

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Carolina Ferraz Figueiredo Moreira

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D E DO POLIMORFISMO FOK-I
NO CONTROLE GLICÊMICO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIABETES
MELLITUS TIPO I**

Rio de Janeiro
2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Carolina Ferraz Figueiredo Moreira

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D E DO POLIMORFISMO FOK-I
NO CONTROLE GLICÊMICO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIABETES
MELLITUS TIPO I**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutora em Ciências Nutricionais.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patrícia de Carvalho Padilha

Rio de Janeiro

2024

F381i Ferraz Figueiredo Moreira, Carolina
INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D E DO
POLIMORFISMO FOK-I NO CONTROLE GLICÊMICO DE
CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO
I / Carolina Ferraz Figueiredo Moreira. -- Rio de
Janeiro, 2024.
102 f.

Orientador: Patricia de Carvalho Padilha.
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio
de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de Castro,
Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2024.

1. Diabetes Mellitus tipo I. 2. Crianças e
Adolescentes. 3. Deficiência de Vitamina D. 4.
Suplementação Nutricional. 5. Controle Glicêmico. I.
de Carvalho Padilha, Patricia, orient. II. Título.

INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D E DO POLIMORFISMO FOK-I NO
CONTROLE GLICÊMICO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO I

Carolina Ferraz Figueiredo Moreira

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patrícia de Carvalho Padilha

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutora em Ciências Nutricionais.

Aprovada por:

Presidente, Dra. Patricia de Carvalho Padilha

Profa. Associada do Instituto de Nutrição Josué de Castro/UFRJ

Dra. Wilza Arantes Ferreira Peres

Profa. Titular do Instituto de Nutrição Josué de Castro/UFRJ

Dra. Eliane Lopes Rosado

Profa. Titular do Instituto de Nutrição Josué de Castro/UFRJ

Dra. Paula Normando dos Reis Costa

Profa. do Centro Universitário Arthur Sá Earp Neto/FMP

Dra. Carla Barbosa Nonino

Profa. Associada da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP

Dra. Marcia Soares da Mota e Silva Lopes

Profa. Associada do Instituto de Nutrição Josué de Castro/UFRJ

Rio de Janeiro

2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar, a minha orientadora Patricia, que esteve ao meu lado durante todas as etapas do Doutorado, desde a elaboração do projeto até a defesa. Em segundo lugar, agradeço aos meus pais, Marcos e Katari, e a minha avó Cybelle que me apoiaram desde a escola e sempre valorizam a educação e a ciência. Meus amigos também sempre me apoiaram e compreenderam os momentos de ausência. Agradeço também a todos os pacientes e seus responsáveis que aceitaram participar da pesquisa e que são a maior motivação para o desenvolvimento deste estudo. A equipe multidisciplinar do ambulatório de Diabetes Mellitus do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira da UFRJ também foi fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa, assim como a equipe de Divisão Diagnóstica, especialmente Eduardo Pernambuco e Juliana Osório. Outro apoio fundamental foi da Ana Carolina Proença, do Laboratório de Genética Humana da Fundação Oswaldo Cruz, a qual nos ensinou tudo a respeito de polimorfismo. Por último, destaco o grupo NutPed, sem o qual não teríamos conseguido enfrentar o desafio de gerenciar um ensaio clínico, agradecendo especialmente à Barbara Folino, Juliana Braga, Beatriz Araújo, Leticia Cunha, Amanda Andrade, Daniela Curval e Viviane Freitas.

RESUMO

MOREIRA, Carolina Ferraz Figueiredo. **Influência da suplementação de vitamina D e do polimorfismo Fok-I no controle glicêmico de crianças e adolescentes com Diabetes Mellitus tipo I.** 2024. Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais) – Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2024.

O diabetes mellitus tipo 1 (DM1) é caracterizado pela deficiência absoluta de insulina e é a endocrinopatia mais prevalente em crianças e adolescentes, sendo que o Brasil apresenta a terceira maior incidência. As estratégias terapêuticas são baseadas na monitorização da glicemia, insulinização, orientação nutricional, prática de atividade física e apoio psicossocial. No contexto das intervenções adjuvantes, o potencial terapêutico da vitamina D vem sendo estudado, todavia são escassos os estudos que avaliam a frequência e os fatores associados à deficiência de vitamina D (DVD) em crianças e adolescentes com DM1, bem como ainda são contraditórios os resultados acerca do efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico. Este estudo teve como objetivo descrever a frequência e avaliar os fatores associados à DVD em crianças e adolescentes com DM1, bem como avaliar o efeito da suplementação de vitamina D na correção da DVD e no controle glicêmico. Trata-se de um ensaio clínico controlado com participantes de 7 a 16 anos e diagnóstico de DM1 há pelo menos 1 ano. Os participantes foram classificados com DVD quando 25-hidroxi vitamina D (25(OH)D) era inferior a 30 ng/mL, sendo alocados no grupo intervenção. Neste grupo, foi prescrita suplementação oral com colecalciferol na dosagem de 2000 UI/dia, por 12 semanas. Foram coletados dados sócio-demográficos, clínicos, laboratoriais, de estilo de vida, antropométricos e o polimorfismo Fok-I (rs2228570). As variáveis categóricas foram descritas por meio de frequências e as contínuas por média e desvio padrão. Foi elaborado modelo de regressão logística múltipla para identificar os fatores associados à DVD e modelo de regressão linear múltipla para identificar os fatores associados à concentração sérica de 25(OH)D e à hemoglobina glicada após a intervenção. Os dados foram analisados no *software* SPSS Statistics, versão 26.0. A avaliação do efeito da intervenção foi feita a partir do cálculo do Delta Glass, por meio do uso do *software* STATA, versão 18. Foram estabelecidos intervalos de confiança (IC) a 95% e o nível de significância adotado foi de 5%. Foram avaliadas 143 crianças e adolescentes com média de idade de $11,5 \pm 2,2$ anos, sendo 51% do sexo feminino ($n = 73$). A frequência de DVD foi de 79% ($n = 113$) e a média de 25(OH)D foi de $19,2 \pm 6,1$ ng/mL dentre aqueles com DVD. A frequência do genótipo AA do polimorfismo Fok-I (rs2228570) foi de 8,2%. Não foi observada diferença entre os participantes com e sem DVD com relação à presença do polimorfismo Fok-I (rs2228570) ($p = 0,256$). Os fatores associados à DVD foram: menor nível de atividade física (OR 2,9; IC 1,1-7,6; p

= 0,031), pior controle glicêmico (OR 5,0; IC 1,9-13,2; p = 0,001) e excesso de peso (OR 3,6; IC 1,1-11,1; p = 0,029). Durante a suplementação, ocorreram dez perdas de seguimento no grupo intervenção. Após a suplementação, a média de 25(OH)D aumentou para $30,9 \pm 10,1$ ng/mL no grupo intervenção (n = 103). O efeito da intervenção sobre a 25(OH)D foi muito grande (Delta Glass = 1,2; IC 0,8/-1,4), porém foi muito pequeno sobre o controle glicêmico (Delta Glass = 0,1; IC -0,2/0,4). A concentração sérica de 25(OH)D após a suplementação apresentou associação inversa com a dose de insulina ($\beta = -4,6$; IC -8,1/-1,1; p = 0,010) e com o Índice de Massa Corporal ($\beta = -0,3$; IC -0,6/-0,01; p = 0,059). Não foi observada associação com o controle glicêmico ($\beta = -0,8$; IC -1,6/0,1; p = 0,067) e com o polimorfismo Fok-I (rs2228570) ($\beta = 2,4$; IC -1,6/6,5; p = 0,235). A hemoglobina glicada após a intervenção apresentou associação inversa com o baixo nível de atividade física ($\beta = 0,2$; IC 0,1/0,7; p = 0,004). Com base nos resultados encontrados, identificou-se elevada frequência de DVD em crianças e adolescentes com DM1 e os fatores associados foram: menor nível de atividade física, pior controle glicêmico e excesso de peso. O esquema de suplementação proposto mostrou-se eficaz para correção da DVD, porém o efeito sobre o controle glicêmico foi muito pequeno. Observou-se menor concentração sérica de 25(OH)D após a suplementação nos participantes com excesso de peso e naqueles tratados com maior dose de insulina. Sugere-se o monitoramento da concentração sérica de 25(OH)D em crianças e adolescentes com DM1, especialmente naqueles com fatores de risco, com consequente suplementação caso necessário, e o estímulo a práticas alimentares saudáveis e a exercícios físicos rotineiros.

Palavras-chave: diabetes mellitus tipo 1, vitamina D, crianças, adolescentes, fatores de risco, estilo de vida, suplementação nutricional, controle glicêmico.

ABSTRACT

MOREIRA, Carolina Ferraz Figueiredo. **Influence of vitamin D supplementation and Fok-I polymorphism on glycemic control in children and adolescents with Type I Diabetes Mellitus.** 2024. Thesis (PhD degree in Nutritional Sciences) – Josué de Castro Institute of Nutrition, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Type 1 diabetes mellitus (T1DM) is characterized by absolute insulin deficiency and is the most prevalent endocrinopathy in children and adolescents, and Brazil has the third highest incidence. Therapeutic strategies are based on blood glucose monitoring, insulinization, nutritional care, physical activity, and psychosocial support. Regarding adjuvant interventions, the therapeutic potential of vitamin D has been studied. However, few studies evaluate the frequency and factors associated with vitamin D deficiency (VDD) in children and adolescents with T1DM, and the results on the effect of vitamin D supplementation on glycemic control are still contradictory. This study aimed to evaluate the frequency and factors associated with VDD in children and adolescents with T1DM, as well as evaluate the effect of vitamin D supplementation on VDD and glycemic control. This is a controlled clinical trial with participants aged 7 to 16 years and diagnosed with T1DM for at least 1 year. Participants were classified with VDD when 25-hydroxy vitamin D (25(OH)D) was less than 30 ng/mL, and allocated in the intervention group. In this group, oral supplementation with cholecalciferol was prescribed at a dosage of 2000 IU/day for 12 weeks. Socio-demographic, clinical, laboratory, lifestyle, anthropometric data, and the Fok-I polymorphism (rs2228570) were collected. Categorical variables were described using frequencies and continuous variables using mean and standard deviation. A multiple logistic regression model was developed to identify factors associated with VDD and a multiple linear regression model was developed to identify factors associated with 25(OH)D and glycated hemoglobin after the intervention. Data were analyzed using SPSS Statistics *software*, version 26.0. The intervention effect was assessed using Delta Glass, which was calculated in STATA *software*, version 18. Confidence intervals (CI) were established at 95% and the significance level adopted was 5%. 143 children and adolescents were evaluated, with a mean age of 11.5 ± 2.2 years, 51% were female ($n = 73$). The frequency of VDD was 79% ($n = 113$) and the mean 25(OH)D was 19.2 ± 6.1 ng/mL among those with VDD. The frequency of genotype AA of the Fok-I polymorphism (rs2228570) was 8.2%. No difference was observed between participants with and without VDD regarding the presence of the Fok-I polymorphism (rs2228570) ($p = 0.256$). The factors associated with VDD were: lower level of physical activity (OR 2.9; CI 1.1-7.6; $p = 0.031$), worse glycemic control (OR 5.0; CI 1.9-13.2; $p = 0.001$), and overweight (OR 3.6; CI 1.1-11.1; $p = 0.029$). During supplementation, there were ten

follow-up losses in the intervention group. After supplementation, 25(OH)D increased to 30.9 ± 10.1 ng/mL in the intervention group ($n = 103$). The intervention effect on 25(OH)D was very large (Delta Glass = 1.2; CI 0.8/-1.4), but it was very small on glycemic control (Delta Glass = 0.1; CI -0.2/0.4). 25(OH)D after supplementation was inversely associated with insulin dose ($\beta = -4.6$; CI -8.1/-1.1; $p = 0.010$) and Body Mass Index ($\beta = -0.3$; CI -0.6/-0.01; $p = 0.059$). No association was observed with glycemic control ($\beta = -0.8$; IC -1.6/0.1; $p = 0.067$) and Fok-I polymorphism (rs2228570) ($\beta = 2.4$; IC -1.6/6.5; $p = 0.235$). Glycated hemoglobin after the intervention was inversely associated with a low level of physical activity ($\beta = 0.2$; CI 0.1/0.7; $p = 0.004$). Based on the results found, a high frequency of VDD was identified in children and adolescents with T1DM and the associated factors were: lower level of physical activity, worse glycemic control, and excess weight. The prescribed supplementation proved to be effective for VDD but the effect on glycemic control was very small. A lower serum concentration of 25(OH)D was observed after supplementation in participants with overweight and in those treated with a higher dose of insulin. It is suggested to monitor 25(OH)D in children and adolescents with T1DM, especially those with risk factors, with consequent supplementation if necessary, and to encourage healthy eating practices and routine physical exercise.

Keywords: type 1 diabetes mellitus, vitamin D, children, adolescents, risk factors, lifestyle, dietary supplement, glycemic control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da síntese de vitamina D.....	23
Figura 2. Representação esquemática de um polimorfismo de nucleotídeo único.....	28
Figura 3. Diagrama esquemático do gene do receptor de vitamina D e seus polimorfismos.....	28
Figura 4. Fluxograma dos tamanhos amostrais dos Artigos 1 e 2.....	35
Figura 5. Descrição das etapas do estudo e do momento de coleta das variáveis.....	36

Artigo 1

Figure 1. Flowchart of the participants selected for the study.....	55
Figure 2. Density curves of 25-hydroxy vitamin D among children and adolescents with type 1 diabetes mellitus attended at a reference center in Rio de Janeiro, Brazil, according to physical activity, body mass index/age, and glycated hemoglobin.....	58

Artigo 2

Figura 1. Descrição das etapas do estudo e do momento de coleta das variáveis.....	76
Figura 2. Fluxograma das etapas do ensaio clínico controlado.....	77
Figura 3. Representação gráfica dos dados laboratoriais de crianças e adolescentes com diabetes mellitus tipo 1 no <i>baseline</i> e após 12 semanas nos grupos controle e intervenção.....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critérios laboratoriais para o diagnóstico de Diabetes Mellitus.....	18
Tabela 2. Estágios do DM1 e suas características.....	20
Tabela 3. Metas para controle glicêmico em crianças e adolescentes com DM1.....	22
Tabela 4. Principais fontes nutricionais de vitamina D.....	23
Tabela 5. <i>Status</i> de 25(OH)D em ng/mL, de acordo com as principais recomendações.....	25
Tabela 6. Esquemas de tratamento de DVD, de acordo com as principais recomendações.....	25
Tabela 7. Principais resultados de estudos envolvendo suplementação de vitamina D e controle glicêmico em crianças e adolescentes com DM1.....	30
Tabela 8. Concentração sérica de 25(OH)D para os grupos intervenção e controle e esquema de suplementação proposto.....	37

Artigo 1

Table 1. Characteristics of children and adolescents with T1DM, with VDD and without VDD attended at a reference center in Rio de Janeiro, Brazil.....	56
Table 2. Final multiple logistic regression model of variables associated with VDD in children and adolescents with T1DM attended at a reference center in Rio de Janeiro, Brazil.....	57

Artigo 2

Tabela 1. Características gerais de crianças e adolescentes com DM1 e de acordo com os grupos controle e intervenção antes da suplementação.....	78
Tabela 2. Comparação dos dados laboratoriais de crianças e adolescentes com DM1 no baseline e após 12 semanas nos grupos controle e intervenção.....	79
Tabela 3. Tamanho do efeito sobre as variáveis laboratoriais no <i>baseline</i> e após 12 semanas nos grupos controle e intervenção.....	81
Tabela 4. Modelo de regressão linear múltipla ajustado das variáveis associadas ao desfecho concentração sérica de 25(OH)D após 12 semanas de suplementação em crianças e adolescentes com DM1.....	82
Tabela 5. Modelo de regressão linear múltipla ajustado das variáveis associadas ao desfecho HbA1C após 12 semanas de suplementação em crianças e adolescentes com DM1.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

25(OH)D – 25-hidroxi vitamina D/*25-hydroxy vitamin D*

β – coeficiente de regressão

BMI – *Body mass index*

CI – *confidence interval*

CONSORT – *Consolidated Standards of Reporting Trials*

DCCT – *Diabetes Control and Complications Trial*

DM – diabetes mellitus

DM1 – diabetes mellitus tipo 1

DNA – ácido desoxirribonucléico/*deoxyribonucleic acid*

DP – desvio padrão

DVD – deficiência de vitamina D

HbA1c – hemoglobina glicada/*glycated hemoglobin*

IC – intervalo de confiança

IL – interleucina

IMC – Índice de Massa Corporal

IPAQ – *International Physical Activity Questionnaire*

IPPMG – Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira/*Martagão Gesteira Institute of Childcare and Pediatrics*

OR – odds ratio

PCR – *polymerase chain reaction*

PTH – paratormônio/*parathyroid hormone*

SNP – *single nucleotide polymorphism*

STROBE – *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology*

T1DM – *type 1 diabetes mellitus*

TOTG – teste oral de tolerância à glicose

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro/*Federal University of Rio de Janeiro*

UI – unidades internacionais

VDD – *vitamin D deficiency*

VDR – *vitamin d receptor*

APRESENTAÇÃO

O diabetes mellitus tipo 1 (DM1) é a endocrinopatia mais prevalente em crianças e adolescentes, acometendo 1,52 milhões de indivíduos com até 20 anos de idade. Um dos principais pilares do tratamento do DM1 é o cuidado nutricional, o qual influencia diretamente no controle glicêmico. Na ausência de um bom controle glicêmico, podem surgir complicações crônicas micro e macrovasculares, as quais interferem na qualidade de vida.

Alguns estudos vêm demonstrando que a vitamina D, além do seu papel no metabolismo ósseo, também apresenta função imunomoduladora, podendo exercer papel no DM1, tanto na redução do risco de desenvolvimento, quanto sendo um potencial adjuvante terapêutico. Todavia, a deficiência de vitamina D (DVD) é considerada um problema de saúde mundial, inclusive em crianças.

Na literatura, são escassos os estudos que avaliam a frequência e os fatores associados à DVD em crianças e adolescentes com DM1. Além disto, existem trabalhos que avaliaram o efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico desta população, porém os resultados ainda são contraditórios. Neste contexto, tornam-se essenciais os trabalhos que objetivem estudar a relação entre a DVD e o DM1 em crianças e adolescentes.

Ao longo dos meus 15 anos de carreira, trabalhei com o público infanto-juvenil em diferentes momentos, mas nos últimos três anos e meio trabalho exclusivamente com este público, no Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG), da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), onde este estudo foi desenvolvido. Fui estagiária neste mesmo hospital em 2008 e fiz mestrado também na área de micronutrientes. Como nutricionista, valorizo cada vez mais o papel da profissão no crescimento e desenvolvimento adequados de crianças e adolescentes.

Ao pensar no doutorado, tendo em vista que o IPPMG é referência na assistência de crianças e adolescentes com DM1 e que minha orientadora tem vasta experiência prática e em pesquisa nesta área, optamos por estudar a temática. Ingressei no doutorado em 2020 com intuito de aprofundar meus estudos e me capacitar como pesquisadora em um local de excelência e junto ao Núcleo de Estudos em Nutrição e Pediatria (NutPed).

O objetivo desta tese foi identificar a frequência e os fatores associados à DVD em crianças e adolescentes com DM1, bem como avaliar o efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico. Este estudo será capaz auxiliar no entendimento do papel da vitamina D na saúde de crianças e adolescentes com DM1, contribuindo para um cuidado nutricional cada vez mais individualizado. Este estudo recebeu fomento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, sendo agraciado com o edital Emergentes (processo nº 250357/2019).

Os resultados desta tese serão apresentados no formato de dois artigos. O primeiro foi intitulado como “Prevalence of and factors associated with vitamin D deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: baseline data from a clinical trial at a reference center in Rio de Janeiro, Brazil” e submetido ao periódico *Nutrition*. O segundo artigo foi intitulado como “Efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1: dados de um ensaio clínico controlado” e será submetido ao periódico *European Journal of Clinical Nutrition*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	
2.1 Diabetes Mellitus	
2.1.1 Definição e classificação.....	17
2.1.2 Diagnóstico.....	18
2.2 Diabetes Mellitus tipo 1	
2.2.1 Epidemiologia e fisiopatologia.....	18
2.2.2 Tratamento.....	20
2.2.3 Controle glicêmico.....	21
2.3 Vitamina D	
2.3.1 Aspectos metabólicos e epidemiológicos.....	22
2.3.2 Pontos de corte para 25(OH)D e esquemas de tratamento de DVD.....	24
2.3.3 Fatores associados à DVD.....	25
2.4 Associação entre Diabetes Mellitus tipo 1 e vitamina D	
2.4.1 Papel imunomodulador da vitamina D.....	27
2.4.2 Polimorfismo Fok-I (rs2228570).....	27
2.4.3 Suplementação de vitamina D e controle glicêmico.....	29
3. JUSTIFICATIVA.....	31
4. PERGUNTAS DE ESTUDO E HIPÓTESE.....	32
5. OBJETIVOS	
5.1 Objetivo geral.....	33
5.2 Objetivos específicos	
5.2.1 Artigo 1.....	33
5.2.2 Artigo 2.....	33
6. CASUÍSTICA E MÉTODOS	
6.1 Desenho e local do estudo.....	34
6.2 População.....	34
6.3 Coleta de dados.....	35
6.4 Variáveis	
6.4.1 Dados bioquímicos.....	36
6.4.2 Polimorfismo Fok-I (rs2228570).....	37
6.4.3 Dados sócio-demográficos e de acompanhamento ambulatorial.....	38
6.4.4 Avaliação antropométrica.....	38

6.4.5 Nível de exposição à luz solar e de atividade física.....	38
6.4.6 Adesão à suplementação.....	38
6.5 Análises estatísticas	
6.5.1 Artigo 1.....	39
6.5.2 Artigo 2.....	39
6.6 Aspectos éticos.....	40
7. RESULTADOS.....	41
7.1 Artigo 1.....	42
7.2 Artigo 2.....	59
8. CONCLUSÃO.....	84
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	85
REFERÊNCIAS.....	86
APÊNDICES	
Apêndice 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	91
Apêndice 2 – Termo de Assentimento.....	93
Apêndice 3 – Instrumento de Coleta de Dados.....	95
Apêndice 4 – Orientação Nutricional.....	97
Apêndice 5 – Cartão de Controle da Suplementação.....	98
ANEXOS	
Anexo 1 – Protocolo de extração de saliva.....	99
Anexo 2 – <i>International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)</i>	100
Anexo 3 – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.....	101
Anexo 4 – Aprovação pelo Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos.....	102

1. INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) corresponde a um grupo de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia, a qual pode ser resultado de defeitos na secreção e/ou na ação da insulina (ADA, 2024). Dentre os diferentes tipos de DM, o diabetes mellitus tipo 1 (DM1) representa a endocrinopatia mais prevalente em crianças e adolescentes (IDF, 2022). É uma doença auto-imune crônica mediada por células T que acomete o pâncreas e que se caracteriza pela destruição apoptótica das células beta das ilhotas de Langerhans, as quais são responsáveis pela produção e secreção de insulina, resultando em deficiência absoluta deste hormônio (SBD, 2023; VAN BELLE, COPPIETERS & VON HERRATH, 2011).

O tratamento do DM1 é baseado em um conjunto de pilares que inclui: aplicação de insulina exógena, monitoramento da glicemia, cuidado nutricional, atividade física, educação, atenção psicossocial e participação conjunta da família e do paciente (ADA, 2024). O cuidado nutricional é baseado em práticas alimentares saudáveis e na ingestão adequada de carboidratos, tendo em vista que este macronutriente influencia diretamente na glicose pós-prandial. Na ausência de um bom controle glicêmico, podem surgir complicações crônicas micro e macrovasculares relacionadas à doença (SBD, 2023).

Com relação ao cuidado nutricional, estudos têm demonstrado evidências que apoiam um possível fator protetor da vitamina D no DM1 (INFANTE *et al.*, 2019; RAK & BRONKOWSKA, 2018). Classicamente, a vitamina D está associada ao metabolismo ósseo e sabe-se que sua deficiência é considerada um problema de saúde mundial, podendo provocar atraso no crescimento e raquitismo em crianças (HOLICK, 2017; HOLICK, 2007). Existem alguns fatores de risco associados à deficiência de vitamina D (DVD), como por exemplo: pele mais escura, uso de protetor solar, exposição solar insuficiente, estações do ano com menor incidência solar, latitudes maiores, consumo insuficiente e uso de vestimentas longas ou que cobrem a cabeça (ANTONUCCI *et al.*, 2018; WACKER & HOLICK, 2013).

A explicação para possível associação entre a vitamina D e o DM1 pode pautar-se no fato de que o receptor de vitamina D (*Vitamin D Receptor*, VDR) está presente nas células beta-pancreáticas, em órgãos-alvo de ação da insulina e nas células do sistema imune. O VDR é um fator de transcrição dependente de ligante localizado no núcleo celular, o qual, quando em complexo com a vitamina D, é capaz de regular a expressão de genes (MITRI & PITTAS, 2014; CHAKHTOURA & AZAR, 2013). Neste contexto, estudos vêm demonstrando que variações do gene do VDR podem estar associadas ao controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1 (INFANTE *et al.*, 2019; RAK & BRONKOWSKA, 2018). O gene do VDR pode apresentar quatro polimorfismos de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphism*, SNP), os quais podem alterar sua função.

Especificamente o polimorfismo Fok-I (rs2228570), é o único capaz de gerar uma proteína com três aminoácidos a menos (UITTERLINDEN *et al.*, 2004).

Existem poucos estudos na literatura que avaliam o efeito da suplementação de vitamina D na hemoglobina glicada (HbA1c) de crianças e adolescentes com DM1, todavia os resultados ainda são contraditórios (NASCIMENTO *et al.*, 2022). Também são escassos os trabalhos que avaliam a frequência e os fatores associados à DVD neste público. Diante de tais evidências, torna-se fundamental o desenvolvimento de trabalhos que objetivem estudar a frequência e os fatores de risco para DVD em crianças e adolescentes com DM1, bem como avaliar o efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico deste público.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Diabetes Mellitus

2.1.1 Definição e classificação

O indicador clínico do DM é a hiperglicemia, a qual ocorre em consequência da ausência de insulina ou da incapacidade das células de responderem a mesma. A insulina é um hormônio essencial produzido pelas células beta-pancreáticas, que age permitindo a entrada de glicose nas células, podendo ser convertida em energia ou estocada. É importante destacar que a hiperglicemia persistente está associada a complicações crônicas micro e macrovasculares, ao aumento de morbimortalidade e a redução da qualidade de vida. Estima-se que 537 milhões de pessoas no mundo convivem com DM (IDF, 2021).

A classificação do DM baseia-se em sua etiologia e são descritas na literatura as seguintes categorias: tipo 1 – causado pela destruição auto-imune das células beta-pancreáticas, o que gera deficiência absoluta de insulina com consequente dependência de insulina exógena, e inclui diabetes auto-imune latente do adulto; tipo 2 – está associado à resistência à ação da insulina, além de ocorrer perda progressiva de secreção deste hormônio; gestacional – DM diagnosticado no segundo ou no terceiro trimestre de gravidez, sem diagnóstico prévio da doença; e tipos específicos em decorrência de outras causas como, por exemplo, síndromes monogênicas (como diabetes neonatal e diabetes do jovem com início na maturidade), doenças que acometem o pâncreas exócrino (como fibrose cística e pancreatite) e diabetes induzida por drogas (como glicocorticóides) (ADA, 2024; SKYLER *et al.*, 2017).

É importante destacar que, em razão dos gastos com insulina exógena e com outros medicamentos, o DM1 representa uma importante carga financeira para os indivíduos portadores desta doença e para suas famílias, bem como para os sistemas públicos de saúde (SBD, 2023). De acordo com o *International Diabetes Federation*, os gastos mundiais em decorrência do diabetes em adultos entre 20 e 79 anos de idade cresceram de 232 bilhões de dólares em 2007 para 966 bilhões de dólares em 2021 e estima-se que estes gastos continuem aumentando, atingindo o valor de 1,05 trilhão de dólares em 2045. Especificamente no Brasil, estima-se que os gastos com diabetes tenham alcançado o valor de 42,9 bilhões de dólares em 2021, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China (IDF, 2021).

2.1.2 Diagnóstico

Os exames que podem ser utilizados para o diagnóstico do DM são: glicemia em jejum de no mínimo 8 horas; Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG), no qual coleta-se uma amostra de sangue em jejum para determinação da glicemia, posteriormente deve-se ingerir 1,75 g/kg de glicose dissolvida em água, até a quantidade máxima de 75 g, e coleta-se outra amostra de sangue após 2 horas da sobrecarga oral; e HbA1c (ADA, 2024; SBD, 2023).

A HbA1C oferece vantagem por refletir os níveis glicêmicos dos últimos 3 meses, aproximadamente, por sofrer menor variabilidade e por independender do estado de jejum. Ressalta-se que a HbA1c é uma medida indireta da glicemia, sofrendo interferência em algumas situações, como anemias, hemoglobinopatias e uremia, sendo preferível utilizar a dosagem de glicemia direta nestes casos. Outros fatores, como idade e etnia, também podem interferir no resultado da HbA1c. Quanto ao TOTG, é importante destacar que este pode ser a única alteração detectável no início do DM1, refletindo o começo da perda de secreção de insulina (ADA, 2024; SBD, 2023).

Os valores de diagnóstico de DM são: glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL, glicemia após 2 horas de sobrecarga oral ≥ 200 mg/dL; e HbA1c $\geq 6,5\%$ (Tabela 1). Destaca-se que a confirmação do diagnóstico requer repetição dos exames alterados em segunda amostra de sangue. Pacientes com sintomas clássicos de hiperglicemia, tais como poliúria, polidipsia, polifagia e emagrecimento, devem ser submetidos a dosagem de glicemia casual, não havendo necessidade de confirmação por meio de segunda dosagem, caso se verifique glicemia ≥ 200 mg/dL (ADA, 2024; SBD, 2023).

Tabela 1. Critérios laboratoriais para o diagnóstico de Diabetes Mellitus (ADA, 2024; SBD, 2023).

Glicemia de jejum	TOTG	HbA1c	Glicemia casual
≥ 126 mg/dL	≥ 200 mg/dL após 2 horas de sobrecarga oral	$\geq 6,5\%$	≥ 200 mg/dL com sintomas clássicos de hiperglicemia

TOTG – Teste Oral de Tolerância à Glicose; HbA1c – hemoglobina glicada.

2.2 Diabetes Mellitus tipo 1

2.2.1 Epidemiologia e fisiopatologia

O DM1 é a forma mais comum de diabetes em crianças e adolescentes, correspondendo a 90% dos casos, afeta igualmente ambos os sexos e é uma das doenças crônicas mais comuns na infância. Todavia, outros tipos de diabetes também ocorrem nesta faixa etária, como o Diabetes Mellitus tipo 2 e o monogênico, além de também ser uma doença que pode ser diagnosticada em idade mais avançada. A incidência e a prevalência de DM1 vêm aumentando, em função da elevação da incidência em vários países, bem como da redução da mortalidade, respectivamente.

Destaca-se que a incidência aumenta cerca de 3% ao ano, sobretudo na população abaixo de 5 anos de idade, e é muito variável nas diferentes regiões do mundo. Já a prevalência corresponde a 5 a 10% de todos os casos de diabetes (IDF, 2021; SBD, 2023).

Estima-se que 1,52 milhões de indivíduos com até 20 anos de idade têm DM1 em todo o mundo e que em torno de 201,000 casos foram diagnosticados em 2022. A Índia tem a maior prevalência de DM1 nesta faixa etária (282,832 casos), seguida pelos Estados Unidos (170,408 casos) e pelo Brasil (112,240 casos). O Brasil também está em terceiro lugar com relação à incidência, a qual apresenta valor de 8.900 casos por ano, enquanto na Índia e nos Estados Unidos este valor é de 24,000 e 18,200 casos por ano, respectivamente (IDF, 2022; IDF, 2021).

Embora a fisiopatologia do DM1 não seja totalmente conhecida, envolve além de predisposição genética, fatores ambientais que funcionam como gatilho para desencadear a resposta auto-imune, tanto de forma isolada, quanto em combinação. Dentre as exposições ambientais associadas ao DM1, podem ser citadas: infecções virais, microbiota intestinal, excesso de peso, rápido crescimento, deficiências nutricionais, exposição precoce ao glúten e ao leite de vaca e estresse psicológico. Acredita-se que tais fatores podem produzir exaustão das células beta-pancreáticas e falência por destruição auto-imune secundária (SBD, 2023; REWERS & LUDVIGSSON, 2016).

O DM1 subdivide-se em tipo 1A e tipo 1B (idiopático), a depender da presença ou da ausência de autoanticorpos circulantes, respectivamente. O primeiro tipo é a forma mais frequente e é confirmado pela positividade de um ou mais autoanticorpos. Os marcadores conhecidos de autoimunidade são: anticorpo anti-ilhota, autoanticorpo anti-insulina, anticorpo anti-descarboxilase do ácido glutâmico, anticorpo anti-tirosina-fosfatase e anticorpo anti-transportador de zinco. Sabe-se que quanto maior a variedade de autoanticorpos e mais elevada a sua concentração, maior a chance de o indivíduo desenvolver a doença (ADA, 2024; SBD, 2023).

O início do DM1 é, em geral, abrupto, sendo a cetoacidose diabética a primeira manifestação da doença em um terço dos casos e, frequentemente, é isto que ocorre com crianças e adolescentes. Todavia, alguns indivíduos mantêm hiperglicemia de jejum modesta, a qual pode rapidamente se tornar grave e/ou desencadear cetoacidose em função de uma situação de estresse metabólico (ADA, 2024; SBD, 2023).

É importante destacar também que três estágios caracterizam o DM1, sendo que o primeiro é definido pela presença de dois ou mais marcadores autoimunes, porém o indivíduo ainda é normoglicêmico e não apresenta sintomas. Geralmente, esses autoanticorpos precedem a hiperglicemia por meses a anos, durante um estágio pré-diabético. Já no segundo estágio, a disglucemia pode ser observada, enquanto no último, a glicemia já se torna bastante elevada e, por

consequente, o indivíduo apresenta sintomas (Tabela 2). Nesta fase, há pouca ou nenhuma secreção de insulina, o que pode ser identificado pela baixa concentração sérica de peptídeo-C ou até mesmo pode estar indetectável. O peptídeo-C é considerado o marcador de funcionamento das células beta-pancreáticas. Além disto, a taxa de destruição das células beta-pancreáticas é bastante variável, sendo normalmente mais acelerada em crianças (ADA, 2024; SBD, 2023).

Tabela 2. Estágios do DM1 e suas características (ADA, 2024; SBD, 2023).

	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3
Autoanticorpos	Sim	Sim	Sim
Níveis glicêmicos para diagnóstico	Glicemia de jejum, TOTG e HbA1c normais.	Disglicemia: glicemia de jejum entre 100 e 125mg/dL, TOTG entre 140 e 199mg/dL ou HbA1c entre 5,7 e 6,4%.	Hiperglicemia evidente e de início recente: glicemia de jejum \geq 126mg/dL, TOTG \geq 200mg/dL, ou HbA1c \geq 6,5%.
Sintomas	Não	Não	Sim

DM1 – diabetes mellitus tipo 1; TOTG – teste oral de tolerância à glicose; HbA1c – hemoglobina glicada.

2.2.2 Tratamento

O tratamento do DM1 evoluiu muito nas últimas décadas e dentre os estudos que muito contribuíram, destaca-se o *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT). Este estudo teve como objetivo comparar o tratamento convencional com o intensivo sobre o controle glicêmico e sobre o aparecimento precoce e/ou progressão de complicações micro e macrovasculares. Os resultados demonstraram que as concentrações de HbA1c e a média das glicemias capilares foram significativamente menores no grupo submetido à terapia intensiva. O tratamento intensivo também se mostrou mais eficaz para o retardo do aparecimento precoce e/ou da progressão de complicações micro e macrovasculares (DCCT, 1993).

Sabe-se que, na ausência de um bom controle glicêmico, podem ser necessários cuidados para tratar as complicações crônicas micro e macrovasculares comumente associadas ao DM1, como por exemplo: neuropatia, nefropatia, retinopatia, doença cardiovascular e, inclusive, podendo levar à amputação de membros inferiores. O DM1 também pode resultar em complicações agudas, tais como cetoacidose e hipoglicemia (SBD, 2023).

Atualmente, dentre as principais diretrizes para um bom controle glicêmico, destacam-se: intensificação do tratamento insulínico, com maior número de aplicações e uso de esquemas que combinam diferentes análogos de insulina; monitoramento mais frequente da glicemia; evolução da terapia nutricional, por meio do método de contagem de carboidratos; incentivo à prática de atividade física; educação em DM1 da infância até a adolescência; atenção psicossocial; e participação conjunta da família e do paciente nas tarefas relacionadas ao controle da doença. Além disto, também deve-se destacar que, especificamente no caso de crianças e adolescentes, o

tratamento do DM1 também deve objetivar o crescimento e o desenvolvimento adequados (ADA, 2024).

Mais detalhadamente, o tratamento medicamentoso do DM1 corresponde a aplicação de insulina exógena, sendo utilizados diferentes tipos e esquemas, e tem por objetivo atingir o perfil mais próximo possível do fisiológico. Também pode ser instituído o tratamento intensivo com o uso de bombas de infusão de insulina, o qual tenta simular o padrão de secreção endógeno, possibilitando maior flexibilidade e reduzindo a variabilidade glicêmica quando corretamente utilizada (SBD, 2023).

Com relação ao monitoramento da glicemia, a medida de glicemia capilar ainda é considerada uma ferramenta essencial para a maioria dos pacientes com DM1. A recomendação é fazer ao menos quatro glicemias capilares pré-prandiais por dia, permitindo o ajuste das doses de insulina. Opções mais modernas, como a monitorização contínua por meio da utilização de sensores, permitem melhor visualização das variações glicêmicas, facilitando o ajuste da terapia (SBD, 2023). Todavia, estas tecnologias mais modernas estão disponíveis apenas para uma pequena parcela de pacientes.

O cuidado nutricional de crianças e adolescentes com DM1 deve priorizar o consumo de carboidratos complexos e instituir o equilíbrio na distribuição de macronutrientes, propiciando uma alimentação de qualidade e individualizada. Um método que vem demonstrando bons resultados no controle glicêmico é a contagem de carboidratos, a qual considera a quantidade deste macronutriente que é consumida por refeição, permitindo que a dose de insulina seja feita com maior precisão (SBD, 2023; WIYONO *et al.*, 2023).

Outro importante pilar do tratamento do DM1 é a prática regular de atividade física, a qual auxilia no aspecto emocional, no bem-estar físico e na melhora do equilíbrio metabólico. Sabe-se que durante a atividade física, um paciente adequadamente insulinizado reduz seus níveis glicêmicos devido a facilitação da entrada de glicose na célula muscular (SBD, 2023; ABSIL *et al.*, 2019).

2.2.3 Controle glicêmico

Na prática clínica, o controle glicêmico pode ser obtido tanto a partir da dosagem de HbA1c e da auto-monitorização da glicemia capilar, quanto da monitorização contínua da glicose por meio da utilização de sensores. Sabe-se que a HbA1c é considerada o exame padrão-ouro para identificar a eficácia da intervenção terapêutica no controle metabólico do indivíduo com DM1 e apresenta um forte valor preditivo para as complicações relacionadas à doença. Sua dosagem deve ser realizada a cada 3 meses para identificar se os alvos glicêmicos estão sendo atingidos. Esta frequência pode

variar, dependendo da situação clínica do paciente e do regime de tratamento. Por exemplo, no caso de pacientes instáveis ou monitorados intensivamente ou aqueles que não atingem o alvo glicêmico, deve-se fazer a dosagem de HbA1c mais frequentemente (ADA, 2024).

É importante ressaltar que o alvo de HbA1c deve ser individualizado e rediscutido ao longo do tempo, sendo que valores inferiores a 7% são indicados para maioria das crianças e adolescentes. Ressalta-se que alvos menos rígidos (< 7,5%) podem ser apropriados para pacientes que não conseguem lidar com sintomas de hipoglicemia ou que apresentem hipoglicemia assintomática; para pacientes que não tem acesso a análogos de insulina ou a terapias mais avançadas ou a monitorização contínua de glicose; ou para pacientes que não conseguem checar a glicemia regularmente. Alvos menos rigorosos ainda (< 8%) podem ser indicados para pacientes com histórico de hipoglicemia severa ou com expectativa de vida limitada ou quando os prejuízos do tratamento são maiores que os benefícios. Por outro lado, alvos mais rigorosos (< 6,5%) podem ser propostos para pacientes selecionados, caso os mesmos consigam ser atingidos sem hipoglicemia significativa e sem impactos negativos no bem estar (ADA, 2024). A Tabela 3 demonstra as metas para controle glicêmico em crianças e adolescentes com DM1, considerando outros parâmetros, além da HbA1c (SBD, 2023).

Tabela 3. Metas para controle glicêmico em crianças e adolescentes com DM1 (SBD, 2023).

HbA1c	Glicemia de jejum e pré-prandial	Glicemia pós-prandial (2 horas)	Glicemia ao deitar	Tempo no alvo glicêmico (70 a 180mg/dL)*	Tempo em hipoglicemia (< 70mg/dL)*	Tempo em hipoglicemia (< 54mg/dL)*
< 7,0%	70-130 mg/dL	< 180 mg/dL	90-150 mg/dL	> 70%	< 4%	< 1%

DM1 – diabetes mellitus tipo 1; HbA1c – hemoglobina glicada.

*Disponível apenas para quem faz monitorização contínua da glicose.

2.3 Vitamina D

2.3.1 Aspectos metabólicos e epidemiológicos

A vitamina D, também conhecida como calciferol, corresponde a um grupo de seco-esteróides lipossolúveis e existe em duas formas principais: vitamina D₂ ou ergocalciferol, proveniente de leveduras e fungos, e vitamina D₃ ou colecalciferol, de fontes animais. A vitamina D também pode ser sintetizada na pele a partir do colesterol, quando o mesmo é exposto a fótons de luz ultravioleta B, formando o 7-deidrocolesterol (RAK & BRONKOWSKA, 2018; HOLICK, 2006; DE LUCA, 2004). Posteriormente, esta forma inativa de vitamina D é transportada para o fígado, onde é hidrolisada a 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) ou calcidiol. Em seguida, nos rins, o calcidiol é hidroxilado a sua forma biologicamente mais ativa, denominada 1,25-dihidroxivitamina

D ou calcitriol (HOLICK & CHEN, 2008). A Figura 1 demonstra resumidamente como ocorre a síntese de vitamina D. É importante destacar que, para avaliação do *status* de vitamina D na prática clínica, recomenda-se mensurar a concentração sérica de 25(OH)D, tendo em vista sua maior meia vida (RAK & BRONKOWSKA, 2018).

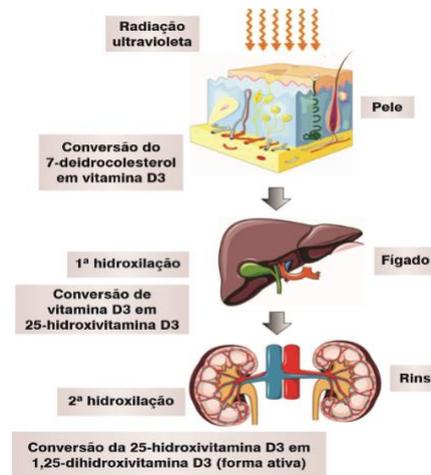


Figura 1. Representação esquemática da síntese de vitamina D (CARDOSO *et al.*, 2020).

De acordo com o *Institute of Medicine*, a recomendação de ingestão de vitamina D para indivíduos entre 12 meses e 70 anos de idade é de 600 UI/dia (IOM, 2011). As principais fontes desta vitamina são peixes de água salgada, óleos de peixe, ovos, leite e derivados (Tabela 4), todavia a síntese que ocorre na pele é responsável por atingir mais de 80% da recomendação (ZHANG & NAUGHTON, 2010). Para que haja síntese suficiente de vitamina D, recomenda-se exposição à luz solar de pelo menos 5 a 10 minutos, nos braços e nas pernas, entre as 10 horas da manhã e as 3 horas da tarde (HOLICK, 2006).

Tabela 4. Principais fontes nutricionais de vitamina D (ZHANG & NAUGHTON, 2010).

Alimento	Teor de vitamina D (UI)
Salmão selvagem, fresco (100 g)	600 – 1000
Salmão de cativeiro, fresco (100 g)	100 – 250
Sardinha, enlatada (100 g)	300
Atum, enlatado (100 g)	230
Óleo de fígado de bacalhau (1 colher de sopa)	400 – 1000
Cogumelo shitake, fresco (100 g)	100
Cogumelo shitake, seco (100 g)	1600

Gema de ovo (1 unidade)	20
Manteiga fortificada (100 g)	50
Leite fortificado (236 mL)	100
Iogurte fortificado (236 mL)	100
Fórmulas infantis fortificadas (236 mL)	100

UI – Unidades Internacionais

Em crianças, a DVD leva ao atraso no crescimento e ao raquitismo. Já em adultos, resulta em osteomalácia, hiperparatiroidismo secundário, osteopenia e osteoporose (HOLICK, 2007). A DVD pode ser considerada um problema de saúde mundial, tanto em adultos, quanto em crianças, e a prevalência pode variar de 31 a 98%, dependendo do país (HOLICK, 2017). Um estudo com 2171 crianças e adolescentes de 3 a 15 anos de idade, realizado em oito países europeus, identificou 63% de DVD e 33% de insuficiência (WOLTERS *et al.*, 2022). No Brasil, o Estudo de Riscos Cardiovasculares em Adolescentes avaliou 1152 adolescentes de 12 a 17 anos de idade de quatro cidades e identificou que 42% apresentava insuficiência de vitamina D, enquanto 21% tinham DVD (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Considerando a DVD na população com DM1, uma meta-análise conduzida por Liu *et al.* (2015) identificou que a 25(OH)D é significativamente menor em crianças com a doença, quando comparadas com controles saudáveis.

2.3.2 Pontos de corte para 25(OH)D e esquemas de tratamento de DVD

Não existe um consenso na literatura para a avaliação do *status* de 25(OH)D em crianças e adolescentes (Tabela 5). Uma das recomendações mais utilizadas é da *Endocrine Society*, a qual afirma que há DVD quando os valores de 25(OH)D estão abaixo de 20 ng/mL; insuficiência, entre 21 e 29 ng/mL; e suficiência, quando os valores estão acima de 30 ng/mL (HOLICK *et al.*, 2011). Já a *American Academy of Pediatrics* sugere que há DVD quando os valores estão abaixo de 15 ng/mL; insuficiência, entre 16 e 20 ng/mL; e suficiência quando acima de 21 ng/mL (MISRA *et al.*, 2008). Outra diretriz que também é utilizada é a do *Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets*, o qual recomenda o ponto de corte de 12 ng/mL para DVD; insuficiência, entre 12 e 20 ng/mL; e suficiência quando acima de 20 ng/mL (MUNNS *et al.*, 2016). Mais recentemente, a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia e a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial recomendaram que é desejável que a 25(OH)D esteja acima de 20 ng/mL para população saudável e entre 30 e 60 ng/mL para grupos de risco, incluindo pacientes com DM (MOREIRA *et al.*, 2020).

Também não há concordância quanto ao melhor esquema de tratamento para DVD em crianças e adolescentes (Tabela 6). A *Endocrine Society* sugere que indivíduos com até 18 anos de

idade sejam suplementados com doses de 2.000 UI/dia ou 50.000 UI/semana, por no mínimo 6 semanas (HOLICK *et al.*, 2011). Já o *Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets* propõe a suplementação por 12 semanas com doses de 2.000 UI/dia para menores de 1 ano de idade; de 3.000 a 6.000 UI/dia para pacientes entre 1 e 12 anos; e de 6.000 UI/dia para maiores de 12 anos (MUNNS *et al.*, 2016).

Tabela 5. Avaliação do *status* de 25(OH)D em ng/mL, de acordo com as principais recomendações.

	<i>Endocrine Society</i> (HOLICK <i>et al.</i> , 2011)	<i>American Academy of Pediatrics</i> (MISRA <i>et al.</i> , 2008)	<i>Global Consensus Recommendations</i> (MUNNS <i>et al.</i> , 2016)	SBEM/SBPCML (MOREIRA <i>et al.</i> , 2020)
Suficiência	> 30	> 21	> 20	> 20 p/ população em geral > 30 p/ grupos de risco, inclusive diabetes
Insuficiência	21 – 29	16 – 20	12 – 20	-
Deficiência	< 20	< 15	< 12	< 20 p/ população em geral < 30 p/ grupos de risco, inclusive diabetes

25(OH)D – 25-hidroxivitamina D; SBEM/SBPCML – Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia e a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial

Tabela 6. Esquemas de tratamento de DVD, de acordo com as principais recomendações.

Faixa etária	Dose diária	Dose semanal
<i>Endocrine Society (HOLICK et al., 2011)</i>		
< 18 anos	2000 UI, no mínimo 6 semanas	50.000 UI, no mínimo 6 semanas
<i>Global Consensus Recommendations (MUNNS et al., 2016)</i>		
< 1 ano	2000 UI, por 12 semanas	-
1 a 12 anos	3000-6000 UI, por 12 semanas	-
> 12 anos	6000 UI, por 12 semanas	-

DVD – deficiência de vitamina D; UI – Unidades Internacionais

2.3.3 Fatores associados à DVD

Existem alguns fatores de risco bem conhecidos por causar DVD, destacando-se as seguintes situações: a pele mais escura tem grande quantidade de melanina, o que reduz a capacidade de sintetizar vitamina D; o protetor solar é capaz de absorver a radiação ultravioleta B, impedindo que a mesma alcance a pele; a exposição solar antes das 10 horas da manhã ou após as 15 horas ou no inverno resulta em pouca produção de vitamina D; e as pessoas que moram em latitudes maiores, que fazem uso de vestimentas longas, que costumam cobrir a cabeça ou que são acamadas,

geralmente, não sintetizam esta vitamina em quantidade adequada (ANTONUCCI *et al.*, 2018; WACKER & HOLICK, 2013).

Especificamente nos primeiros anos de vida, a exposição solar insuficiente é um importante fator de risco para DVD. Já na adolescência, o consumo frequente de alimentos ultraprocessados, associado ao baixo consumo de alimentos fonte de vitamina D, é considerado um fator de risco relevante (ANTONUCCI *et al.*, 2018; MISRA *et al.*, 2008). A obesidade também pode ser considerada uma das causas de DVD, pois o tecido adiposo em excesso é capaz de sequestrar a vitamina D, reduzindo sua circulação (WORTSMAN *et al.*, 2000).

Algumas doenças também podem estar associadas à DVD, incluindo aquelas que acometem órgãos fundamentais para ativação da vitamina D, como insuficiência hepática e renal, e doenças que interferem na absorção de lipídios, como doença celíaca, fibrose cística, doença inflamatória intestinal, síndrome do intestino curto e alergias alimentares (ANTONUCCI *et al.*, 2018; HOLICK *et al.*, 2011). O uso crônico de certos medicamentos também pode interferir no metabolismo de vitamina D, como anticonvulsivantes, glicocorticoides e antifúngicos (ROBIEN *et al.*, 2013). Além disto, devem ser considerados também os fatores genéticos, tendo em vista que vários polimorfismos de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphism*, SNP) de genes relacionados à vitamina D têm sido associados à deficiência da mesma (ANTONUCCI *et al.*, 2018; AHN *et al.*, 2010).

São escassos os estudos encontrados na literatura que avaliam os fatores associados à DVD em crianças e adolescentes com DM1. Um trabalho realizado nos Emirados Árabes com 148 pacientes de 4 a 19 anos de idade com DM1 observou que a DVD foi significativamente maior nos participantes com obesidade, no sexo feminino e em adolescentes (MAJEED, SIDDIQUI & LESSAN, 2023). Bouichrat *et al.* (2023), ao estudarem 147 indivíduos com DM1 com idade até 19 anos no Marrocos, identificaram associação inversa entre HbA1c e 25(OH)D.

Trabalhos a respeito de fatores associados à DVD na população em geral são mais comuns. Um estudo 2171 crianças e adolescentes europeus de 3 a 15 anos de idade, identificou que a radiação ultravioleta e o consumo alimentar de vitamina D são importantes fatores determinantes da DVD. Estes autores também observaram que os participantes que permaneceram ao ar livre brincando, ou simplesmente expostos ao sol, por uma hora a mais por dia, teriam 21% mais chance de não apresentar DVD (WOLTERS *et al.*, 2022). Oliveira *et al.* (2020), ao avaliarem 1152 adolescentes brasileiros de 12 a 17 anos de idade, observaram que a DVD tem associação positiva com sexo feminino, latitude, estação do ano (inverno ou primavera) e cor da pele (não brancos) e que a ingestão adequada de vitamina D demonstrou ser um fator protetor contra a DVD. Foi

identificado também que os adolescentes do sexo masculino e com obesidade tem duas vezes mais chance de apresentar DVD.

2.4 Associação entre Diabetes Mellitus tipo 1 e vitamina D

2.4.1 Papel imunomodulador da vitamina D

Além dos efeitos já conhecidos no metabolismo ósseo, a vitamina D também vem sendo estudada com relação ao seu efeito imunomodulador, o qual é baseado na sua habilidade de modificar a transcrição de genes. Sabe-se que o VDR já foi identificado em quase todas as células do sistema imune, incluindo células apresentadoras de antígeno e linfócitos T. Além disto, as células do sistema imune expressam a enzima responsável pela síntese de vitamina D e são capazes de secretar calcitriol, sob estímulos imunológicos específicos. Neste contexto, a vitamina D é capaz de induzir tolerância imunológica, de exercer efeito anti-inflamatório e de agir tanto na imunidade inata, quanto na adaptativa. Tais efeitos sugerem que a vitamina D pode apresentar papel importante nas doenças autoimunes, incluindo o DM1, tanto na redução do risco de desenvolvimento, quanto sendo um potencial adjuvante terapêutico (INFANTE *et al.*, 2019; RAK & BRONKOWSKA, 2018).

De forma mais detalhada, o calcitriol interfere na maturação das células dendríticas, levando a formação de células com maior tolerância. O calcitriol também induz a maturação de monócitos a macrófagos, porém reduz sua habilidade em apresentar antígenos para os linfócitos T. Tais efeitos levam a anergia destas células, gerando as seguintes consequências: inibição e/ou prejuízo da proliferação de linfócitos B, da diferenciação destes em células plasmáticas, da formação de linfócitos B de memória e da produção de imunoglobulinas, incluindo autoanticorpos. Além disto, o calcitriol também estimula as células imunes a secretarem citocinas anti-inflamatórias, como interleucina 4 (IL-4), IL-10 e fator de crescimento transformador beta; e reduz a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IL-17, IL-22, fator de necrose tumoral alfa e interferon gama (INFANTE *et al.*, 2019; RAK & BRONKOWSKA, 2018).

2.4.2 Polimorfismo Fok-I (rs2228570)

Dentre as alterações que podem ocorrer na sequência de DNA (ácido desoxirribonucléico), podem ser citados os polimorfismos, os quais diferem das mutações por serem mais frequentes, com incidência superior a 1% na população. Estes podem exercer efeito modesto no perfil fenotípico, o que é dependente da exposição a fatores ambientais. Dentre os polimorfismos, destacam-se os SNPs, caracterizados pela conversão de uma única base de nucleotídeo em outra (Figura 2) (SCHORK, 2000).

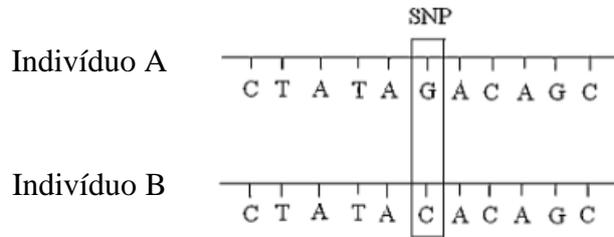


Figura 2. Representação esquemática de um polimorfismo de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphism*, SNP) (adaptado de SHASTRY, 2007).

Existem quatro SNPs comumente identificados no gene do VDR (Figura 3), que se localiza no cromossomo 12q13-14: Bsm-I, Apa-I, Taq-I e Fok-I (NEJENTSEV, COOPER & GODFREY, 2004; UITTERLINDEN *et al.*, 2004). O Fok-I (rs2228570) é capaz de gerar um códon alternativo na região 5' do éxon 2, sendo o único capaz de gerar dois diferentes sítios de iniciação de tradução. Isto é consequência da conversão de uma tiamina em citosina no primeiro códon de iniciação, gerando proteínas de VDR com quantidades diferentes de aminoácidos. Quando a iniciação da tradução ocorre no primeiro sítio, é gerada uma proteína de VDR composta por 427 aminoácidos. Quando a tradução se inicia no segundo sítio, forma-se uma proteína com três aminoácidos a menos (NEYESTANI *et al.*, 2013).

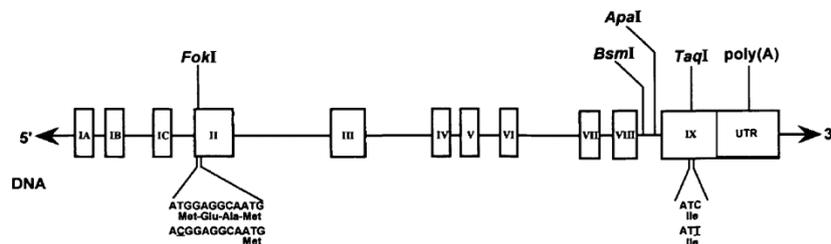


Figura 3. Diagrama esquemático do gene do receptor de vitamina D e seus polimorfismos (ZMUDA, CAULEY & FERRELL, 2000).

Um estudo realizado na Arábia Saudita com 100 crianças com DM1 demonstrou que estas apresentavam uma frequência significativamente maior do genótipo heterozigoto do polimorfismo Fok-I (rs2228570), quando em comparação com controles saudáveis (ALI *et al.*, 2018). Panierakis *et al.* (2009), ao avaliar o polimorfismo Fok-I (rs2228570) em 100 indivíduos gregos com DM1 e idade média 14,4 anos, demonstraram que a distribuição do genótipo do VDR e a frequência dos alelos foi significativamente diferente do observado nos controles saudáveis.

Não foram encontrados estudos que associassem a suplementação de vitamina D com o polimorfismo Fok-I (rs2228570) em crianças e adolescentes com DM1. Um ensaio clínico randomizado controlado desenvolvido no Irã com 140 adultos com DM tipo 2 orientou o consumo

de duas garrafas de uma bebida a base de iogurte/dia, fortificada com 500 UI de vitamina D por garrafa, por 12 semanas. Ao observar o efeito sobre a concentração sérica de 25(OH)D, os autores identificaram que os diferentes genótipos do polimorfismo Fok-I (rs2228570) modulavam a resposta à suplementação de vitamina D (NEYESTANI *et al.*, 2013).

2.4.3 Suplementação de vitamina D e controle glicêmico

Alguns estudos encontrados na literatura avaliaram o efeito da suplementação de vitamina D sobre o controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1 (Tabela 7). Panjiyar *et al.* (2018), ao estudarem 72 crianças de 6 a 12 anos, observaram redução significativa da glicemia de jejum, da glicemia média, da HbA1c e da insulina média total diária, após a suplementação oral de colecalciferol na dosagem de 3000 UI/dia, por um ano. Sharma *et al.* (2017), ao avaliarem 52 crianças e adolescentes entre 1 e 18 anos, não observaram diferença significativa para HbA1c e para requerimento de insulina no grupo intervenção, o qual foi suplementado com colecalciferol oral por 6 meses (1-3 anos: 60.000 UI/mês; 4-8 anos: 90.000 UI/ mês; e 9-18 anos: 120.000 UI/mês).

Nwosu & Maranda (2014), ao estudarem 88 crianças e adolescentes de 3 a 18 anos, identificaram que não houve redução significativa da HbA1c após a intervenção para os participantes com DM1, sendo este efeito observado apenas nos participantes com DM tipo 2. Neste estudo, foi feita a suplementação com ergocalciferol ou colecalciferol oral por 12 a 16 semanas, quando a dosagem era de até 4000 UI/dia, ou por 8 semanas, quando a dosagem era de 7000 UI/dia. Já Ataie-Jafari *et al.* (2013), aos estudarem 54 crianças e adolescentes de 8 a 15 anos, não identificaram efeito significativo na HbA1c, porém houve redução da dose diária de insulina no grupo intervenção, o qual recebeu 0,25 µg/dia de alfalcidol oral por 6 meses.

Tabela 7. Principais resultados de estudos envolvendo suplementação de vitamina D e controle glicêmico em crianças e adolescentes com DM1.

Autores	População	Tratamento	Principais resultados
Panjiyar <i>et al.</i> , 2018	n = 72 6 a 12 anos	Colecalciferol oral, por um ano 3000 UI/dia	Redução significativa da glicemia de jejum, glicemia média, HbA1c e insulina média total diária após a intervenção.
Sharma <i>et al.</i> , 2017	n = 52 1 a 18 anos	Colecalciferol oral, por 6 meses 1-3 anos: 60.000 UI/mês 4-8 anos: 90.000 UI/ mês 9-18 anos:120.000 UI/mês	Sem diferença estatística entre a HbA1c e o requerimento de insulina entre os grupos.
Nwosu & Maranda, 2014	n = 88 3 a 18 anos	Ergocalciferol ou colecalciferol oral < 1000 UI/dia (12 a 16 semanas) 1000-2000 UI/dia (12 a 16 semanas) 4000 UI/dia (12 a 16 semanas) 7000 UI/dia (8 semanas)	Não houve redução significativa de HbA1c após a intervenção em crianças e adolescentes com DM1, apenas para aqueles com diabetes mellitus tipo 2.
Ataie-Jafari <i>et al.</i> , 2013	n = 54 8 a 15 anos	Alfacalcidol oral, por 6 meses 0,25 µg/dia	Sem efeito na HbA1c, porém houve redução da dose diária de insulina no grupo intervenção.

DM1 – Diabetes Mellitus tipo 1; UI – Unidades Internacionais; HbA1c – hemoglobina glicada

Conforme observado nos estudos citados, o efeito da suplementação de vitamina D sobre o controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1 ainda é contraditório. Isto pode se justificar pelo pequeno tamanho amostral dos estudos e pela falta de padronização dos esquemas de suplementação propostos, considerando dosagem, tempo e forma farmacêutica. De acordo com revisão sistemática publicada por Nascimento *et al.* (2022), são necessários mais estudos, sobretudo ensaios clínicos de boa qualidade metodológica, para que conclusões mais assertivas possam ser obtidas acerca do tema.

Segundo a *American Diabetes Association*, não existem evidências científicas suficientes para prescrição de vitaminas em pessoas com diabetes que não apresentem deficiências nutricionais subjacentes e, portanto, não são recomendadas apenas para melhoria do controle glicêmico (ADA, 2024). Corroborando com a associação americana, a Sociedade Brasileira de Diabetes afirma que há escassez de estudos que avaliam o efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico, no requerimento de insulina e na concentração sérica de 25(OH)D em indivíduos com DM1, impedindo que a suplementação de vitamina D seja recomendada para este fim (SBD, 2024).

3. JUSTIFICATIVA

O DM1 é uma doença que vem afetando um número cada vez maior de indivíduos, principalmente crianças e adolescentes. Sabe-se também do impacto negativo que esta doença pode causar na saúde, tendo em vista que pode ocasionar complicações agudas e crônicas, em consequência de um mau controle glicêmico. Classicamente, o cuidado nutricional do paciente com DM1 é focado na distribuição e na qualidade dos macronutrientes, no entanto, alguns estudos têm demonstrado que alguns micronutrientes também têm seu papel.

Neste contexto, estudos têm evidenciado que a vitamina D, além de seu papel no metabolismo ósseo, seria capaz de exercer outras funções, como por exemplo, um possível efeito no controle glicêmico de pacientes com DM1. Tal fato torna-se ainda mais relevante ao considerar a alta prevalência de DVD. Entretanto, sabe-se também das controvérsias que existem na literatura com relação aos pontos de corte para deficiência desta vitamina e quanto aos esquemas de suplementação propostos. Além disto, são escassos os estudos que avaliam a frequência e os fatores associados à DVD em crianças e adolescentes com DM1, o que dificulta o diagnóstico e o tratamento adequado da DVD nesta população.

Uma das justificativas para o possível efeito que a vitamina D pode exercer no DM1 é que o VDR atua nas células do sistema imune e nas dos órgãos-alvo de ação da insulina. Todavia, o gene que codifica o VDR pode apresentar variações genéticas como os SNPs, os quais podem afetar a ação do receptor. Neste sentido, tem sido estudada a associação do polimorfismo Fok-I (rs2228570) com o controle glicêmico de pacientes com o DM1.

Considerando tais fatos, torna-se fundamental o desenvolvimento de estudos que objetivem avaliar o efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1, com ou sem o polimorfismo Fok-I (rs2228570). Tendo em vista que, na literatura, não foram encontrados estudos que avaliem o assunto de forma tão completa e que dados parciais ainda são inconclusivos, o presente estudo torna-se inédito e de extrema relevância para traçar um panorama da DVD em crianças e adolescentes com DM1, além avaliar o efeito de um esquema de suplementação na correção da DVD nesta população. É importante ressaltar também que estudos como este, que consideram a interação entre os genes e o ambiente, tem se mostrado bastante atuais e capazes de, no futuro, impactar na conduta clínica.

4. PERGUNTAS DE ESTUDO E HIPÓTESE

As perguntas de estudo são:

- Qual a frequência e os fatores associados à DVD em crianças e adolescentes com DM1?
- Qual o efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1, a depender ou não do polimorfismo Fok-I (rs2228570)?
- O esquema de suplementação proposto é eficaz para correção da DVD?

A hipótese deste estudo é que a suplementação de vitamina D é capaz de melhorar o controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1 e com DVD e que este efeito é dependente do polimorfismo Fok-I (rs2228570). Acredita-se também que o esquema de suplementação proposto é capaz de corrigir a DVD.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da suplementação de vitamina D e do polimorfismo Fok-I (rs2228570) no controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1.

5.2 Objetivos específicos

5.2.1 Artigo 1

- Estimar a frequência da DVD.
- Identificar a frequência do genótipo do polimorfismo Fok-I (rs2228570).
- Analisar a relação da 25(OH)D sérica com o polimorfismo Fok-I (rs2228570).
- Avaliar os fatores sociodemográficos, clínicos, de estilo de vida, bioquímicos e antropométricos associados à DVD.

5.2.2 Artigo 2

- Verificar o efeito do esquema de suplementação proposto na correção da DVD e no controle glicêmico.
- Identificar a associação dos fatores sociodemográficos, clínicos, de estilo de vida, bioquímicos, antropométricos e do polimorfismo Fok-I (rs2228570) com a concentração sérica de 25(OH)D após a suplementação.

6. CASUÍSTICA E MÉTODOS

6.1 Desenho e local do estudo

Trata-se de um ensaio clínico controlado. A pesquisa foi realizada no Ambulatório de Diabetes Mellitus do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG), da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), no período de março de 2021 a outubro de 2023. O IPPMG caracteriza-se por ser uma instituição de pesquisa, ensino, extensão e assistência em saúde, criada com o objetivo de promover a saúde e a qualidade de vida de crianças e adolescentes, além de contribuir para a qualificação profissional. O Ambulatório de Diabetes do IPPMG é referência para o tratamento de DM1 em crianças e adolescentes do Estado do Rio de Janeiro. A equipe é caracterizada pela multiprofissionalidade e as consultas são integradas, sendo realizadas por médicos, nutricionistas, psicólogos, assistentes sociais e enfermeiros.

6.2 População

O diagnóstico de DM1 foi feito com bases nos critérios estabelecidos pela *American Diabetes Association* (ADA, 2024). Todos os pacientes eram tratados com múltiplas doses diárias de insulina e por meio do método de contagem de carboidratos. Os critérios de elegibilidade utilizados foram: ter idade entre 7 (permitir o envolvimento do próprio participante no estudo) e 16 anos (idade máxima de acompanhamento no ambulatório) e ter diagnóstico de DM1 há pelo menos 1 ano. Já os critérios de exclusão foram: apresentar outras doenças autoimunes, anemia falciforme, doença renal ou hepática, síndromes genéticas, má absorção intestinal ou hemoglobinopatias; utilizar corticóides ou drogas que afetassem o metabolismo de vitamina D; e ter feito uso de suplementação de vitamina D nos últimos seis meses. Os participantes que não possuíam DVD foram alocados no grupo controle, enquanto os que apresentaram DVD foram alocados no grupo intervenção.

Para o cálculo amostral do Artigo 1, foi considerado um poder do teste de 80%, erro amostral de 5% e prevalência de aproximadamente 80% de DVD, dentre crianças e adolescentes com DM1 (CALMARZA *et al.*, 2022), sendo obtido um número mínimo de 136 participantes. Para o Artigo 2, considerou-se poder de 80%, erro alfa de 0,05, mono-caudal, e melhora de aproximadamente 12% na glicemia de jejum após a suplementação de vitamina D (PANJIYAR *et al.*, 2018), sendo obtido o número mínimo de 44 participantes. Assumiu-se um percentual de perda de 20%, totalizando um tamanho amostral final de 53 participantes, sendo 27 em cada grupo de estudo. Utilizou-se o *software* ClimCal.com para a definição do cálculo amostral. A Figura 4 demonstra como foram obtidos os tamanhos amostrais dos Artigos 1 e 2.

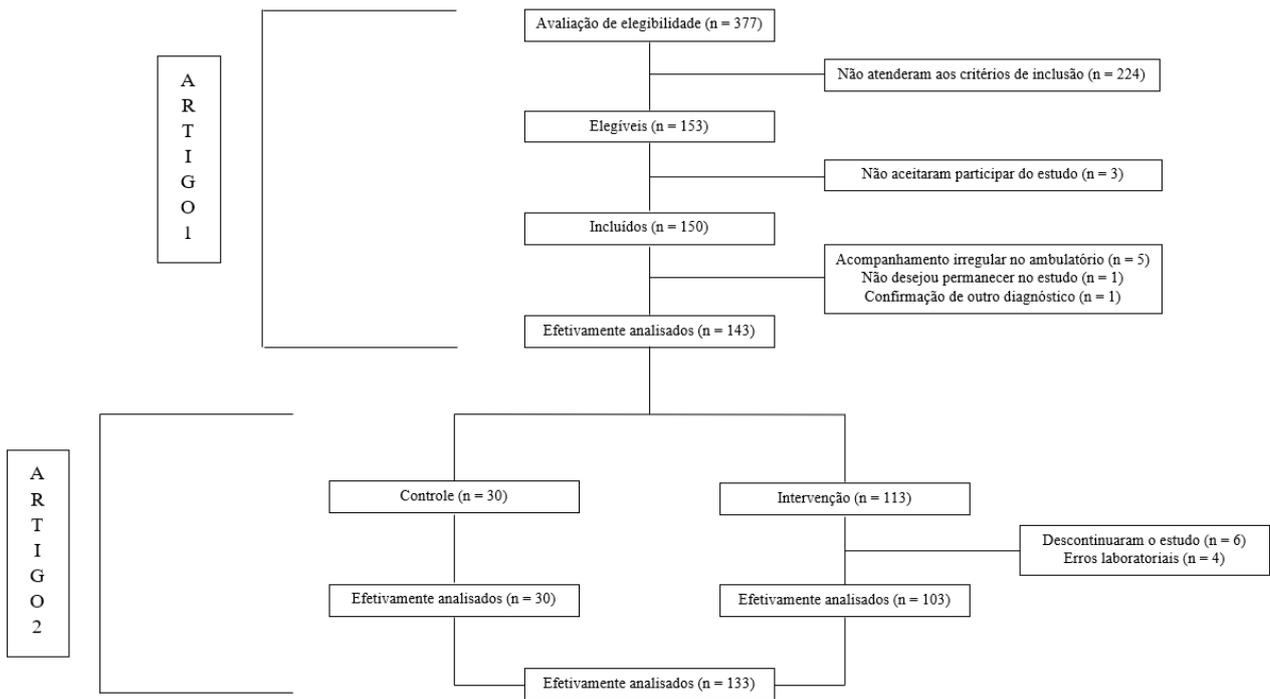


Figura 4. Fluxograma dos tamanhos amostrais dos Artigos 1 e 2.

6.3 Coleta de dados

A coleta de dados foi realizada por equipe previamente treinada. Em cada turno de atendimento, foram consultados os prontuários para identificar se o paciente atendia aos critérios de elegibilidade. Uma vez elegível, os pesquisadores abordavam o participante e o seu responsável legal apresentando a pesquisa. Após a concordância em participar, era feita a leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 1) e do Termo de Assentimento (Apêndice 2) e solicitada a assinatura do responsável legal e do participante, respectivamente. Ambos os documentos foram emitidos em duas vias de igual teor, permanecendo uma com o pesquisador e outra com o participante. Foram preenchidos formulários específicos com os dados coletados (Apêndice 3).

Todo o material que foi utilizado era descartável e a coleta foi feita por um profissional capacitado. Foi feita a comunicação dos resultados dos exames aos participantes, bem como todos foram orientados com relação aos alimentos fonte de vitamina D e sobre a importância da exposição solar (Apêndice 4). Este estudo foi dividido em três etapas: a primeira correspondeu a captação dos participantes; a segunda foi referente a alocação nos grupos intervenção ou controle; e a terceira ocorreu 12 semanas após a segunda (Figura 5).

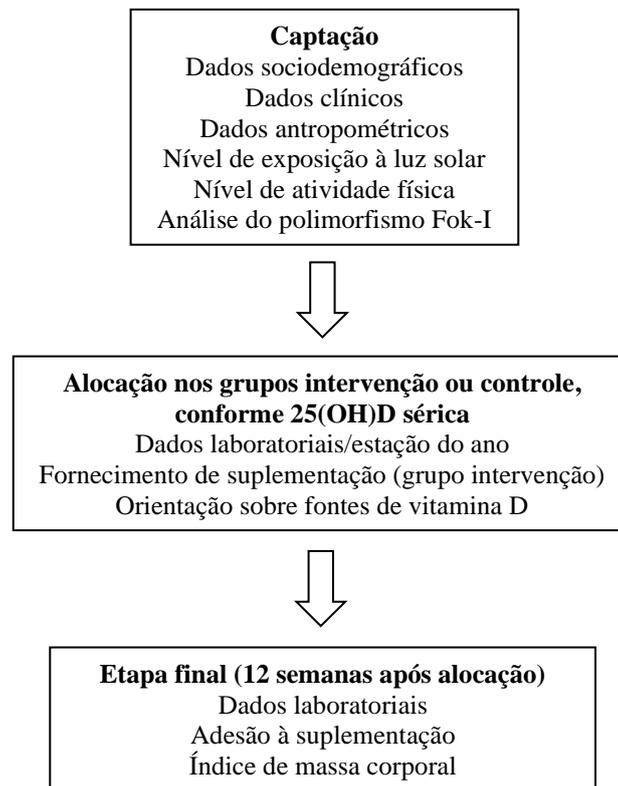


Figura 5. Descrição das etapas do estudo e do momento de coleta das variáveis (25(OH)D – 25 hidroxí vitamina D).

6.4 Variáveis

6.4.1 Dados bioquímicos

A concentração sérica de 25(OH)D foram obtidos por imunoensaio quimioluminescente pelo kit comercial DiaSorin. Os participantes foram classificados com DVD quando a 25(OH)D era inferior 30 ng/mL (MOREIRA *et al.*, 2020). Para estes participantes, a suplementação oral com colecalciferol foi prescrita na dosagem de 2000 UI/dia, por 12 semanas (HOLICK *et al.*, 2011) (Tabela 8). Todo o tratamento com suplemento comercial sob a forma de comprimidos foi fornecido pela equipe de pesquisadores. Para garantir a assistência aos participantes, foram fornecidos telefones dos pesquisadores responsáveis. Em caso de efeito adverso, os pesquisadores se comprometeram em suspender a suplementação e informar o Comitê de Ética.

Tabela 8. Concentração sérica de 25(OH)D para os grupos intervenção e controle e esquema de suplementação proposto (MOREIRA *et al.*, 2020; HOLICK *et al.*, 2011).

25(OH)D sérica		Suplementação
Controle	≥ 30 ng/ml	-
Intervenção	< 30 ng/ml	2000 UI de colecalciferol oral/dia, por 12 semanas

25(OH)D – 25 hidroxivitamina D; UI – Unidades Internacionais

O controle glicêmico foi avaliado segundo o valor de HbA1c (%) por meio do método de cromatografia líquida de alta eficiência. Foi utilizado o teste Endpoint, Sistema VITROS 5600, 4600, 5,1, FS, sendo considerado bom controle glicêmico quando inferior a 7,5% (ADA, 2024). Também foram realizadas outras dosagens bioquímicas, incluindo paratormônio (PTH), cálcio total, fósforo sérico e fosfatase alcalina. Estas dosagens foram feitas de acordo com as metodologias de rotina utilizadas no IPPMG/UFRJ.

6.4.2 Polimorfismo Fok-I (rs2228570)

A análise do polimorfismo Fok-I (rs2228570) foi realizada no Laboratório de Bioquímica Nutricional do Instituto de Nutrição Josué de Castro da UFRJ, em parceria com o Laboratório de Genética Humana da Fundação Oswaldo Cruz. Foi feita a coleta de saliva dos participantes, após bochecho com 5 mL de água destilada por 60 segundos. A saliva foi coletada em um tubo *falcon* de 15 mL, onde foram adicionados 3 mL de solução TNE (17 mM Tris/HCl [pH8, 0], 50 mM NaCl e 7 mM EDTA). A extração do DNA foi feita em até 15 dias após a coleta da saliva por meio do protocolo descrito por Aidar & Line (2007), com modificações (Anexo 1).

O polimorfismo Fok-I (rs2228570) foi detectado a partir do DNA extraído, utilizando-se o ensaio de genotipagem TaqMan, de acordo com o protocolo fornecido pela Thermo Fisher. A genotipagem foi realizada a partir do ensaio de discriminação alélica, utilizando o sistema de *Real Time Polymerase Chain Reaction* (PCR em tempo real) StepOne Plus© e os genótipos foram lidos por meio de *software* automatizado (SDS 2.3, Applied Biosystems, Foster City, CA). As reações ocorreram em volumes de 5 μ L, contendo 1 μ l de DNA (20-40 ng), 2,5 μ l de MasterMix genotyping, 0,125 μ l de sonda TaqMan e 1,375 μ l de água MilliQ. Adotou-se o protocolo de amplificação de 95 °C por 10 minutos, seguido por 50 ciclos de 95 °C por 15 segundos e 60 °C por 1 minuto e meio. Os participantes foram classificados de acordo com a presença (AA) ou ausência (GG e AG) do polimorfismo Fok-I (rs2228570) e de acordo com a presença ou ausência do alelo mutado A (AA, AG e GG).

6.4.3 Dados sócio-demográficos e de acompanhamento ambulatorial

Foram coletados os seguintes dados sócio-demográficos: idade, sexo, condições de saneamento da moradia, nível de escolaridade dos pais, composição familiar, cor da pele (por auto-declaração) e estação do ano. Foram coletados os seguintes dados de acompanhamento ambulatorial: tempo e idade ao diagnóstico de DM1 e dose de insulina/kg peso ideal.

6.4.4 Avaliação antropométrica

O Índice de Massa Corporal/idade (IMC/idade) e a estatura/idade foram utilizados para avaliação do estado nutricional. O IMC foi calculado a partir do peso (kg), dividido pelo quadrado da estatura (m). Para aferição do peso, foi utilizada balança digital com capacidade máxima de 150 kg e precisão de 0,1 kg. A estatura foi aferida em estadiômetro com precisão de 0,1 cm (LOHMAN, ROCHE & MARTORELL, 1988). Foi utilizado o *software* WHO AnthroPlus (versão 1.0.4) para o cálculo do escore-z, tendo como referência o padrão de crescimento proposto pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2009; ONIS *et al.*, 2007). O IMC/idade foi classificado da seguinte forma: magreza, abaixo de -2 escore-z; eutrofia, entre -2 e +1 escore-z; sobrepeso, entre +1 e +2 escore-z; obesidade, entre +2 e +3 escore-z; e obesidade grave, acima de +3 escore-z. A estatura/idade foi classificada da seguinte forma: estatura adequada para idade, entre -2 e +3 escore-z; baixa estatura para idade, entre -2 e -3 escore-z; e muito baixa estatura para idade, abaixo de -3 escore-z (WHO, 1995).

6.4.5 Nível de exposição à luz solar e de atividade física

O nível de exposição à luz solar foi considerado adequado quando o participante foi exposto diretamente à luz solar por pelo menos 5 a 10 minutos, nos braços e nas pernas, entre as 10 horas da manhã e as 3 horas da tarde (HOLICK, 2006). O nível de atividade física foi avaliado por meio do *International Physical Activity Questionnaire* – IPAQ, sendo a análise estimada com base nas atividades realizadas no lar, em momentos de lazer e de exercícios físicos, além da locomoção. Foi questionada a duração e a frequência dessas atividades (Anexo 2) (RUÍZ-ROSO *et al.*, 2020; CRAIG *et al.*, 2003). Os participantes foram agrupados em duas categorias: ativos (muito ativos e ativos) e sedentários (irregularmente ativos e sedentários) (USP, 2023).

6.4.6 Adesão à suplementação

A adesão à suplementação foi avaliada no primeiro e no segundo mês por meio de contato telefônico e, ao final do estudo, foi realizada a contagem dos comprimidos restantes. Foi fornecido um cartão de controle da suplementação para que os participantes preenchessem ao longo das 12

semanas (Apêndice 5). Com bases nestas informações, os participantes foram classificados em boa ou má adesão.

6.5 Análises estatísticas

Foi feita a análise de distribuição dos dados por meio do teste de Kolmogorov Smirnov, sendo a amostra definida como normal. As variáveis categóricas foram descritas por meio de frequências relativas e absolutas e as contínuas por meio de média e desvio padrão (DP). Para a comparação das variáveis quantitativas, foi utilizado o teste *t* de Student. Para comparação das proporções, foram utilizados o teste qui-quadrado e o teste exato de Fisher.

6.5.1 Artigo 1

A regressão logística simples foi utilizada para estimar o odds ratio (OR) bruto, com o respectivo IC de 95%. Na avaliação binária foram testadas as seguintes variáveis: sexo, idade, tempo de diagnóstico de DM1, escolaridade dos pais, nível de atividade física, nível de exposição à luz solar, estação do ano, cor da pele, excesso de peso, controle glicêmico, cálcio total, PTH, fósforo sérico, fosfatase alcalina e polimorfismo Fok-I. As variáveis que apresentaram significância estatística de até 0,20 foram mantidas para análise posterior. Modelos de regressão logística múltipla foram testados pelo método *stepwise* até a obtenção de um modelo final. A relevância epidemiológica das variáveis também foi considerada.

O *software* STATA, versão 18 (StataCorp, College Station, EUA), foi utilizado para elaborar as curvas de densidade para analisar as concentrações de 25(OH)D de acordo com as variáveis que apresentaram significância estatística no modelo de regressão logística múltipla ajustado. Os demais dados foram analisados no *software* SPSS Statistics, versão 26.0 (IBM, Nova York, EUA), com nível de significância de 5%.

6.5.2 Artigo 2

Para avaliar a variação nos dados laboratoriais, antes e após a intervenção, foi utilizado o teste *t* pareado. Foram feitos dois modelos de regressão linear múltipla, um para cada desfecho (HbA1c e 25(OH)D). Estes modelos foram elaborados conforme plausibilidade biológica e teórica (SILVÉRIO *et al.*, 2019) e ajustados segundo idade, sexo e tempo de diagnóstico de DM1, sendo estimados os coeficientes β e seus respectivos IC de 95%. Os dados foram analisados no *software* SPSS Statistics, versão 26.0 (IBM, Nova York, EUA), com nível de significância de 5%. A avaliação do tamanho do efeito da intervenção foi feita a partir do cálculo do Delta Glass e seus IC de 95%, por meio do uso do *software* STATA, versão 18 (StataCorp, College Station, EUA). O

tamanho do efeito foi classificado da seguinte forma: 0,1 = muito pequeno; 0,2 = pequeno; 0,5 = médio; 0,8 = grande; 1,2 = muito grande; e 2,0 = enorme (SAWILOWSKY, 2009).

6.6 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IPPMG/UFRJ (parecer CAAE nº 3.570.197 – Anexo 3) e está de acordo com os princípios éticos contidos na resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012) e suas complementares. O estudo também consta no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (RBR-5x82zr – Anexo 4).

7. RESULTADOS

Os resultados desta tese estão apresentados no formato de dois artigos. O Artigo 1 foi submetido ao periódico *Nutrition* e está de acordo com o *checklist* proposto pela iniciativa *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology – STROBE* (MALTA *et al.*, 2010). O Artigo 2 será submetido ao periódico *European Journal of Clinical Nutrition* e está de acordo com o *checklist* proposto pela ferramenta *Consolidated Standards of Reporting Trials – CONSORT* (MOHER *et al.*, 2010).

Artigo 1 – Prevalence of and factors associated with vitamin D deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: baseline data from a clinical trial at a reference center in Rio de Janeiro, Brazil.

Artigo 2 – Efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1: dados de um ensaio clínico controlado.

7.1 Artigo 1

Prevalence of and factors associated with vitamin D deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: baseline data from a clinical trial at a reference center in Rio de Janeiro, Brazil.

Abstract

Objective: To describe the prevalence of and factors associated with vitamin D deficiency (VDD) in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus (T1DM). **Methods:** This is a cross-sectional study with baseline data from a controlled clinical trial. Participants were between 7 and 16 years old, diagnosed with T1DM for at least one year, and classified as having VDD when 25-hydroxy vitamin D (25(OH)D) was less than 30 ng/mL. The following data were collected: sociodemographic, clinical, laboratory, lifestyle, anthropometric, and Fok-I polymorphism (rs2228570). A multiple logistic regression model was developed. The significance level used was 5%. **Results:** 143 children and adolescents were enrolled: 51% female and a mean age of 11.5 ± 2.2 years old. The prevalence of VDD was 79% and the mean 25(OH)D of the participants with VDD was 19.2 ± 6.1 ng/mL. The factors associated with VDD were: low level of physical activity (OR 2.9; CI 1.1-7.6; $p = 0.031$); poor glycemic control (OR 5.0; CI 1.9-13.2; $p = 0.001$); and excess weight (OR 3.6; CI 1.1-11.1; $p = 0.029$). **Conclusion:** A high prevalence of VDD was observed and some lifestyle and clinical variables were found to be risk factors. Recommendations for children and adolescents with T1DM include monitoring their 25(OH)D and encouraging healthy eating practices and routine physical exercise.

Keywords: type 1 diabetes mellitus, vitamin D, children, adolescents, risk factors, lifestyle

1. Introduction

Diabetes mellitus (DM) consists of a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia, which may be the result of defects in insulin secretion and/or action. Type 1 diabetes mellitus (T1DM) is the most common form of diabetes in childhood and adolescence and is one of the most common chronic diseases in this age group^{1,2}. It is estimated that 1.52 million individuals up to 20 years of age have T1DM worldwide and that around 201.000 cases were diagnosed in 2022 in this age group. Brazil has the third highest prevalence of T1DM in children and adolescents in the world (112.240 cases) and is also the country with the third highest incidence of the disease (8,900/year)^{3,4}.

Studies have demonstrated a possible protective factor of some micronutrients in T1DM. Vitamin D is known to affect bone metabolism, but its immunomodulatory effect has also been studied. Vitamin D receptor (VDR) has been identified in almost all cells of the immune system and these cells express the enzyme responsible for vitamin D synthesis. In this context, vitamin D can induce immunological tolerance, exert anti-inflammatory effects, and act on both innate and adaptive immunity. These effects suggest that vitamin D may play an important role in autoimmune diseases, including T1DM, both reducing the risk of their development and as a potential therapeutic adjuvant^{5,6}.

Vitamin D deficiency (VDD) is considered a global health problem, affecting both adults and children. Its prevalence varies from 31% to 98%, depending on the country⁷. As for VDD in children with T1DM, a meta-analysis found that vitamin D is significantly lower in these patients compared to healthy controls⁸. Besides leading to growth retardation, rickets, and osteoporosis, VDD could also be associated with other diseases such as asthma, atopic dermatitis, inflammatory bowel disease, cardiovascular diseases, metabolic syndrome, non-alcoholic fatty liver disease, and some types of cancer⁹.

The risk factors commonly associated with VDD are: darker skin, sunscreen use, insufficient sun exposure, seasons with less sunlight, higher latitudes, wearing long clothing and head coverings, insufficient dietary consumption, obesity, and sedentary lifestyle⁹⁻¹¹. In addition, genetic factors must also be considered, given that several single nucleotide polymorphisms (SNP) of genes related to vitamin D have been associated with VDD^{9,12}. There are four SNPs commonly identified in the VDR gene, but the Fok-I polymorphism (rs2228570) is the only one capable of generating a protein with three fewer amino acids¹³.

In the literature, some studies evaluate the factors associated with VDD in healthy populations^{14,15}, but they are scarce in children and adolescents with T1DM. Therefore, considering the prevalence of T1DM and VDD, their great impact on childhood and adolescence, and the fact that vitamin D can play an important role in T1DM, the objective of this article was to describe the prevalence of VDD in children and adolescents with T1DM treated at a reference center in Rio de Janeiro, Brazil, and evaluate the sociodemographic, clinical, laboratory, lifestyle, and anthropometric factors associated with it in this population.

2. Methods

2.1 Study design and location

This is a cross-sectional study with baseline data from a controlled clinical trial. The research was carried out at the Diabetes Mellitus Outpatient Clinic of the Martagão Gesteira

Institute of Childcare and Pediatrics (IPPMG), linked to the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), from March 2021 to July 2023. IPPMG engages in research, teaching, extension, and healthcare and was founded to promote improved health and quality of life for children and adolescents and contribute to professional development. The diabetes outpatient clinic at IPPMG is a reference for the treatment of T1DM in children and adolescents in the state of Rio de Janeiro. It has a multidisciplinary team, with integrated consultations carried out by doctors, dietitians, psychologists, social workers, and nurses.

2.2 Population and eligibility criteria

The diagnosis of T1DM was based on the criteria established by the American Diabetes Association¹. All patients were treated with multiple daily doses of insulin and used carbohydrate counting. The eligibility criteria were: age between 7 and 16 years old; and at least one year since diagnosis of T1DM. The exclusion criteria were: have other autoimmune diseases, sickle cell anemia, kidney or liver diseases, genetic syndromes, intestinal malabsorption or hemoglobinopathies; use of corticosteroids or drugs that affect vitamin D metabolism; and vitamin D supplementation in the previous six months.

2.3 Definition of sample size

For the sample calculation, it was used a test power of 80%, a sampling error of 5%, and a prevalence of approximately 80% of VDD, among children and adolescents with T1DM¹⁶, obtaining a minimum of 136 participants. The ClimCal.com software was used to define the sample size.

2.4 Dependent variable

Blood samples were collected, and the serum was extracted and stored at -20°C until analysis. Serum concentrations of 25-hydroxy vitamin D (25(OH)D) were obtained by chemiluminescent immunoassay using the DiaSorin commercial kit and LIAISON® XL I0050 (DiaSorin S.p.A., Saluggia, Vercelli, Italy). VDD was defined as 25(OH)D below 30 ng/mL, as proposed for risk groups, including patients with T1DM¹⁷.

2.5 Independent variables

Data were collected using a questionnaire developed by the authors, which was administered by a trained team. Some variables were collected from medical records and others were answered by participants with the help of their legal guardians if necessary.

2.5.1 Socio-demographic data

The following socio-demographic data were collected: sex, age (child – 7 to 10 years old; adolescent – 11 to 16 years old), household size (up to 3 people; 4 or more people), household sanitation (adequate; inadequate), parents' schooling (< 12 years; ≥ 12 years), declared skin color (white; non-white), and season of 25(OH)D determination (Summer/Autumn – January to June; Spring/Winter – July to December).

2.5.2 Clinical and lifestyle data

Time since T1DM diagnosis (years) and age at T1DM diagnosis (years) were collected. Exposure to sunlight was considered adequate if the participant was exposed directly to sunlight on their arms and legs for at least 5 to 10 minutes between 10 am and 3 pm¹⁸. Physical activity was assessed by the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)¹⁹. Participants were divided into two categories: active (very active and active) and sedentary (irregularly active and sedentary)²⁰.

The Fok-I polymorphism (rs2228570) analysis was based on DNA (deoxyribonucleic acid) extracted from saliva samples²¹. Genotyping was performed by the allelic discrimination assay, using a StepOnePlus™ Real Time Polymerase Chain Reaction (PCR) system. Genotypes were defined using automated software (SDS 2.3, Applied Biosystems, Foster City, CA). Participants were classified according to the presence (AA) or absence (GG and AG) of the Fok-I polymorphism (rs2228570).

2.5.3 Laboratory data

The following analyses were carried out following the standard methodologies routinely used in the IPPMG laboratory: parathyroid hormone (PTH, in pg/mL); total calcium (in mg/dl); serum phosphorus (in mg/dl); and alkaline phosphatase (in IU/L). HbA1c was assessed by high-performance liquid chromatography (HPLC). HbA1c below 7.5% was the cutoff point for good glycemic control¹.

2.5.4 Anthropometric data

Weight was obtained using a digital scale with a 150 kg maximum capacity and 0.1 kg accuracy. Height was obtained using a stadiometer with 0.1 cm accuracy. Body mass index (BMI, in kg/m²) was calculated²². BMI/age was used to assess nutritional status²³. WHO AnthroPlus was used to calculate the z-score²⁴. The participants were classified as having excess weight if the z-score was greater than +1²⁵.

2.6 Statistical analysis

In the descriptive analysis, categorical variables were expressed as absolute frequency (n) and percentage (%). The normality of continuous variables was verified by the Kolmogorov-Smirnov test, with the sample defined as normal. Student's t-test was used to compare means and the chi-squared test was used to identify the association between the independent variables and VDD.

Simple logistic regression was used to estimate the crude odds ratio (OR), with respective 95% confidence interval (CI). Variables that presented statistical significance of up to 0.20 were kept for subsequent analysis. In the binary assessment, the following variables were tested: sex, age, time since T1DM diagnosis, parents' schooling, physical activity, exposure to sunlight, season of 25(OH)D determination, skin color, excess weight, glycemic control, total calcium, PTH, serum phosphorus, alkaline phosphatase, and the Fok-I polymorphism. Multiple logistic regression models were tested by the stepwise method until a final model was obtained. The epidemiological relevance of the variables was also considered when deciding whether to maintain them in the adjusted model. Data were analyzed using SPSS Statistics 26.0 (IBM, New York, USA), with a 5% significance level. Stata 18 (StataCorp, College Station, USA) was used to prepare the density curves to analyze the 25(OH)D concentrations according to the variables that presented statistical significance in the multiple logistic regression model.

2.7 Ethical considerations

The study was approved by the IPPMG/UFRJ Research Ethics Committee (#3.570.197) and complied with Brazilian legislation on ethics in research with human participants, specifically National Health Council resolution #466/12²⁷ and related legislation. The larger study is also included in the Brazilian Clinical Trials Registry (RBR-5x82zr). Whenever a patient met the eligibility criteria, the researchers approached the patients and their legal guardians to present the research. When they agreed to participate in the study, they read and signed the Informed assent form and the Informed consent form by the participant and legal guardian, respectively.

3. Results

Of the 377 children and adolescents with T1DM evaluated for eligibility, 143 were effectively included in the analyses (Figure 1). The mean age was 11.5 ± 2.2 years old; the mean time since T1DM diagnosis was 5.9 ± 4.6 years; and the age at diagnosis was 6.1 ± 2.9 years old. The majority were female (51%, n = 73), and 62.9% were classified as normal weight (n = 90), 26.6% as overweight (n = 38), 9.8% as obesity (n = 14), and 0.7% as severe obesity (n = 1). The

mean 25(OH)D was 22.8 ± 9.6 ng/mL and 79% (n = 113) of the participants were classified as having VDD.

The only variables for which there was a significant difference between the participants with and without VDD were 25(OH)D, HbA1C, physical activity, and nutritional status. Mean 25(OH)D was 19.2 ± 6.1 ng/mL (n = 113) in the participants with VDD and 36.2 ± 8.7 ng/mL (n = 30) in those without VDD (p < 0.001). Mean HbA1C was $8.2 \pm 1.2\%$ (n = 113) in the participants with VDD and $7.7 \pm 1.0\%$ (n = 30) in those without VDD (p = 0.046). HbA1C levels were adequate in 19.5% (n = 22) of the participants with VDD and 46.7% (n = 14) of those without VDD (p = 0.040) (Table 1).

Regarding physical activity, 55.8% (n = 63) of the participants with VDD were classified as sedentary, and 33.3% (n = 10) of those without VDD (p = 0.039). Regarding nutritional status, the mean BMI/age z-score was 0.7 ± 1.1 (n = 113) for the participants with VDD and 0.3 ± 0.9 (n = 30) for the participants without VDD (p = 0.040). There was a noticeable, but not statistically significant, difference between the groups in terms of BMI categories: 40.7% (n = 46) of the participants with VDD had excess weight, and 23.3% (n = 7) of those without VDD (p = 0.092) (Table 1).

According to the results of the simple logistic regression, the following variables were selected to be used in the adjusted model: physical activity, HbA1c, serum phosphorus, and BMI/age. In the final multiple logistic regression model, it was observed that children and adolescents with lower levels of physical activity (OR 2.9; CI 1.1-7.6; p = 0.031), poorer glycemic control (OR 5.0; CI 1.9-13, 2; p = 0.001), and excess weight (OR 3.6; CI 1.1-11.1; p = 0.029) were more likely to have VDD (Table 2). The distribution curve of 25(OH)D was skewed, with an elongated tail on the right side (Figure 2), reinforcing the results obtained by multiple logistic regression.

4. Discussion

An important finding of this study was the high prevalence of VDD in children and adolescents with T1DM. Variables related to lifestyle and clinical aspects (glycemic control, physical activity, and excess weight) were found to be risk factors for VDD.

Few studies were found on the prevalence of VDD in children and adolescents with T1DM, none of which were conducted in Brazil. In Morocco, Bouichrat *et al.*²⁷, studying 147 individuals aged up to 19 years old with T1DM, observed 25.9% of VDD (25(OH)D < 10 ng/mL) and 71.4% of vitamin D insufficiency (25(OH)D: 10-30 ng/mL). A study carried out in the United States with 88

children and adolescents aged 3 to 18 years old with T1DM found that 37.5% had VDD (25(OH)D < 20 ng/mL)²⁸.

A high prevalence of VDD can also be found in the general population. A study with 2171 children and adolescents aged 3 to 15 years old, carried out in eight European countries, identified 63% of VDD (25(OH)D < 20 ng/mL) and 33% of vitamin D insufficiency (25(OH)D: 20-30 ng/mL)¹⁴. In Brazil, an investigation of 1152 adolescents aged 12 to 17 years old in four Brazilian cities, including Rio de Janeiro, found that 21% had VDD (25(OH)D < 20 ng/mL) and 42% had vitamin D insufficiency (25(OH)D: 21-29 ng/mL)¹⁵.

The high prevalence of VDD in children and adolescents with T1DM may be explained by the effect that this vitamin can have on the immune system, pancreas, and insulin target organs. This could be because VDR is present in all these cells. The functions that vitamin D could exert, include: control of insulin synthesis and secretion; prevention of death of beta-pancreatic cells; increased insulin sensitivity in target organs; and protection of beta-pancreatic cells against immune attacks²⁹⁻³¹.

As for the criteria for assessing 25(OH)D status in children and adolescents, there is no consensus in the literature, so the use of different cutoff points may generate divergences in the reported prevalence of VDD. The most widely used recommendation for a healthy population is from the Endocrine Society, which classifies VDD as 25(OH)D below 20 ng/mL; vitamin D insufficiency as 21-29 ng/mL; and vitamin D sufficiency as above 30 ng/mL³². The Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism and the Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine recommend 25(OH)D above 20 ng/mL for healthy populations and 30-60 ng/mL for risk groups, including individuals with T1DM¹⁷. The criteria used in the present study was based on the latter cutoff point.

Much has been discussed regarding the factors associated with VDD. Of the different variables evaluated, the one that stands out is the association with low levels of physical activity. This finding corroborates with Wolters *et al.*¹⁴, who found that healthy European children and adolescents who played outdoors or were simply exposed to the sun for one more hour per day were 21% more likely not to have VDD. A sedentary lifestyle is generally considered to be a risk factor for VDD, as it is characterized by too much screen time and not enough time spent in outdoor activities⁹. In this respect, it is important to highlight that part of the data of the present study was collected during the COVID-19 pandemic, when lockdowns designed to curb the spread of the virus resulted in reduced levels of physical activity, as observed in a study with adolescents from different countries, including Brazil³³.

Excess weight was also associated with VDD in most of the research found in the literature. A study carried out in the United Arab Emirates with 148 children and adolescents aged 4 to 19 years old with T1DM observed that VDD was significantly higher in the participants with obesity³⁴. De Oliveira *et al.*¹⁵ found that Brazilian male adolescents with obesity were twice as likely to have VDD. However, this association was not observed in European children and adolescents¹⁴. Excess weight is one of the causes of VDD, as excess adipose tissue can sequester vitamin D, reducing its circulation¹¹.

Regarding glycemic control, there are contradictory reports in the literature as to whether it is associated with VDD in children and adolescents with T1DM. An inverse association between HbA1c and 25(OH)D was observed in Moroccan children and adolescents with T1DM²⁷. However, a study carried out in Turkey with 120 children and adolescents with T1DM (mean age 12.7 years) found no association between these parameters³⁵.

A key point of connection between VDD, excess weight, and poor glycemic control in children and adolescents with T1DM is the pro-inflammatory condition that is typical of the pathogenesis of T1DM. In immune and beta-pancreatic cells, 25(OH)D participates in the production and secretion of both anti-inflammatory and pro-inflammatory cytokines^{5,6,36}. Furthermore, the pro-inflammatory condition could be exacerbated by excess weight, since adipocytes are also secretors of pro-inflammatory cytokines. Excess weight is also associated with greater insulin resistance in target organs, which in turn could worsen glycemic control^{37,38}. Some studies found in the literature evaluated the effect of vitamin D supplementation on the glycemic control of children and adolescents with T1DM^{28,39,40}. However, a systematic review found no consistent evidence that vitamin D supplementation might be an adjuvant in the treatment of T1DM³⁶.

One of the differences of the present study was the analysis of Fok-I polymorphism (rs2228570), which was not found to be associated with VDD. This analysis investigated the potential interaction between gene and environment; however, there is still no consensus in the literature regarding the association of this polymorphism with VDD in children and adolescents with T1DM. For example, a study in Pakistan with 44 children with T1DM also failed to identify such an association⁴¹. However, research carried out in Egypt with 132 children with T1DM did find an association between the Fok-I polymorphism (rs2228570) and VDD⁴². Nonetheless, several SNPs in genes related to vitamin D have been associated with VDD⁹.

Other factors associated with VDD have been identified in the literature. In a study in the United Arab Emirates, 25(OH)D was significantly lower in adolescents than in children with T1DM, and VDD was more common among the female participants³⁴. A study with healthy

European children and adolescents found that ultraviolet radiation and vitamin D intake were important determining factors of VDD¹⁴. In research with healthy children and adolescents in Brazil, a positive association was found between VDD and female sex, latitude, season (Winter or Spring), and skin color (non-white), and that adequate vitamin D intake was a protective factor against VDD¹⁵.

As far as this study's strengths are concerned, it is the first to ever investigate the prevalence of VDD in Brazilian children and adolescents with T1DM and the factors associated with it. The factors evaluated were also quite diverse and this study was carried out in the largest reference center for children and adolescents with T1DM in the state of Rio de Janeiro, Brazil. Furthermore, the study was conducted with a larger sample size, than other studies. As for its limitations, these include the lack of information on the dietary intake of vitamin D and the fact that other polymorphisms in genes related to vitamin D were not evaluated.

5. Conclusion

Given the high prevalence of VDD in children and adolescents with T1DM, the monitoring of 25(OH)D in this risk group is recommended, as the development of studies that evaluate vitamin D supplementation as a potential adjuvant in its treatment. Furthermore, the results also highlight the need to encourage children and adolescents with T1DM to adopt healthier habits, including healthy eating practices and routine physical exercise, which could positively impact the quality of life and contribute to their adequate growth and development.

References

1. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes – 2024. *Diabetes Care*. 2024 Jan 1;47(Suppl 1):S1-S321.
2. Bertoluci MC, Forti AC, Almeida-Pititto B, Vancea D, Valente F, Silva Junior JC, et al. Brazilian Diabetes Society Guideline. *Connecting People*; 2023. doi: 10.29327/5238993.
3. International Diabetes Federation. *IDF Atlas Reports - Type 1 diabetes estimates in children and adults*. Belgium: International Diabetes Federation, 2022.
4. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas, 10th ed*. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2021.
5. Infante M, Ricordi C, Sanchez J, Clare-Salzler MJ, Padilla N, Fuenmayor V, et al. Influence of Vitamin D on Islet Autoimmunity and Beta-Cell Function in Type 1 Diabetes. *Nutrients*. 2019 Sep 11;11(9):2185. doi: 10.3390/nu11092185.
6. Rak K, Bronkowska M. Immunomodulatory Effect of Vitamin D and Its Potential Role in the Prevention and Treatment of Type 1 Diabetes Mellitus—A Narrative Review. *Molecules*. 2018 Dec 24;24(1):53. doi: 10.3390/molecules24010053.
7. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord*. 2017 Jun 17;18(2):153–65. doi: 10.1007/s11154-017-9424-1.
8. Liu C, Lu M, Xia X, Wang J, Wan Y, He L, et al. Correlation of serum vitamin D level with type 1 diabetes mellitus in children: a meta-analysis. *Nutr Hosp*. 2015 Oct 1;32(4):1591–4.
9. Antonucci R, Locci C, Clemente MG, Chicconi E, Antonucci L. Vitamin D deficiency in childhood: old lessons and current challenges. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2018 Mar 28;31(3):247–60. doi: 10.1515/jpem-2017-0391.
10. Wacker M, Holick MF. Sunlight and Vitamin D. *Dermatoendocrinol*. 2013 Jan 27;5(1):51–108. doi: 10.4161/derm.24494.
11. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr*. 2000 Sep;72(3):690–3. doi: 10.1093/ajcn/72.3.690.
12. Ahn J, Yu K, Stolzenberg-Solomon R, Simon KC, McCullough ML, Gallicchio L, et al. Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet*. 2010 Jul 1;19(13):2739–45. doi: 10.1093/hmg/ddq155.
13. Uitterlinden AG, Fang Y, van Meurs JBJ, Pols HAP, van Leeuwen JPTM. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*. 2004 Sep;338(2):143–56. doi: 10.1016/j.gene.2004.05.014.

14. Wolters M, Intemann T, Russo P, Moreno LA, Molnár D, Veidebaum T, et al. 25-Hydroxyvitamin D reference percentiles and the role of their determinants among European children and adolescents. *Eur J Clin Nutr.* 2022 Apr 23;76(4):564–73. doi: 10.1038/s41430-021-00985-4.
15. de Oliveira CL, Cureau FV, Cople-Rodrigues C dos S, Giannini DT, Bloch KV, Kuschnir MCC, et al. Prevalence and factors associated with hypovitaminosis D in adolescents from a sunny country: Findings from the ERICA survey. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2020 May;199:105609. doi: 10.1016/j.jsbmb.2020.105609.
16. Calmarza P, Ajami RIP, Lopez CP, Villabona CB, Ajami DTP, Botella MIM, et al. Vitamin D concentration in type 1 diabetic children. Association with glycemic control, lipidic and bone metabolism. *Nutr Hosp.* 2022 Oct 17;39(5):997-1003. doi: 10.20960/nh.04040.
17. Moreira CA, Ferreira CE dos S, Madeira M, Silva BCC, Maeda SS, Batista MC, et al. Reference values of 25-hydroxyvitamin D revisited: a position statement from the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM) and the Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine (SBPC). *Arch Endocrinol Metab.* 2020 Aug;64(4):462-478. doi: 10.20945/2359-3997000000258.
18. Holick MF. High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo Clin Proc.* 2006 Mar;81(3):353–73. doi: 10.4065/81.3.353.
19. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, et al. International Physical Activity Questionnaire: 12-Country Reliability and Validity. *Med Sci Sports Exerc.* 2003 Aug;35(8):1381–95. doi: 10.1249/01.MSS.0000078924.61453.FB.
20. São Paulo University. Ipaq physical activity level classification. Available in: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/3343547/mod_resource/content/1/IPAQ.pdf. Access in: dec. 2023.
21. Aidar M, Line SRP. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J.* 2007;18(2):148–52. doi: 10.1590/s0103-64402007000200012.
22. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. United States of America: Human Kinetics, 1988.
23. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Technical Report Series, n. 854. Switzerland: World Health Organization, 1995. Available in: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_854.pdf. Access in: apr. 2019.

24. World Health Organization. WHO AnthroPlus for personal computers. Manual: Software for assessing growth of the world's children and adolescents. Available in: <http://www.who.int/growthref/tools/en/>. Access in: apr. 2019.
25. de Onis M. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ.* 2007 Sep 1;85(09):660–7. doi: 10.2471/blt.07.043497.
26. Brazil. National Health Council. Resolution n° 466, December 12, 2012. Approves guidelines and regulatory standards for research involving human beings. *Official Diary of the Union: section 1*, June 13, 2013.
27. Bouichrat N, Benyakhef S, Assarrar I, Draoui N, Lazreg Y, Abda N, et al. Vitamin D Status in Diabetic Moroccan Children and Adolescents: a Case-control Study. *Review of Diabetic Studies.* 2023 Mar 31;19(1):1–7. doi: 10.1900/RDS.2023.19.1.
28. Nwosu BU, Maranda L. The Effects of Vitamin D Supplementation on Hepatic Dysfunction, Vitamin D Status, and Glycemic Control in Children and Adolescents with Vitamin D Deficiency and Either Type 1 or Type 2 Diabetes Mellitus. *PLoS One.* 2014 Jun 11;9(6):e99646. doi: 10.1371/journal.pone.0099646.
29. Giri D, Pintus D, Burnside G, Ghatak A, Mehta F, Paul P, et al. Treating vitamin D deficiency in children with type I diabetes could improve their glycaemic control. *BMC Res Notes.* 2017 Dec 7;10(1):465. doi: 10.1186/s13104-017-2794-3.
30. Mitri J, Pittas AG. Vitamin D and Diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2014 Mar;43(1):205–32. doi: 10.1016/j.ecl.2013.09.010.
31. Chakhtoura M, Azar ST. The Role of Vitamin D Deficiency in the Incidence, Progression, and Complications of Type 1 Diabetes Mellitus. *Int J Endocrinol.* 2013;2013:1–10. doi: 10.1155/2013/148673.
32. 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 Jul;96(7):1911–30. doi: 10.1210/jc.2011-0385.
33. Ruíz-Roso MB, de Carvalho Padilha P, Matilla-Escalante DC, Brun P, Ulloa N, Acevedo-Correa D, et al. Changes of Physical Activity and Ultra-Processed Food Consumption in Adolescents from Different Countries during Covid-19 Pandemic: An Observational Study. *Nutrients.* 2020 Jul 30;12(8):2289. doi: 10.3390/nu12082289.
34. Majeed M, Siddiqui M, Lessan N. Vitamin D deficiency increases with age and adiposity in Emirati children and adolescents irrespective of type 1 diabetes mellitus: a case control study. *BMC Endocr Disord.* 2023 Jul 14;23(1):150. doi: 10.1186/s12902-023-01405-3.

35. Mutlu A, Mutlu GY, Özsu E, Çizmecioğlu FM, Hatun S. Vitamin D deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2011;3(4):179-83.
36. Nascimento BF, Moreira CFF, da Fonseca ER, Fedeszen PMK, de Paula TP, de Sena ASS, et al. Effects of vitamin D supplementation on glycemic control of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: a systematic review. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2022 Aug 26;35(8):973–88. doi: 10.1515/jpem-2022-0044.
37. March CA, Becker DJ, Libman IM. Nutrition and Obesity in the Pathogenesis of Youth-Onset Type 1 Diabetes and Its Complications. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Mar 22;12. doi: 10.3389/fendo.2021.622901.
38. Hecht Baldauff N, Tfayli H, Dong W, Arena VC, Gurtunca N, Pietropaolo M, et al. Relationship of adiponectin and leptin with autoimmunity in children with new-onset type 1 diabetes: a pilot study. *Pediatr Diabetes*. 2016 Jun;17(4):249–56. doi: 10.1111/pedi.12267.
39. Panjiyar RP, Dayal D, Attri SV, Sachdeva N, Sharma R, Bhalla AK. Sustained serum 25-hydroxyvitamin D concentrations for one year with cholecalciferol supplementation improves glycaemic control and slows the decline of residual β cell function in children with type 1 diabetes. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab*. 2018;24(3):111–7. doi: 10.5114/pedm.2018.80992.
40. Sharma S, Biswal N, Bethou A, Rajappa M, Kumar S, Vinayagam V. Does Vitamin D Supplementation Improve Glycaemic Control In Children With Type 1 Diabetes Mellitus? – A Randomized Controlled Trial. *J Clin Diagn Res*. 2017 Sep;11(9):SC15-SC17. doi: 10.7860/JCDR/2017/27321.10645.
41. Nasreen M, Lone KP, Khaliq S, Khaliq S. Serum vitamin D levels and gene polymorphisms (Fok1 and Apa1) in children with type I diabetes and healthy controls. *J Pak Med Assoc*. 2016 Oct;66(10):1215-1220.
42. Hamed EO, Abdel-Aal AM, Din AKN, Atia MMA. Vitamin D level and Fok-I vitamin D receptor gene polymorphism in Egyptian patients with type-1 diabetes. *Egypt J Immunol*. 2013;20(2):1-10.

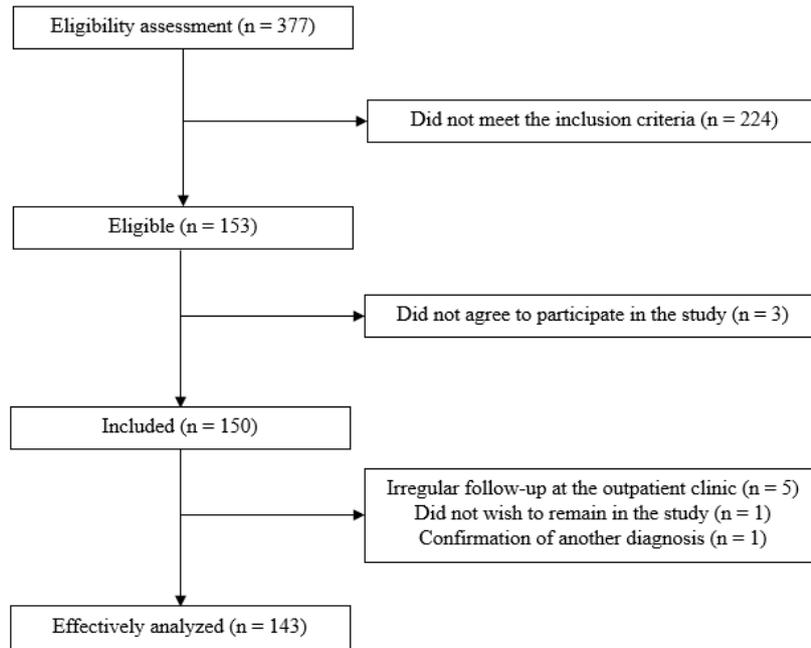


Figure 1 – Flowchart of the participants selected for the study.

Table 1 – Characteristics of children and adolescents with T1DM, with VDD (25(OH)D \leq 30 ng/mL) and without VDD (25(OH)D $>$ 30ng/mL) attended at a reference center in Rio de Janeiro, Brazil.

Variables	With VDD (n=113) Mean \pm standard deviation/%(n)	Without VDD (n=30) Mean \pm standard deviation/%(n)	p
<i>Socio-demographic data</i>			
Sex			
Female	52.2 (59)	46.7 (14)	0.682
Male	47.8 (54)	53.3 (16)	
Age group			
Child (7 to 10 years old)	11.4 \pm 2.1 27.4 (31)	11.8 \pm 2.5 30.0 (9)	0.383 0.821
Adolescent (11 to 16 years old)	72.6 (82)	70.0 (21)	
Household size			
Up to 3 people	3.9 \pm 1.4 38.1 (43)	3.6 \pm 0.7 36.7 (11)	0.400 1.000
4 or more people	61.9 (70)	63.3 (19)	
Household sanitation			
Adequate	94.7 (107)	93.3 (28)	0.674
Inadequate	5.3 (6)	6.7 (2)	
Parents' schooling			
< 12 years	31.9 (36)	23.3 (7)	0.502
\geq 12 years	68.1 (77)	76.7 (23)	
Skin color			
White	31.9 (36)	20.0 (6)	0.262
Non-white	68.1 (77)	80.0 (24)	
Season of 25(OH)D determination			
Summer/Autumn (January to June)	38.1 (43)	50.0 (15)	0.296
Spring/Winter (July to December)	61.9 (70)	50.0 (15)	
<i>Clinical and lifestyle data</i>			
Time since T1DM diagnosis (years)	5.9 \pm 4.9	5.8 \pm 3.6	0.890
Exposure to sunlight*			
Adequate	44.5 (49)	50.0 (15)	0.681
Inadequate	55.5 (61)	50.0 (15)	
Physical activity			
Active	44.2 (50)	66.7 (20)	0.039
Sedentary	55.8 (63)	33.3 (10)	
Fok-I polymorphism*			
Yes (AA)	7.7 (8)	10.0 (3)	0.256
No (GG and AG)	92.3 (96)	90.0 (27)	
<i>Laboratory data</i>			
25(OH)D (ng/mL)	19.2 \pm 6.1	36.2 \pm 8.6	<0.001
HbA1c			
Adequate (< 7.5%)	8.2 \pm 1.2 19.5 (22)	7.7 \pm 1.0 46.7 (14)	0.046 0.040
High (\geq 7.5%)	80.5 (91)	53.3 (16)	
PTH (pg/mL)*	23.5 \pm 14.9	23.5 \pm 13.2	0.992
Total calcium (mg/dl)*	9.8 \pm 0.4	9.6 \pm 1.1	0.211
Serum phosphorus (mg/dl)*	5.2 \pm 0.8	4.9 \pm 0.5	0.185
Alkaline phosphatase (IU/L)*	298.1 \pm 178.7	297.3 \pm 162.7	0.985
<i>Anthropometric data</i>			
Weight (kg)	44.2 \pm 13.4	44.6 \pm 13.1	0.877
Height (cm)	147.5 \pm 13.3	151.8 \pm 14.8	0.132
BMI (kg/m²)	19.9 \pm 3.5	18.9 \pm 3.4	0.196
BMI/age	0.7 \pm 1.1	0.3 \pm 0.9	0.040
Without excess weight (< z-score +1)	59.3 (67)	76.7 (23)	0.092
With excess weight (> z-score + 1)	40.7 (46)	23.3 (7)	

T1DM – type 1 diabetes mellitus; VDD – vitamin D deficiency; HbA1c – glycated hemoglobin; 25(OH)D – 25-hydroxy vitamin D; PTH – parathyroid hormone; BMI – Body mass index

*Missing data: exposure to sunlight (n = 3); PTH (n = 14); total calcium (n = 15); serum phosphorus (n = 8); alkaline phosphatase (n = 9); Fok-I polymorphism (n = 9).

Table 2 – Final multiple logistic regression model of variables associated with VDD ($25(\text{OH})\text{D} \leq 30 \text{ ng/mL}$) in children and adolescents with T1DM attended at a reference center in Rio de Janeiro, Brazil.

Variables	Crude model			Adjusted model*		
	OR	CI	p	OR	CI	p
Physical activity (n=143)						
Active	Ref					
Sedentary	2.5	1.1-5.9	0.032	2.9	1.1-7.6	0.031
HbA1c (n = 143)						
Adequate	Ref					
High	3.6	1.5-8.5	0.003	5.0	1.9-13.2	0.001
Serum phosphorus (n = 135)						
	0.7	0.4-1.2	0.185	0.6	0.3-1.2	0.156
BMI/age (n = 143)						
Without excess weight	Ref					
With excess weight	2.3	0.9-5.7	0.085	3.6	1.1-11.1	0.029

OR – odds ratio; CI – confidence interval; Ref – reference; T1DM – type 1 diabetes mellitus; $25(\text{OH})\text{D}$ – 25-hydroxy vitamin D; HbA1c – glycated hemoglobin; BMI – Body mass index.

*Model adjustment variables: parents' schooling (<12 years; ≥ 12 years) and age group (child – 7 to 10 years old; adolescent – 11 to 16 years old).

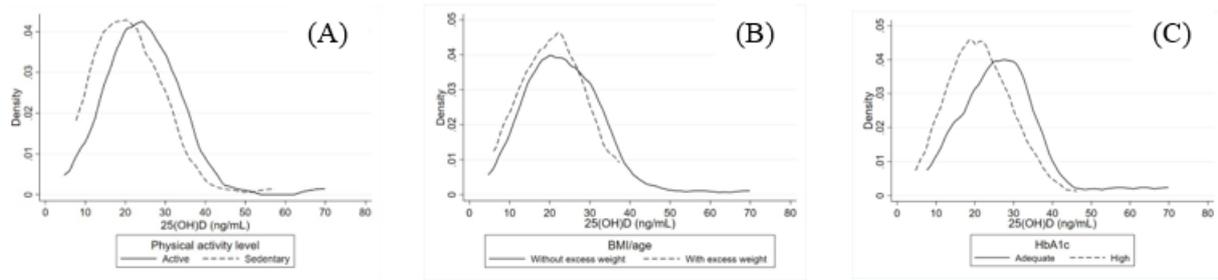


Figure 2 – Density curves of 25-hydroxy vitamin D (25(OH)D) among children and adolescents with type 1 diabetes mellitus attended at a reference center in Rio de Janeiro, Brazil, according to physical activity (A), Body mass index/age (BMI/age) (B), and glycated hemoglobin (HbA1c) (C).

7.2 Artigo 2

Efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1: dados de um ensaio clínico controlado

Resumo

Introdução: O diabetes mellitus tipo 1 (DM1) é a endocrinopatia mais prevalente em crianças e adolescentes e a deficiência de vitamina D (DVD) pode ser considerada um problema de saúde mundial, especialmente nesta população. O potencial adjuvante terapêutico da vitamina D no DM1 vem sendo estudado, todavia os resultados ainda são contraditórios. **Objetivo:** Avaliar o efeito da suplementação de vitamina D na correção da DVD e no controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1. **Métodos:** Trata-se de um ensaio clínico controlado com crianças e adolescentes de 7 a 16 anos e com diagnóstico de DM1 há pelo menos um ano. Os participantes com DVD (25-hidroxi vitamina D – 25(OH)D < 30 ng/mL) foram alocados no grupo intervenção, sendo prescrita suplementação oral com colecalciferol na dosagem de 2000 UI/dia, por 12 semanas. Foram coletados dados sócio-demográficos, clínicos, laboratoriais, de estilo de vida, antropométricos e o polimorfismo Fok-I (rs2228570). Foram elaborados modelos de regressão linear múltipla e o nível de significância adotado foi de 5%. A avaliação do efeito da intervenção foi feita por meio do Delta Glass. **Resultados:** Dos 133 participantes, 77,4% foram alocados no grupo intervenção (n = 103). A concentração sérica de 25(OH)D aumentou de $19,2 \pm 6,2$ para $30,9 \pm 10,1$ ng/mL após a suplementação. O efeito da intervenção sobre a 25(OH)D foi muito grande (Delta Glass = 1,2; IC 0,8/-1,4), porém foi muito pequeno sobre o controle glicêmico (Delta Glass = 0,1; IC -0,2/0,4). Após a suplementação, a concentração sérica de 25(OH)D apresentou associação inversa com a dose de insulina ($\beta = -4,6$; IC -8,1/-1,1; p = 0,010) e com o Índice de Massa Corporal ($\beta = -0,3$; IC -0,6/-0,01; p = 0,059). **Conclusão:** O esquema de suplementação prescrito mostrou-se eficaz para correção da DVD em crianças e adolescentes com DM1. Observou-se menor concentração sérica de 25(OH)D após a suplementação nos participantes com excesso de peso e naqueles tratados com maior dose de insulina.

Palavras-chave: diabetes mellitus tipo 1, vitamina D, crianças, adolescentes, suplementação nutricional, controle glicêmico.

1. Introdução

O Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) é a forma mais comum de diabetes em crianças e adolescentes e uma das doenças crônicas mais comuns nesta faixa etária (ADA, 2024; SBD, 2023). Estima-se que 1,52 milhões de indivíduos com até 20 anos de idade têm DM1 em todo o mundo (IDF, 2022). O tratamento do DM1 é baseado em alguns pilares, destacando-se a insulinização, o monitoramento da glicemia, o cuidado nutricional e a prática de atividade física. O cuidado nutricional é caracterizado por uma alimentação individualizada, equilibrada e de qualidade, que objetiva um bom controle glicêmico e, por conseguinte, a prevenção das complicações crônicas micro e macrovasculares (SBD, 2023).

No contexto do cuidado nutricional para pacientes com DM1, estudos têm demonstrado um possível fator protetor da vitamina D na redução do risco de desenvolvimento da doença e como um potencial adjuvante terapêutico (INFANTE *et al.*, 2019; RAK & BRONKOWSKA, 2018). Tal fato torna-se ainda mais relevante tendo em vista que a deficiência de vitamina D (DVD) é considerada um problema de saúde mundial, sendo que a prevalência pode variar de 31 a 98% (HOLICK, 2017). Especificamente em crianças com DM1, uma meta-análise identificou que a vitamina D é significativamente menor nestes pacientes, quando comparados com controles saudáveis (LIU *et al.*, 2015). Todavia, ainda existem controvérsias na literatura com relação aos pontos de corte para definição de DVD em crianças e adolescentes, bem como para os esquemas de suplementação propostos (NASCIMENTO *et al.*, 2022).

A vitamina D é capaz de exercer papel no DM1 por meio da interação gene-ambiente e estudos vem demonstrando que há potencial para intervenções imunomoduladoras. Isto se justifica pelo fato de que o receptor de vitamina D (*Vitamin D Receptor*, VDR) está presente nas células beta-pancreáticas, em órgãos-alvo de ação da insulina e nas células do sistema imune (INFANTE *et al.*, 2019; RAK & BRONKOWSKA, 2018). O gene do VDR pode apresentar quatro polimorfismos de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphism*, SNP), os quais podem alterar sua função. Especificamente o polimorfismo Fok-I (rs2228570), é o único capaz de gerar uma proteína com três aminoácidos a menos (UITTERLINDEN *et al.*, 2004).

Na literatura, existem poucos estudos que avaliaram o efeito da suplementação de vitamina D sobre o controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1 e os resultados ainda são contraditórios (PANJIYAR *et al.*, 2018; SHARMA *et al.*, 2017; NWOSU & MARANDA, 2014). Logo, são necessários mais ensaios clínicos de boa qualidade metodológica, para que conclusões mais assertivas possam ser obtidas (NASCIMENTO *et al.*, 2022). Sobre este assunto, a Sociedade Brasileira de Diabetes afirma que ainda não há recomendação para a suplementação de vitamina D com o objetivo de melhorar o controle glicêmico de indivíduos com DM1 (SBD, 2024). A

American Diabetes Association também afirma que não existem evidências científicas suficientes até o momento para prescrição de vitaminas em pessoas com diabetes que não apresentem deficiências nutricionais subjacentes (ADA, 2024).

Portanto, considerando que a vitamina D pode apresentar potencial adjuvante terapêutico no DM1 e que os resultados encontrados na literatura a respeito do controle glicêmico ainda são contraditórios, o objetivo deste artigo foi avaliar o efeito da suplementação de vitamina D na correção da DVD e no controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1 atendidos em um centro de referência no Rio de Janeiro, Brasil. Também objetivou-se identificar a associação dos fatores sociodemográficos, clínicos, de estilo de vida, bioquímicos, antropométricos e do polimorfismo Fok-I (rs2228570) com a concentração sérica de vitamina D após a suplementação.

2. Métodos

2.1 Desenho e local do estudo

Trata-se de um ensaio clínico controlado. A pesquisa foi realizada no Ambulatório de Diabetes Mellitus do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG), da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), no período de março de 2021 a outubro de 2023. O IPPMG caracteriza-se por ser uma instituição de pesquisa, ensino, extensão e assistência, criada com o objetivo de promover a saúde e a qualidade de vida de crianças e adolescentes, além de também contribuir para a qualificação profissional. O Ambulatório de Diabetes Mellitus do IPPMG é referência para o tratamento de DM1 em crianças e adolescentes no Estado do Rio de Janeiro. A equipe é caracterizada pela multiprofissionalidade, sendo as consultas integradas realizadas por médicos, nutricionistas, psicólogos, assistentes sociais e enfermeiros.

2.2 População e critérios de elegibilidade

O diagnóstico de DM1 foi feito com bases nos critérios estabelecidos pela *American Diabetes Association* (ADA, 2024). Os critérios de elegibilidade foram: ter idade entre 7 e 16 anos e ter diagnóstico de DM1 há pelo menos 1 ano. Já os critérios de exclusão foram: apresentar outras doenças autoimunes, anemia falciforme, doença renal ou hepática, síndromes genéticas, má absorção intestinal ou hemoglobinopatias; utilizar corticóides ou drogas que afetassem o metabolismo de vitamina D; e ter feito uso de suplementação de vitamina D nos últimos seis meses.

2.3 Definição do tamanho amostral

Para o cálculo amostral, utilizou-se o *software* ClimCal.com, considerando poder de 80%, erro alfa de 0,05, mono-caudal, e melhora de aproximadamente 12% na glicemia de jejum após a

suplementação de vitamina D (PANJIYAR *et al.*, 2018), sendo obtido o número mínimo de 44 participantes. Assumiu-se um percentual de perda de 20%, totalizando um tamanho amostral final de 53 participantes, sendo 27 em cada grupo de estudo.

2.4 Coleta de dados

A equipe responsável pela coleta de dados foi previamente treinada e um questionário foi desenvolvido pelos pesquisadores. Algumas variáveis foram coletadas a partir dos prontuários e outras foram respondidas pelos participantes e pelos seus responsáveis legais, quando necessário. Este estudo foi dividido em três etapas: a primeira correspondeu a captação dos participantes; a segunda foi referente a alocação nos grupos intervenção ou controle; e a terceira ocorreu 12 semanas após a segunda (Figura 1).

2.5 Intervenção

Os participantes foram classificados com DVD quando 25-hidroxi vitamina D (25(OH)D) era inferior a 30 ng/mL, assim como proposto por Moreira *et al.* (2020) para grupos de risco, incluindo pacientes com DM1. Estes participantes foram alocados no grupo intervenção e a suplementação oral com colecalciferol foi prescrita na dosagem de 2000 UI/dia, por 12 semanas (HOLICK *et al.*, 2011). Todo o tratamento com suplemento comercial sob a forma de comprimidos foi fornecido pelos pesquisadores. Os demais participantes foram alocados no grupo controle. Foi feita a comunicação dos resultados dos exames aos participantes, bem como todos foram orientados com relação aos alimentos fonte de vitamina D e à importância da exposição solar (Figura 1).

2.6 Desfechos

O controle glicêmico foi avaliado segundo o valor de hemoglobina glicada (HbA1c) por meio do método de cromatografia líquida de alta eficiência. Foi utilizado o teste Endpoint, Sistema VITROS 5600, 4600, 5,1, FS, sendo considerado bom controle glicêmico quando o valor da HbA1c era inferior a 7,5% (ADA, 2024). As concentrações séricas de 25(OH)D foram obtidas por imunensaio quimioluminescente pelo kit comercial DiaSorin e por meio do uso do aparelho LIAISON® XL I0050 (DiaSorin S.p.A., Saluggia, Vercelli, Itália).

2.7 Covariáveis

2.7.1 Dados sociodemográficos

Foram coletados os seguintes dados sociodemográficos: sexo, idade (7 a 16 anos), número de pessoas na família, condições de saneamento da moradia (adequada; inadequada), nível de

escolaridade dos pais (< 12 anos; ≥ 12 anos), cor da pele por auto-declaração (branco; não branco) e estação do ano correspondente à concentração sérica basal de 25(OH)D (verão + outono – janeiro a junho; primavera + inverno – julho a dezembro).

2.7.2 Dados clínicos e de estilo de vida

Dentre as variáveis clínicas, foram coletados: tempo e idade de diagnóstico de DM1 (em anos) e dose de insulina (UI)/kg peso ideal. A análise do polimorfismo Fok-I (rs2228570) foi feita a partir da coleta de saliva, com posterior extração do DNA (ácido desoxirribonucléico) (AIDAR & LINE, 2007). A genotipagem foi realizada a partir do ensaio de discriminação alélica, utilizando o sistema de *Real Time Polymerase Chain Reaction* (PCR em tempo real) StepOne Plus©. Os genótipos foram lidos por intermédio de software automatizado (SDS 2.3, Applied Biosystems, Foster City, CA). Os participantes foram classificados de acordo com a presença (AA) ou ausência (GG e AG) do polimorfismo Fok-I (rs2228570) e de acordo com a presença ou ausência do alelo mutado A (AA, AG e GG).

O nível de exposição à luz solar foi considerado adequado quando o participante foi exposto diretamente à luz solar por pelo menos 5 a 10 minutos, nos braços e nas pernas, entre as 10 horas da manhã e as 3 horas da tarde (HOLICK, 2006). O nível de atividade física foi avaliado por meio do *International Physical Activity Questionnaire – IPAQ* (CRAIG *et al.*, 2003). Os participantes foram agrupados em duas categorias: ativos (muito ativos e ativos) e sedentários (irregularmente ativos e sedentários) (USP, 2023).

2.7.3 Outras dosagens bioquímicas

As seguintes análises laboratoriais foram feitas a partir de metodologias utilizadas rotineiramente no IPPMG/UFRJ: paratormônio (PTH, em pg/mL); cálcio total (em mg/dl); fósforo sérico (em mg/dl); e fosfatase alcalina (em UI/L).

2.7.4 Dados antropométricos

O peso foi aferido utilizando uma balança digital com capacidade de 150kg e precisão de 0,1kg. A estatura foi aferida utilizando um estadiômetro com precisão de 0,1cm. Foi calculado o Índice de Massa Corporal (IMC, em kg/m²) (LOHMAN, ROCHE & MARTORELL, 1988). Foi utilizado o *software* WHO AnthroPlus (versão 1.0.4) para o cálculo do escore-z, tendo como referência o padrão de crescimento proposto pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2009; ONIS *et al.*, 2007). O IMC/idade foi classificado da seguinte forma: magreza, abaixo de -2 escore-z; eutrofia, entre -2 e +1 escore-z; sobrepeso, entre +1 e +2 escore-z; obesidade, entre +2 e +3

escore-z; e obesidade grave, acima de +3 escore-z. A estatura/idade foi classificada da seguinte forma: estatura adequada para idade, entre -2 e +3 escore-z; baixa estatura para idade, entre -2 e -3 escore-z; e muito baixa estatura para idade, abaixo de -3 escore-z (WHO, 1995).

2.7.5 Adesão à suplementação

A adesão à suplementação foi avaliada no primeiro e no segundo mês por meio de contato telefônico e, ao final do estudo, foi realizada a contagem dos comprimidos restantes. Foi também fornecido um cartão de controle da suplementação para que os participantes preenchessem ao longo das 12 semanas. Com bases nestas informações, os participantes foram classificados em boa ou má adesão.

2.8 Análise estatística

Foi feita a análise de distribuição dos dados por meio do teste de Kolmogorov Smirnov, sendo a amostra definida como normal. As variáveis categóricas foram descritas por meio de frequências relativas e absolutas e as contínuas por meio de média e desvio padrão (DP). Para a comparação das variáveis quantitativas, foi utilizado o teste *t* de Student. Para comparação das proporções, foram utilizados o teste qui-quadrado e o teste exato de Fisher.

Para avaliar a variação nos dados laboratoriais, antes e após a intervenção, foi utilizado o teste *t* pareado. Foram feitos dois modelos de regressão linear múltipla, um para cada desfecho (HbA1c e 25(OH)D). Estes modelos foram elaborados conforme plausibilidade biológica e teórica (SILVÉRIO *et al.*, 2019) e ajustados segundo idade, sexo e tempo de diagnóstico de DM1, sendo estimados os coeficientes β e seus respectivos IC de 95%. Os dados foram analisados no *software* SPSS Statistics, versão 26.0 (IBM, Nova York, EUA), com nível de significância de 5%. A avaliação do tamanho do efeito da intervenção foi feita a partir do cálculo do Delta Glass e seus IC de 95%, por meio do uso do *software* STATA, versão 18 (StataCorp, College Station, EUA). O tamanho do efeito foi classificado da seguinte forma: 0,1 = muito pequeno; 0,2 = pequeno; 0,5 = médio; 0,8 = grande; 1,2 = muito grande; e 2,0 = enorme (SAWILOWSKY, 2009).

2.9 Questões éticas

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IPPMG/UFRJ (parecer CAAE nº 3.570.197) e está de acordo com os princípios éticos contidos na resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012) e suas complementares. O estudo também consta no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (RBR-5x82zr). Uma vez elegível, os pesquisadores abordavam o participante e o seu responsável legal apresentando a pesquisa. Após a concordância em participar,

eram assinados o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o Termo de Assentimento pelo responsável legal e pelo participante, respectivamente.

3. Resultados

Dentre as 377 crianças e adolescentes com DM1 elegíveis para o estudo, 143 foram incluídas, sendo que 79,0% (n = 113) apresentou DVD (25(OH)D < 30 ng/mL) e foi alocado no grupo intervenção. Ao longo das 12 semanas de suplementação, foram identificadas 10 perdas de seguimento neste grupo (n = 103). Não foram verificadas perdas de seguimento no grupo controle (n = 30) (Figura 2). Não foram relatados efeitos adversos decorrentes da suplementação.

De forma geral, a idade foi de $11,4 \pm 2,2$ anos e 51,1% dos participantes era do sexo feminino. O tempo de diagnóstico e a idade ao diagnóstico de DM1 foram, respectivamente, de $5,9 \pm 4,8$ e $6,0 \pm 3,0$ anos (Tabela 1). A concentração sérica de 25(OH)D e de HbA1c no *baseline* foi de $23,0 \pm 9,9$ ng/mL e de $8,1 \pm 1,1\%$, respectivamente (n = 133). Observou-se que 62,4% da amostra apresentava eutrofia (n = 83); 27,8%, sobrepeso (n = 37); 9,0%, obesidade (n = 12); e 0,8%, obesidade grave (n = 1). Somente um participante apresentou baixa estatura/idade (0,8%). Todos os participantes eram tratados por meio do método de contagem de carboidratos.

Com relação aos parâmetros sociodemográficos, clínicos, de estilo de vida e antropométricos e ao polimorfismo Fok-I (rs2228570), não foram observadas diferenças entre os grupos. Verificou-se que os participantes sedentários (p = 0,061) e com excesso de peso (p = 0,087) têm uma tendência para apresentar DVD (Tabela 1). Para o grupo controle no *baseline*, a concentração sérica de 25(OH)D e de HbA1c foi de $36,2 \pm 8,6$ ng/mL e de $7,7 \pm 1,0\%$, respectivamente (n = 30), enquanto no grupo intervenção estes valores foram de $19,2 \pm 6,2$ ng/mL e de $8,1 \pm 1,1\%$, respectivamente (n = 103) (Tabela 2). Verificou-se também que a HbA1c foi considerada adequada em 46,7% (n = 14) dos participantes do grupo controle, enquanto no grupo intervenção este valor foi de 20,4% (n = 21) (p = 0,008).

A Tabela 2 e a Figura 3 apresentam a comparação dos dados laboratoriais para os grupos controle e intervenção, após 12 semanas. Houve aumento significativo da concentração sérica de 25(OH)D no grupo intervenção (p < 0,001), que alcançou valor de $30,9 \pm 10,1$ ng/mL (n = 103). Houve correção da DVD em 49,5% dos participantes (n = 51), enquanto 50,5% permaneceu deficiente (n = 52). Com relação à adesão à suplementação, 84,5% dos participantes apresentaram boa adesão (n = 87); 6,8%, má adesão (n = 7); e para 8,7%, não foi possível a avaliação deste parâmetro (n = 9). Houve também aumento significativo para fosfatase alcalina (p = 0,010) no grupo intervenção. Não foi observada diferença para HbA1C. No grupo controle, verificou-se redução significativa da concentração sérica de 25(OH)D, atingindo valor de $30,5 \pm 7,0$ ng/mL (n =

30; $p = 0,004$). Neste grupo, metade dos participantes apresentou aumento da 25(OH)D ($n = 15$), enquanto metade apresentou redução ($n = 15$). Na Tabela 3, é possível observar que o tamanho do efeito na concentração sérica de 25(OH)D foi grande no grupo controle e muito grande no grupo intervenção. Para as demais variáveis laboratoriais, o efeito foi considerado médio, pequeno ou muito pequeno.

O modelo de regressão linear múltipla ajustado demonstrou que maior dose de insulina ($\beta = -4,6$; IC $-8,1/-1,1$; $p = 0,010$) e que IMC elevado ($\beta = -0,3$; IC $-0,6/-0,01$; $p = 0,059$) estavam associados à menor concentração sérica de 25(OH)D após 12 semanas de suplementação. Não foi verificada associação com a HbA1C e com polimorfismo Fok-I (rs2228570) (Tabela 4). Com relação à HbA1C após as 12 semanas, o modelo de regressão linear múltipla ajustado demonstrou associação inversa com baixo nível de atividade física ($\beta = 0,2$; IC $0,1/0,7$; $p = 0,004$) (Tabela 5).

4. Discussão

Um dos principais resultados encontrados neste estudo foi que a suplementação com colecalciferol na dosagem de 2000 UI/dia, por 12 semanas, foi eficaz para correção da DVD em crianças e adolescentes com DM1. Não foi observado efeito sobre o controle glicêmico, todavia a concentração sérica de 25(OH)D após a suplementação apresentou associação inversa com a dose de insulina e com o IMC.

São escassos os estudos sobre a suplementação de vitamina D em crianças e adolescentes com DM1, sendo que não foram encontrados trabalhos desenvolvidos no Brasil. Um estudo realizado na Índia com 72 crianças com DM1 de 6 a 12 anos de idade identificou diferença significativa entre o grupo intervenção e o controle para 25(OH)D, após a suplementação oral de colecalciferol na dosagem de 3000 UI/dia, por um ano (PANJIYAR *et al.*, 2018). Outro estudo também feito na Índia com 52 crianças e adolescentes com DM1 entre 1 e 18 anos de idade observou aumento significativo da 25(OH)D no grupo intervenção, após suplementação com colecalciferol oral por 6 meses (1-3 anos: 60.000 UI/mês; 4-8 anos: 90.000 UI/ mês; e 9-18 anos: 120.000 UI/mês) (SHARMA *et al.*, 2017).

Na literatura, também podem ser encontrados estudos a respeito do efeito da suplementação de vitamina D na população em geral. Um ensaio clínico randomizado desenvolvido na Mongólia com 8851 crianças e adolescentes de 6 a 13 anos de idade identificou que a suplementação oral de colecalciferol na dosagem de 14000 UI/semana por 3 anos foi eficaz para corrigir a DVD (GANMAA *et al.*, 2023). Outro estudo randomizado desenvolvido no México com 222 crianças de 12 a 30 meses de idade testou o efeito de diferentes esquemas de suplementação oral: ergocalciferol nas dosagens de 400 e 800 UI/dia; e colecalciferol na dosagem 1000 UI/dia. Os suplementos foram

fornecidos para cinco dias por semana, durante três meses. Os autores observaram que houve redução da prevalência de DVD e que o colecalciferol na dosagem de 1000 UI/dia foi o esquema mais eficaz (FLORES-ALDANA *et al.*, 2023).

Na literatura, não há um consenso com relação aos esquemas de tratamento para DVD em crianças e adolescentes. O presente estudo baseou-se na recomendação da *Endocrine Society*, a qual sugere que indivíduos com idade de até 18 anos sejam suplementados com doses de 2.000 UI/dia ou 50.000 UI/semana, por no mínimo 6 semanas (HOLICK *et al.*, 2011). Já o *Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets* propõe a suplementação por 12 semanas com doses de 2.000 UI/dia para menores de 1 ano; de 3.000 a 6.000 UI/dia, entre 1 e 12 anos; e de 6.000 UI/dia para maiores de 12 anos (MUNNS *et al.*, 2016). Uma meta-análise avaliou diferentes esquemas de suplementação oral de vitamina D em crianças com até cinco anos de idade e identificou que houve pouco ou nenhum efeito sobre o crescimento linear. Os autores justificaram seus resultados com base no pequeno tamanho amostral, na heterogeneidade das amostras e dos esquemas de suplementação propostos, considerando dosagem, tempo e forma farmacêutica, e no risco de viés dos estudos avaliados (HUEY *et al.*, 2020).

O efeito da suplementação de vitamina D no controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1 foi considerado muito pequeno. Após a suplementação, foi observada associação inversa da concentração sérica de 25(OH)D com a dose de insulina. De acordo com estudo desenvolvido por Fortins *et al.* (2019) com crianças e adolescentes brasileiros com DM1, a dose de insulina pode ser considerada um fator preditor do controle glicêmico.

Os estudos encontrados na literatura a respeito do tema apresentam resultados contraditórios. Um trabalho desenvolvido nos Estados Unidos, com 88 crianças e adolescentes com DM1 de 3 a 18 anos de idade, verificou que não houve redução significativa da HbA1c após a suplementação com colecalciferol oral por 12 a 16 semanas, quando a dosagem era de até 4000 UI/dia, ou por 8 semanas, quando a dosagem era de 7000 UI/dia (NWOSU & MARANDA, 2014). Sharma *et al.* (2017) também não observaram diferença significativa para a HbA1c e para o requerimento de insulina após a suplementação de vitamina D. Por outro lado, Panjiyar *et al.* (2018) identificaram redução significativa da glicemia de jejum, da glicemia média, da HbA1c e da insulina média total diária no grupo intervenção.

Sabe-se também que inúmeros fatores são capazes de determinar um bom controle glicêmico, como, por exemplo: tratamento insulínico intensivo; monitoramento frequente da glicemia; terapia nutricional adequada; prática regular de atividade física; atividades educativas a respeito do DM1; atenção psicossocial; e participação conjunta da família e do paciente nas tarefas relacionadas ao controle da doença (ADA, 2024).

Neste contexto, é importante ressaltar a excelente qualidade da assistência multiprofissional prestada às crianças e aos adolescentes com DM1 na instituição onde este estudo foi desenvolvido e isto se reflete nos valores de HbA1c que estes pacientes apresentam, os quais são bem inferiores aos dados obtidos em um estudo multicêntrico nacional (GOMES *et al.*, 2012). Um dos pilares do tratamento destes pacientes é o método de contagem de carboidratos, o qual é utilizado por todos os participantes deste estudo e já demonstrou estar inversamente associado a HbA1c em crianças e adolescentes com DM1 (FILHO *et al.*, 2023; FORTINS *et al.*, 2019). Este método é uma ferramenta de planejamento dietético para pacientes com DM1 que permite maior autonomia e flexibilidade nas escolhas alimentares. Na contagem de carboidratos, a dose de insulina é calculada com base na quantidade de carboidrato consumido em cada refeição e na razão insulina/carboidrato (WIYONO *et al.*, 2023; SBD, 2023).

Outro achado importante deste estudo foi a associação inversa entre o nível de atividade física e o controle glicêmico. Na literatura, podem ser encontrados estudos com resultados semelhantes. Um trabalho desenvolvido com 45 adolescentes com DM1 identificou que os participantes que praticavam mais atividade física de intensidade moderada a vigorosa apresentavam melhor controle glicêmico (LIMA *et al.*, 2017). Já um estudo desenvolvido com 50 crianças e adolescentes brasileiros com DM1 demonstrou que os participantes mais ativos eram aqueles que apresentavam melhor controle glicêmico (MICULIS, CAMPOS & BOGUSZWESKI, 2015). Sabe-se que a prática regular de atividade física é recomendada para o manejo do DM1, tendo em vista que é capaz de melhorar a sensibilidade à insulina, reduzindo a necessidade de insulina exógena (ABSIL *et al.*, 2019).

Outro aspecto que necessita ser discutido é o ponto de corte utilizado para alocar os participantes nos grupos intervenção ou controle. Após as 12 semanas de suplementação, quase metade dos participantes do grupo intervenção deixou de apresentar DVD e a maioria das crianças e adolescentes deste grupo conseguiu atingir valores de 25(OH)D acima de 20 ng/mL. No grupo controle, apesar de haver redução significativa da 25(OH)D e de que metade dos participantes apresentou diminuição deste parâmetro, tal resultado pode ser considerado sem efeito clínico, tendo em vista que a 25(OH)D média permaneceu acima de 30 ng/mL e somente um participante apresentou valor inferior a 20 ng/mL. Outros estudos encontrados na literatura também avaliaram a 25(OH)D sob a ótica do ponto de corte. Panjiyar *et al.* (2018) verificaram que a média da concentração sérica de 25(OH)D permaneceu superior a 30 ng/mL no grupo intervenção durante todo o período de suplementação. Sharma *et al.* (2017) observaram que a média da concentração sérica de 25(OH)D ficou acima de 20 ng/mL após a suplementação.

Não existe um consenso na literatura com relação ao ponto de corte de 25(OH)D em crianças e adolescentes. No presente estudo, foi utilizada a recomendação da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia e da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, a qual afirma que é desejável que a 25(OH)D esteja acima de 20 ng/mL para população saudável e entre 30 e 60 ng/mL para grupos de risco, incluindo indivíduos com DM1 (MOREIRA *et al.*, 2020). A recomendação mais utilizada internacionalmente para população saudável é a da *Endocrine Society*, a qual afirma que há DVD quando os valores de 25(OH)D estão abaixo de 20 ng/mL; insuficiência, entre 21 a 29 ng/mL; e suficiência, quando os valores estão acima de 30 ng/mL (HOLICK *et al.*, 2011).

Outro achado encontrado neste estudo foi a associação inversa entre a 25(OH)D após a suplementação com o IMC. O IMC elevado também esteve associado à baixa concentração sérica de 25(OH)D em outros estudos encontrados na literatura. Um trabalho realizado nos Emirados Árabes com 148 crianças e adolescentes com DM1 de 4 a 19 anos de idade observou que a 25(OH)D foi significativamente menor nos participantes com obesidade (MAJEED, SIDDIQUI & LESSAN, 2023). Um estudo realizado em Bangladesh com 60 crianças e adolescentes com DM1 e média de idade de 13 anos verificou que o IMC era significativamente maior nos participantes com DVD (ZABEEN *et al.*, 2021).

A associação da DVD com excesso de peso é caracterizada por um efeito negativo mútuo. Por um lado, a obesidade promove o acúmulo de formas inativas de vitamina D e consequente redução da sua biodisponibilidade, tendo em vista que o tecido adiposo em excesso é capaz de sequestrar a vitamina D. Por outro lado, a DVD é capaz de reduzir a secreção de insulina e a sensibilidade à mesma nos órgãos alvo, podendo estar associada à piora do controle glicêmico e à síndrome metabólica (FIAMENGHI & MELLO, 2021). Uma meta-análise, que incluiu estudos com crianças e adolescentes, identificou que a DVD foi mais frequente em indivíduos obesos e que esta associação existia independente da idade, da latitude e dos pontos de corte para definição de DVD (PEREIRA-SANTOS *et al.*, 2015).

Também foi observado um aumento significativo da fosfatase alcalina no grupo intervenção após a suplementação de vitamina D. Em um estudo realizado na Índia, não foi observada diferença significativa para fosfatase alcalina após a suplementação de vitamina D em crianças com DM1 (PANJIYAR *et al.*, 2018). Hipoteticamente, espera-se que ocorra redução da fosfatase alcalina quando ocorre aumento da 25(OH)D, todavia esta enzima também está associada ao desenvolvimento fisiológico e a doenças ósseas e hepatobiliares. Sabe-se que crescimento, mudanças no metabolismo ósseo ou no sistema hepatobiliar resultam em variabilidade na atividade

da fosfatase alcalina, principalmente, na primeira infância e na puberdade (ZIERK *et al.*, 2017; SBP, 2016).

Um dos diferenciais do presente estudo foi a análise do polimorfismo Fok-I (rs2228570), todavia não foi observada diferença significativa entre os grupos com relação a presença deste polimorfismo e do alelo mutado A. Ainda não há um consenso na literatura a respeito da associação deste polimorfismo com a DVD. Um estudo com 44 crianças com DM1 no Paquistão não identificou esta associação (NASREEN *et al.*, 2016). Por outro lado, um estudo realizado no Egito com 132 crianças com DM1 identificou que o polimorfismo Fok-I (rs2228570) estava associado a DVD (HAMED *et al.*, 2013). Sabe-se que vários SNPs de genes relacionados ao metabolismo de vitamina D têm sido associados à deficiência da mesma (ANTONUCCI *et al.*, 2018).

Também não foi verificada associação do polimorfismo Fok-I (rs2228570) com a 25(OH)D após a suplementação. Não foram encontrados estudos que associassem a suplementação de vitamina D com este polimorfismo em crianças e adolescentes com DM1. Um ensaio clínico randomizado controlado com 140 adultos com diabetes mellitus tipo 2 no Irã orientou os participantes a consumir duas garrafas de 250 mL de uma bebida a base de iogurte/dia, fortificada com 500 UI de vitamina D por garrafa, por 12 semanas. Ao observar o efeito sobre a 25(OH)D, os autores identificaram que os diferentes genótipos do polimorfismo Fok-I (rs2228570) modulavam a resposta à suplementação de vitamina D (NEYESTANI *et al.*, 2013). Um ensaio clínico randomizado desenvolvido no Brasil com 56 adolescentes grávidas, que foram suplementadas com 600 mg de carbonato de cálcio + 200 UI de colecalciferol por dia, identificou que a suplementação foi capaz de interagir com dois polimorfismos da região promotora do gene do VDR, minimizando a perda óssea no pós-parto (NORMANDO *et al.*, 2016).

Considerando os pontos fortes deste estudo, destaca-se o ineditismo de um ensaio clínico controlado de boa qualidade metodológica a respeito da suplementação de vitamina D em crianças e adolescentes brasileiros com DM1. Além disto, este estudo foi desenvolvido no maior centro de referência para crianças e adolescentes com DM1 no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, e com um tamanho amostral expressivo, quando em comparação com outros estudos. Dentre as limitações, destaca-se a ausência de informação sobre o consumo alimentar de vitamina D, de avaliação de outros polimorfismos relacionados ao metabolismo de vitamina D e de outros esquemas de suplementação.

5. Conclusão

A suplementação de colecalciferol oral na dosagem de 2000 UI/dia, por 12 semanas, mostrou-se eficaz para correção da DVD em crianças e adolescentes com DM1 e, portanto, pode ser

recomendada para este fim. Apesar do possível potencial adjuvante terapêutico da vitamina D no DM1, este estudo identificou efeito muito pequeno da intervenção no controle glicêmico. Após a suplementação, foi observada associação inversa da concentração sérica de 25(OH)D com a dose de insulina, a qual pode ser considerada um fator preditor do controle glicêmico. Neste contexto, sugere-se que mais estudos sejam desenvolvidos com diferentes esquemas de suplementação. Além disto, crianças e adolescentes com DM1 e com excesso de peso ou sedentários têm uma tendência para apresentar DVD e devem ser prioridade para o rastreamento da concentração sérica de 25(OH)D e consequente suplementação, caso necessário.

Referências

- ABSIL, H.; BAUDET, L.; ROBERT, A. *et al.* Benefits of physical activity in children and adolescents with type 1 diabetes: A systematic review. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 156, p. 107810, 2019.
- ADA – AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care in Diabetes - 2024. **Diabetes Care**, n. 47 (Supl. 1), S1-S321, 2024.
- AIDAR, M.; LINE, S. R. P. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. **Braz Den J**, v. 18, n. 2, 148-152, 2007.
- ANTONUCCI, R.; LOCCI, C.; CLEMENTE, M. G. *et al.* Vitamin D deficiency in childhood: old lessons and current challenges. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 31, n. 3, p. 247-260, 2018. doi: 10.1515/jpem-2017-0391.
- BRASIL. CNS – Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da União**: seção 1, 13 jun. 2013.
- CRAIG, C. L.; MARSHALL, A. L.; SJOSTROM M. *et al.* International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 8, p. 1381-1395, 2003.
- FIAMENGHI, V. I.; MELLO, E. D. Vitamin D deficiency in children and adolescents with obesity: a meta-analysis. **J Pediatr (Rio J)**, v. 97, n. 3, p. 273-279, 2021.
- FILHO, O. C. S. B.; PERES, W. A. F.; SPINELLI, R. R. *et al.* Evaluation of the dietary inflammatory index in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus and its relationship with nutritional status and metabolic control. **Nutrition**, v. 113, 112082, 2023.
- FLORES-ALDANA, M.; RIVERA-PASQUEL, M.; GARCÍA-GUERRA, A. *et al.* Effect of vitamin D supplementation on (25(OH)D) status in children 12–30 months of age: a randomized clinical trial. **Nutrients**, v. 15, n. 12, p. 2756, 2023.
- FORTINS, R. F.; LACERDA, E. M. A.; SILVERIO, R. N. C. *et al.* Predictor Factors of Glycemic Control in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus Treated at a Referral Service in Rio de Janeiro, Brazil. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 154, p. 138-145, 2019.
- GANMAA, D.; BROMAGE, S.; KHUDYAKOV, P. *et al.* Influence of vitamin D supplementation on growth, body composition, and pubertal development among school-aged children in an area with a high prevalence of vitamin D deficiency: a randomized clinical trial. **JAMA Pediatr**, v. 177, n. 1, p. 32-41, 2023.

- GOMES, M. B.; COBAS, R. A.; MATHEUS, A. S. *et al.* Regional differences in clinical care among patients with type 1 diabetes in Brazil: Brazilian Type 1 Diabetes Study Group. **Diabetol Metab Syndr**, v. 4, n. 44, p. 1-12, 2012.
- HAMED, E. O.; ABDEL-AAL, A. M.; DIN, A. K. N. *et al.* Vitamin D level and Fok-I vitamin D receptor gene polymorphism in Egyptian patients with type-1 diabetes. **Egypt J Immunol**, v. 20, n. 2, p. 1-10, 2013.
- HOLICK, M. F. The vitamin D deficiency pandemic: approaches for diagnosis, treatment and prevention. **Rev Endocr Metab Disord**, v. 8, n. 2, p. 153-165, 2017.
- HOLICK, M. F.; BRINKLEY, N. C.; BISCCHOFF-FERRARI, H. A. *et al.* Evaluation, treatment and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, p. 1911-1930, 2011.
- HOLICK, M. F. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. **Mayo Clin Proc**, v. 81, p. 353-373, 2006.
- HUEY, S. L.; ACHRAYA, N.; SILVER, A. *et al.* Effects of oral vitamin D supplementation on linear growth and other health outcomes among children under five years of age. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 2020, n. 12, CD012875, 2020.
- IDF – INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF Atlas Reports - Type 1 diabetes estimates in children and adults. Bruxelles: International Diabetes Federation, 2022.
- INFANTE, M.; RICORDI, C.; SANCHEZ, J. *et al.* Influence of vitamin D on islet autoimmunity and beta-cell function in type 1 diabetes. **Nutrients**, v. 11, n. 9, p. 2185, 2019.
- LIMA, V. A.; MASCARENHAS, L. P. G.; DECIMO J. P. *et al.* Physical activity levels of adolescents with type 1 Diabetes. **Pediatr Exerc Sci**, v. 29, n. 2, p. 213-219, 2017.
- LIU, C.; LU, M.; XIA, X. *et al.* Correlation of serum vitamin D level with type 1 diabetes mellitus in children: a meta-analysis. **Nutr Hosp**, v. 32, n. 4, p. 1591-1594, 2015.
- LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F.; MARTORELL, R. Anthropometric standardization reference manual. Champaign: Human Kinetics, 1988.
- MAJEED, M.; SIDDIQUI, M.; LESSAN, N. Vitamin D deficiency increases with age and adiposity in Emirati children and adolescents irrespective of type 1 diabetes mellitus: a case control study. **BMC Endocr Disord**, v. 23, n. 1, p. 150, 2023.
- MICULIS, C. P.; CAMPOS, W.; BOGUSZWESKI, M. C. S. Correlation between glycemic control and physical activity level in adolescents and children with type 1 diabetes. **J Phys Act Health**, v. 12, n. 2, p. 232-237, 2015.
- MOREIRA, C. A.; FERREIRA, C. E. S.; MADEIRA, M. *et al.* Reference values of 25-hydroxyvitamin D revisited: a position statement from the Brazilian Society of Endocrinology and

- Metabolism (SBEM) and the Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine (SBPC). **Arch Endocrinol Metab**, v. 64, n. 4, p. 462-636, 2020.
- MUNNS, C. F.; SHAW, N.; KIELY, M. *et al.* Global Consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 101, p. 394-415, 2016.
- NASCIMENTO, B. F.; MOREIRA, C. F. F.; FONSECA, E. R. *et al.* Effects of vitamin D supplementation on glycemic control of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: a systematic review. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 35, n. 8, p. 973-988, 2022.
- NASREEN, M.; LONE, K. P.; KHALIQ, S. *et al.* Serum vitamin D levels and gene polymorphisms (Fok1 and Apa1) in children with type I diabetes and healthy controls. **J Pak Med Assoc**, v. 66, n. 10, p. 1215-1220, 2016.
- NEYESTANI, T. R.; DJAZAYERY, A.; SHAB-BIDAR, S. *et al.* Vitamin D receptor Fok-I polymorphism modulates diabetic host response to vitamin D intake. **Diabetes Care**, v. 36, p. 550-556, 2013.
- NORMANDO, P.; DIOGENES, M. E. L.; CABELLO, P. H. *et al.* Calcium plus vitamin D supplementation during pregnancy interacts with polymorphisms in the promoter region of the VDR gene to affect postpartum bone mass of Brazilian adolescent mothers: a randomized controlled trial. **Nutrition**, v. 32, n. 10, p. 1068-1074, 2016.
- NWOSU, B. U.; MARANDA, L. The effects of vitamin D supplementation on hepatic dysfunction, vitamin D status, and glycemic control in children and adolescents with vitamin D deficiency and either type 1 or type 2 diabetes mellitus. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, e99646, 2014.
- ONIS, M.; ONYANGO, A. W.; BORGHI, E. *et al.* Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bull World Health Organ**, v. 85, p. 660-667, 2007.
- PANJIYAR, P. R.; DAYAL, D.; ATTRI, S. V. *et al.* Sustained serum 25-hydroxyvitamin D concentrations for one year with cholecalciferol supplementation improves glycaemic control and slows the decline of residual β cell function in children with type 1 diabetes. **Pediatr Endocrinol Diabetes Metab**, v. 24, n. 3, p. 111-117, 2018.
- PEREIRA-SANTOS, M.; COSTA, P. R. F.; ASSIS, A. M. O. *et al.* Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis. **Obes Rev**, v. 16, n. 4, p. 341-349, 2015.
- RAK, K.; BRONKOWSKA, M. Immunomodulatory effect of vitamin D and its potential role in the prevention and treatment of type 1 diabetes mellitus – a narrative review. **Molecules**, v. 24, p. 53, 2019.
- SAWILOWSKY, S. S. New effect size rules of thumb. **JMASM**, v. 8, n. 2, p. 597-599, 2009.
- SBD – SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2023. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/>. Acesso em: jan. 2024.

SBD – SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Suplementação de vitamina D para pacientes com diabetes mellitus. Disponível em: <https://profissional.diabetes.org.br/suplementacao-de-vitamina-d-para-pacientes-com-diabetes-mellitus/>. Acesso em: jan. 2024.

SBP – SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. Hipovitaminose D em pediatria: recomendações para o diagnóstico, tratamento e prevenção. Disponível em: https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/2016/12/Endcrino-Hipovitaminose-D.pdf. Acesso em: fev. 2024.

SHARMA, S.; BISWAL, N.; BETHOU, A. *et al.* Does vitamin D supplementation improve glycaemic control in children with type 1 diabetes mellitus? - A randomized controlled trial. **J Clin Diagn Res**, v. 11, n. 9, p. SC15-SC17, 2017.

SILVÉRIO, R. N. C.; LACERDA, E. M. A.; FORTINS, R. F. *et al.* Predictive factors of non-HDL cholesterol in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: A cross-sectional study. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 154, p. 9-16, 2019.

UITTERLINDEN, A. G.; FANG, Y.; VAN MEURS, J. B. *et al.* Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. **Gene**, v. 338, p. 143-156, 2004.

USP – UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Classificação do nível de atividade física Ipaq. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/3343547/mod_resource/content/1/IPAQ.pdf. Acesso em: dez. 2023.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2009) WHO AnthroPlus for personal computers. Manual: Software for assessing growth of the world's children and adolescents. Disponível em: <http://www.who.int/growthref/tools/en/>. Acesso em: abr. 2019.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Technical Report Series, n. 854. Genebra: World Health Organization, 1995. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_854.pdf. Acesso em: abr. 2019.

WIYONO, L.; GHITHA, N.; CLARISA, D. *et al.* Carbohydrate counting implementation on pediatric type 1 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. **Ann Pediatr Endocrinol Metab**, v. 28, p. 206-214, 2023.

ZABEEN, B.; NAHAR, J.; AHMED, B. *et al.* Vitamin D status in children and adolescents with type 1 diabetes in a specialized diabetes care centre in Bangladesh. **Endocrinol Diabetes Metab**, v. 5, n. 1, e00312, 2022.

ZIERK, J.; ARZIDEH, F.; HAECKEL, R. *et al.* Pediatric reference intervals for alkaline phosphatase. **Clin Chem Lab Med**, v. 55, n. 1, p. 102-110, 2017.

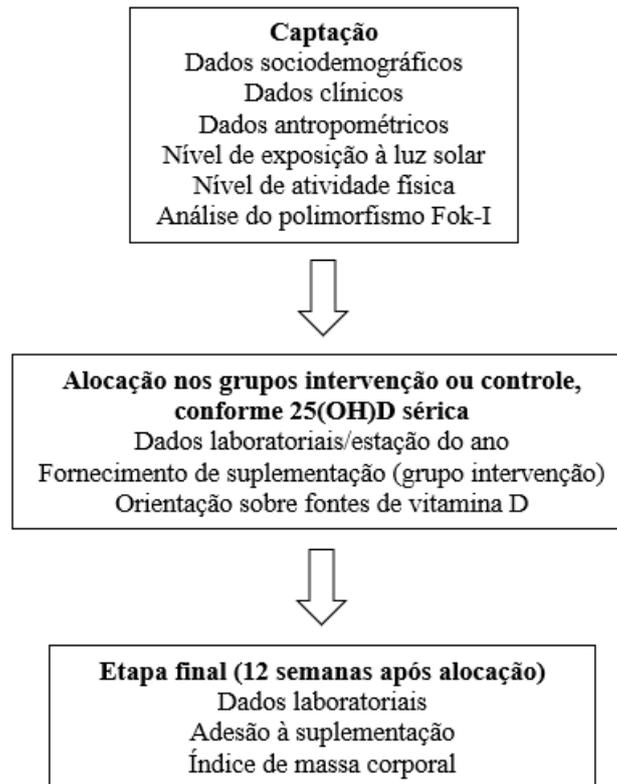


Figura 1. Descrição das etapas do estudo e do momento de coleta das variáveis (25(OH)D – 25 hidroxí vitamina D).

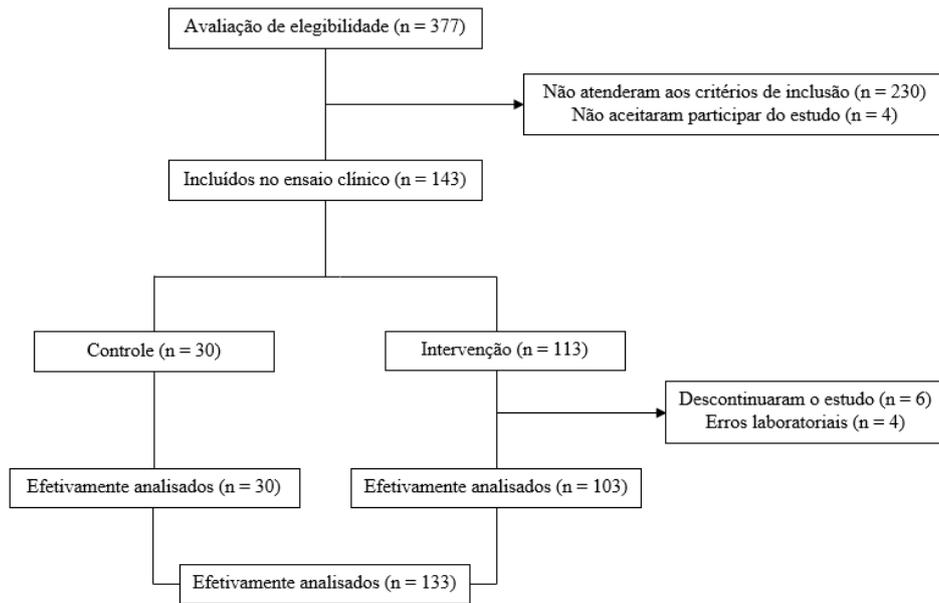


Figura 2. Fluxograma das etapas do ensaio clínico controlado.

Tabela 1. Características gerais de crianças e adolescentes com DM1 e de acordo com os grupos controle (25(OH)D > 30ng/mL) e intervenção (25(OH)D ≤ 30 ng/mL) antes da suplementação.

Variáveis	Geral (n = 133)	Controle (n = 30)	Intervenção (n = 103)	p
	Média±DP/ %(n)	Média±DP/ %(n)	Média±DP/ %(n)	
Dados sociodemográficos				
Sexo				
Feminino	51,1 (68)	46,7 (14)	52,4 (54)	0,679
Masculino	48,9 (65)	53,3 (16)	47,6 (49)	
Idade (anos)				
	11,4±2,2	11,8±2,5	11,3±2,1	0,268
Número de pessoas na família*				
	6,9±6,8	6,2±6,1	7,1±7,0	0,510
Condições de saneamento da moradia				
Adequada	94,0 (125)	93,3 (28)	94,2 (97)	1,000
Inadequada	6,0 (8)	6,7 (2)	5,8 (6)	
Escolaridade dos pais				
< 12 anos	30,1 (40)	23,3 (7)	32,0 (33)	0,498
≥ 12 anos	69,9 (93)	76,7 (23)	68,0 (70)	
Cor da pele				
Branco	28,6 (38)	20 (6)	31,1 (32)	0,262
Não-branco	71,4 (95)	80 (24)	68,9 (71)	
Estação do ano				
Verão + outono (janeiro a junho)	39,8 (53)	50,0 (15)	36,9 (38)	0,210
Primavera + inverno (julho a dezembro)	60,2 (80)	50,0 (15)	63,1 (65)	
Dados clínicos e de estilo de vida				
Tempo de diagnóstico de DM1 (anos)	5,9±4,8	5,8±3,6	5,9±5,1	0,926
Idade ao diagnóstico de DM1 (anos)	6,0±3,0	6,1±3,2	6,0±2,9	0,826
Dose de insulina (UI/kg peso ideal)	0,96±0,4	0,95±0,4	0,99±0,4	0,564
Nível de exposição à luz solar*				
Adequado	45,4 (59)	50,0 (15)	44,0 (44)	0,677
Inadequado	54,6 (71)	50,0 (15)	56,0 (56)	
Nível de atividade física				
Ativo	50,4 (67)	66,7 (20)	45,6 (47)	0,061
Sedentário	49,6 (66)	33,3 (10)	54,4 (56)	
Presença do polimorfismo Fok-I*				
Sim (AA)	8,7 (11)	10,0 (3)	8,3 (8)	0,722
Não (AG e GG)	91,3 (115)	90,0 (27)	91,7 (88)	
Presença do alelo mutado A*				
AA	8,7 (11)	10,0 (3)	8,3 (8)	0,382 ^a
AG	42,1 (53)	36,7 (11)	43,8 (42)	
GG	49,2 (62)	53,3 (16)	47,9 (46)	
Dados antropométricos				
Peso (kg)	44,1±13,3	44,6±13,1	43,9±13,4	0,812
Estatura (cm)	148,2±13,8	151,8±14,8	147,2±13,4	0,108
Estatura/idade				
Estatura adequada (> -2 escore-z)	99,2 (132)	100,0 (30)	99,0 (102)	1,000
Baixa estatura (< -2 escore-z)	0,8 (1)	-	1,0 (1)	
IMC (kg/m²)				
	19,7±3,5	18,9±3,4	19,9±3,5	0,200
IMC/idade				
Sem excesso de peso (< escore-z + 1)	62,4 (83)	76,7 (23)	58,3 (60)	0,087
Com excesso de peso (> escore-z + 1)	37,6 (50)	23,3 (7)	41,7 (43)	

DM1 – diabetes mellitus tipo 1; 25(OH)D – 25-hidroxi vitamina D; IMC – Índice de Massa Corporal; DP – desvio padrão.

*Dados faltantes: número de pessoas na família (n = 1); nível de exposição à luz solar (n = 3); presença do polimorfismo Fok-I (n = 7); presença do alelo mutado A (n = 7).

Variáveis contínuas foram comparadas pelo teste-T; variáveis categóricas, pelo qui-quadrado.

^aTeste exato de Fisher.

Tabela 2. Comparação dos dados laboratoriais de crianças e adolescentes com DM1 no *baseline* e após 12 semanas nos grupos controle (25(OH)D > 30ng/mL) e intervenção (25(OH)D ≤ 30 ng/mL).

Variáveis	Controle				Intervenção			
	n	Baseline Média±DP	Após 12 semanas Média±DP	t (p)*	n	Baseline Média±DP	Após 12 semanas Média±DP	t (p)*
25 (OH)D (ng/mL)	30	36,2±8,6	30,5±7,0	3,2 (0,004)	103	19,2±6,2	30,9±10,1	-11,2 (< 0,001)
HbA1C (%)	30	7,7±1,0	8,1±1,5	-1,3 (0,193)	103	8,1±1,1	8,3±1,4	-1,4 (0,171)
PTH (pg/mL)	24	23,2±13,8	23,5±11,7	-0,1 (0,897)	81	22,3±12,7	20,6±10,8	1,3 (0,212)
Cálcio total (mg/dL)	23	9,6±1,2	9,9±0,4	-1,1 (0,283)	80	9,8±0,4	9,8±0,5	0,9 (0,348)
Fósforo sérico (mg/dL)	28	5,0±0,5	4,9±0,5	0,8 (0,411)	89	5,2±0,8	5,1±0,7	0,6 (0,572)
Fosfatase alcalina (UI/L)	26	303,2±167,4	309,0±211,0	-0,4 (0,715)	83	303,3±195,0	347,2±240,7	-0,3 (0,010)

DM1 – diabetes mellitus tipo 1; 25(OH)D – 25-hidroxi vitamina D; PTH – paratormônio; HbA1C – hemoglobina glicada; DP – desvio padrão.

*Teste t pareado.

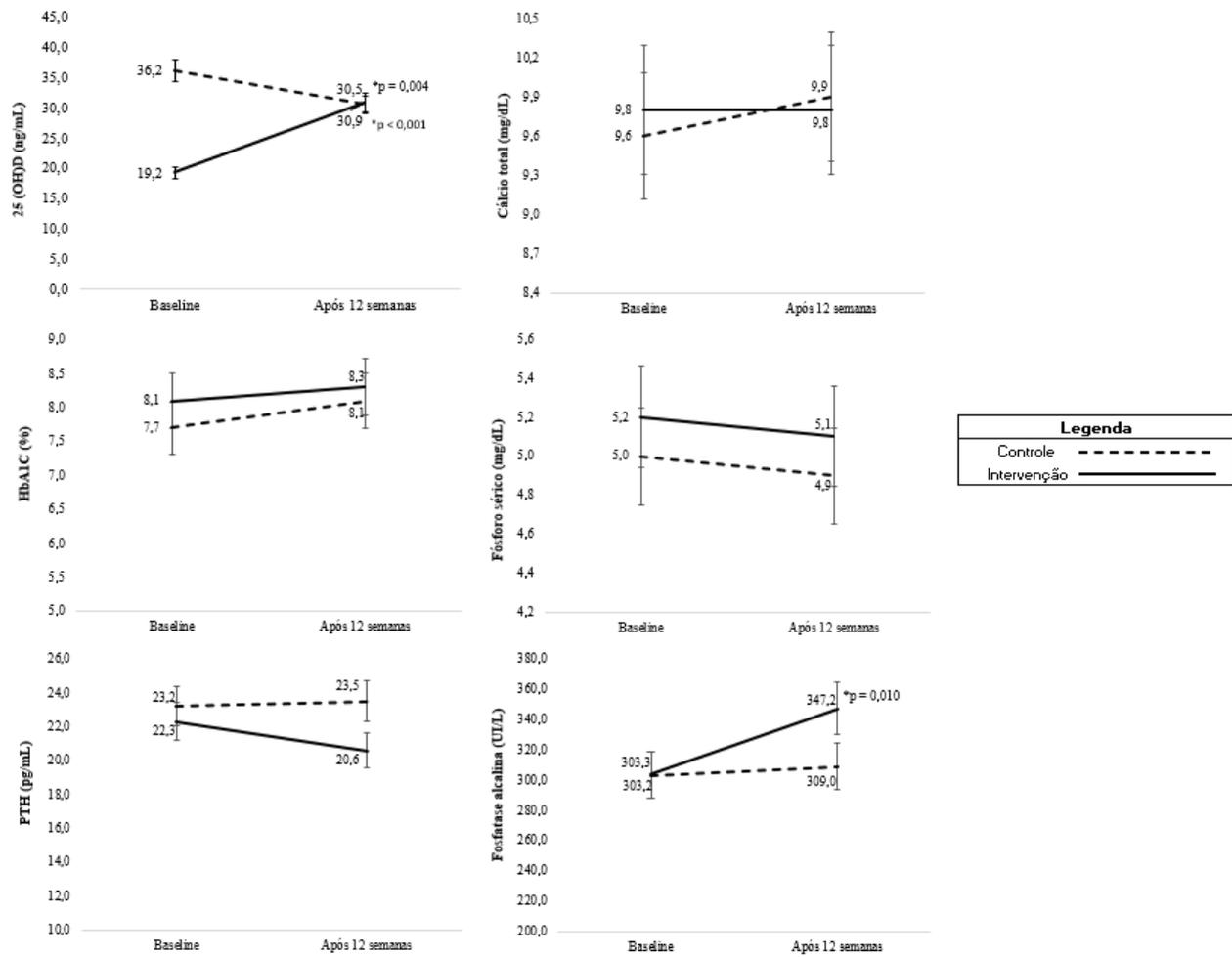


Figura 3. Representação gráfica dos dados laboratoriais de crianças e adolescentes com diabetes mellitus tipo 1 no *baseline* e após 12 semanas nos grupos controle ($25(\text{OH})\text{D} > 30\text{ng/mL}$) e intervenção ($25(\text{OH})\text{D} \leq 30\text{ng/mL}$) ($25(\text{OH})\text{D}$ – 25-hidroxi vitamina D; PTH – paratormônio; HbA1C – hemoglobina glicada).

Tabela 3. Tamanho do efeito sobre as variáveis laboratoriais no *baseline* e após 12 semanas nos grupos controle (25(OH)D > 30ng/mL) e intervenção (25(OH)D ≤ 30 ng/mL).

Variáveis	Controle		Intervenção	
	Delta Glass (IC 95%)*	Classificação	Delta Glass (IC 95%)*	Classificação
25 (OH)D (ng/mL)	-0,8 (-1,4 a -0,3)	Grande	1,2 (0,8 a 1,4)	Muito grande
HbA1C (%)	0,2 (-0,3 a 0,7)	Pequeno	0,1 (-0,2 a 0,4)	Muito pequeno
PTH (pg/mL)	-0,1 (-0,5 a 0,5)	Muito pequeno	-0,2 (-0,5 a 0,1)	Pequeno
Cálcio total (mg/dL)	0,5 (-0,1 a 1,1)	Médio	-0,1 (-0,3 a 0,2)	Muito pequeno
Fósforo sérico (mg/dL)	-0,2 (-0,8 a 0,3)	Pequeno	-0,1 (-0,4 a 0,2)	Muito pequeno
Fosfatase alcalina (UI/L)	0,1 (-0,5 a 0,6)	Muito pequeno	0,2 (-0,1 a 0,4)	Pequeno

IC – intervalo de confiança; 25(OH)D – 25-hidroxi vitamina D; HbA1C – hemoglobina glicada; PTH – paratormônio.

*Baseado na diferença dos valores (após 12 semanas – *baseline*).

Tabela 4. Modelo de regressão linear múltipla ajustado das variáveis associadas ao desfecho concentração sérica de 25(OH)D após 12 semanas de suplementação em crianças e adolescentes com DM1.

Variáveis	Efeitos ajustados		
	β	IC 95%	p
Presença do polimorfismo Fok-I	2,4	- 1,6; 6,5	0,235
Dose de insulina (UI/kg peso ideal)	-4,6	-8,1; -1,1	0,010
HbA1c (%)	-0,8	- 1,6; 0,1	0,067
Sedentário*	-1,3	-3,7; 1,2	0,305
IMC (kg/m ²)	-0,3	-0,6; -0,01	0,059
Grupo intervenção**	16,4	13,5; -19,2	<0,001

25(OH)D – 25-hidroxi vitamina D; DM1 – diabetes mellitus tipo 1; β – coeficiente de regressão; IC – intervalo de confiança; HbA1c – hemoglobina glicada; IMC – Índice de Massa Corporal.

*Referência: ativo.

**Referência: grupo controle.

Variáveis controladas no modelo: idade, sexo e tempo de diagnóstico de DM1.

Tabela 5. Modelo de regressão linear múltipla ajustado das variáveis associadas ao desfecho HbA1C após 12 semanas de suplementação em crianças e adolescentes com DM1.

Variáveis	Efeitos ajustados		
	β	IC 95%	p
Dose de insulina (UI/kg peso ideal)	0,1	-0,6; 0,9	0,745
25(OH)D (ng/mL)	-0,02	-0,04; 0,01	0,249
Sedentário*	0,2	0,1; 0,7	0,004
IMC (kg/m ²)	-0,1	-0,1; 0,6	0,802
Grupo intervenção**	-0,4	-1,0; -0,2	0,198

HbA1c – hemoglobina glicada; DM1 – diabetes mellitus tipo 1; β – coeficiente de regressão; IC – intervalo de confiança; 25(OH)D – 25-hidroxi vitamina D; IMC – Índice de Massa Corporal.

*Referência: ativo.

**Referência: grupo controle.

Variáveis controladas no modelo: idade, sexo e tempo de diagnóstico de DM1.

8. CONCLUSÃO

Este estudo identificou importantes resultados, como a elevada frequência de DVD em crianças e adolescentes com DM1. Com relação aos fatores associados, observou-se que os participantes com menor nível de atividade física, com pior controle glicêmico e com excesso de peso tiveram mais chance de apresentar DVD. Logo, variáveis relacionadas ao estilo de vida e a aspectos clínicos podem ser consideradas como fatores de risco para DVD nesta população e os pacientes que apresentarem tais fatores devem ser prioridade para o rastreamento da concentração sérica de 25(OH)D e consequente suplementação, caso necessário. Não foi identificada associação entre o polimorfismo Fok-I (rs2228570) e a DVD.

Com relação ao esquema de suplementação proposto, verificou-se que o colecalciferol oral na dosagem de 2000 UI/dia, por 12 semanas, foi eficaz para correção da DVD em crianças e adolescentes com DM1. Não foi observada diferença significativa entre os grupos com relação a presença do polimorfismo Fok-I (rs2228570) e do alelo mutado A. Quanto aos fatores associados à 25(OH)D após a suplementação, verificou-se associação inversa com o IMC e com a dose de insulina, podendo então serem considerados como fatores de risco para baixa concentração sérica de 25(OH) após a intervenção. Não foi verificada associação do polimorfismo Fok-I (rs2228570) e do controle glicêmico com a concentração sérica de 25(OH)D após a suplementação.

Neste contexto, os resultados demonstraram a necessidade de discutir o cuidado nutricional e o controle glicêmico de crianças e adolescentes com DM1 de forma mais ampla, com foco também na deficiência de micronutrientes, como a vitamina D.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A relação entre o cuidado nutricional e o controle glicêmico em crianças e adolescentes com DM1 é uma questão bem documentada na literatura. Sabe-se que a DVD é uma condição clínica muito prevalente, inclusive nesta população, e nestes casos o cuidado nutricional também é essencial. Portanto, estratégias que visem uma adequada assistência nutricional às crianças e aos adolescentes com DM1 devem ser estimuladas, incluindo as demandas de micronutrientes.

Dada a magnitude que a DVD apresentou, sugere-se o monitoramento da concentração sérica de 25(OH)D em crianças e adolescentes com DM1. Além disto, os resultados também evidenciaram a necessidade de estimular esta população a ter melhores hábitos de estilo de vida, incluindo práticas alimentares saudáveis e exercícios físicos rotineiros, o que poderia impactar positivamente na qualidade de vida destes pacientes, bem como contribuir para o crescimento e desenvolvimento adequados.

Além disto, o esquema de suplementação proposto pode ser recomendado para correção da DVD em crianças e adolescentes com DM1. Apesar do potencial adjuvante terapêutico da vitamina D no DM1, o efeito da intervenção sobre o controle glicêmico foi considerado muito pequeno. Após a suplementação, foi observado que excesso de peso e maior dose de insulina, um dos fatores preditores do controle glicêmico, estavam associados a menor concentração sérica de 25(OH)D.

Trabalhos futuros são recomendados, incluindo aqueles que objetivem estudar o consumo alimentar de vitamina D e avaliar outros polimorfismos de genes relacionados ao metabolismo de vitamina D em crianças e adolescentes com DM1. Também são necessários estudos que avaliem o efeito de diferentes esquemas de suplementação sobre o controle glicêmico desta população.

REFERÊNCIAS

- ABSIL, H.; BAUDET, L.; ROBERT, A. *et al.* Benefits of physical activity in children and adolescents with type 1 diabetes: A systematic review. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 156, p. 107810, 2019.
- AHN, J.; YU, K.; STOLZENBERG-SOLOMON, R. *et al.* Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. **Hum Mol Genet**, v. 19, p. 2739-2745, 2010.
- AIDAR, M.; LINE, S. R. P. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. **Braz Den J**, v. 18, n. 2, 148-152, 2007.
- ALI, R.; FAWZY, I.; MOHSEN, I. *et al.* Evaluation of vitamin D receptor gene polymorphisms (Fok-I and Bsm-I) in T1DM Saudi children. **J Clin Lab Anal**, v. 32, n. 5, e22397, 2018.
- ADA – AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care in Diabetes - 2024. **Diabetes Care**, n. 47 (Supl. 1), S1-S321, 2024.
- ANTONUCCI, R.; LOCCI, C.; CLEMENTE, M. G. *et al.* Vitamin D deficiency in childhood: old lessons and current challenges. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 31, n. 3, p. 247-260, 2018.
- ATAIE-JAFARI, A.; LOKE, S. C.; RAHMAT, A. B. *et al.* A randomized placebo-controlled trial of alphacalcidol on the preservation of beta cell function in children with recent onset type 1 diabetes. **Clin Nutr**, v. 32, n. 6, p. 911-917, 2013.
- BOUICHRAT, N.; BENYAKHEF, S.; ASSARRAR I. *et al.* Vitamin D status in diabetic Moroccan children and adolescents: a case-control study. **Rev Diabet Stud**, v. 9, n. 1, p. 1-7, 2023.
- BRASIL. CNS – Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da União**: seção 1, 13 jun. 2013.
- CALMARZA, P.; AJAMI, R. I. P.; LOPEZ, C. P. *et al.* Vitamin D concentration in type 1 diabetic children. Association with glycemic control, lipidic and bone metabolism. **Nutr Hosp**, v. 39, n. 5, p. 997-1003, 2022.
- CARDOSO, F. E. L.; SANTOS, L. C. M.; TENÓRIO, A. P. O. *et al.* Suplementação de vitamina D e seus análogos para tratamento de disfunção endotelial e doenças cardiovasculares. **J Vasc Bras**, v. 19, e201901, 2020.
- CHAKHTOURA, M.; AZAR, S. T. The role of vitamin D deficiency in the incidence, progression, and complications of type 1 diabetes mellitus. **Int J Endocrinol**, article ID 148673, 10 páginas, 2013.
- CRAIG, C. L.; MARSHALL, A. L.; SJOSTROM M. *et al.* International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 8, p. 1381-1395, 2003.

- DELUCA, H. F. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. **Am J Clin Nutr**, v. 80, supl. 6, p. 1689s-1696s, 2004.
- DCCT – DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. **N Engl J Med**, v. 329, p. 977-986, 1993.
- HOLICK, M. F. The vitamin D deficiency pandemic: approaches for diagnosis, treatment and prevention. **Rev Endocr Metab Disord**, v. 8, n. 2, p. 153-165, 2017.
- HOLICK, M. F.; BRINKLEY, N. C.; BISCCHOFF-FERRARI, H. A. *et al.* Evaluation, treatment and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, p. 1911-1930, 2011.
- HOLICK, M. F.; CHEN, T. C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. **Am J Clin Nutr**, v. 87, supl. 4, p. 1080s-1086s, 2008.
- HOLICK, M. F. Vitamin D deficiency. **N Engl J Med**, v. 357, n. 3, p. 266-281, 2007.
- HOLICK, M. F. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. **Mayo Clin Proc**, v. 81, p. 353-373, 2006.
- INFANTE, M.; RICORDI, C.; SANCHEZ, J. *et al.* Influence of vitamin D on islet autoimmunity and beta-cell function in type 1 diabetes. **Nutrients**, v. 11, n. 9, p. 2185, 2019.
- IOM – INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington: National Academy Press, 2011.
- IDF – INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF Atlas Reports - Type 1 diabetes estimates in children and adults. Bruxelas: International Diabetes Federation, 2022.
- IDF – INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF Diabetes Atlas, 10. ed. Bruxelas: International Diabetes Federation, 2021.
- LIU, C.; LU, M.; XIA, X. *et al.* Correlation of serum vitamin D level with type 1 diabetes mellitus in children: a meta-analysis. **Nutr Hosp**, v. 32, n. 4, p. 1591-1594, 2015.
- LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F.; MARTORELL, R. Anthropometric standardization reference manual. Champaign: Human Kinetics, 1988.
- MAJEED, M.; SIDDIQUI, M.; LESSAN, N. Vitamin D deficiency increases with age and adiposity in Emirati children and adolescents irrespective of type 1 diabetes mellitus: a case control study. **BMC Endocr Disord**, v. 23, n. 1, p. 150, 2023.
- MALTA, M.; CARDOSO, L. O.; BASTOS, F. I. *et al.* Iniciativa STROBE: subsídios para a comunicação de estudos observacionais. **Rev Saúde Pública**, v. 44, n. 3, p. 559-565, 2010.

- MISRA, M.; PACAUD, D.; PETRYK, A. *et al.* Drug and Therapeutics Committee of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. Vitamin deficiency in children and its management: review of current knowledge and recommendations. **Pediatrics**, v. 122, p. 398-417, 2008.
- MITRI, J.; PITTAS, A. G. Vitamin D and diabetes. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 43, n. 1, p. 205-232, 2014.
- MOHER, D.; HOPEWELL, S.; SCHULZ, K.F.; *et al.* CONSORT 2010 – Explanation and Elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trial. **BMJ**, v. 340, p. c869, 2010.
- MOREIRA, C. A.; FERREIRA, C. E. S.; MADEIRA, M. *et al.* Reference values of 25-hydroxyvitamin D revisited: a position statement from the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM) and the Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine (SBPC). **Arch Endocrinol Metab**, v. 64, n. 4, p. 462-636, 2020.
- MUNNS, C. F.; SHAW, N.; KIELY, M. *et al.* Global Consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 101, p. 394-415, 2016.
- NASCIMENTO, B. F.; MOREIRA, C. F. F.; FONSECA, E. R. *et al.* Effects of vitamin D supplementation on glycemic control of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: a systematic review. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 35, n. 8, p. 973-988, 2022.
- NEJENTSEV, S.; COOPER, J. D.; GODFREY, L. Analysis of the vitamin D receptor gene sequence variants in type 1 diabetes. **Diabetes**, v. 53, p. 2709-2712, 2004.
- NEYESTANI, T. R.; DJAZAYERY, A.; SHAB-BIDAR, S. *et al.* Vitamin D receptor Fok-I polymorphism modulates diabetic host response to vitamin D intake. **Diabetes Care**, v. 36, p. 550-556, 2013.
- NWOSU, B. U.; MARANDA, L. The effects of vitamin D supplementation on hepatic dysfunction, vitamin D status, and glycemic control in children and adolescents with vitamin D deficiency and either type 1 or type 2 diabetes mellitus. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, e99646, 2014.
- OLIVEIRA, C. L.; CUREAU, F. V.; COPLE-RODRIGUES, C. S. *et al.* Prevalence and factors associated with hypovitaminosis D in adolescents from a sunny country: findings from the ERICA survey. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 99, p. 105609, 2020.
- ONIS, M.; ONYANGO, A. W.; BORGHI, E. *et al.* Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bull World Health Organ**, v. 85, p. 660-667, 2007.
- PANIERAKIS, C.; GOULIELMOS, G.; MAMOULAKIS, D. *et al.* Vitamin D receptor gene polymorphisms and susceptibility to type 1 diabetes in Crete, Greece. **Clin Immunol**, v. 133, n. 2, p. 276-281, 2009.

- PANJIYAR, P. R.; DAYAL, D.; ATTRI, S. V. *et al.* Sustained serum 25-hydroxyvitamin D concentrations for one year with cholecalciferol supplementation improves glycaemic control and slows the decline of residual β cell function in children with type 1 diabetes. **Pediatr Endocrinol Diabetes Metab**, v. 24, n. 3, p. 111-117, 2018.
- RAK, K.; BRONKOWSKA, M. Immunomodulatory effect of vitamin D and its potential role in the prevention and treatment of type 1 diabetes mellitus – a narrative review. **Molecules**, v. 24, p. 53, 2019.
- REWERS, M.; LUDVIGSSON, J. Environmental risk factors for type 1 diabetes. **Lancet**, v. 387, n. 10035, p. 2340-2348, 2016.
- ROBIEN, K.; OPPENEER, S. J.; KELLY, J. A. *et al.* Drug vitamin D interactions: a systematic review of the literature. **Nutr Clin Pract**, v. 28, p. 194-208, 2013.
- RUÍZ-ROSO, M. B.; PADILHA, P. C.; MATILLA-ESCALANTE, D. C. *et al.* Changes of physical activity and ultra-processed food consumption in adolescents from different countries during Covid-19 pandemic: an observational study. **Nutrients**, v. 12, n. 8, p. 2289, 2020.
- SAWILOWSKY, S. S. New effect size rules of thumb. **JMASM**, v. 8, n. 2, p. 597-599, 2009.
- SCHORK, N. J.; FALLIN, D.; LANCHBURY J. S. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. **Clin Genet**, v. 58, n. 4, p. 250-264, 2000.
- SHARMA, S.; BISWAL, N.; BETHOU, A. *et al.* Does vitamin D supplementation improve glycaemic control in children with type 1 diabetes mellitus? - A randomized controlled trial. **J Clin Diagn Res**, v. 11, n. 9, p. SC15-SC17, 2017.
- SHASTRY, B. S. SNPs in disease gene mapping, medicinal drug development and evolution. **J Hum Genet**, v.52, n. 11, p. 871-880, 2007.
- SILVÉRIO, R. N. C.; LACERDA, E. M. A.; FORTINS, R. F. *et al.* Predictive factors of non-HDL cholesterol in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: A cross-sectional study. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 154, p. 9-16, 2019.
- SBD – SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2023. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/>. Acesso em: jan. 2024.
- SBD – SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Suplementação de vitamina D para pacientes com diabetes mellitus. Disponível em: <https://profissional.diabetes.org.br/suplementacao-de-vitamina-d-para-pacientes-com-diabetes-mellitus/>. Acesso em: jan. 2024.
- SKYLER, J. S.; BAKRIS, G. L.; BONIFACIO, E. *et al.* Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. **Diabetes**, v. 66, n. 2, p. 241-255, 2017.
- UITTERLINDEN, A. G.; FANG, Y.; VAN MEURS, J. B. *et al.* Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. **Gene**, v. 338, p. 143-156, 2004.

- USP – UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Classificação do nível de atividade física Ipaq. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/3343547/mod_resource/content/1/IPAQ.pdf. Acesso em: dez. 2023.
- VAN BELLE, T. L.; COPPIETERS, K. T.; VON HERRATH, M. G. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. **Physiol Rev**, v. 91, p. 79-118, 2011.
- WACKER, M.; HOLICK, M. F. Sunlight and vitamin D: a global perspective for health. **Dermatoendocrinol**, v. 5, p. 51-108, 2013.
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2009) WHO AnthroPlus for personal computers. Manual: Software for assessing growth of the world's children and adolescents. Disponível em: <http://www.who.int/growthref/tools/en/>. Acesso em: abr. 2019.
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Technical Report Series, n. 854. Genebra: World Health Organization, 1995. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_854.pdf. Acesso em: abr. 2019.
- WIYONO, L.; GHITHA, N.; CLARISA, D. *et al.* Carbohydrate counting implementation on pediatric type 1 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. **Ann Pediatr Endocrinol Metab**, v. 28, p. 206-214, 2023.
- WOLTERS, M.; INTEMANN, T.; RUSSO, P. *et al.* 25-Hydroxyvitamin D reference percentiles and the role of their determinants among European children and adolescents. **Eur J Clin Nutr**, v. 76, n. 4, p. 564-573, 2022.
- WORTSMAN, J.; MATSUOKA, L. Y.; CHEN, T. C. *et al.* Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. **Am J Clin Nutr**, v. 72, p. 690-693, 2000.
- ZHANG, R.; NAUGHTON, D. P. Vitamin D in health and disease: current perspectives. **Nutr J**, v. 9, p. 65, 2010.
- ZMUDA, J. M.; CAULEY, J. A.; FERRELL, R. E. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. **Epidemiol Rev**, v. 22, n. 2, p. 203-217, 2000.

APÊNDICE 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O(a) senhor(a) está sendo convidado para participar da pesquisa intitulada “Deficiência de vitamina D em crianças e adolescentes com Diabetes Mellitus Tipo 1: influência da suplementação de vitamina D e do polimorfismo Fok-I no controle glicêmico”. Antes de decidir se participará, é importante que o(a) senhor(a) entenda porquê o estudo está sendo feito e o que ele envolverá. Reserve um tempo para ler cuidadosamente as informações a seguir e discuta-as com sua família, amigos e profissionais de saúde, se desejar. Faça perguntas se algo não estiver claro ou se quiser mais informações. Não tenha pressa de decidir se deseja ou não participar deste estudo.

O objetivo dessa pesquisa é avaliar o efeito da suplementação de vitamina D e de uma possível alteração no gene no controle glicêmico de crianças e adolescentes com Diabetes Mellitus tipo 1. Caso o(a) senhor(a) concorde em participar deste projeto, os pesquisadores irão coletar algumas informações: idade da criança ou adolescente, sexo, condições de saneamento da moradia, nível de escolaridade dos pais, composição familiar, número de pessoas na residência, situação marital, cor da pele, tempo e idade de diagnóstico do diabetes, regime e dose de insulina/kg peso ideal, método dietético utilizado, peso, estatura, circunferência da cintura e do pescoço, nível de exposição à luz solar e de atividade física. Caso esses dados não estejam disponíveis no prontuário, essas informações serão perguntadas diretamente a você. Sinta-se livre para não responder se quiser. O consumo alimentar de seu filho(a) será avaliado por meio de dois recordatórios de 24 horas. Também serão avaliados exames de rotina a partir de uma amostra de sangue e o polimorfismo Fok-I em uma amostra de saliva. Caso a criança ou adolescente apresente deficiência de vitamina D, será proposta a suplementação desta vitamina por 12 semanas e, ao final do tratamento, a hemoglobina glicada e a vitamina D serão novamente avaliadas em uma amostra de sangue. Todo o material usado para a retirada do sangue e da saliva será descartável e a coleta será feita por técnico treinado e capacitado, para evitar hematomas ou qualquer desconforto. Ressalto que este material será utilizado apenas na pesquisa em questão e que a coleta de sangue ocorrerá no mesmo dia que seu filho(a) for agendado para exames de rotina. A amostra de saliva será encaminhada em um tubo plástico dentro de um isopor para o Laboratório de Bioquímica Nutricional do Instituto de Nutrição da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

O benefício principal de sua participação é que, no futuro, os resultados alcançados com essa pesquisa contribuam para entender melhor qual o papel da vitamina D e do polimorfismo Fok-I no controle glicêmico de crianças e adolescentes com Diabetes Mellitus tipo 1. Esclarecemos que o risco decorrente da participação de seu filho(a) no estudo pode ser associado ao uso incorreto do suplemento de vitamina D, que, se for ingerido acima da dose prescrita, pode ocasionar boca seca, dor de cabeça, muita sede ou muita vontade de urinar, perda de apetite, enjôo, vômitos, cansaço, aumento da pressão arterial, dor muscular, coceira, perda de peso, confusão mental, descoordenação motora, distúrbios psíquicos, coma, insuficiência renal e arritmias cardíacas. Para minimizar tal risco, você será orientado cuidadosamente pelo nutricionista e pelo médico, quanto à dose indicada para o seu filho(a), que será dentro da dose segura recomendada. Além disto, faremos o agendamento de suas consultas com o nutricionista com pequeno intervalo entre elas e forneceremos os telefones de nutricionistas da equipe para você contactar em caso de necessidade, fora dos horários da consulta do seu filho(a).

Todas as informações a seu respeito e de seu filho(a) serão confidenciais e o(a) senhor(a) não será identificado em nenhum momento, de tal forma que sua privacidade e identidade serão preservadas. É necessário esclarecer também que não haverá para o(a) senhor(a) quaisquer custos ou forma de pagamento pela participação na pesquisa. É importante que o(a)

senhor(a) saiba que sua participação nessa pesquisa é completamente voluntária e que não sofrerá nenhuma penalidade caso não concorde em participar. Além disso, você poderá recusar-se a autorizar o uso das informações oferecidas pelo(a) senhor(a) a essa pesquisa, e interromper sua participação a qualquer momento sem penalidades. Em caso de o(a) senhor(a) decidir interromper sua participação na pesquisa, a equipe de pesquisadores envolvidos nesse projeto deve ser comunicada e a utilização dos seus dados será imediatamente interrompida, sendo o seu questionário desconsiderado.

Este projeto foi elaborado de acordo com os aspectos éticos previstos na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, sendo previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, com parecer de número 3.570.197.

A pessoa responsável por obter este Termo de Consentimento lhe explicou claramente o conteúdo destas informações e se colocou à disposição para responder às suas perguntas, sempre que tiver novas dúvidas. O(a) senhor(a) também tem a liberdade de consultar outros investigadores envolvidos neste projeto quando sentir necessário. Neste caso, por favor, ligue para os contatos a seguir: Patricia de Carvalho Padilha (pesquisadora), telefones (21) 3938-6432/ (21) 99996-4771 ou Carolina Ferraz Figueiredo Moreira (pesquisadora), telefones (21) 3938-0415/ (21) 996960876. Também há a possibilidade de entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira: Rua Bruno Lobo, número 50, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro/RJ, telefone (21) 3938-3842.

Esse documento que você acabou de ler será emitido em duas vias exatamente iguais, uma via desse documento ficará com você e a outra ficará com o responsável pela pesquisa.

CONSENTIMENTO

Li as informações acima e entendi o propósito deste projeto, assim como os benefícios e riscos potenciais da minha participação no mesmo. Ficou claro que minha participação é isenta de despesas. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por intermédio deste, dou livremente meu consentimento para minha participação nesta pesquisa.

Nome do responsável legal: _____

Assinatura do responsável legal

Data: ___/___/___

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste projeto ao paciente indicado acima e/ou pessoa autorizada para consentir pelo mesmo. Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante da pesquisa.

Responsável pela obtenção do Termo: _____

Assinatura do Responsável pela obtenção do Termo

Data: ___/___/___

APÊNDICE 2

TERMO DE ASSENTIMENTO

Olá, você está sendo convidado para participar da pesquisa que se chama: “Deficiência de vitamina D em crianças e adolescentes com Diabetes Mellitus Tipo 1: influência da suplementação de vitamina D e do polimorfismo Fok-I no controle glicêmico”. Antes de decidir se irá participar, é importante que você entenda por que o estudo está sendo feito e o que ele envolverá. Reserve um tempo para ler com cuidado todas as informações da pesquisa e peça ajuda a sua família, se for necessário. Você pode fazer perguntas se não entender alguma parte ou se quiser saber mais detalhes. Não tenha pressa de decidir se quer ou não participar deste estudo.

O objetivo dessa pesquisa é avaliar a relação entre a vitamina D e uma possível modificação em um dos seus genes com o controle da sua glicose. Se você decidir que vai participar deste projeto, os pesquisadores irão coletar algumas informações: sua idade e sexo, condições de saneamento da sua casa (se tem água encanada, esgoto e energia elétrica), até qual série seus pais estudaram, como sua família é formada, quantas pessoas moram na sua casa, se seus pais são casados, cor da sua pele, tempo e idade de diagnóstico do diabetes, regime e dose de insulina, método dietético utilizado (tradicional ou contagem de carboidratos), peso, altura, quanto mede a sua cintura e o seu pescoço, quanto você se expõe ao sol e quanto você faz de atividade física. Se essas informações não estiverem no seu prontuário, vamos perguntar para você ou para os seus pais. Se você não quiser responder, não tem problema. Perguntaremos tudo o que você comeu e bebeu durante dois dias. Também precisaremos de alguns resultados do seu exame de sangue de rotina. Iremos pegar também um pouco da sua saliva para saber se você tem ou não algo que chamamos de polimorfismo Fok-I. Se você tiver pouca vitamina D no seu sangue, iremos prescrever um suplemento dessa vitamina por 12 semanas. Depois de tomar o suplemento, faremos um novo exame de sangue para ver se seu controle da glicose e sua vitamina D melhoraram. Fique tranquilo(a) que todo o material usado para a retirada do seu sangue e da sua saliva será descartável e a coleta será feita por um técnico treinado, para que você não sinta nenhum desconforto. As informações que conseguirmos com o seu sangue e a sua saliva serão usadas apenas nesta pesquisa e a coleta do seu sangue será no mesmo dia que você for agendado(a) para exames que você normalmente já faz. A sua saliva será levada em um tubo de plástico dentro de um isopor para o Laboratório de Bioquímica Nutricional do Instituto de Nutrição da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

O principal ganho que nós teremos com a sua participação é que, no futuro, os resultados dessa pesquisa irão nos ajudar a entender como a vitamina D e o polimorfismo Fok-I podem fazer a diferença no controle da glicose de outras crianças e adolescentes com a mesma doença que você. Esperamos que você não sinta nada de ruim ao usar o suplemento de vitamina D, a não ser que você tome mais do que o foi prescrito. Fale com seus pais, caso você sinta alguns desses sintomas: boca seca, dor de cabeça, muita sede ou muita vontade de fazer xixi, pouca fome, enjôo, vômitos, cansaço, aumento da pressão, dor nos músculos, coceira, perda de peso, confusão mental, dificuldade em realizar os movimentos, distúrbios psíquicos, coma, funcionamento ruim dos rins e alteração da frequência do coração. Para que estes sintomas não apareçam, você e seus pais serão orientados pelo nutricionista e pelo médico quanto à dose certa a ser tomada. Além disso, suas consultas com o nutricionista serão agendadas com pequeno intervalo entre elas e você e seus pais terão os telefones de nutricionistas da equipe para ligar em caso de necessidade, fora dos horários das consultas.

Fique tranquilo(a) que todas as informações sobre você e sua família ficarão em segredo e que seus pais não terão nenhum gasto por causa desta pesquisa, nem qualquer forma de pagamento pela participação. Você só precisa participar desta pesquisa se quiser e, se você não quiser, não tem problema, ninguém vai brigar com você por causa disso. Se em algum momento, você ou sua família não quiserem mais participar, também não tem problema. Se isso acontecer, não

vamos mais usar suas informações. Se você desistir de participar, fale com os seus pais e peça para eles nos avisarem. Vocês serão retirados da pesquisa na mesma hora.

Este projeto foi elaborado de acordo com os aspectos éticos previstos na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, sendo previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, com parecer de número 3.570.197.

Tenha certeza que a pessoa responsável por obter este Termo de Assentimento lhe explicou todas as informações de forma clara e respondeu todas as suas perguntas. Você tem a liberdade de perguntar para outros pesquisadores que também participam deste projeto, quando sentir necessário. Se ainda ficar alguma dúvida ou se você quiser fazer qualquer pergunta sobre a pesquisa, por favor, ligue para: Patrícia de Carvalho Padilha (pesquisadora), telefones (21) 3938-6432/ (21) 99996-4771 ou Carolina Ferraz Figueiredo Moreira (pesquisadora), telefones (21) 3938-0415/ (21) 996960876. Também há a possibilidade de entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira: Rua Bruno Lobo, número 50, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro/RJ, telefone (21) 3938-3842.

Esse documento que você acabou de ler será emitido em duas vias iguais, uma via desse documento ficará com você e a outra ficará com o responsável pela pesquisa.

ASSENTIMENTO

Eu, por intermédio deste, concordo em participar da pesquisa.

Nome do Participante: _____

Assinatura do Participante

Data: ___/___/___

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste projeto ao paciente indicado acima e/ou pessoa autorizada para consentir pelo mesmo. Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Assentimento deste participante da pesquisa.

Responsável pela obtenção do Termo: _____

Assinatura do Responsável pela obtenção do Termo

APÊNDICE 3

Instrumento de Coleta de Dados

Número de registro na pesquisa: _____ (1) Caso (2) Controle

Data: _____ Estação do Ano: _____

Número do prontuário: _____ Telefones: _____

1) Dados sociodemográficos:

Data de Nascimento: _____

Idade: _____ (anos e meses) Sexo: (1) Feminino (2) Masculino

Condições de saneamento: (1) Adequada (2) Inadequada _____

Escolaridade dos pais: (1) Analfabeto(a) (2) Fundamental incompleto (3) Fundamental completo

(4) Médio incompleto (5) Médio completo (6) Superior incompleto

(7) Superior completo

Nº de pessoas na residência: _____ Composição familiar: _____

Situação marital: (1) Casado(a)/vive com companheiro(a) (2) Vive sem companheiro(a)

Cor da pele: (1) Branco (2) Negro (3) Pardo (4) Índio

2) Dados do acompanhamento ambulatorial:

Tempo de diagnóstico: _____ (anos e meses) Idade de diagnóstico: _____ (anos e meses)

Regime de insulina: (1) Ação rápida (2) Ação ultra-rápida (3) Ação intermediária

Dose de insulina/kg peso ideal: _____

VET prescrito (kcal): _____ CHO prescrito (g): _____

3) Estado nutricional:

	/ /	/ /
Peso (kg)		
Estatura (m)		
IMC (kg/m ²)		
Perímetro da cintura (cm)		
Perímetro do pescoço (cm)		
Relação cintura/estatura		

4) Nível de exposição à luz solar:

1º encontro – (1) Adequado (2) Inadequado

3º encontro – (1) Adequado (2) Inadequado

5) Dosagens:

	/	/	/	/
HbA1c				
25(OH)D				
PTH				
Cálcio total				
Fósforo sérico				
Fosfatase alcalina				
Colesterol total				
LDL				
HDL				
Triglicerídeos				

Polimorfismo Fok-I: (1) Sim (2) Não

6) Adesão à suplementação:

1º mês (por telefone): (1) Sim (2) Não (3) Parcial

2º mês (por telefone): (1) Sim (2) Não (3) Parcial

3º mês (presencial): (1) Sim (2) Não (3) Parcial _____ (comprimidos restantes)

APÊNDICE 4

Orientação Nutricional



MINHA VITAMINA D

Nome: _____

Data: ___/___/___

ORIENTAÇÕES PARA MANTER OS NÍVEIS DE VITAMINA D:

- ✓ Consumir diariamente alimentos fontes de vitamina D, como por exemplo:


Leite


Iogurte


Queijos


Ovos


Manteiga


Sardinha
- ✓ Realizar exposição solar de 5 a 10 minutos por dia, entre 10 e 15h, expondo braços e pernas sem protetor solar.


- ✓ Procure sempre realizar atividades ao ar livre.

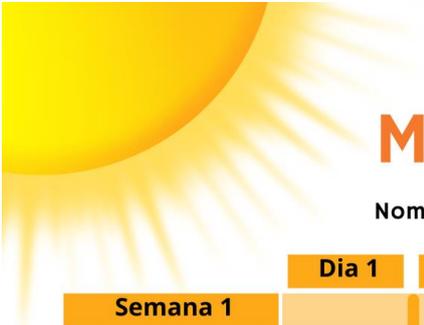





Assinatura e carimbo

APÊNDICE 5

Cartão de Controle da Suplementação



MINHA VITAMINA D

Nome: _____

	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7
Semana 1							
Semana 2							
Semana 3							
Semana 4							
Semana 5							
Semana 6							
Semana 7							
Semana 8							
Semana 9							
Semana 10							
Semana 11							
Semana 12							



Atenção! Trazer no dia da consulta: 1) Cápsulas de vitamina D (caso sobre alguma)
2) Cartelas vazias
3) Este cartão

ANEXO 1

Protocolo de extração de saliva (AIDAR & LINE, 2007)

Coleta

- 1) Os indivíduos devem fazer bochecho com a solução de 5 ml (água destilada ou MilliQ) por 60 segundos, passando a língua na mucosa oral e nos dentes.
- 2) O líquido deve ser coletado em um tubo falcon de 15 ml
- 3) Adicionar 3 ml de solução TNE (diluído em 66% de etanol). Inverter o tubo falcon cuidadosamente

Extração

1º dia

- 1) Centrifugar os tubos por 10 min a 3000 rpm (temperatura ambiente).
- 2) Descartar o sobrenadante (cuidado para não descartar o pellet)
- 3) Adicionar 1ml de TNE e inverter o tubo cuidadosamente (lavar o pellet)
- 4) Centrifugar os tubos por 2000 rpm por 5 minutos
- 5) Descartar o sobrenadante (cuidado para não descartar o pellet)
- 6) Vortexar o pellet por 5 segundos
- 7) Adicionar 1,3 ml de solução lise e 10µl de proteinase K (20mg/ml)
- 8) Vortexar a mistura por 5 segundos em velocidade média
- 9) Transferir a mistura para um tubo de 2 ml
- 10) Incubar overnight a 55°C

2º dia

- 1) Adicionar 500 µl de uma solução contendo acetato de amônio (8M) e EDTA (1mM)
- 2) Vortexar em velocidade rápida por 5 segundos
- 3) Centrifugar a 17000g por 10 minutos
- 4) Preparar dois novos tubos de 2 ml e adicionar 540 µl de isopropanol (2-propanol)
- 5) Adicionar 900 µl do sobrenadante em cada tubo
- 6) Inverter o tubo 20 vezes gentilmente para misturar a amostra
- 7) Centrifugar a 17000g por 5 minutos
- 8) Descartar o sobrenadante
- 9) Inverter o tubo em um papel absorvente e deixar secar por 10 minutos
- 10) Adicionar 2 ml de etanol 70%
- 11) Inverter várias vezes para lavar o pellet
- 12) Centrifugar a 17000g por 5 minutos
- 13) Descartar o sobrenadante
- 14) Inverter os tubos em papel absorvente por 60 minutos
- 15) Ressuspender o DNA em 200 µl de TE
- 16) Deixar no banho à 37°C por 60 minutos

Soluções

- TNE (17 mM Tris/HCl [pH8, 0], 50 mM NaCl e 7 mM EDTA)
Solução de lise – (10 mM Tris [pH 8,0], 0,5% SDS, 5 mM EDTA)
TE (10 mM Tris [pH 8,0] e 1 mM EDTA)

ANEXO 2

International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)

Com o objetivo de avaliar a sua atividade física diária **nos últimos sete dias**, pedimos que você preencha o questionário abaixo. Para responder as questões, lembre que:

- ✓ atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar **MUITO** mais forte que o normal.
- ✓ atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar **UM POUCO** mais forte que o normal.

Para responder as perguntas, considerar somente atividades realizadas **por pelo menos 10 minutos contínuos** de cada vez.

1a Em quantos dias da última semana você **CAMINHOU** por **pelo menos 10 minutos contínuos** em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

dias _____ **por SEMANA** () Nenhum

1b Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou caminhando por dia?

horas: _____ **minutos:** _____

2a Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **MODERADAS** por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar **moderadamente** sua respiração ou batimentos do coração (**POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA**)

dias _____ **por SEMANA** () Nenhum

2b Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: _____ **minutos:** _____

3a Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **VIGOROSAS** por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração.

dias _____ **por SEMANA** () Nenhum

3b Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por **pelo menos 10 minutos contínuos**, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: _____ **Minutos:** _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa, visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?

_____ **horas** _____ **minutos**

4b Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana?

_____ **horas** _____ **minutos**

ANEXO 3

Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa


CARO

Cadastros
Público
Pesquisador
Alterar Meus Dados

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

- DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO I: INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D E DO POLIMORFISMO FOK-I NO CONTROLE GLICÊMICO

Pesquisador Responsável: Patrícia de Carvalho Padilha

Área Temática: Genética Humana:
(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.)

Versão: 1

CAAE: 20524719.3.0000.5264

Submetido em: 10/09/2019

Instituição Proponente: Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira - RJ

Situação da Versão do Projeto: Aprovado

Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio



Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_1396218

ANEXO 4

Aprovação pelo Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos



Português ▾

Registo Visualizar

Procurar nos estudos

Estudo publicado

RBR-5x82zr Vitamin D deficiency in children and adolescents with Type I Diabetes Mellitus: influence of vitamin D supplementation...

Data de registro: 30/04/2020 (dd/mm/yyyy)

Última data de aprovação: 30/04/2020 (dd/mm/yyyy)