroidism. *J Ren Nutr.* 2012;22(2):284–91.
32. Frey S, Mir AR, Lucas M. Visceral protein status and caloric intake in exercising versus nonexercising individuals with end-stage renal disease. *J Ren Nutr.* 1999; 9(2):71–7.
33. Jorde R, Grimnes G. Vitamin D and metabolic health with special reference to the effect of vitamin D on serum lipids. *Prog Lipid Res.* 2011;50(4):303–12.
34. Wang H, Xia N, Yang Y, Peng D-Q. Influence of vitamin D supplementation on plasma lipid profiles: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Lipids Health Dis.* 2012;11:42.
35. Yeksan M, Türk S, Polat M, Cigli A, Erdoğan Y. Effects of 1,25 (OH)2D3 treatment on lipid levels in uremic hemodialysis patients. *Int J Artif Organs.* 1992; 15(12):704–7.
36. Khajehdehi P, Taheri S. Effect of oral calcitriol pulse therapy on the lipid, calcium, and glucose homeostasis of hemodialysis-patients: its safety in a combination with oral calcium carbonate. *J Ren Nutr.* 2003;13(2):78–83.
37. Wang Y, DeLuca HF. Is the vitamin d receptor found in muscle? *Endocrinology.* 2011;152(2):354–63.
38. Ceglia L, Niramitmahapanya S, da Silva Morais M, Rivas DA, Harris SS, Bischoff-Ferrari H, et al. A randomized study on the effect of vitamin D₃ supplementation on skeletal muscle morphology and vitamin D receptor concentration in older women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(12):E1927-1935.
39. Girgis CM, Cha KM, Houweling PJ, Rao R, Mokbel N, Lin M, et al. Vitamin D Receptor Ablation and Vitamin D Deficiency Result in Reduced Grip Strength, Altered Muscle Fibers, and Increased Myostatin in Mice. *Calcif Tissue Int.* 2015; 97(6):602–10.
40. Sato Y, Iwamoto J, Kanoko T, Satoh K. Low-dose vitamin D prevents muscular atrophy and reduces falls and hip fractures in women after stroke: a randomized controlled trial. *Cerebrovasc Dis.* 2005;20(3):187–92.
41. Knutsen KV, Madar AA, Lagerlöv P, Brekke M, Raastad T, Stene LC, et al. Does vitamin D improve muscle strength in adults? A randomized, double-blind, placebo-controlled trial among ethnic minorities in Norway. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(1):194–202.
42. Goswami R, Vatsa M, Sreenivas V, Singh U, Gupta N, Lakshmy R, et al. Skeletal muscle strength in young Asian Indian females after vitamin D and calcium supplementation: a double-blind randomized controlled clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(12):4709–16.
43. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1911–30.

44. Bataille S, Landrier J-F, Astier J, Giaime P, Sampol J, Sichez H, et al. The “Dose-Effect” Relationship Between 25-Hydroxyvitamin D and Muscle Strength in Hemodialysis Patients Favors a Normal Threshold of 30 ng/mL for Plasma 25-Hydroxyvitamin D. *J Ren Nutr*. 2016;26(1):45–52.
45. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, Orav JE, Stuck AE, Theiler R, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*. 2009;339:b3692.
46. Flood A, Chung A, Parker H, Kearns V, O’Sullivan TA. The use of hand grip strength as a predictor of nutrition status in hospital patients. *Clin Nutr*. 2014; 33(1):106–14.
47. Makanae Y, Ogasawara R, Sato K, Takamura Y, Matsutani K, Kido K, et al. Acute bout of resistance exercise increases vitamin D receptor protein expression in rat skeletal muscle. *Exp Physiol*. 2015;100(10):1168–76.
48. Sawant A, House AA, Overend TJ. Anabolic Effect of Exercise Training in People with End-Stage Renal Disease on Hemodialysis: A Systematic Review with Meta-analysis. *Physiother Can*. 2014;66(1):44–53.
49. Bae Y-H, Lee SM, Jo JI. Aerobic training during hemodialysis improves body composition, muscle function, physical performance, and quality of life in chronic kidney disease patients. *J Phys Ther Sci*. 2015;27(5):1445–9.
50. Storer TW, Casaburi R, Sawelson S, Kopple JD. Endurance exercise training during haemodialysis improves strength, power, fatigability and physical performance in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* . 2005;20(7):1429–37.
51. Kouidi E, Albani M, Natsis K, Megalopoulos A, Gigis P, Guiba-Tziampiri O, et al. The effects of exercise training on muscle atrophy in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13(3):685–99.
52. Sakkas GK, Sargeant AJ, Mercer TH, Ball D, Koufaki P, Karatzaferi C, et al. Changes in muscle morphology in dialysis patients after 6 months of aerobic exercise training. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(9):1854–61.
53. Macdonald JH, Marcora SM, Jibani M, Phanish MK, Holly J, Lemmey AB. Intradialytic exercise as anabolic therapy in haemodialysis patients -- a pilot study. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2005;25(2):113–8.
54. Goodpaster BH, Park SW, Harris TB, Kritchevsky SB, Nevitt M, Schwartz AV, et al. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006; 61(10):1059–64.
55. Norman K, Stobäus N, Gonzalez MC, Schulzke J-D, Pirlich M. Hand grip strength: outcome predictor and marker of nutritional status. *Clin Nutr*. 2011;30(2):135–42.
56. Dember LM, Archdeacon P, Krishnan M, Lacson E, Ling SM, Roy-Chaudhury P, et al. Pragmatic Trials in Maintenance Dialysis: Perspectives from the Kidney Health Initiative. *J Am Soc Nephrol*. 2016;27(10):2955–63.

Artigo submetido

*Effect of vitamin D supplementation and
intra dialytic aerobic training on lipid profile,
muscle function and body composition in
maintenance hemodialysis patients: a
randomized controlled trial*

**EFFECT OF VITAMIN D SUPPLEMENTATION AND INTRA DIALYTIC
AEROBIC TRAINING ON LIPID PROFILE, MUSCLE FUNCTION AND BODY
COMPOSITION IN MAINTENANCE HEMODIALYSIS PATIENTS: A RANDOMIZED
CONTROLLED TRIAL**

Barbara Perez Vogt¹ RD PhD, Luís Cuadrado Martin² MD PhD, Viviana Rugolo Oliveira Silva¹ PT PhD, Fernanda Stringuetta Belik¹ PT PhD, Altamir Santos Teixeira³ MD MSc, Roberto Silva Franco² MD PhD, Jacqueline Costa Teixeira Caramori² MD PhD

¹Graduate Program on Physiopathology in Internal Medicine, Faculdade de Medicina de Botucatu, Univ Estadual Paulista – UNESP

² Department of Internal Medicine, Faculdade de Medicina de Botucatu, Univ Estadual Paulista – UNESP

³ Department of Imaging Diagnosis, Faculdade de Medicina de Botucatu, Univ Estadual Paulista – UNESP

This trial was registered at the REBEC (Brazilian Clinical Trials Registry) under the registration number RBR – 8ykyws

Sources of funding

A doctoral fellowship was provided by Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), an organization of the Brazilian federal government under the Ministry of Education, to BPV. A doctoral fellowship was provided by São Paulo Research Foundation (FAPESP) to FSB.

Acknowledgments

Special thanks go to Mariana C. C. Borges, Marcela T. Watanabe, Karina J. Antonio, Suellen C. A. Nogueira, and Ana Lúcia L. Maia for their assistance on patients' assessments and to Isabel C. A. Silva for her assistance on blinding and supplementation.

Conflict of interest

The authors declare they have no conflicts of interest.

Abstract

Background: function and muscle mass depletion is frequent in hemodialysis patients, as well as vitamin D deficiency. Vitamin D supplementation exerts positive effects on muscles, and clinical trials combining vitamin D supplementation and physical training have promoted improvements on functional capacity and muscle quality in elderly.

Objective: to assess the effects of vitamin D supplementation and intradialytic aerobic training (IDAT) on biochemical parameters, body composition, and muscle function in patients on maintenance hemodialysis.

Methods: clinical trial with two arms: randomized, controlled, and double-blind for vitamin D, and randomized, controlled and open-label for IDAT. Patients were randomized in one of the four groups: vitamin D supplementation and IDAT, placebo and IDAT, vitamin D supplementation, and placebo. Muscle mass was assessed by dual-energy X-ray absorptiometry and muscle function was assessed by handgrip strength. Intervention lasted 16 weeks. IDAT program was performed using cycle ergometer, three times a week during hemodialysis session. Vitamin D supplementation was cholecalciferol 50,000 IU per week and vitamin D status was evaluated by serum 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) levels.

Results: twenty-nine patients were enrolled in this trial. Nine were excluded during the intervention, six of them due to kidney transplant. Serum vitamin D

significantly rose in both groups supplemented with cholecalciferol (baseline: 30.1 ± 6.26 ng/ml; post-intervention: 41.3 ± 9.85 ng/ml; $p < 0.001$). There was a significant interaction between interventions improving triglycerides and HDL-cholesterol. There was significant correlation between variation of serum 25(OH)D and CRP, and variation of serum 25(OH)D and handgrip strength. Vitamin D supplementation had a significant effect on the increase of handgrip strength and BMI. It was not possible to identify whether this weight gain corresponded to lean mass or body fat, since both presented no differences among groups.

Conclusion: cholecalciferol supplementation and IDAT interacted improving lipid profile in maintenance hemodialysis patients. Cholecalciferol supplementation promoted muscle function improvement and body weight gain.

Keywords: body composition, cholecalciferol, handgrip strength, hemodialysis, physical training.

Introduction

The main cause of mortality in patients with chronic kidney disease (CKD) is cardiovascular, due to the presence of several traditional and non-traditional risk factors. The traditional risk factors are ageing, hypertension, dyslipidemia and diabetes. The non-traditional are: chronic systemic inflammation, oxidative stress, left ventricular hypertrophy, volume overload, anemia, vascular calcification and protein energy wasting. The latter is mainly characterized by skeletal muscle mass depletion (1).

Muscle mass depletion is highly prevalent among CKD patients and it is associated with morbidity and mortality in hemodialysis patients (2-4). Interventions aiming the improvement of muscle mass in these patients have been explored (5).

However, not only muscle mass decrease, but also low muscle strength and function are associated with greater mortality risk (6-8), independent of muscle mass (8). Therefore, interventions exploring the increase of muscle function may also be significant for improving quality of life and reducing the mortality risk.

With CKD progression, vitamin D activation becomes impaired. Serum levels of vitamin D, which are assessed by the metabolite 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], has been positively associated with muscle mass (9-12), muscle strength and function (10-16) in general population and different clinical conditions, such as obesity, ageing, hip fracture, and CKD. Gordon et al (17) verified in a cross-sectional study that patients on maintenance hemodialysis who were receiving calcitriol or paricalcitol had better results in tests evaluating physical performance, muscle strength, and muscle mass than those patients that were not.

Some trials with postmenopausal women, young men and a metanalysis, which included trials with different populations, verified that vitamin D supplementation exerts positive effects on skeletal muscle (18-20). However, this issue was not investigated in randomized controlled clinical trials in hemodialysis patients. Recently, it was verified that vitamin D supplementation associated with physical training promoted improvements on functional capacity tests (21) and muscle quality (22) in elderly.

Vitamin D supplementation and physical training affect muscle function and mass. Therefore, our hypothesis is that both interventions act synergistically on muscle increment of patients on hemodialysis. Thus, the objective of this trial was to evaluate the effects of vitamin D supplementation and intradialytic aerobic training, alone or combined, on biochemical parameters, body composition and muscle function of maintenance hemodialysis patients.

Methods

Participants

Patients older than 18 years, diagnosed with CKD, on maintenance hemodialysis for at least three months in the Clinics Hospital of the Botucatu Medical School, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil (22°53'09" S, 48°26'42" W) were included. Individuals were excluded if they met at least one of the following criteria: inability to understand the performed procedures (assessments and interventions), previous diagnosis of coronary artery disease, positive stress test for cardiac ischemia, stroke, cancer, hepatic insufficiency, chronic or active infection, uncontrolled hypertension (systolic blood pressure $\geq$ 160 mm Hg or diastolic blood pressure $\geq$ 100 mm Hg), limb amputation, who were supplemented with cholecalciferol or ergocalciferol in the last year, using medicines that may influence body composition, such as corticosteroids or antiretroviral therapy.

Inclusion occurred from March 2013 to March 2015. During this period, electronic medical records of all prevalent patients on hemodialysis in the unit were screened to select those patients likely to be invited to take part in the research.

Informed consent was obtained from all participants, and the study was approved by the Research Ethics Committee from the institution. This trial was registered and approved by REBEC (Brazilian Clinical Trials Registry) under the registration number RBR – 8ykyws

Cardiac assessment

Results from stress test were used as exclusion criteria in case of myocardial ischemia identification. The assessment was performed according to Brazilian Cardiology Society guideline of 2010, with Bruce protocol (23). The stress test was performed on treadmill with electrocardiographic, blood pressure, and subjective

feeling of fatigue monitoring. All patients were instructed to use their medication as usual, so the maximum heart rate obtained in the test represented the reality of each patient during the performance of physical activities. The test was interrupted in cases of atypical changes in blood pressure and heart rate, clinical manifestations of chest discomfort, disproportionate dyspnea to the intensity of the exertion, and important alteration in electrocardiogram (23).

Study design

Clinical trial in hemodialysis patients, with two arms: randomized, double-blind, and controlled with placebo for vitamin D supplementation, and randomized, opened, and controlled for intradialytic aerobic training. Patients were randomized in four groups, as following:

- VD+IDAT: vitamin D supplementation and intradialytic aerobic training;
- PL+IDAT: placebo and intradialytic aerobic training;
- VD: vitamin D;
- PL: placebo.

Individuals were assessed before and after the intervention.

Randomization and blinding

Allocation of patients in one of the four groups was defined after the inclusion in the study and after the stress test. Participants were continuously randomized through lists generated by randomization website previously printed. These lists were hold by a person who did not perform the assessments or intervention. Firstly, training allocation was randomized from one list (intradialytic aerobic training or control). After, vitamin D supplementation allocation was defined from another list (vitamin D or placebo).

Allocation rate was 1:1 for aerobic training groups and vitamin D or placebo. The investigators responsible by assessments and interventions and the participants were unaware of the group allocation regarding vitamin D supplementation.

Intradialytic aerobic training

Exercise protocol was performed three times a week, during the first two hours of hemodialysis session. Aerobic training consisted in exercise on cycle ergometer (Foot Hand Bike – Polimet®) adapted to hemodialysis chair for 30 minutes, which was progressively increased up to 45 minutes. Training intensity ranged from 65 to 75% of maximum heart rate, which was obtained from stress test. Heart rate was controlled by cardiac monitor Polar FS3C®. Intradialytic aerobic training protocol lasted 16 weeks and it was supervised by the same researchers.

Vitamin D supplementation

One pill containing 50,000 IU of cholecalciferol (Vitamin D3) (Farmácia Cruz Vermelha, Botucatu, Brazil) was given at the first hemodialysis session of each week, during the 16 weeks of intervention. Placebo was a pill identical to cholecalciferol pill, but containing pharmaceutical talc (Farmácia Cruz Vermelha, Botucatu, Brazil).

Nutritional assessment

Nutritional assessment consists in: anthropometric evaluation, subjective global assessment, handgrip strength test, and body composition evaluation.

Anthropometric evaluation was performed 30 minutes after hemodialysis session. Body weight and height were measured and body mass index (BMI) was

calculated dividing body weight by height squared. Seven-point subjective global assessment adapted for CKD (24) was applied for nutritional status evaluation.

Global muscle function was evaluated by handgrip strength, using a Jamar® mechanical dynamometer. Patients were instructed to hold the grip with the arm extended sideways from the body with the dynamometer facing away from the body. With maximum force with the dominant hand or in the non-fistula hand if implanted, the grip was hold three times with intervals of about 30 seconds. The maximum value of the three measurements was considered.

Body composition was quantified by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). Total body images were obtained by Hologic® QDR-2000 (Waltham, MA, USA). Bone density, total lean mass, and total body fat were estimated by the integrated software, as well as compartments (left and right inferior limbs and superior limbs, trunk and head). Appendicular muscle mass index was calculated dividing superior and inferior limbs lean mass by squared height.

Records for 3-day food register were given to the participants, which were instructed to fill in them. Nutritional counseling was continuously given by renal nutritionists team, according to nutrition in hemodialysis international guidelines (25,26).

Laboratorial parameters

Serum levels of creatinine, urea, albumin, bicarbonate, total and HDL-cholesterol, triglycerides, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase (enzymatic calorimetric, Vitros 950, Johnson & Johnson®), PTH (chemiluminescence, Architect i2000, Abbott), hemoglobin (Pentra 120, ABX Horiba), C-reactive protein (immuno assay, Vitros 950, Johnson & Johnson), 25-hydroxyvitamin-D [25(OH)D]

(immunochemiluminescence; Architect i2000, Abbott) were determined. Blood was collected before hemodialysis session. All measurements were performed at the specialized chemistry laboratory of the Clinics Hospital of Botucatu Medical School. Dialysis adequacy was measured by Kt/V, and it was calculated using the formula of Daugirdas (27).

Statistical analysis

Sample size calculation was based on a report by Cangussu et al (18). With a power of 95%, significance level of 5% and assuming a dropout rate of 25%, the sample size was estimated in 14 patients per group to detect increase muscle strength after cholecalciferol supplementation.

Data were expressed in mean $\pm$ standard deviation. Frequencies and alteration in parameters after the interventions were expressed in percentage. The percentage of the variables in the post-intervention moment correspondent to the baseline values was calculated ($\% = \text{post-intervention value} * 100 / \text{baseline value}$). Normality was tested by Kolmogorov-Smirnov test. Variables with non-parametric distribution underwent log transformation to normalize their distribution. Pearson or Spearman's correlation was used to verify the correlation between variation of 25(OH)D serum levels and variation of biochemical and nutritional variables. These analyses were performed using SPSS for Windows (Version 22.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Two-way ANOVA was used to compare baseline characteristics among the four groups and the percentage of the variables in the post-intervention moment correspondent to the baseline values. When there was a significant p-value, the groups were compared using Tukey post hoc analysis. This test provides three p-values: one concerning the supplementation intervention, one concerning intradialytic aerobic training and, finally, the interaction between these interventions. This last analysis was

performed with SigmaStat for Windows software (Version 3.5, Systat Software Inc., CA, USA). Level of statistical significance was $p < 0.05$.

Results

Patients' selection and inclusion are summarized in Figure 1. There were 248 patients prevalent in hemodialysis, 62 were considered eligible for the study. Thirty patients refused to participate, and three were excluded after exercise testing due to the significant increase in blood pressure. Therefore, 29 patients were enrolled for randomization. Nine of these were excluded during the intervention, six due to kidney transplantation.

There was no significant difference in the comparison of baseline characteristics of included patients ($n=29$) and patients who completed the intervention ($n=20$). Baseline demographic and clinical characteristics of patients who completed the intervention and comparisons among all groups are detailed on Table 1. The main causes of end-stage kidney disease were diabetic nephropathy (30%), glomerulonephritis (25%), and hypertensive nephrosclerosis (20%).

All patients presented score of 6 or 7 on subjective global assessment, which corresponds to good nutritional status. Baseline mean serum 25(OH)D was 34.6 ± 10.1 ng/ml, which increased 37.4% after the intervention in patients supplemented with cholecalciferol, and decreased 2.6% in patients who received placebo.

Intradialytic aerobic training was well tolerated by the patients. There were no hypotension episodes or unexpected events during or after training sessions.

Serum 25(OH)D levels significantly increased in both supplemented groups, independent of training (baseline: 30.1 ± 6.26 ng/ml; post-intervention: 41.3 ± 9.85 ng/ml; $p < 0.001$). There was no significant difference in groups that received placebo.

Biochemical parameters related to mineral and bone metabolism (serum phosphate, calcium, PTH, and alkaline phosphatase) were not altered by vitamin D supplementation or aerobic training, and there was no interaction (Table 2). It was not possible to assess participants' food intake, because of low compliance in returning filled-in 3-day food records (25% of patients did not return the records at the pre intervention moment, 50% of the patients did not at the post-intervention).

HDL-cholesterol variation was significantly greater in VD+IDAT group compared to PL+IDAT group ($p=0.010$) and in group VD compared to PL ($p=0.043$). Triglycerides variation was lower in the VD + IDAT group compared to VD ($p = 0.011$) (Table 3). There was a significant interaction between interventions on triglycerides and HDL-cholesterol. Other biochemical parameters were not different between moments and among groups and they were not altered by both interventions.

Although the interventions had no effect on the inflammatory state, which was assessed by CRP (Table 3), a significant negative correlation between alteration of 25(OH)D serum levels and alteration of CRP was found (Figure 2B). Positive correlation between changes in 25(OH)D serum levels and change in handgrip strength was found (Figure 2A). There was no significant correlation between the change in 25(OH)D serum levels and other biochemical and nutritional parameters.

Handgrip strength increased significantly in VD+IDAT group compared to the PL+IDAT group ($p=0.05$), and vitamin D supplementation intervention had significant effect on the increase of handgrip strength (Table 4). The change of gross values of handgrip strength was marginally significant in the VD+IDAT group ($p=0.057$). Alteration of mean handgrip strength of the groups at baseline and post-intervention moments is shown in figure 3. Vitamin D supplementation had an effect on increase of BMI. However, it was not possible to identify whether this weight gain corresponded to lean mass or body fat, since both presented no differences among groups (Table 4).

Discussion

The present study evaluated the effect of two interventions, intradialytic aerobic training and vitamin D supplementation, alone or associated, on biochemical parameters, muscle function, and body composition of maintenance hemodialysis patients. Interventions acted synergistically improving lipid profile, while vitamin D supplementation acted improving muscle function and increasing body weight, with body composition preservation. To the best of our knowledge, this is the first trial evaluating the effects of such interventions on those outcomes in hemodialysis.

Anti-inflammatory effects of exercise (28) and vitamin D (29-31) in hemodialysis patients have been already described. The improvement of inflammatory profile may be associated with better appetite and consequently, food intake increase, resulting in body weight gain. In fact, there was significant correlation between variation of 25(OH)D serum levels and variation of CRP levels. Food intake data and specific inflammatory markers would be useful for better understand some results. Increase in food intake of the participants was not confirmed in this sample, because of the low compliance in returning the filled-in 3-day food records. Increase in energy and protein intake of hemodialysis patients submitted to intradialytic aerobic training has been already verified by Frey et al (32).

Beyond body weight gain associated with vitamin D supplementation, lipid profile improved in VD+IDAT group (HDL-cholesterol increase and triglycerides decrease). HDL-cholesterol decreased in PL+IDAT group, showing the interaction beneficial effect of both interventions. Cross-sectional studies have shown negative association between serum 25(OH)D and serum triglycerides, and positive association between serum 25(OH)D and HDL-cholesterol (33). Vitamin D supplementation effect on lipid profile has already been verified in clinical trials. However, the results are still

controversial (34). In hemodialysis patients, two clinical trials evaluated the effect of calcitriol supplementation on lipid profile (35,36). Serum triglycerides decreased in both. Though, in our study the effect of vitamin D supplementation on lipid profile was significant only combined with aerobic training.

Vitamin D effects on skeletal muscle have not been completely elucidated yet. Although the existence of vitamin D receptors (VDR) in muscle cells had been questioned (37), more recent studies in rats and humans have shown the presence of these receptors in skeletal muscle samples (38,39) and the consequences of VDR deletion (39). Studies with cross sectional analysis have shown results positively associating 25(OH)D serum levels with muscle strength (11,13,14,16).

Some double-blind randomized controlled trials have shown the effect of vitamin D on muscle (18,19,38,40), while other trials revealed opposite results(41,42). Nevertheless, the majority of those studies considers 25(OH)D serum levels between 20 and 30 ng/ml (50 and 75 nmol/L, respectively) as satisfactory. These reference values were defined based on the maintenance of normal serum PTH and calcium (43), and there is no specific threshold based on skeletal muscle health. The Endocrine Society suggests to maintain serum levels above 30 ng/ml to maximize the effect of vitamin D on muscle metabolism (43). Bataille et al (44) verified that hemodialysis patients with 25(OH)D serum levels below 30 ng/mL had lower muscle strength, which was assessed by handgrip strength. However, patients with 25(OH)D above 40 ng/mL were not stronger than patients with 25(OH)D between 30 and 40 ng/mL, showing that, perhaps, there is a plateau effect (44). Epidemiological studies suggest serum levels between 30 and 40 ng/ml for fall prevention due to better lower limbs muscle function (45). In our study, patients of VD+IDAT group reached 25(OH)D serum levels ranging from 32 ng/ml to 51.7 ng/ml, and in VD group, only one patient concluded the intervention with 25(OH)D serum level below 30 ng/ml (24.7 ng/ml). The others participants reached serum levels between 36 and 55.6 ng/ml.

Vitamin D supplementation is able to increase intramyonuclear VDR concentration, mainly in type II fiber (38), thus, improving the effects of vitamin D on skeletal muscle. Handgrip strength was the method chosen to assess muscle function. It is a simple and reliable measure of muscle function, often used in clinical situations to assess nutritional status (46). Furthermore, muscle strength has the advantage of being a marker that precedes muscular muscle loss, allowing earlier interventions.

Besides the influence of vitamin D supplementation on VDR expression in skeletal muscle cells, there are studies indicating that exercise may also increase the expression of these receptors in muscle. In an experimental study, Makanae et al (47) verified the increase of VDR and related enzymes expression after an acute bout of skeletal muscle contraction in rats. However, the same effect was not observed after an aerobic training session. More studies are still necessary to understand more deeply the exercise contribution on VDR expression. Nevertheless, we hypothesized that resistance exercise might present interaction with vitamin D supplementation in muscle function increase. In fact, resistance exercise is the most consistent strategy aiming muscle mass and strength gain (48), while aerobic exercise promotes improvement on physical and functional capacity (28,49,50), even there is no skeletal muscle mass gain. In humans, some trials, in which the intervention was aerobic training, have shown enlargement of muscle fibers cross sectional area (51,52), while other trials show skeletal muscle mass conservation (49,53), which also happened in our study.

Some studies have found association of 25(OH)D serum levels with muscle strength, but not with skeletal muscle mass (15,20). In fact, muscle strength is not dependent only on muscle mass amount. Moreover, the muscle strength decline rate is dissociated from muscle mass loss (54). The importance of muscle strength gain with this relatively simple and low-cost intervention is that, besides greater strength is associated with lower risk of functional capacity decline, dependence for daily living

activities, and disability (55); it is also associated with lower mortality risk in hemodialysis patients (6-8).

The main limitations of this study are the small sample size, the fact that the patients were prevalent and not incident in hemodialysis, and patients' follow-up loss in all groups. Nevertheless, with relatively simple interventions, we could show positive results regarding muscle strength and lipid profile improvement.

The fact that some of the patients were taking calcitriol previously may be the most important bias of this trial. However, considering that calcitriol prescription was homogeneous among the groups, and only one patient stopped using calcitriol and another one started it, both from PL group, we consider that this bias would only mitigate the results. The results were significant although calcitriol prescription for some patients. Moreover, calcitriol is a medication often used by hemodialysis patients due to the consequences of vitamin D activation deficiency. Strength of this study is that it is a "real world clinical trial", in other words, the efficiency of the implemented interventions was evaluated under the usual conditions of clinical care. Furthermore, the results correspond to the reality of hemodialysis patients' care and they are readily translatable into clinical practice (56).

On the other hand, this study enrolled a thoroughly selected sample, because all patients included presented good general health status and no previous cardiovascular disease. Thus, majority of follow-up losses during the intervention occurred due to kidney transplantation, since the patients were in adequate clinical conditions.

In conclusion, cholecalciferol supplementation and intradialytic aerobic training interacted improving lipid profile in maintenance hemodialysis patients. Cholecalciferol supplementation promoted improvement on muscle function, which was assessed by handgrip strength, and increase in body weight.

More studies are still necessary to verify the effect of other physical training modalities combined with cholecalciferol supplementation on lipid profile, body composition, and muscle function, as well as longer intervention and its impact on hard outcomes.

References

1. Sarnak MJ. Cardiovascular complications in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis.* 2003;41(5 Suppl):11–7.
2. Noori N, Kopple JD, Kovesdy CP, Feroze U, Sim JJ, Murali SB, et al. Mid-arm muscle circumference and quality of life and survival in maintenance hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(12):2258–68.
3. Beddhu S, Pappas LM, Ramkumar N, Samore M. Effects of body size and body composition on survival in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(9):2366–72.
4. Araújo IC de, Kamimura MA, Draibe SA, Canziani MEF, Manfredi SR, Avesani CM, et al. Nutritional parameters and mortality in incident hemodialysis patients. *J Ren Nutr.* 2006;16(1):27–35.
5. Workeneh BT, Mitch WE. Review of muscle wasting associated with chronic kidney disease. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(4):1128S–1132S.
6. Vogt BP, Borges MCC, Goés CR de, Caramori JCT. Handgrip strength is an independent predictor of all-cause mortality in maintenance dialysis patients. *Clin Nutr.* 2016; 35(6): 1429-33
7. Matos CM, Silva LF, Santana LD, Santos LS, Protásio BM, Rocha MT, et al. Handgrip strength at baseline and mortality risk in a cohort of women and men on hemodialysis: a 4-year study. *J Ren Nutr.* 2014;24(3):157–62.
8. Isoyama N, Qureshi AR, Avesani CM, Lindholm B, Båråny P, Heimbürger O, et al. Comparative associations of muscle mass and muscle strength with mortality in dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014 ;9(10):1720–8.
9. Shantavasinkul PC, Phanachet P, Puchaiwattananon O, Chailurkit L, Lapananon T, Chanprasertyotin S, et al. Vitamin D status is a determinant of skeletal muscle mass in obesity according to body fat percentage. *Nutr .* 2015;31(6):801–6.
10. Visser M, Deeg DJH, Lips P, Longitudinal Aging Study Amsterdam. Low vitamin D and high parathyroid hormone levels as determinants of loss of muscle strength and muscle mass (sarcopenia): the Longitudinal Aging Study Amsterdam. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(12):5766–72.

11. Janssen HCJP, Emmelot-Vonk MH, Verhaar HJJ, van der Schouw YT. Vitamin D and muscle function: is there a threshold in the relation? *J Am Med Dir Assoc*. 2013;14(8):627.e13-18.
12. Gordon PL, Doyle JW, Johansen KL. Association of 1,25-dihydroxyvitamin D levels with physical performance and thigh muscle cross-sectional area in chronic kidney disease stage 3 and 4. *J Ren Nutr*. 2012;22(4):423–33.
13. Dhanwal DK, Dharmshaktu P, Gautam VK, Gupta N, Saxena A. Hand grip strength and its correlation with vitamin D in Indian patients with hip fracture. *Arch Osteoporos*. 2013;8:158.
14. Grimaldi AS, Parker BA, Capizzi JA, Clarkson PM, Pescatello LS, White MC, et al. 25(OH) vitamin D is associated with greater muscle strength in healthy men and women. *Med Sci Sports Exerc*. 2013;45(1):157–62.
15. Gumieiro DN, Murino Rafacho BP, Buzati Pereira BL, Cavallari KA, Tanni SE, Azevedo PS, et al. Vitamin D serum levels are associated with handgrip strength but not with muscle mass or length of hospital stay after hip fracture. *Nutr*. 2015;31(7–8):931–4.
16. von Hurst PR, Conlon C, Foskett A. Vitamin D status predicts hand-grip strength in young adult women living in Auckland, New Zealand. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2013 ;136:330–2.
17. Gordon PL, Sakkas GK, Doyle JW, Shubert T, Johansen KL. Relationship between vitamin D and muscle size and strength in patients on hemodialysis. *J Ren Nutr*. 2007 ;17(6):397–407.
18. Cangussu LM, Nahas-Neto J, Orsatti CL, Bueloni-Dias FN, Nahas E a. P. Effect of vitamin D supplementation alone on muscle function in postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Osteoporos Int*. 2015;26(10):2413–21.
19. Owens DJ, Sharples AP, Polydorou I, Alwan N, Donovan T, Tang J, et al. A systems-based investigation into vitamin D and skeletal muscle repair, regeneration, and hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015;309(12):E1019-1031.
20. Beaudart C, Buckinx F, Rabenda V, Gillain S, Cavalier E, Slomian J, et al. The effects of vitamin D on skeletal muscle strength, muscle mass, and muscle power: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 ;99(11):4336–45.
21. Bunout D, Barrera G, Leiva L, Gattas V, de la Maza MP, Avendaño M, et al. Effects of vitamin D supplementation and exercise training on physical performance in Chilean vitamin D deficient elderly subjects. *Exp Gerontol*. 2006;41(8):746–52.
22. Agergaard J, Trøstrup J, Uth J, Iversen JV, Boesen A, Andersen JL, et al. Does vitamin-D intake during resistance training improve the skeletal muscle hypertrophic and strength response in young and elderly men? - a randomized controlled trial. *Nutr Metab*. 2015;12:32.

23. Meneghelo RS, Araújo CGS, Stein R, Mastrocolla LE, Albuquerque PF, Serra SM. III Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre teste ergométrico. *Arq Bras Cardiol.* 2010;95(5):1–26.
24. Steiber A, Leon JB, Secker D, McCarthy M, McCann L, Serra M, et al. Multicenter study of the validity and reliability of subjective global assessment in the hemodialysis population. *J Ren Nutr.* 2007 ;17(5):336–42.
25. Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. K/DOQI, National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis.* 2000;35(6 Suppl 2):S1-140.
26. Fouque D, Vennegoor M, ter Wee P, Wanner C, Basci A, Canaud B, et al. EBPG guideline on nutrition. *Nephrol Dial Transplant .* 2007 ;22 Suppl 2:ii45-87.
27. Daugirdas JT. Second generation logarithmic estimates of single-pool variable volume Kt/V: an analysis of error. *J Am Soc Nephrol .* 1993;4(5):1205–13.
28. Liao M-T, Liu W-C, Lin F-H, Huang C-F, Chen S-Y, Liu C-C, et al. Intradialytic aerobic cycling exercise alleviates inflammation and improves endothelial progenitor cell count and bone density in hemodialysis patients. *Medicine.* 2016; 95(27):e4134.
29. Meireles MS, Kamimura MA, Dalboni MA, Giffoni de Carvalho JT, Aoike DT, Cuppari L. Effect of cholecalciferol on vitamin D-regulatory proteins in monocytes and on inflammatory markers in dialysis patients: A randomized controlled trial. *Clin Nutr.* 2016; 35(6):1251-8
30. Buchares S, Barberato SH, Stinghen AEM, Gruber B, Piekala L, Dambiski AC, et al. Impact of cholecalciferol treatment on biomarkers of inflammation and myocardial structure in hemodialysis patients without hyperparathyroidism. *J Ren Nutr.* 2012;22(2):284–91.
31. Matias PJ, Jorge C, Ferreira C, Borges M, Aires I, Amaral T, et al. Cholecalciferol supplementation in hemodialysis patients: effects on mineral metabolism, inflammation, and cardiac dimension parameters. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(5):905–11.
32. Frey S, Mir AR, Lucas M. Visceral protein status and caloric intake in exercising versus nonexercising individuals with end-stage renal disease. *J Ren Nutr.* 1999; 9(2):71–7.
33. Jorde R, Grimnes G. Vitamin D and metabolic health with special reference to the effect of vitamin D on serum lipids. *Prog Lipid Res.* 2011;50(4):303–12.
34. Wang H, Xia N, Yang Y, Peng D-Q. Influence of vitamin D supplementation on plasma lipid profiles: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Lipids Health Dis.* 2012;11:42.
35. Yeksan M, Türk S, Polat M, Cigli A, Erdoğan Y. Effects of 1,25 (OH)2D3 treatment on lipid levels in uremic hemodialysis patients. *Int J Artif Organs.* 1992; 15(12):704–7.
36. Khajehdehi P, Taheri S. Effect of oral calcitriol pulse therapy on the lipid, calcium, and glucose homeostasis of hemodialysis-patients: its safety in a combination with oral calcium carbonate. *J Ren Nutr.* 2003;13(2):78–83.

37. Wang Y, DeLuca HF. Is the vitamin d receptor found in muscle? *Endocrinology*. 2011;152(2):354–63.
38. Ceglia L, Niramitmahapanya S, da Silva Morais M, Rivas DA, Harris SS, Bischoff-Ferrari H, et al. A randomized study on the effect of vitamin D₃ supplementation on skeletal muscle morphology and vitamin D receptor concentration in older women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(12):E1927-1935.
39. Girgis CM, Cha KM, Houweling PJ, Rao R, Mokbel N, Lin M, et al. Vitamin D Receptor Ablation and Vitamin D Deficiency Result in Reduced Grip Strength, Altered Muscle Fibers, and Increased Myostatin in Mice. *Calcif Tissue Int*. 2015;97(6):602–10.
40. Sato Y, Iwamoto J, Kanoko T, Satoh K. Low-dose vitamin D prevents muscular atrophy and reduces falls and hip fractures in women after stroke: a randomized controlled trial. *Cerebrovasc Dis*. 2005;20(3):187–92.
41. Knutsen KV, Madar AA, Lagerl v P, Brekke M, Raastad T, Stene LC, et al. Does vitamin D improve muscle strength in adults? A randomized, double-blind, placebo-controlled trial among ethnic minorities in Norway. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 ;99(1):194–202.
42. Goswami R, Vatsa M, Sreenivas V, Singh U, Gupta N, Lakshmy R, et al. Skeletal muscle strength in young Asian Indian females after vitamin D and calcium supplementation: a double-blind randomized controlled clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(12):4709–16.
43. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(7):1911–30.
44. Bataille S, Landrier J-F, Astier J, Giaime P, Sampol J, Sichez H, et al. The “Dose-Effect” Relationship Between 25-Hydroxyvitamin D and Muscle Strength in Hemodialysis Patients Favors a Normal Threshold of 30 ng/mL for Plasma 25-Hydroxyvitamin D. *J Ren Nutr*. 2016;26(1):45–52.
45. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, Orav JE, Stuck AE, Theiler R, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*. 2009;339:b3692.
46. Flood A, Chung A, Parker H, Kearns V, O’Sullivan TA. The use of hand grip strength as a predictor of nutrition status in hospital patients. *Clin Nutr* 2014; 33(1):106–14.
47. Makanae Y, Ogasawara R, Sato K, Takamura Y, Matsutani K, Kido K, et al. Acute bout of resistance exercise increases vitamin D receptor protein expression in rat skeletal muscle. *Exp Physiol*. 2015;100(10):1168–76.
48. Sawant A, House AA, Overend TJ. Anabolic Effect of Exercise Training in People with End-Stage Renal Disease on Hemodialysis: A Systematic Review with Meta-analysis. *Physiother Can* . 2014;66(1):44–53.
49. Bae Y-H, Lee SM, Jo JI. Aerobic training during hemodialysis improves body composition, muscle function, physical performance, and quality of life in chronic kidney disease patients. *J Phys Ther Sci*. 2015;27(5):1445–9.

50. Storer TW, Casaburi R, Sawelson S, Kopple JD. Endurance exercise training during haemodialysis improves strength, power, fatigability and physical performance in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2005 ;20(7):1429–37.
51. Kouidi E, Albani M, Natsis K, Megalopoulos A, Gigis P, Guiba-Tziampiri O, et al. The effects of exercise training on muscle atrophy in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13(3):685–99.
52. Sakkas GK, Sargeant AJ, Mercer TH, Ball D, Koufaki P, Karatzaferi C, et al. Changes in muscle morphology in dialysis patients after 6 months of aerobic exercise training. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(9):1854–61.
53. Macdonald JH, Marcora SM, Jibani M, Phanish MK, Holly J, Lemmey AB. Intradialytic exercise as anabolic therapy in haemodialysis patients -- a pilot study. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2005;25(2):113–8.
54. Goodpaster BH, Park SW, Harris TB, Kritchevsky SB, Nevitt M, Schwartz AV, et al. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol*. 2006; 61(10):1059–64.
55. Norman K, Stobäus N, Gonzalez MC, Schulzke J-D, Pirlich M. Hand grip strength: outcome predictor and marker of nutritional status. *Clin Nutr*. 2011; 30(2):135–42.
56. Dember LM, Archdeacon P, Krishnan M, Lacson E, Ling SM, Roy-Chaudhury P, et al. Pragmatic Trials in Maintenance Dialysis: Perspectives from the Kidney Health Initiative. *J Am Soc Nephrol*. 2016;27(10):2955–63.

Figures

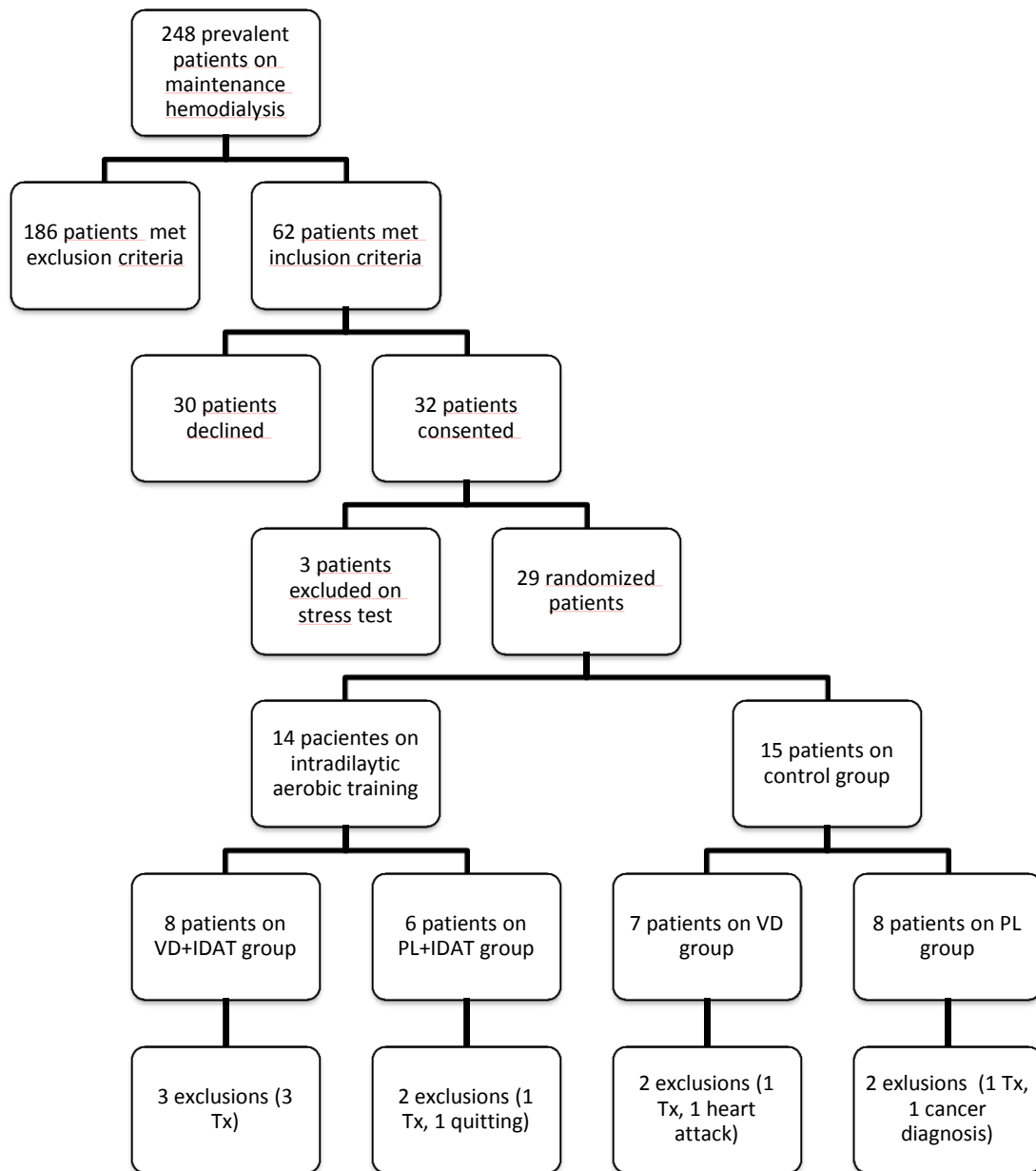


Figure 1: Flowchart of clinical trial participants inclusion, exclusion and randomization (Groups: vitamin D supplementation and intradialytic aerobic training (VD+IDAT) n=5; placebo and intradialytic aerobic training (PL+IDAT) n=4; Vitamin D supplementation (VD) n=5; and placebo (PL) n=6); Abbreviation: Tx: kidney transplantation.

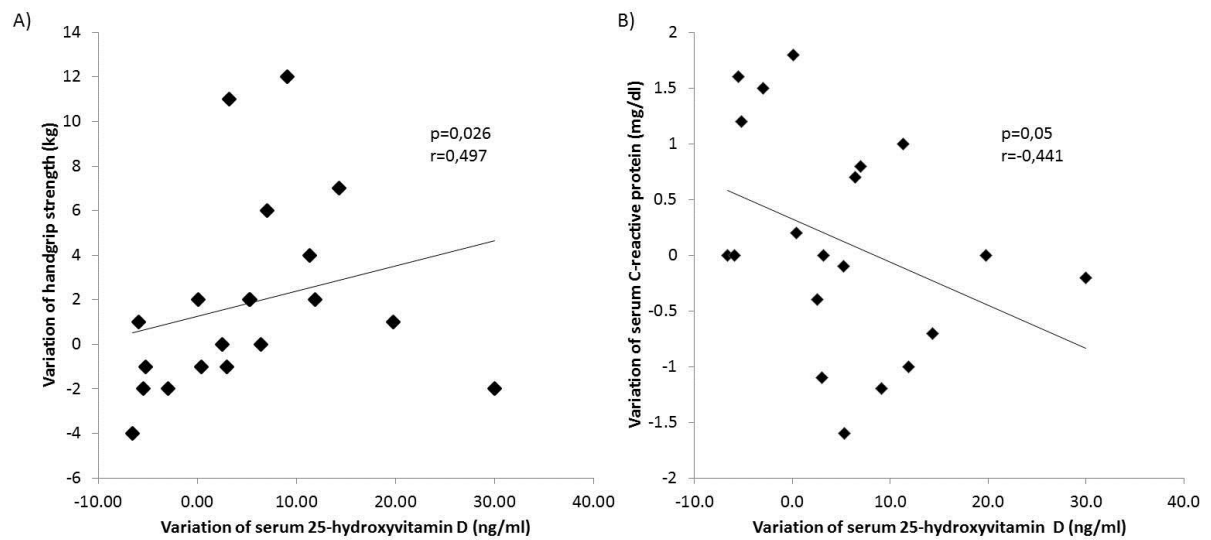


Figure 2: correlation graphs of 25-hydroxivitamin D serum level variation (Δ = post intervention 25-hydroxivitamin D – baseline 25-hydroxivitamin D) with handgrip strength variation (Δ = post intervention handgrip strength – baseline handgrip strength) (A) and of 25-hydroxivitamin D serum level variation with C-reactive protein variation (Δ = post intervention C-reactive protein – baseline C-reactive protein) (B).

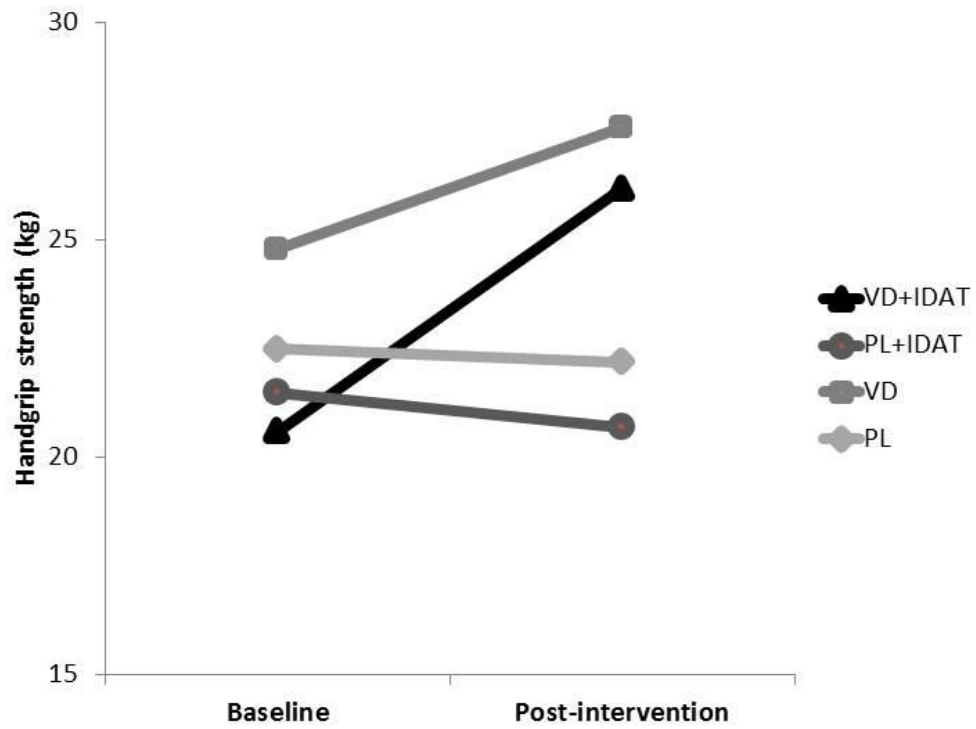


Figure 3: alteration of mean handgrip strength of the four groups (vitamin D supplementation and intradialytic aerobic training (VD + IDAT) n = 5, placebo and intradialytic aerobic training (PL + IDAT) n = 4; (VD) n = 5 and placebo (PL) n = 6.

Tables

Table 1: Baseline demographic and clinical characteristics of the patients and comparison among the four groups

Characteristic	All patients (n=20)	VD + IDAT (n=5)	PL + IDAT (n=4)	VD (n=5)	PL (n=6)	p
Gender [male (%)]	11 (55)	4 (80)	2 (50)	1 (20)	4 (66.7)	0.25
Age (years)	60.1 ± 14.2	58.3 ± 9.4	63.2 ± 9.0	45.5 ± 14.1	71.9 ± 9.8 [#]	0.04
White race n (%)	12 (60)	2 (40)	4 (100)	2 (40)	4 (66.7)	0.31
Diabetes n (%)	7 (35)	2 (40)	2 (50)	0 (0)	3 (50)	0.29
Kt/V	1.38 ± 0.18	1.46 ± 0.15	1.34 ± 0.24	1.39 ± 0.14	1.33 ± 0.20	0.72
Calcitriol prescription n (%)	11 (55)	4 (80)	2 (50)	3 (60)	2 (33.3)	0.48
Dialysis vintage (months)	34 ± 28.9	12 ± 9.4	28 ± 17.5	54 ± 42.4	39 ± 23.7	0.21
Serum urea (mg/dl)	111 ± 29.2	119 ± 29.3	109 ± 44.5	110 ± 18.7	106 ± 31.3	0.84
Serum creatinine (mg/dl)	9.8 ± 2.6	10.6 ± 1.6	7.9 ± 1.2	10.4 ± 3.9	9.7 ± 2.6	0.41
Serum albumin (g/dl)	4.0 ± 0.4	4.1 ± 0.4	4.1 ± 0.1	3.9 ± 0.5	3.8 ± 0.2	0.9
Serum hemoglobin (g/dl)	11.7 ± 1.5	12.0 ± 1.7	12.0 ± 0.6	11.2 ± 1.5	11.7 ± 1.9	0.72
Serum 25-hydroxivitamin D (ng/ml)	34.6 ± 10.1	31.7 ± 3.8	35.3 ± 13.9	28.5 ± 8.2	33.2 ± 12.2	0.9
Body mass index (kg/m ²)	27.6 ± 4.7	25.7 ± 4.8	29.3 ± 6.8	28.4 ± 4.5	27.4 ± 3.7	0.31
Handgrip strength (kg)	22.4 ± 7.8	20.6 ± 8.0	21.5 ± 9.1	24.8 ± 10.3	22.5 ± 5.9	0.68

Vitamin D supplementation and intradialytic aerobic training (VD+IDAT) n=5; placebo and intradialytic aerobic training (PL+IDAT) n=4; Vitamin D supplementation (VD) n=5; and placebo (PL) n=6.

[#]p<0.05 compared with VD group

Table 2: variation of bone mineral metabolism biochemical parameters of four groups (n=20)

Characteristic	Group	Moment		Variation %	p-value		
		Baseline	Post intervention		Supplementation	Training	Interaction
Serum 25-hydroxyvitamin D (ng/mL)	VD+IDAT	31.7±3.80	40.1±7.49	126.4 ± 15.2	0.003	0.139	0.462
	PL+IDAT	35.3±13.92	33.0±11.87	95.9 ± 14.6			
	VD	28.5±8.21	42.5±12.58	152.4 ± 41.1			
	PL	33.2±12.21	33.3±7.90	104.9 ± 17.5			
Serum calcium (mg/dl)	VD+IDAT	8.8±0.4	8.6±0.8	98.8 ± 12.5	0.699	0.777	0.855
	PL+ IDAT	9.9±1.49	9.7±1.0	97.8 ± 7.9			
	VD	9.0±0.9	9.0±0.4	101 ± 11.2			
	PL	9.1±0.4	9.0±0.7	98.3 ±8.5			
Serum phosphate (mg/dl)	VD+IDAT	5.2±0.9	4.6±1.8	91.6 ± 38.3	0.446	0.155	0.652
	PL+ IDAT	5.5±1.18	4.8±1.5	86.1 ± 14.9			
	VD	5.7±0.9	6.9±2.2	123.1 ± 51.5			
	PL	5.2±1.3	5.1±0.7	102.9 ± 26.8			
Serum PTH (pg/ml)	VD+IDAT	431 ± 251	414±305	130.4 ± 113.0	0.963	0.456	0.902
	PL+ IDAT	495 ± 409	676±756	133.4 ± 59.6			
	VD	537 ± 264	473±285	105.8 ± 78.6			
	PL	202 ±143	145±99	99.1 ± 78.3			
Serum alkaline phosphatase (U/l)	VD+IDAT	134.2±62.3	157.4±101.3	115.7 ± 19.50	0.760	0.123	0.685
	PL+ IDAT	109.7±47.46	132.0±69.1	117.2 ± 7.27			
	VD	139.8±82.7	115.6±25.4	98.3 ± 17.6			
	PL	113.7±42.4	98.2±40.4	87.9 ± 7.49			

Vitamin D supplementation and intradialytic aerobic training (VD+IDAT) n=5; placebo and intradialytic aerobic training (PL+IDAT) n=4; Vitamin D supplementation (VD) n=5; and placebo (PL) n=6.

Table 3: variation of lipid profile and inflammation parameters of four groups (n=20)

Characteristic	Group	Moment		Variation %	p-value		
		Baseline	Post intervention		Supplementation	Training	Interaction
Total cholesterol (mg/dl)	VD+IDAT	158 ± 39	149 ± 42	97.8 ± 33.3	0.805	0.676	0.552
	PL+IDAT	157 ± 32	157 ± 20	101.1 ± 9.5			
	VD	145 ± 54	154 ± 57	107.4 ± 10.6			
	PL	116 ± 19	113 ± 12	99.4 ± 18.3			
HDL-cholesterol (mg/dl)	VD+IDAT	38 ± 7	44 ± 16	114.4 ± 20.1	0.142	0.720	0.013
	PL+IDAT	42 ± 6	35 ± 13	81.1 ± 19.3*			
	VD	40 ± 11	37 ± 7	95.8 ± 12.0			
	PL	27 ± 5.1	28 ± 4	105.3 ± 16.2#			
Triglicerydes (mg/dl)	VD+IDAT	185 ± 53	127 ± 49	69.2 ± 18.2	0.169	0.971	0.012
	PL+IDAT	182 ± 46	253 ± 43	145.1 ± 39.4			
	VD	168 ± 85	195 ± 113	118.8 ± 57.9*			
	PL	186 ± 91	165 ± 80	94.1 ± 32.3			
C-reactive protein (mg/dl)	VD+IDAT	1.32 ± 0.78	1.34 ± 0.52	126.3 ± 71.9	0.108	0.318	0.661
	PL+IDAT	0.6 ± 0.20	1.25 ± 0.90	238.9 ± 193.2			
	VD	1.48 ± 0.69	0.92 ± 0.50	70.2 ± 34.3			
	PL	0.83 ± 0.40	1.27 ± 0.75	194.1 ± 156.7			

Vitamin D supplementation and intradialytic aerobic training (VD+IDAT) n=5; placebo and intradialytic aerobic training (PL+IDAT) n=4; Vitamin D supplementation (VD) n=5; and placebo (PL) n=6.

* p<0.05 compared with VD+IDAT group; # p<0.05 compared with VD group

Table 4: variation of nutritional assessment parameters of four groups (n=20)

Characteristic	Group	Moment		Variation %	p-value		
		Baseline	Post intervention		Supplementation	Training	Interaction
Handgrip strength (kg)	VD+IDAT	20.6±8.0	26.2±9.5	130.5 ± 33.6	0.023	0.622	0.553
	PL+ IDAT	21.5±9.1	20.7±9.1	97.9 ± 15.1*			
	VD	24.8±10.3	27.6±8.0	118.9 ± 34.1			
	PL	22.5±5.9	22.2±6.4	98.1 ± 7.6			
Body mass index (kg/m ²)	VD+IDAT	25.7±4.8	27 ±5.2	105.1 ± 4.8	0.043	0.214	0.824
	PL+ IDAT	29.3±6.8	29.8±7.7	101.3 ± 3.5			
	VD	28.5±4.6	29.2±4.1	102.7 ±1.9			
	PL	27.4±3.7	27.4±4.2	99.7 ± 2.8			
Lean mass (kg)	VD+IDAT	50.3±9.7	48.5±8.5	96.8 ± 3.8	0.172	0.090	0.906
	PL+ IDAT	47.8±10.2	47.8±9.8	100.1 ± 6.3			
	VD	47.6±5.3	48.0±6.1	100.9 ± 5.8			
	PL	45.7±4.3	47.3±5.3	103.4 ± 3.8			
Apendicular muscle mass index (kg/m ²)	VD+IDAT	7.9 ± 1.7	7.7 ± 1.6	97.2 ± 3.8	0.952	0.237	0.560
	PL+ IDAT	7.7 ± 1.3	7.4 ± 1.0	96.1 ± 8.0			
	VD	7.9 ± 0.6	7.8 ± 0.8	98.6 ± 3.8			
	PL	7.7 ± 0.9	7.7 ± 0.9	100 ± 3.2			
Total body fat (kg)	VD+IDAT	21.4±8.0	23.9±9.5	109.9 ± 10.1	0.167	0.190	0.608
	PL+ IDAT	24.5±12.9	25.6±13.5	102.8 ± 5.7			
	VD	25.9±7.0	26.7±6.2	102.5 ± 7.3			
	PL	22.1±9.5	22.1±9.7	98.7 ± 5.9			

Vitamin D supplementation and intradialytic aerobic training (VD+IDAT) n=5; placebo and intradialytic aerobic training (PL+IDAT) n=4; Vitamin D supplementation (VD) n=5; and placebo (PL) n=6.

*p<0.05 compared with VD+IDAT group

Anexo 1



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 16.018-970
Fone/fax: (20814) 3811-8143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br
e-mail coordenadora: luarden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997.

Botucatu, 03 de Dezembro de 2012

Of. 584/2012

Ilustríssima Senhora

Profª Drª Jacqueline Socorro Costa Teixeira Caramori
Departamento de Clínica Médica da
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezada Drª Jacqueline,

De ordem do Senhor Coordenador, informo que o Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 4441-2012) "Efeitos do treinamento físico e suplementação com vitamina D sobre a massa muscular de pacientes em hemodiálise", a ser conduzido por Bárbara Perez Vogt, orientada por Vossa Senhoria, Co-orientada pelo Prof. Dr. Luis Cuadrado Martin, com a colaboração de Altamir Santos Teixeira, Fernanda Stringueta Belik, Flávio Gobbi Shiraishi e Viviana Rugolo Oliveira e Silva, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 03/12/2012.

Situação do Projeto: APROVADO. Os pesquisadores deverão apresentar ao CEP ao final da execução do Projeto o "Relatório Final de Atividades".

Atenciosamente,

Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP

