

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina

Programa de pós-graduação em saúde do adulto

Marina Carvalho-Rassbach

Vitamina D em obesos e não obesos: possíveis correlações com adiponectina e resistência à insulina

Belo Horizonte

2017

Marina Carvalho-Rassbach

Vitamina D em obesos e não obesos: possíveis correlações com adiponectina e resistência à insulina

Versão final

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em ciências aplicadas à saúde do adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Medicina

Orientadora : Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz

Co-orientadora: Jacqueline Isaura Alvarez Leite

Belo Horizonte
2017

R228v Rassbach, Marina Carvalho.
Vitamina D em obesos e não obesos [manuscrito]: associações com adiponectina e resistência à insulina. / Marina Carvalho Rassbach. -- Belo Horizonte: 2017.
68f.: il.
Orientador (a): Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz.
Coorientador (a): Jacqueline Isaura Alvarez Leite.
Área de concentração: Saúde do Adulto.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Obesidade. 2. Vitamina D. 3. Adiponectina. 4. Resistência à Insulina. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Diniz, Maria de Fátima Haueisen Sander. II. Leite, Jacqueline Isaura Alvarez. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WD 210

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



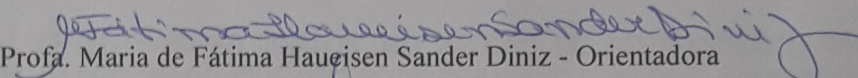
FOLHA DE APROVAÇÃO

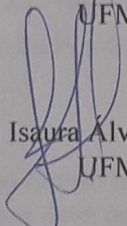
VITAMINA D EM OBESOS E NÃO OBESOS: POSSÍVEIS CORRELAÇÕES COM
ADIPONECTINA E RESISTÊNCIA À INSULINA

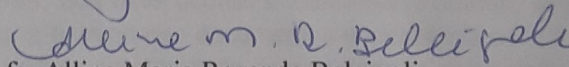
MARINA CARVALHO-RASSBACH

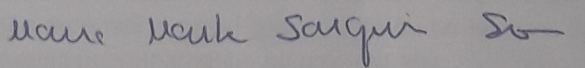
Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, área de concentração CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO.

Aprovada em 04 de agosto de 2017, pela banca constituída pelos membros:


Prof. Maria de Fátima Haugisen Sander Diniz - Orientadora
UFMG


Prof. Jacqueline Isaura Alvarez Leite - Coorientadora
UFMG


Prof. Alline Maria Rezende Beleigoli
UFMG


Prof. Maria Marta Sarquis Soares
UFMG

Belo Horizonte, 04 de agosto de 2017.

“O que procuraste em ti ou fora de
teu ser restrito e nunca se mostrou,
mesmo afetando dar-se ou se rendendo,
e a cada instante mais se retraindo,
olha, repara, ausculta: essa riqueza
sobrante a toda pérola, essa ciência
sublime e formidável, mas hermética,
essa total explicação da vida,
esse nexo primeiro e singular,
que nem concebes mais, pois tão esquivo
se revelou ante a pesquisa ardente
em que te consumiste... vê, contempla,
abre teu peito para agasalhá-lo.”

Trecho do poema: A máquina do mundo

Carlos Drummond de Andrade

Dedicatória

**Ao meu marido Martin, por todos os minutos
em que teve paciência e atenção aos nossos
filhos, enquanto eu tentava exercer a árdua
tarefa de me dedicar à ciência.**

**Aos meus pais, por me ensinarem
a ser um ser pensante.**

**Às minhas orientadoras, por aguçarem a
constante dúvida do saber.**

DISSERTAÇÃO

VITAMINA D EM OBESOS E NÃO OBESOS: ASSOCIAÇÕES COM A ADIPONECTINA E RESISTÊNCIA À INSULINA

RESUMO

A obesidade, é um importante problema de saúde pública que afeta mais de 500 milhões de pessoas no mundo. No Brasil, a obesidade atinge 20,8% da população. Assim como a obesidade, a prevalência de indivíduos com carência de vitamina D (vitD) é pandêmica e existem inúmeros trabalhos sugerindo que o sistema endócrino, que envolve a vitD, está alterado em portadores de obesidade. A obesidade tem sido inversamente associada à concentração sérica de 25-hidroxivitaminaD (25OHD). Alguns estudos associam baixas concentrações de 25OHD à síndrome metabólica, diabetes e resistência à insulina. A resistência à insulina também tem sido associada à baixas concentrações de adiponectina. A adiponectina é uma proteína plasmática de 30KDa, secretada especificamente pelo tecido adiposo. O tecido adiposo em excesso induz uma desregulação na produção das adipocinas, aumentando a produção das inflamatórias e reduzindo as anti-inflamatórias como a adiponectina. Isso resulta num estado inflamatório crônico do organismo e resistência à insulina. A concentração plasmática da adiponectina está reduzida em estados de resistência à insulina. Estudos têm sugerido que existe associação entre adiponectina em pacientes com obesidade e insuficiência de vitD, com feedback positivo (aumento da adiponectina) após um ano de suplementação com vitD3. Ainda não se sabe ao certo a relação entre obesidade, concentrações séricas de vitD e resistência à insulina.

O objetivo desse estudo é verificar a associação entre as concentrações séricas de 25OHD (suficientes ou não), em pacientes com obesidade (Índice de massa corporal ou $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) e eutróficos ($IMC > 18,5$ a $24,9 \text{ kg/m}^2$), excluída a faixa de IMC de sobrepeso ($IMC \geq 25$ a $29,9 \text{ kg/m}^2$), com a adiponectina e resistência à insulina. Por meio de um estudo transversal e após cálculo amostral, foram avaliados indicadores antropométricos, bioimpedância, a concentração sérica de 25OHD, adiponectina e resistência à insulina pelo *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance* (HOMA-IR) nos dois grupos. A associação entre a vitD, classificada em normal ou insuficiente, adiponectina e HOMA-IR foi testada e comparada amostra total e nos dois grupos através de regressão logística.

Resultados: Avaliados 76 pacientes, 40 portadores de obesidade (52,6%), com idade média de $35,0 \pm 9,5$ anos, sendo 75% dos participantes do sexo feminino e 65,8% apresentavam insuficiência de vitD. O IMC médio foi de $22,9 \pm 1,5$ e $34,4 \pm 4,7 \text{ kg/m}^2$ no grupo de eutróficos e indivíduos com obesidade, respectivamente. Não foi encontrada associação entre vitD e adiponectina ou resistência à insulina em portadores de obesidade e eutróficos. Encontrou-se associação inversa independente de idade e sexo entre concentrações séricas de vitD e percentual de gordura pela bioimpedância na amostra total ($p=0.011$, $R^2= 0.07$ e intervalo de confiança de 0,90 a 0,99)

Conclusão: Não houve nenhuma associação entre a vitamina que D e os parâmetros estudados para aquela população. Ainda há muito que entender sobre a associação entre vitamina D, adiponectina e resistência de insulina. A controvérsia do tema continua, especialmente nessa amostra da população brasileira. Estudos mostram que aspectos étnicos e polimorfismos genéticos do receptor da vitamina D podem alterar a relação entre as variáveis estudadas. Mais estudos que envolvam amostras maiores e com mais cores de pele podem ser úteis.

Palavras-chave: Vitamina D, adiponectina, obesidade.

ABSTRACT

Background: Obesity is a major public health problem that affects over 500 million people worldwide. In Brazil, obesity reaches 20.8% of the population. Like obesity, the prevalence of individuals with vitamin D insufficiency is pandemic and there are numerous studies suggesting that the endocrine system, which involves vitamin D, is altered in individuals with obesity. Obesity has been inversely associated with levels of 25-hydroxyvitamin D (25OHD). Some studies have associated 25OHD with low concentrations of the metabolic syndrome, diabetes, and insulin resistance. Insulin resistance has also been associated with low levels of adiponectin. Adiponectin is a plasma protein of 30kDa secreted specifically by adipose tissue. Excess adipose tissue induces a disruption in the production of adipokines, increasing the production of inflammatory and reducing inflammatory ones, like adiponectin. This results in a chronic inflammatory state of the organism and insulin resistance. Plasma levels of adiponectin are reduced in insulin resistant states. Studies have suggested that there is an association between adiponectin, in patients with obesity, and vitamin D insufficiency, with positive feedback after one year of supplementation with vitamin D3. It is not well known the relationship between obesity, vitamin D insufficiency and insulin resistance.

The aim of this study is to verify the association between the levels of 25OHD in patients with obesity (body mass index or BMI $\geq 30\text{kg/m}^2$) and eutrophic (BMI > 18.5 and 24.9 kg/m^2), excluding the range overweight BMI (BMI ≥ 25 to 29.9kg/m^2), and adiponectin and insulin resistance. Through a transverse study we evaluated anthropometric indicators, bio impedance levels, 25OHD, adiponectin and insulin resistance by Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) in both groups. The association between vitamin D, adiponectin and HOMA-IR was tested and compared in both groups and in the whole sample by logistic regression.

Results: We evaluated 76 patients, 40 with obesity (52,6%), the mean age was $35,0\pm 9,5$ years, 75% female, and 65,8% had 25OHD insufficiency. Mean BMI was $22,9\pm 1,5$ and $34,4\pm 4,7\text{kg/m}^2$ among eutrophic or obese, respectively. There was no association between 25OHD levels and adiponectin or insulin resistance in obese and eutrophic patients. We only found an inverse association, independent of age and gender, between 25OHD and fat percentage measured by bioelectric impedance ($p=0.011$, $R^2=0.07$ and CI of the 0.90 to 0.99)

Conclusion: There was no association among vitamin D and the parameters studied for that population. There is still a lot to understand about the association among 25OHD, adiponectin and insulin resistance. The controversy of the theme remains, especially in that sample of the Brazilian population. Studies have showed that ethnic aspects and vitamin D receptor genetic polymorphisms could alter the relations between those variables. Future studies involving larger samples and more skin colors can be useful.

Key words: Vitamin D, adiponectin, obesity

Lista de Siglas e Abreviaturas

1,25(OH)₂D – 1,25 dihidroxivitamina D

25OHD – 25 hidroxivitamina D

AF – Atividade física

COEP – Comitê de Ética em Pesquisa

DM – Diabetes mellitus

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

EUA – Estados Unidos da América

HDL – Colesterol HDL

HOMA – IR – *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

Il-1 β – Interleucina 1 beta

Il-2 – Interleucina 2

Il-6 – Interleucina 6

Il-8 – Interleucina 8

Il-10 – Interleucina 10

IMC – Índice de massa corporal

IPAQ – Questionário Internacional de Atividade Física

KDa – Kilodalton

LDL – Colesterol LDL

MCP-1 - Proteína quimiotática de monócitos

MET – Medida da estimativa do equivalente metabólico

MG – Minas Gerais

NF- κ B – Fator de necrose tipo kappa B

P38quinase – Proteína quinase 38

PALC – Patologia clínica com acreditação

PPAR γ – Receptor γ ativado proliferador de peroxissomo

SBAC – Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

SBPC – Sociedade Brasileira de Patologia Clínica

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)

VDR– Receptor de vitamina D

VitD – Vitamina D

DsbA-L – Proteína disulfide ligante A oxidoreductase-like

ATP - Adenosina trifosfato

UCPs – Proteínas desacopladoras

SUMÁRIO

1. Apresentação.....	12
2. Introdução/Antecedentes científicos, relevância e justificativa da pesquisa..	13
2.1 Obesidade.....	13
2.2 Adiponectina.....	16
2.3 Vitamina D.....	18
2.4 Resistência à insulina.....	22
2.5 Obesidade, adiponectina e vitD.....	23
3. Objetivos.....	24
3.1 Objetivo geral.....	24
3.2 Objetivos secundários.....	24
4. Pacientes e métodos.....	24
4.1 Delineamento e Participantes.....	24
4.2 Cálculo Amostral.....	25
4.3 Aspectos Éticos.....	25
4.4 Detalhamento.....	26
4.4.1 Dados sociodemográficos e antropométricos.....	26
4.4.2 Avaliação Laboratorial.....	27
4.4.3 Exposição solar.....	29
4.4.4 Atividade Física.....	30
4.4.5 Análise Estatística.....	31
5. Artigo científico.....	33
6. Considerações finais.....	43
7. Referencias bibliográficas.....	45
8. Apêndice I – Protocolo de coleta de dados.....	56

9. Apêndice II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	61
10. Anexo I – Aprovação pelo Comitê de Ética em pesquisa.....	64
11. Formação da aluna.....	65

1. Apresentação

Esse volume se refere à dissertação de Mestrado desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Universidade Federal de Minas Gerais. Trata-se de estudo transversal que estudou associações entre a obesidade, a vitamina D, adiponectina e resistência à insulina.

A aluna Marina Carvalho Rassbach é médica nutróloga e o objetivo do estudo iniciou a partir de suas observações clínicas da alta prevalência da insuficiência de vitamina D em seus pacientes do consultório particular.

O volume contém:

- Antecedentes científicos e relevância da pesquisa
- Objetivos da dissertação
- Detalhamento dos métodos
- Artigo científico
- Considerações finais
- Apêndices e Anexos
- Formação da aluna

2.Introdução/Antecedentes científicos, relevância e justificativa da pesquisa

2.1 Obesidade

No mundo, a obesidade, afeta mais de 500 milhões de pessoas e sua incidência vem aumentando nas últimas décadas. Aproximadamente 3 milhões de mortes por ano no mundo podem ser atribuídas ao sobrepeso e à obesidade¹.

A obesidade pode ser considerada um importante problema de saúde pública no Brasil. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2015, 59% da população brasileira adulta apresentava excesso de peso e 20,8% obesidade, o que representa mais de 39 milhões de pessoas obesas². São considerados obesos, de acordo com a Organização Mundial de Saúde, os indivíduos com índice de massa corporal (IMC) maior que 30kg/m², embora o IMC reflita tanto gordura corporal total quanto massa muscular³.

O tecido adiposo atua como reservatório de energia e também como produtor de diversas substâncias biologicamente ativas, podendo ser considerado um órgão endócrino⁴. Está envolvido no mecanismo da resistência à insulina⁵ pela inflamação mediada por macrófagos⁶. Dentre as substâncias produzidas pelo tecido adiposo, as adipocinas vem merecendo destaque na literatura mundial como potenciais agentes de processos fisiológicos como homeostase energética, sensibilidade à insulina, angiogênese⁷, interação com o sistema renina angiotensina⁸, processos inflamatórios⁹ e anti-inflamatórios no organismo^{7; 10; 11}.

O tecido adiposo em excesso induz a desregulação na produção das adipocinas, aumentando a produção das inflamatórias⁹ e reduzindo as anti-inflamatórias. A obesidade tem sido considerada como um estado de inflamação crônica de baixo grau contribuindo para o desenvolvimento da resistência à insulina⁹, diabetes *mellitus*, doenças

cardiovasculares, dislipidemia, hipertensão arterial¹² e certos tipos de câncer. O tecido gorduroso encontra-se infiltrado por células inflamatórias, principalmente macrófagos que produzem citocinas¹³ como a interleucina 1 beta (Il-1 β) que contribui para a resistência à insulina relacionada à essa afecção. A Il-1 β estimula a produção de interleucina 6 (Il-6), interleucina 8 (Il-8), proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), substâncias sabidamente inflamatórias. Essas substâncias encontram-se aumentadas no tecido adiposo de indivíduos com obesidade¹⁴. Em especial o MCP-1, promove o recrutamento de monócitos levando à infiltração dessas células no tecido adiposo. A Il-6, no fígado, altera a ação da insulina, e no tecido adiposo, tem ação lipogênica⁴. A Il-8 é uma das quimiocinas responsáveis pelo recrutamento de neutrófilos para os tecidos¹⁵. O TNF- α pode estimular o MPC-1 e inibir a secreção de adiponectina¹¹, bem como reduzir a sensibilidade à insulina no músculo, fígado e tecido adiposo⁴. Ao mesmo tempo, encontra-se na obesidade uma redução das substâncias anti-inflamatórias como a adiponectina. *In vitro*, mostrou-se a redução dessa adipocina em culturas de adipócitos estimulados com Il-1 β ¹⁶.

Dados experimentais sugerem que a vitamina D (vitD) possa estar envolvida em efeitos regulatórios do tecido adiposo e do armazenamento de lipídeos e, portanto, participaria da patogênese da obesidade. O receptor de vitD (VDR) é expresso em adipócitos e sua expressão aumenta durante a adipogênese¹⁷. Entende-se por adipogênese, os estágios de maturação e diferenciação de um pré-adipócito em adipócito funcional. O VDR em contato com 1,25dihidroxitamina D [1,25(OH)₂D] inibe a adipogênese¹⁸. Em contraste, há um estudo que mostrou que a 1,25(OH)₂D promoveu adipogênese em pré-adipócitos humanos¹⁹. Essas diferentes ações da 1,25(OH)₂D na adipogênese parecem depender de qual estágio de diferenciação se encontram os adipócitos, sendo que o efeito inibitório ocorreria apenas em estágios iniciais^{18; 20}. Um experimento com animais sem o

VDR não mostrou acúmulo de gordura nos adipócitos o que sugeriu que a presença do VDR é necessária para o armazenamento de lipídeos¹⁸. Polimorfismos do gene de VDR estão associados à obesidade e ao maior potencial inflamatório. Dependendo da haplotipo expresso geneticamente, o indivíduo pode desenvolver um perfil de risco ou protetor contra a obesidade⁹. Análises genéticas mostraram que a vitD também participa do processo de apoptose da célula gordurosa, de modo que altas doses estimulam a apoptose e baixas doses a inibem²¹. O efeito apoptótico da vitD na célula adiposa é mediado pela regulação dos canais de cálcio ligados aos VDR. Ocorre um aumento sustentado do influxo de cálcio no início da sinalização do processo de apoptose. Depois, ocorre a ativação cálcio dependente de calpains e caspases que culminam na cascata da apoptose²². A vitD participa ainda do metabolismo de energia da célula adiposa através da regulação da expressão das proteínas desacopladoras (UCPs). UCPs são proteínas expressas na membrana interna da mitocôndria que participam na ligação de prótons aumentando o gasto energético da célula por reações com o adenosina trifosfato (ATP) e geração de calor. O aumento da expressão das UCPs leva a aumento de gasto de energia. A UCPs do tipo 1 estão presentes especialmente no tecido adiposo marrom²³ e as tipo 2 no tecido adiposo branco. A vitD reduz a expressão das UCP2²⁴. Portanto, a vitD poderia estar associada ao metabolismo da obesidade pelos seguintes processos metabólicos : pela adipogênese; pela participação no armazenamento de lipídeos; geneticamente, dependendo da expressão do gene de VDR; pela apoptose e pela redução da expressão de UCP2. Há estudos, no entanto, que descartam a associação genética entre vitD e obesidade^{25; 26}.

A perda de peso foi associada ao aumento da vitD, e acredita-se que isso possa estar envolvido na melhora da resistência à insulina pós emagrecimento²⁷. O emagrecimento leva ao aumento da secreção e sensibilidade à insulina e melhora a função

da célula β -pancreática^{28; 29}. Após a perda de peso, ocorre também melhora dos parâmetros inflamatórios e de adiponectina que também foram associados à melhora da resistência à insulina^{30 31}. No entanto, há dados controversos com relação a isso. Em um trabalho, o aumento de vitD, pós emagrecimento, não mostrou associação com a melhora da resistência à insulina²⁹.

2.2 Adiponectina

A adiponectina é uma adipocina com propriedades de proteção vascular, angiogênese^{32;33}, efeitos anti-inflamatórios¹⁰ e participa da síntese de insulina³⁴. Seu gene se localiza no cromossoma 3q27, um sítio associado tanto à suscetibilidade à obesidade, quanto ao diabetes mellitus (DM) tipo 2^{35; 36}. Apresenta-se na forma de uma proteína plasmática de 30KDa, secretada especificamente pelo tecido adiposo³⁷. Circula em forma de trímeros (adiponectina de baixo peso molecular), ou em formas mais complexas como hexâmeros ou oligômeros (adiponectina de médio ou a de alto peso molecular respectivamente)³⁸. Seus níveis séricos vão de 3 a 30 μ g/mL³³ e podem sofrer variação de acordo com a idade, sexo, estado puberal, exercícios físicos, e medicamentos³⁷. Em geral, se estabilizam após os 16 anos de idade³⁹. Sua transcrição e secreção sofrem regulação de receptores nucleares e de vitaminas, dentre eles os receptores de vitD¹¹ e de PPAR γ ⁴⁰, vitaminas E, K e licopeno. Dentre eles, o PPAR γ parece ser o principal regulador da síntese dessa adipocina⁴¹. A hipoadiponectinemia correlaciona-se fortemente com a obesidade e suas comorbidades. Os níveis de adiponectina encontram-se reduzidos em indivíduos com obesidade⁴², portadores de resistência à insulina⁴³, DM tipo 2^{10; 44} ou doenças cardiovasculares⁴⁵. Sua concentração plasmática tem associação inversa com o IMC⁴⁶. A secreção de adiponectina aumenta com a redução do IMC e diminui na

obesidade⁴⁷. Em altas concentrações, ela se associa à melhora da sensibilidade à insulina e menor probabilidade de desenvolver DM tipo 2^{10; 48}.

A adiponectina está envolvida na regulação do metabolismo lipídico e da glicose. Ela se acopla aos receptores celulares 1 e 2 que atuam na síntese de insulina levando ao aumento da captação de glicose muscular e indução de oxidação dos ácidos graxos nas células musculares e adiposas⁴⁹. No fígado, estimula ainda a β -oxidação, suprime a neoglicogênese, bem como a captação de ácidos graxos e lipogênese hepática. No pâncreas, contribui para a sobrevivência da célula pancreática reduzindo a apoptose e contribuindo para a síntese de insulina⁵⁰.

Nos vasos sanguíneos, a adiponectina altera a ação das citocinas como TNF- α , suprime a geração de ânion superóxido na célula endotelial eliciado por LDL oxidada, aumenta a produção de óxido nítrico³⁶ e reduz a apoptose³³. A apoptose da célula endotelial pode levar a um estado pró-trombótico pela liberação dos *debris* celulares na corrente sanguínea ativando a cascata de coagulação. Assim, a prevenção da apoptose contribui para um estado anti-aterogênico e anti-inflamatório, uma das ações da adiponectina. Pode haver correlação positiva entre adiponectina, HDL e 25OHD⁵¹ e correlação negativa com a pressão arterial, glicemia de jejum e LDL⁴⁷.

Além da correlação negativa com a obesidade, as concentrações séricas de adiponectina se correlacionam de forma positiva com as concentrações séricas de vitD³⁷. Essa correlação foi encontrada em pessoas com obesidade e IMC > 38,4kg/m² ou percentual de gordura > 45,1%⁵². A associação entre elas fica mais provável quando se pode demonstrar que aumentos nas concentrações séricas de vitD foram seguidos por tendência a aumento nas concentrações séricas de adiponectina. Essa tendência ocorreu mais em pacientes com circunferência do abdome $\geq 126,5$ cm, o que sugere que a distribuição da gordura corporal e a gravidade da obesidade possam ter interferência na

relação entre 25OHD e adiponectina⁵². Entretanto, em outros trabalhos, não se encontrou associação, e ela pode, portanto, ser considerada controversa⁵³. O estudo META-health sugere que a associação entre adiponectina e vitD possa ser dependente da origem étnica, sexo e IMC⁵⁴. Um estudo com tecido adiposo incubado com vitD mostrou a redução de substâncias inflamatórias como IL-6, IL-8 e MCP-1, mas não houve alteração nos níveis de adiponectina¹³. Em brasileiros entre 19 e 60 anos com sobrepeso (IMC acima de 25kg/m²), selecionados randomicamente em São Paulo, encontrou-se associação negativa entre o nível sérico de adiponectina e de vitD, sem diferença entre os sexos⁵⁵.

2.3 Vitamina D

A principal fonte de vitD advém da exposição solar e cerca de 10 a 20% de fontes dietéticas, principalmente de peixes⁵⁶. Seu metabolismo se inicia com a formação do colecalciferol, sintetizado pela pele a partir do 7-deidrocolesterol e ergocalciferol. No fígado, ele é metabolizado em 25-hidroxivitamina D (25OHD) ou calciferol pela 25-hidroxilase. Essa é a forma normalmente dosada no sangue periférico por ter uma meia vida longa (um a três meses) e ser a mais estável. Nos rins, a vitD adquire a forma biologicamente ativa após uma segunda hidroxilação e então é formada a 1,25-dihidroxivitamina D [1,25(OH)₂D] ou calcitriol. Essa é a forma ativa da vitD, mas tem meia vida muito curta (< 4 horas) e apresenta-se em níveis séricos muito inferiores aos da 25OHD. Uma vez na forma de 1,25(OH)₂D, ela se acopla aos VDR que são expressos por vários tipos de tecidos e células de modo que estima-se que 3% do genoma humano possa sofrer regulação pela vitD⁵⁷.

A produção de 1,25(OH)₂D é estimulada pelo paratormônio e inibida pelo cálcio. Os níveis sanguíneos de vitD devem ser mantidos acima de 30ng/ml, segundo diretrizes internacionais de osteoporose, por estarem associados ao efeito máximo de supressão do

paratormônio^{58; 59}. Finalmente, a vitD é degradada pela 24-hidroxilase em ácido calcitroico e outros metabolitos inativos⁶⁰. Ela é armazenada principalmente no tecido adiposo e músculos e este estoque depende da concentração plasmática de vitD. Sua liberação é lenta e dependente da sua concentração no tecido gorduroso⁶¹. Além de serem encontradas no fígado, as enzimas 25-hidroxilase e 1 α -hidroxilase, responsáveis pela ativação da vitD, bem como a 24-hidroxilase, que atua no seu catabolismo, também foram encontradas, em humanos, no tecido adiposo subcutâneo e visceral⁶², sugerindo um efeito parácrino da vitD nesse tecido.

A vitD atua no metabolismo do cálcio, no entanto, a presença de VDR em tecidos que não estão envolvidos nesse metabolismo, indicam que ela participa de outros mecanismos fisiológicos. Os VDR podem, por exemplo, ser encontrados em adipócitos⁶³, células dendríticas, macrófagos, linfócitos ativados, indicando importante papel dessa vitamina na modulação das respostas inflamatórias, bem como no metabolismo do tecido gorduroso. O VDR é um membro da família dos receptores de hormônios esteroidais que funciona como ativador da transcrição de diversos genes. Ele possui 3 domínios, o N-DNA ligante, o C-terminal ligante e um domínio flexível que une os dois primeiros. Esses domínios permitem a co-ativação, pela vitD, na indução ou repressão de genes alvo⁶⁴. Polimorfismos nos genes desses receptores podem se associar a resistência à insulina e à obesidade^{9; 65}. Através da mediação do influxo de cálcio celular, a vitD participa da regulação da secreção de insulina na célula β - pancreática²² e da redução da resistência à insulina. Ao se acoplar ao VDR, a vitD leva ao rápido influxo de cálcio na célula, tanto pela entrada do cálcio extracelular quanto pela mobilização dos estoques intracelulares⁶⁶. Essa oscilação dos níveis de cálcio leva à secreção pulsátil de insulina que é proporcional aos níveis de 1,25(OH)₂D, independente da concentração plasmática de glicose⁶⁷. Nas células do tecido adiposo, a regulação da entrada de cálcio mediada pela vitD pode

estimular a apoptose. Nas células secretórias do pâncreas, não exerce esse efeito. O influxo de cálcio na célula gordurosa ativa as calpains e caspases cálcio dependentes que desencadeiam o mecanismo apoptótico^{22; 66}.

Os efeitos da perda de peso no metabolismo da vitD mostraram manutenção da expressão de VDR e aumento da concentração sérica de vitD independente da ingestão da mesma⁶². Estudos com animais sugerem que o VDR pode ter sinalizações diferentes na obesidade dependendo do sexo⁶⁸.

A prevalência de indivíduos com carência de vitD é pandêmica⁶⁹ sendo que no Brasil, ela varia de 42% a 70% em alguns grupos da população^{70; 71; 72; 73; 74}. A prevalência da hipovitaminose D aumenta de acordo com latitude, idade, sedentarismo, limitação de exposição solar, bem como uso de filtros solares. A insuficiência de vitD está associada não só a problemas ósseos, mas também à síndrome metabólica, diabetes e resistência à insulina^{35; 69; 75; 76}. Ao mesmo tempo, alta sensibilidade à insulina foi associada a altas concentrações séricas de vitD.

A vitD está inversamente associada à obesidade^{77; 78; 79; 80; 81; 82; 83; 84} e à inflamação crônica^{36; 76}. Os mecanismos de associação entre essas afecções ainda não estão completamente elucidados. Ainda não há comprovação de que a insuficiência de vitD seja um fator causal no desenvolvimento da obesidade, mas acredita-se que a obesidade possa estar envolvida na insuficiência de vitD^{25; 85}. Alguns dos mecanismos que podem explicar a associação entre hipovitaminose D e obesidade são o sequestro ou hiperdiluição da vitD no extenso reservatório de tecido adiposo, menos exposição solar e atividades físicas desses indivíduos ao ar livre. Nos indivíduos com obesidade, há ainda menor taxa de conversão da vitamina em 25OHD, devido ao feedback negativo por elevação da 1,25(OH)₂D e PTH que ocorre nessa população e por menor expressão das enzimas que ativam a vitD (25 hidroxilase e 1 α -hidroxilase)⁶². A formação de 25OHD está reduzida

em pacientes com doença hepática não alcoólica, que é uma afecção comum entre os portadores de obesidade⁸⁶. O tecido adiposo em excesso também pode apresentar um aumento da enzima 24-hidroxilase, apresentando, portanto, maior catabolismo da vitD⁸⁷. É importante ressaltar que a suplementação da vitD não reverte o quadro de obesidade^{57; 88}, no entanto, talvez possa auxiliar a prevenir a obesidade⁸⁵. A perda de peso mostrou resultados inconsistentes com relação à concentração sérica de vitD que podem ir do estado de aumento de 25OHD após o emagrecimento^{27; 79}, até a manutenção dos valores de vitD⁸⁹. Ao mesmo tempo, um trabalho longitudinal sugeriu que a baixa vitD em indivíduos com obesidade pode não ser secundária à obesidade, no entanto, pode precedê-la⁷⁸. Desse modo, ainda não se pode citar que existe relação de causa e efeito entre a vitD e a obesidade.

Os mecanismos que explicam a associação entre hipovitaminose D e resistência à insulina ainda estão sendo investigados. Sabe-se que o cálcio é necessário para a adequada secreção de insulina, o que leva a sugestão de que a vitD pode estar envolvida na manutenção desse processo. A célula β -pancreática expressa VDR. Eles podem estar envolvidos com sensibilidade à insulina e intolerância à glicose⁵⁷. Foi encontrada correlação negativa entre vitD, resistência à insulina pelo *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance* (HOMA-IR) e IMC⁵¹. As propriedades anti-inflamatórias da vitD poderiam contribuir na redução das citocinas inflamatórias e no aumento das anti-inflamatórias, como a adiponectina, levando à melhora da resistência à insulina⁹⁰.

As células do sistema imunológico e do tecido adiposo expressam, além dos VDR, as enzimas que transformam a vitD para a forma ativa. Sugere-se que haja, deste modo, um efeito parácrino da vitD sobre o sistema imunológico e sobre o tecido adiposo⁵⁵. Essas enzimas de conversão da vitD em sua forma ativa no tecido adiposo têm sua expressão aumentada após a perda de peso⁶². Além disso, a vitD *in vitro*, quando submetida à

incubação com adipócitos, reduz a liberação de MCP-1, IL-8 e IL-6 e inibe NF-κB e diminui a migração de monócitos¹⁵. No sistema imunológico, a vitD tem efeitos imunorregulatórios como modulação da proliferação e função dos linfócitos T⁹¹, supressão de citocinas inflamatórias, quimiocinas, prostaglandinas e inibição dos sinais da P38quinase⁹² e NF-κB⁹³. O receptor *toll-like*, responsável por iniciar a cascata inflamatória que leva a ativação e transcrição de fatores como o NF-κB e citocinas⁹⁴, tem sua expressão reduzida pela vitD⁹⁵. Os receptores *toll-like* encontram-se aumentados no obeso e em pessoas com sobrepeso⁹⁶. A concentração sérica de vitD tem associação negativa com IL-6 e TNF-α em indivíduos eutróficos⁵⁵. De modo controverso, um estudo com indivíduos portadores de obesidade, a vitD não mostrou efeitos no tecido adiposo em marcadores inflamatórios¹³. No entanto, sugere-se que a vitD exerce um efeito anti-inflamatório no tecido adiposo¹⁵ podendo esse ser um dos mecanismos de redução do risco de resistência à insulina. Estudos com suplementação de VitD mostraram redução de TNF-α, sem alteração de IL-6^{97; 98}. Um estudo com suplementação de vitD em indivíduos com sobrepeso ou obesidade e DM tipo 2 mostrou redução de TNF-α, IL-6, proteína amiloide A e interleucina 10 (IL-10), sem alterar interleucina 2 (IL-2)⁹⁹. In vitro, o tecido adiposo incubado com 1,25(OH)₂D reduziu a expressão de substâncias inflamatórias como MCP-1, IL-6, IL-8¹³.

Existem indícios de que a suplementação de vitD e cálcio possa levar a uma tendência de aumento de adiponectina, normalização da insulina plasmática, redução da glicemia, redução da gordura retroperitoneal e redução de peso em modelos animais de obesidade¹⁰⁰. Essa perda de peso foi mediada por aumento da calpaina e 12-caspase, substâncias envolvidas no processo de apoptose da célula gordurosa¹⁰⁰.

2.4 Resistência à insulina

A resistência à insulina ocorre por uma resposta celular inadequada a um estímulo de insulina, seja a nível do receptor ou por uma interrupção da transmissão pós sinalização. Isso resulta em uma lipólise inapropriada, aumento de ácidos graxos livres e triglicérides, redução da captação de glicose no musculo esquelético, e altas taxas de neoglicogenese hepática mesmo no estado alimentado. A resistência à insulina contribui para maior risco de doenças cardiovasculares e diabetes. A insuficiência de vitD tem sido relacionada com a resistência à insulina, bem como a redução de adiponectina^{39; 51}.

A medida do HOMA-IR foi primeiro desenvolvida em 1985 como uma tentativa de se estimar o risco de resistência à insulina de forma mais prática do que os métodos pré-estabelecidos como clamp euglicêmico hiperinsulinêmico, clamp hiperglicêmico e o “Continuous infusion of glucose with model assessment” conhecido como teste CIGMA”. Sua fórmula foi determinada a partir de um modelo matemático computadorizado que comparou os níveis de glicemia e insulina em jejum com os 3 testes citados. Quando comparado com essas 3 técnicas complexas e inviáveis para serem usadas em larga escala, o HOMA-IR se mostrou um bom preditor do risco de resistência à insulina e, a partir de então, começou a ser empregado para este fim.

2.5 Obesidade, adiponectina e vitamina D

Ainda não se sabe ao certo os mecanismos fisiopatológicos da associação entre obesidade, hipovitaminose D e resistência à insulina. A adiponectina poderia ser um elo de ligação entre eles. Walker et al (2014) mostraram a associação negativa da adiponectina em crianças obesas com insuficiência de vitD e uma resposta de regulação positiva dessa adipocina após um ano de suplementação com vitD3. Há evidências da associação positiva entre a adiponectina e 25OHD^{90; 101}, em especial nos indivíduos com obesidade⁵². *In vitro*, a vitD levou a um aumento da proteína que regula a multimerização da adiponectina (proteína disulfide ligante A oxidoretutase-like, DsbA-L)³⁵. A

suplementação de vitD em homens com obesidade central e risco de resistência à insulina mostrou melhora nos parâmetros de sensibilidade à insulina pós prandial¹⁰². Em outros estudos esse efeito não pôde ser observado^{103; 104} e não houve melhora dos níveis de adiponectina após a suplementação de vitD em pessoas portadoras de obesidade¹⁰⁵.

Existem estudos envolvendo o metabolismo da vitD e sua correlação com obesidade, resistência à insulina e adiponectina apenas em populações não brasileiras^{8; 37; 90}. Novas perspectivas de prevenção e tratamento podem surgir com o maior conhecimento da associação entre esses fatores.

A relevância desse estudo está na possibilidade de entender melhor as relações entre a vitD, marcadores de adiposidade, a adiponectina e a resistência à insulina entre indivíduos brasileiros, com obesidade e eutróficos, considerando a exposição solar e atividade física.

3.0 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo correlacionar as concentrações séricas de 25OHD, a concentração sérica de adiponectina e a resistência à insulina em pacientes com obesidade e eutróficos.

3.2 Objetivos secundários

- Classificar pacientes de acordo com as concentrações séricas de vitD em insuficientes ou normais e estimar a prevalência de cada grupo, entre os indivíduos com obesidade e eutróficos.

- Avaliar, após ajustes pelas variáveis de confusão, a associação das concentrações séricas de vitD com adiponectina e resistência à insulina, na amostra total, em portadores de obesidade e eutróficos.

- Investigar se há associação das concentrações séricas de vitD, com a circunferência do abdômen e com o percentual de gordura avaliado pela bioimpedância, na amostra total, em portadores de obesidade e eutróficos.

4.0 Pacientes e métodos

4.1 Delineamento e Participantes

Trata-se de um estudo transversal descrevendo o comportamento da concentração plasmática de vitD em dois grupos: pacientes com obesidade e pacientes eutróficos. A amostra foi de conveniência e foram recrutados pacientes adultos entre 18 e 60 anos de ambos os sexos, que procuraram espontaneamente o atendimento médico privado, na especialidade nutrologia, na cidade de Belo Horizonte- MG, Brasil, entre julho de 2015 e fevereiro de 2017. O recrutamento e coleta de dados foi feito por uma única pesquisadora (MCR), e os critérios de inclusão foram: indivíduos com IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m², classificados como eutróficos, e IMC \geq 30kg/m², classificados como obesos e que se declararam ser de cor de pele auto referida¹⁰⁶ como branca.

Foram excluídos os pacientes que não concordaram em assinar o termo de consentimento livre e esclarecido, aqueles de cor de pele auto referida como qualquer outra diferente de branca, além de portadores de insuficiência renal (definida como creatinina sérica \geq 2,0mg/dl, dosada no sangue periférico), *diabetes mellitus* tipo 1 e 2, doença hepática crônica, câncer (exceto câncer de pele não-melanoma), doenças cardiovasculares, síndrome de má absorção intestinal, pós-operatório de cirurgia

bariátrica, uso de medicamentos que pudessem alterar as concentrações séricas de insulina ou de adiponectina (teofilina, fenitoina, betabloqueadores, diuréticos, inibidores do sistema renina angiotensina), uso de medicamentos para perda de peso, para diabetes ou resistência à insulina, uso de vitD nos últimos 6 meses e gestantes. Foram excluídos, posteriormente, os pacientes que assinaram o termo de consentimento, mas que não coletaram o sangue para a pesquisa ou que tiveram problemas no processamento das amostras de sangue.

4.2 Cálculo Amostral

Como resultado do cálculo amostral, 38 indivíduos foram necessários em cada um dos dois grupos (portadores de obesidade e eutróficos) para se obter um poder de 81%. Para o cálculo, usou-se o teste z bilateral (com uso da transformação z de Fisher) com um nível de significância de 0,05. Os cálculos foram feitos usando o software PASS (NCSS, versão 11, EUA).

3.2 Aspectos Éticos

Todos os participantes foram voluntários, e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 2). A pesquisa teve aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais – COEP- CAAE 42364915.0.0000.5149. (Anexo I).

4.3 Detalhamento

4.4.1 Dados sociodemográficos e antropométricos

A avaliação dos pacientes foi composta por dados clínicos (anamnese e questionário de horas de exposição solar por dia, uso de filtro solar e questionário de avaliação da atividade física – Questionário Internacional de Atividade Física versão curta em português 2005 (IPAQ) , dados antropométricos [peso, altura, índice de massa corporal ($IMC = \text{Peso} / \text{Altura}^2$) e circunferência abdominal], avaliação da composição corporal pela bioimpedância (percentagem de gordura corporal) e dados laboratoriais (dosagem de 25OHD, adiponectina, insulina, glicemia, colesterol total e frações e creatinina).

Foi aplicado um questionário, auto respondido sem ajuda, a cada paciente com as seguintes variáveis: a) sócio demográficas [sexo, idade, escolaridade (anos de estudo) e cor da pele autorreferida¹⁰⁶], b) história selecionada de comorbidades (hipertensão arterial, *diabetes mellitus*, insuficiência renal, gravidez e câncer), c) uso de suplementos de vitD ou outras medicações, d) recordatório de alimentação, e) horas de exposição solar e atividades ao ar livre¹⁰⁷, f) uso de filtro solar e g) Questionário Internacional de Atividade Física versão curta 2005 (IPAQ)^{108; 109} para avaliação de atividades físicas no laser e deslocamento (Apêndice 1).

Todos os pacientes foram avaliados pela mesma profissional, médica, membro da pesquisa (MCR), devidamente treinada. Os participantes foram pesados sem sapatos e com roupas leves em balança de plataforma Tristar[®] (capacidade até 200 kg, modelo WG2420, Holanda). A altura foi aferida com os pacientes descalços e eretos, com os pés paralelos e com calcanhares, tronco e cabeça tocando o estadiômetro (acurácia de 0,5 cm). O índice de massa corporal foi calculado a partir do peso e altura do paciente [$IMC = \text{peso}(\text{kg}) / \text{altura}^2(\text{m}^2)$]³. Seguindo a Organização Mundial de Saúde, foram considerados eutróficos aqueles com IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m² e obesos aqueles com

IMC maior ou igual a 30 kg/m^2 ¹¹⁰. Foi excluída a faixa de IMC de sobrepeso ($\text{IMC} \geq 25$ a $29,9 \text{ kg/m}^2$)³.

Para a medida da bioimpedância foi usado o equipamento Tristar (WG2422, Holanda). Os pacientes estavam em jejum de alimentos e bebidas nas 4 horas que antecederam o exame, sem consumo de bebidas alcólicas, sem o consumo excessivo de alimentos ricos em cafeína e sem atividade física intensa no dia anterior ao exame. Os pacientes do sexo feminino não estavam em período menstrual. Os pacientes não se apresentavam em estado febril no dia do exame. Objetos pessoais metálicos foram removidos (anéis, cordões, pulseiras, relógios metálicos). A medida do percentual de gordura corporal foi considerada no estudo.

A circunferência do abdome foi medida com fita métrica inelástica no ponto médio entre a margem da última costela e a crista ilíaca, estando o paciente em posição ortostática¹¹¹.

4.4.2 Avaliação Laboratorial

A avaliação laboratorial foi realizada com coletas de sangue em laboratório de patologia clínica com acreditação PALC/SBPC (Sociedade Brasileira de Patologia Clínica) e DICQ/SBAC (Sociedade Brasileira de Análises Clínicas), em Belo Horizonte, Brasil (Laboratório São Marcos). Amostras de cinco mililitros de sangue periférico foram colhidas em antebraço em tubos contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA, 1 mg/mL de sangue), com a recomendação de jejum mínimo de 12 horas e máximo de 14 horas e abstenção de bebidas alcólicas por, pelo menos, 72 horas. Foram dosados glicose, insulina, 25OHD, colesterol total, colesterol HDL (HDL), colesterol LDL (LDL), triglicérides, creatinina e adiponectina. A dosagem de adiponectina foi realizada em amostra de soro previamente congelada a -20°C e armazenada por período máximo de 12

meses, sem prejuízo à qualidade do teste conforme manual do kit usado. Foi feito o teste de ELISA sanduíche para adiponectina humana, do fabricante MyBiosource® (Lavadora e leitora de ELISA – Produzidas na China para Bioeasy Brasil), feito em duplicidade. Os resultados foram obtidos em ng/mL. O coeficiente de variação do teste não foi ensaiado pelo fabricante. Foi feita uma calibração prévia do kit, conforme recomendação do fabricante. A análise dos resultados foi feita com o valor obtido pelo cálculo da média entre os dois resultados de adiponectina encontrados para cada paciente. As amostras hemolizadas foram devidamente descartadas.

Para a dosagem dos demais exames foram usados um tubo de sangue em EDTA para cada exame. Para dosagem de glicemia de jejum foi usada a técnica colorimétrica através de hexoquinase e glicose 6 fosfato desidrogenase, ADVIA Chemistry® Glucose Hexoquinase 3 (ADVIA 2400 – Produzido no Japão para Siemens EUA); de insulina e 25OHD a técnica de quimioluminescência, Centaur Siemens® (ADVIA Centaur XP – Produzido na Irlanda para Siemens EUA); de colesterol total, a técnica enzimática com ponto final Trinder, ADVIA Chemistry Colesterol (ADVIA 2400 – Produzido no Japão para Siemens EUA); de HDL, o método enzimático com eliminação pela catalase, ADVIA Chemistry® Colesterol HDL Direto (ADVIA 2400 – Produzido no Japão para Siemens EUA); de triglicérides, o método enzimático com 3 fases e ponto final em Trinder, ADVIA Chemistry® Triglicerídeos (ADVIA 2400 – Produzido no Japão para Siemens EUA); e da creatinina, a técnica colorimétrica através da reação de Jaffe modificada, ADVIA Chemistry® Creatinine (ADVIA 2400 – Produzido no Japão para Siemens EUA). As dosagens foram feitas segundo as especificações dos fabricantes. O LDL foi calculado pela equação de Friedewald¹¹².

Para finalidade de análise, a 25OHD foi dividida nas categorias “normal” (≥ 30 ng/ml) e “insuficiente” (< 30 ng/ml) de acordo com os critérios estabelecidos pela

Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia⁵⁹. Os dados da 25OHD foram classificados de acordo com a estação do ano em que foram coletados.

A resistência à insulina foi avaliada pelo índice *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance* (HOMA-IR) calculado a partir da fórmula: [Insulina (mUI/mL) x glicemia (mg/dL) x 0.05551] / 22,5¹¹³.

Os dados da coleta de sangue foram divididos, de acordo com a estação do ano em que ocorreram, em: verão (21 dezembro a 20 de março), outono (21 de março a 20 de junho), inverno (21 de junho a 20 de setembro), primavera (21 de setembro a 20 de dezembro).

4.4.3 Exposição solar

A exposição solar foi avaliada de acordo com um questionário auto respondido de média de horas de sol por dia considerada pelo paciente:

Menos de 1h; 1 a 2 h; 3 a 4 h ou > de 4 horas. As respostas “<1” ou “1 a 2h” foram agrupadas em “rara exposição” e os demais em “frequente exposição”.

Uso de filtro solar foi avaliado da seguinte forma:

Diariamente várias vezes ao dia; diariamente uma vez ao dia; as vezes, só quando me exponho ao sol; raramente ou nunca.

Para análise dos dados, os pacientes que responderam “diariamente várias vezes ao dia” ou “diariamente uma vez ao dia” foram agrupados em um só grupo chamado “frequente” e as demais respostas foram agrupadas com a denominação “raro”.

Foi questionado a respeito de atividades ao ar livre com regularidade.

4.4.4 Atividade física

A atividade física (AF) no lazer foi avaliada através das respostas do IPAQ (Questionário Internacional de Atividade Física versão curta 2005)^{108; 109} e categorizada como leve, quando o paciente não pratica nenhuma atividade ou foi insuficiente para atender as outras categorias; moderada, quando se pratica 3 ou mais dias de atividade vigorosa por, pelo menos, 20 minutos/dia ou, 5 ou mais dias de intensidade moderada e/ou caminhada de, pelo menos, 30 minutos/dia, ou 5 ou mais dias de qualquer combinação de caminhada, atividades de intensidade moderada ou vigorosa ou de atividades de intensidade que alcancem, no mínimo, 600 MET-minutos/semana; e vigorosa, quando se pratica atividade vigorosa por, pelo menos, 3 dias e se acumula, no mínimo, 1500 MET-minutos/semana ou 7 ou mais dias de qualquer combinação de caminhada, AF moderada ou vigorosa com acúmulo de, pelo menos, 3000 MET-minutos/semana (sendo MET a medida da estimativa do equivalente metabólico calculada por somatória de MET-minuto de caminhada, atividade moderada e vigorosa). Para o cálculo de MET-minuto para caminhada usou-se a fórmula $\text{MET-min} = 3,3 \times \text{tempo}(\text{min}) \times \text{número de dias de semana}$; para o MET-minuto de atividade moderada, $\text{MET-min} = 4,0 \times \text{tempo}(\text{min}) \times \text{número de dias de semana}$; para o MET-minuto de atividade vigorosa, $\text{MET-min} = 8,0 \times \text{tempo}(\text{min}) \times \text{número de dias de semana}$ ¹¹⁴.

4.4.5 Análise Estatística

As variáveis contínuas foram descritas pela média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil, dependendo da distribuição dos dados ser normal ou não, e variáveis qualitativas pelas proporções. O teste Shapiro Wilk e histogramas foram usados para verificar a hipótese de normalidade gaussiana das variáveis contínuas. Para verificar o coeficiente de correlação entre as variáveis contínuas foram utilizados os testes de Pearson ou Spearman, dependendo da distribuição dos dados ser normal ou não. Para

verificar a associação entre as variáveis categóricas foi usado o teste qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher, conforme indicado. Para verificar a hipótese de associação entre variáveis contínuas nos grupos (VitD - níveis normais *versus* insuficientes), foi aplicado o teste paramétrico t-Student, ou o teste não-paramétrico Mann Whitney, dependendo da distribuição dos dados ser normal ou não. Foi feita regressão logística (concentração sérica normal *versus* insuficiente) e regressão linear entre a concentração de vitD, adiponectina e resistência à insulina estimada pelo HOMA-IR, circunferência da cintura e percentual de gordura corporal pela bioimpedância, com ajustes para as demais variáveis em que se encontrou P menor de 0,2 nas análises univariadas. Foi testada a colinearidade das variáveis. Para o artigo optou-se pela descrição dos resultados apenas pela regressão logística.

O banco de dados foi montado em planilhas Excel (Microsoft, 2013, EUA) e as análises realizadas através do software SPSS (IBM, versão 19, EUA) e STATA™ versão 13. O nível de significância das análises foi de $p < 0,05$.

A hipótese nula foi definida como a de que não existe correlação entre a vitD em portadores de obesidade e em eutróficos com adiponectina e resistência à insulina.

5. Artigo científico

Abaixo, o artigo publicado na revista *Clinical Nutrition Experimental*



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Clinical Nutrition Experimental

journal homepage: <http://www.clinicalnutritionexperimental.com>



Methodology

Is the association between vitamin D, adiponectin, and insulin resistance present in normal weight or obese? A pilot study

Marina Carvalho-Rassbach ^{a,*}, Jacqueline Isaura Alvarez-Leite ^b,
Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz ^c

^a Postgraduate Student of Saúde do Adulto, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Brazil

^b Department of Biochemistry and Immunology, UFMG, Brazil

^c Department of Internal Medicine, UFMG, Endocrinology and Metabolism Unit, Hospital das Clínicas, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 July 2018

Accepted 11 October 2018

Available online xxx

Keywords:

Obesity

Vitamin D

Adiponectin

Insulin resistance

Vitamins

Abdominal fat

SUMMARY

Objective: Obesity is classically associated with vitamin D deficiency. The aim of this study was to investigate the association of vitamin D with serum adiponectin concentration and insulin resistance in normal weight and obese individuals.

Research methods and procedures: Cross-sectional analysis was performed in 76 participants without diabetes (40 obese and 36 normal weight) from a convenience sample of a health counseling center in Belo Horizonte, MG, Brazil. All participants self-reported their skin color as white. Body weight and height were used to calculate body mass index (BMI). Serum insulin, glycemia, vitamin D (25OHD), and adiponectin were evaluated after 12 h fasting. Body fat percentage by electric bioimpedance and waist circumference were analyzed. Pearson's or Spearman's correlation coefficients were calculated. Age- and gender-adjusted associations by multivariate logistic regression were used. Multiplicative interaction terms between 25OHD/adiponectin and BMI were calculated.

Results: Participant's mean age was 35 ± 9.5 years; 75% were female, and 65.8% were vitamin D insufficient (25OHD < 20 ng/mL). The mean of 25OHD was 28.4 ± 8.6 ng/mL, median of adiponectin was 204 ng/L, and the median of Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) was 2.2. There was no association

* Corresponding author. Postgraduate Program, Faculty of Medicine, R. Rodrigues Caldas 670, 14 Floor, Belo Horizonte, MG 30190-120, Brazil.

E-mail address: marina40677@yahoo.com.br (M. Carvalho-Rassbach).

<https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2018.10.004>

2352-9393/© 2018 The Authors. Published by Elsevier Ltd on behalf of European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Please cite this article in press as: Carvalho-Rassbach M, et al., Is the association between vitamin D, adiponectin, and insulin resistance present in normal weight or obese? A pilot study, Clinical Nutrition Experimental (2018), <https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2018.10.004>

between 25OHD status, adiponectin, and HOMA-IR in total sample or among obese or normal weight individuals. After adjustments, there was an association between 25OHD insufficiency and body fat percentage (odds ratio = 0.94; confidence interval 95% = 0.88 to 0.99, $p = 0.04$) in the total sample. BMI did not influence the association between 25OHD and adiponectin.

Conclusion: There was a negative association between fat percentage and 25OHD status, but there were no associations between 25OHD, adiponectin, and insulin resistance in this sample. Further studies are needed to understand these associations in other populations.

© 2018 The Authors. Published by Elsevier Ltd on behalf of European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introduction

Obesity is a worldwide health problem that affects more than 500 million people, and its incidence has been increasing in recent decades. Approximately 3 million deaths per year worldwide can be attributed to overweight and obesity [1]. According to the Brazilian Institute of Geography and Statistics, in 2015, 59% of the Brazilian population are overweight and 20.8% are obese [2].

Adipose tissue acts as a reservoir of energy and produces biologically active substances, and it can be considered an endocrine organ. It is also involved in insulin resistance [3] mediated by macrophage inflammation [4]. The adipokines, produced by the adipose tissue, can participate in insulin sensitivity and in many inflammatory and anti-inflammatory processes [5–7]. Obesity, as a state of low-grade inflammation, could contribute to insulin resistance. Adiponectin levels can negatively correlate with obesity and insulin resistance and positively with vitamin D (25OHD) levels [8]. Adiponectin contributes to increasing muscle glucose uptake and oxidation induction of fatty acids in muscle and fat cells [9]. In the liver, adiponectin stimulates the β -oxidation, suppresses neoglycogenesis and the uptake of fatty acids, and lipogenesis. In the pancreas, 25OHD reduces apoptosis and contributes to the synthesis of insulin [10]. Therefore, it could help minimize the insulin-resistance mechanisms. However, the association between 25OHD and adiponectin is controversial [11]. In overweight Brazilians, a negative correlation of adiponectin and 25OHD was found [12]. Other researchers found a positive [8,13] or no association [11] between these parameters.

Like obesity, 25OHD insufficiency is pandemic [14]. 25OHD receptors are present in the membrane of the adipocytes and can be involved in adipogenesis [15]. Evidence exists of a negative association between 25OHD levels, insulin resistance, and body mass index (BMI) [16]. Vitamin D mediates the influx of calcium in pancreatic β -cell and can be involved in the regulation of insulin secretion, contributing to reduce insulin resistance [17]. The mechanisms of the association between obesity and 25OHD insufficiency are not well elucidated. There are inconsistencies in weight loss leading to higher levels of 25OHD [18]. While some studies show that polymorphisms of the Vitamin D receptor (VDR) could be associated with obesity and inflammatory profile [5], and 25OHD could contribute to fat cell apoptosis, others deny the genetic association between 25OHD and obesity [19,20].

The pathophysiologic mechanisms of the association between hypovitaminosis D, obesity, and insulin resistance are unknown. Adiponectin could be a link between them. Walker et al. showed a negative association of adiponectin in children with obesity and 25OHD insufficiency and a positive feedback of adiponectin levels after 1 year of vitamin D supplementation [21]. Others show no effect on adiponectin levels after vitamin D therapy [22].

Considering the controversial results of the studies that investigate the connections between 25OHD, obesity, insulin resistance, and adiponectin [8,13], this study aimed to verify these associations

in a Brazilian sample, among normal weight and obese people. Our hypothesis is that 25OHD insufficiency is associated with insulin resistance and lower adiponectin levels.

Material and methods

Design and subjects

This is a cross-sectional study of the association of 25OHD status with levels of adiponectin and insulin resistance, in the total sample and among two groups (obese and non-obese weight patients). A convenience sample was recruited from adult patients between 18 and 60 years old, of both sexes, who attended medical appointments in a private nutrition advice center, in Belo Horizonte-MG, Brazil, between July 2015 and February 2017. A well-trained single researcher (MCR) collected all data. After the sample size calculation (using PASS NCSS software, version 11, USA), 38 subjects were included in each group to obtain a power of 81%. The bilateral z test was used (significance level of 0.05).

Inclusion criteria were non-obese weight or obese individuals, according to BMI, and self-reporting their skin color as white.

We excluded patients who did not sign the informed consent, with any auto-referred skin color different from white, who were overweight, with renal insufficiency (defined as serum creatinine ≥ 2.0 mg/dl), type 1 and 2 diabetes mellitus, chronic liver disease, cancer (except nonmelanoma skin cancer), cardiovascular diseases, intestinal malabsorption syndrome, or after bariatric surgery. We also excluded people who used drugs that could alter serum insulin or adiponectin concentrations (such as theophylline, phenytoin, beta blockers, diuretics, inhibitors of renin-angiotensin system) or medications for weight loss, lipid-lowering drugs, diabetes, or insulin resistance or vitamin D supplementation for the last 6 months; pregnant women; and patients who refused to collect blood samples for the research. The menopausal state was not considered.

Ethical aspects

All participants were volunteers and signed the informed consent form. The research was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais – COEP-CAAE 42364915.0.0000.5149.

Sociodemographic and anthropometric data

Clinical data (sociodemographic, hours of sun exposure, use of sunscreen, and physical activity [Portuguese validated version of the International Physical Activity Questionnaire – IPAQ short version]) [23] were assessed by a self-reported questionnaire.

Participants were weighed without shoes and wearing light clothes using a Tristar[®] Platform scale (capacity up to 200 kg, model WG2420, the Netherlands). The height was measured with patients standing barefoot, with feet parallel, and trunk and head touching the stadiometer (accuracy of 0.5 cm). BMI was calculated from height and weight ($BMI = \text{weight [kg]} / \text{height}^2 [\text{m}^2]$) [24]. We used World Health Organization criteria to stratify BMI into normal-weight (≥ 18.5 – 24.9 kg/m²) or obese (≥ 30 kg/m²). Waist circumference (WC) was measured using inelastic tapes (cm) at the midpoint between the lowest rib and iliac crest [25].

Body fat percentage was assessed by bioelectric impedance (Tristar WG2422). Patients were afebrile, fasting 2 h before the exam, without alcohol or excess of caffeine consumptions and without intense physical activity the day before the exam. The female patients were not menstruating. Personal metal objects were removed before bioelectric impedance.

Biochemical analysis

Peripheral blood samples were collected in tubes containing EDTA (1 mg/mL of blood) after 12 h of fasting and abstaining from alcoholic beverages for at least 72 h. Fasting glucose (hexokinase method,

enzymatic colorimetric) and creatinine (Jaffe's Method) were determined by automated methods (Advia 2400, Siemens, Japan). Insulin and 25OHD were determined by immunoassay using direct chemiluminescence (ADVIA Centaur XP, Siemens, Ireland).

Only for adiponectin measurement were serum samples frozen to -20°C , stored for up to 12 months (in accordance with MyBiosource[®]'s manual, San Diego, CA, USA), and total adiponectin was determined by ELISA (MyBiosource), made in duplicate. The mean of those two adiponectin values was considered for analysis. The analytical sensibility, intra e inter-assay precision of adiponectin were, respectively, of 0.78 ng/mL, CV% < 8%, and CV% < 10%. 25OHD was categorized as normal (≥ 20 ng/mL) or insufficient (<20 ng/mL), according to the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism [26]. We also categorized vitamin D status according to the cut-off of < or ≥ 30 ng/mL 25OHD was analyzed as a categorical variable (normal or insufficient) and classified according to the season in which they were collected.

Insulin resistance was evaluated by the *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance* (HOMA-IR) calculated by the formula: insulin (mUI/mL) \times fasting glucose (mg/dL) \times 0.05551/22.5 [27,28].

Other variables

Solar exposition was categorized as often (one or more times/day) or rare (eventually), and use of sunscreen as daily or rare. Physical activity was categorized as low, moderate, or vigorous according to the IPAQ [23].

Statistical analysis

Normality of data distribution was assessed by histograms and Shapiro–Wilk test. According to normality of the data or otherwise, Pearson's or Spearman's correlation coefficients were used to evaluate the correlations between the variables. Descriptive and univariate analyses (Pearson Chi-square test, Mann–Whitney, and Student t-test) were used to compare clinical and biochemical data between 25OHD status (normal or insufficient) groups. Logistic regression analysis was performed to estimate the relationships among 25OHD status (normal or deficient), adiponectin (continuous), and insulin resistance (HOMA-IR-continuous), after adjustments (for age, sex, fat percentage or WC [separate models]) (Table 3). Sensitivity analyses with the vitamin D reference levels < or ≥ 30 ng/dL were also performed, and the results were the same.

We also analyzed the association of 25OHD status and adiponectin and HOMA-IR among each BMI group (normal weight or with obesity). We subsequently added multiplicative interaction terms between 25OHD/adiponectin and BMI.

We used SPSS software (IBM, version 19, USA) and STATA[™] version 14.

Results

Ninety-eight adults were selected for this study, but only 76 were in the final analysis according to the forward flowchart (Fig. 1). Participants' mean age was 35.5 ± 9.6 years, with 75% women ($n = 57$), and 14.5% had 25OHD insufficiency. Regarding the cut-off < or ≥ 30 ng/mL, we had 65.8% of vitamin D insufficiency. Mean of 25OHD was 28.4 ± 8.6 ng/mL, median of adiponectin was 209.7 ng/L (136.8–296.2), and median of HOMA-IR was 2.18 (1.55–4.13). The median BMI was 30.2 (23.5–33.2), and WC was 96.5 (87.0–110.5). Forty participants were classified as obese and 36 as normal-weight. The mean creatinine was 0.74 (± 0.14). Their main characteristics are displayed in Tables 1 and 2.

We found no difference across the 25OH groups regarding age, sex, adiponectin levels, HOMA-IR (Tables 1 and 2), or other laboratory tests. Regarding the whole sample (normal weight and obese patients), there was no association between 25OHD status and adiponectin, nor with HOMA-IR (Table 3). There was an association between 25OHD insufficiency and fat percentage, which remained significant after adjustments by age and sex, but lost significance after adjustment by waist or BMI (separate models). The association between 25OHD and adiponectin was not influenced by BMI (OR by the product of the interaction term = 0.00; 95% CI = -0.004 to 0.003, $p = 0.69$).

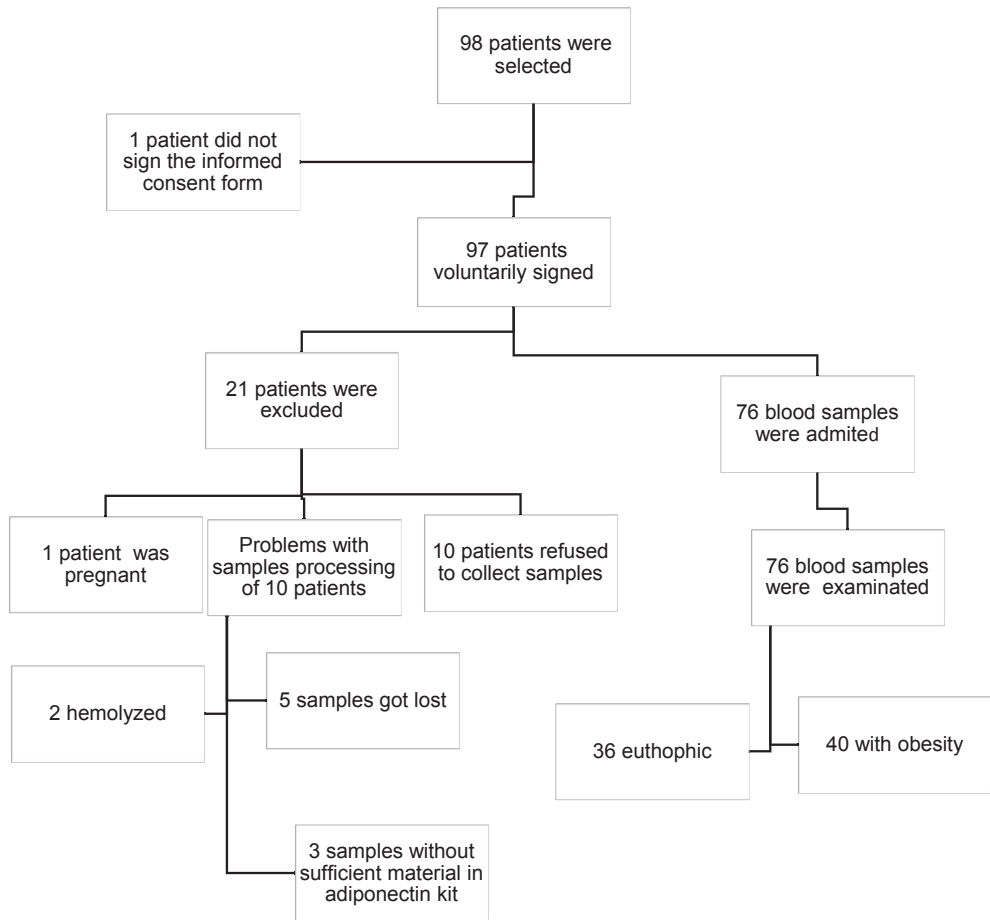


Fig. 1. Inclusion criteria.

The analysis by BMI groups showed that there was no association between 25OHD status and adiponectin among the normal-weight or obese group (Table 3). An association between 25OHD status and HOMA-IR was detected only among the normal-weight group, but lost significance after age and sex ($p = 0.15$), and after waist ($p = 0.21$) or fat percentage ($p = 0.23$) adjustments.

Discussion

We found no association among normal-weight and obese individuals between 25OHD levels, insulin resistance, and adiponectin in this sample with almost 15.0% of 25OHD insufficiency. Those results are similar to the results found by other authors [11,29,30], where positive associations between 25OHD and insulin sensitivity were no longer valid after adjusting for BMI [31] or physical activity [32]. Wright et al. showed no association in a population with obesity but no diabetes between 25OHD and insulin sensitivity or adiponectin [33]. Vilarrasa et al. found no correlations between 25OHD and adiponectin or with HOMA-IR in morbidly obese or normal-weight groups [11]. In the present study, we did not evaluate patients with class III obesity. Two studies with patients without diabetes found a positive correlation between 25OHD and adiponectin that disappeared after adjusting for BMI [16,34]. In a study with individuals with morbid obesity, no differences in insulin resistance were found

Table 1

Main characteristics of the study population, according to vitamin D status among adults (n = 76), Belo Horizonte, Brazil.

Variable	25OHD normal (n = 65)		25OHD insufficient (n = 11)		p value
	N	%	N	%	
Age (years) ^a	35.6	±9.9	34.9	±7.6	0.83
Scholarship (years) ^a	15.8	±3.3	16.4	±3.0	0.61
Female population	48	(73.8%)	9	81.8%	0.57
Obese population	31	(47.7%)	9	81.8%	0.61
<i>Sunscreen use</i>					
Daily	32	49.2%	8	72.7%	0.15
Rare	33	50.8%	3	27.3%	
<i>Sun exposure</i>					
Often	57	87.7%	11	100.0%	0.22
Rare	8	12.3%	0	0%	
<i>Season of data collection</i>					
Summer	19	29.2%	1	9.1%	0.43
Spring	15	23.1%	2	18.1%	
Autumn	13	20.0%	3	27.3%	
Winter	18	27.7%	5	45.5%	

^a Age and Scholarship are presented as media and SD 25OHD – 25-Hydroxivitamin vitamin D; 25OHD normal – 25OH vitamin D ≥ 20 ng/mL; 25OHD insufficient – 25OH vitamin D < 20 ng/mL.

Table 2

Distribution of clinical characteristics according to vitamin D status among adults (n = 76), Belo Horizonte, Brazil.

Variable	25OHD normal (n = 65)		25OHD insufficient (n = 11)		p value
	Mean	SD	Mean	SD	
BMI (kg/m ²)	28.5	±6.9	31.9	±5.6	0.12
WC (cm)	94.5	(87; 108)	107	(96; 117)	0.09
Adipo (ng/mL) ^a	209.7	(136.8; 296.2)	208.9	(179.2; 251.4)	0.72
HOMA-IR ^a	2.07	(1.39; 3.81)	2.92	(2.18; 4.58)	0.08
Fat %	34.5	±11.4	42.7	±13.3	0.03
IPAQ (METS) ^a	990	(450; 1878)	400	(160; 990)	0.13
Glycemia (mg/dL)	83.5	±7.9	84.0	±6.9	0.84

^a Values presented as median and interquartile range. 25OHD – 25-Hydroxivitamin vitamin D; 25OHD normal – 25OH vitamin D ≥ 20 ng/mL; 25OHD insufficient – 25OH vitamin D < 20 ng/mL; BMI – body mass index, WC – waist circumference, Adipo – Adiponectin, HOMA-IR – Homeostasis model assessment of insulin resistance, Fat % – Fat percentage, IPAQ – International Physical Activity Questionnaire.

Table 3

Not adjusted Logistic regression between vitamin D status (normal or insufficient) and adiponectin, and insulin resistance.

	Total sample	Normal weight	Obese
	OR [95% CI] (p value)	OR [95% CI] (p value)	OR [95% CI] (p value)
Adiponectin	1.00 [0.99–1.00] (0.68)	1.01 [0.99–1.03] (0.22)	1.00 [0.99–1.01] (0.97)
HOMA-IR	0.92 [0.72–1.18] (0.55)	0.29 [0.09–0.88] (0.03)	1.26 [0.84–1.89] (0.26)

Normal Vitamin D – Vitamin D ≥ 20 ng/mL; Insufficient Vitamin D – Vitamin D < 20 ng/mL.

HOMA-IR – Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance; OR – Odds ratio; 95% CI – Confidence interval; Normal weight – Body mass index < 30 kg/m²; Obese – Body mass index ≥ 30 kg/m².

between participants with and without 25OHD insufficiency [35]. In contrast, others observed a negative association between 25OHD and insulin resistance [36–39] or a positive association between 25OHD and adiponectin in patients with obesity [8,40,41] or even positive association between high fat

percentage and adiponectin levels only in men, without differences in 25OHD levels [42], showing that this topic remains controversial.

The association between 25OHD and insulin resistance observed by some authors could be explained by some mechanisms. In vitro, there was an improvement in insulin sensitivity after vitamin D stimulus of VDR [43], which could, in peripheral tissue, facilitate the transport of glucose mediated by insulin, thereby improving insulin resistance. Vitamin D also participates in the mechanism of insulin secretion [44–46], interfering in its biosynthesis and accelerating the conversion of proinsulin in insulin [47,48]. An association was observed between 25OHD insufficiency and reduced insulin secretion [46,49]. However, other mechanisms that linked vitamin D and insulin resistance, such as gene polymorphisms of VDR [50], could be a plausible hypothesis for our discrepant findings because of the potential genetic variation in a Brazilian population. Polymorphisms of VDR and genetic variations could alter this relationship [19,50]. The genetic metabolic phenotype may also influence the relationship between 25OHD and adiponectin levels [51]. Until now, few genetic studies with VDR polymorphisms in Brazilian people have been investigated. A study with Brazilian children in Amazonas showed that a polymorphism in VDR was positively associated to HOMA-IR [52]. Further researchers may be able to answer why these associations are not the same in all people and characterize individuals to enhance the mechanistic understanding of the relationship between 25OHD, adiponectin, insulin resistance, and obesity.

Ethnic aspects in a country with a lot of miscegenation, such as Brazil, should be considered. The META-health study showed that the association between 25OHD, adiponectin, and insulin resistance (by HOMA-IR) could differ depending on race, gender, and BMI category [53]. This could be one of the reasons for our findings but also for the controversy in the literature.

In our study, the association between 25OHD insufficiency and fat percentage, was lost after adiposity markers adjustments. Vilarrasa et al. found inverse association of vitamin D levels and fat percentage only in the healthy group, and there was no association between vitamin D and adiponectin or insulin resistance neither in the obese, nor in the healthy group [11]. Cediél et al. showed an inverse association between 25OHD and fat percentage in children [54]. Al-Daghri et al. found that serum 25OHD was associated inversely with hip circumference ($r = -0.195$, $p = 0.047$), BMI ($r = -0.190$, $p = 0.026$) and HOMA-IR ($r = -0.304$, $p = 0.001$) in people with and without diabetes [55]. The reasons for that association between fat percentage and serum 25OHD could be explained by the sequestration or hyper-dilution of 25OHD in the extensive reservoir of adipose tissue in people with a high percentage of fat mass, less sun exposure, and fewer physical activities outdoors. Individuals with percentage of fat mass have a lower conversion rate of the vitamin to 25hydroxivitamin D, due to negative feedback by elevation of 1.25Dihydroxivitamin D and parathormone, and by lower expression of the enzymes that activate 25OHD (25-hydroxylase and 1α -hydroxylase) [56]. Finally, the increased 24-hydroxylase enzyme activity related to the high-fat percentage is responsible for the degradation of the active form of vitamin D, thus leading to its greater catabolism [57].

Our study has limitations in its sample size and that we chose a convenience sample, with white self-reported skin color. However, this population was chosen to standardize skin color, minimizing the possible biases. HOMA-IR was used to characterize insulin resistance. Although the hyperinsulinemic-euglycemic clamp is the gold standard for evaluating insulin resistance, such testing is not feasible in clinical studies because of the procedure's complexity.

Our study's strengths were that we included the internal validity concerning accuracy and standardization of measurements, the duplicity of adiponectin samples, and the fact that no previous studies have investigated the association between 25OHD, adiponectin, and insulin resistance in an obese, normal-weight Brazilian population.

Conclusion

Except for a negative association between 25OHD status and fat percentage, there was no association between 25OHD, adiponectin, and insulin resistance in that population. Future studies with larger samples are needed, mainly from developing countries, which may have diverse sociodemographic and genetic characteristics.

Conflicts of interest

None.

Acknowledgments

The authors thank the staff from São Marcos laboratory for their valuable contributions. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2018.10.004>.

References

- [1] Who. <http://www.who.int/features/factfiles/obesity/facts/en/index1.html>, p. Fact sheet, 2008. (Accessed 10 January 2016).
- [2] IBGE; Saúde, P.N.D. Pesquisa Nacional de Saúde. Microdados de sobrepeso e obesidade no Brasil. http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/pns/2013_vol2/default_microdados.shtm 2013–2015.
- [3] Vainio H, Kaaks R, Bianchini F. Weight control and physical activity in cancer prevention: international evaluation of the evidence. *Eur J Cancer Prev Aug 2002*;11(Suppl. 2). ISSN: 0959-8278:S94–100.
- [4] Olefsky JM, GLEASON CK. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physiol 2010*;72. ISSN: 1545-1585:219–46.
- [5] Al-Daghri NM, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity and inflammasome activity. *PLoS One 2014*;9(7). ISSN: 1932-6203:e102141.
- [6] Li S, et al. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Jul 2009*;302(2). ISSN: 1538-3598:179–88.
- [7] Lorente-Cebrián S, et al. Differential effects of 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol on MCP-1 and adiponectin production in human white adipocytes. *Eur J Nutr Apr 2012*;51(3). ISSN: 1436-6215:335–42.
- [8] Vaidya A, Williams JS, Forman JP. The independent association between 25-hydroxyvitamin D and adiponectin and its relation with BMI in two large cohorts: the NHS and the HPFS. *Obesity Jan 2012*;20(1). ISSN: 1930-739X:186–91.
- [9] Rosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature Dec 2006*;444(7121). ISSN: 1476-4687:847–53.
- [10] Wijesekara N, et al. Adiponectin-induced ERK and Akt phosphorylation protects against pancreatic beta cell apoptosis and increases insulin gene expression and secretion. *J Biol Chem Oct 2010*;285(44). ISSN: 1083-351X:33623–31.
- [11] Vilarrasa N, et al. Is plasma 25(OH) D related to adipokines, inflammatory cytokines and insulin resistance in both a healthy and morbidly obese population? *Endocrine Oct 2010*;38(2). ISSN: 1559-0100:235–42.
- [12] De Souza WN, et al. Association between 25-hydroxyvitamin D and inflammatory biomarker levels in a cross-sectional population-based study, São Paulo, Brazil. *Nutr Res Jan 2016*;36(1). ISSN: 1879-0739:1–8.
- [13] Nimitphong H, et al. The association between vitamin D status and circulating adiponectin independent of adiposity in subjects with abnormal glucose tolerance. *Endocrine Oct 2009*;36(2). ISSN: 1559-0100:205–10.
- [14] Spedding S. Vitamin D and human health: celebrating diversity. *Nutrients Jan 2014*;6(1). ISSN: 2072-6643:11–4.
- [15] Blumberg JM, et al. Complex role of the vitamin D receptor and its ligand in adipogenesis in 3T3-L1 cells. *J Biol Chem Apr 2006*;281(16). ISSN: 0021-9258:11205–13.
- [16] Gannagé-Yared MH, et al. Vitamin D in relation to metabolic risk factors, insulin sensitivity and adiponectin in a young Middle-Eastern population. *Eur J Endocrinol Jun 2009*;160(6). ISSN: 1479-683X:965–71.
- [17] Sergeev IN. Vitamin D-cellular Ca(2+) link to obesity and diabetes. *J Steroid Biochem Mol Biol Nov 2016*;164. ISSN: 1879-1220:326–30.
- [18] Rock CL, et al. Weight loss is associated with increased serum 25-hydroxyvitamin D in overweight or obese women. *Obesity Nov 2012*;20(11). ISSN: 1930-739X:2296–301.
- [19] Vimalaewaran KS, et al. Genetic association analysis of vitamin D pathway with obesity traits. *Int J Obes Oct 2013*;37(10). ISSN: 1476-5497:1399–406.
- [20] Vimalaewaran KS, et al. Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. *PLoS Med 2013*;10(2). ISSN: 1549-1676:e1001383.
- [21] Walker GE, et al. Pediatric obesity and vitamin D deficiency: a proteomic approach identifies multimeric adiponectin as a key link between these conditions. *PLoS One 2014*;9(1). ISSN: 1932-6203:e83685.
- [22] Vaidya A, et al. The influence of sodium- and calcium-regulatory hormone interventions on adipocytokines in obesity and diabetes. *Metabolism Apr 2013*;62(4). ISSN: 1532-8600:539–47.
- [23] IPAQ. Guidelines for data processing and analysis of the International physical activity questionnaire (IPAQ) – short and long forms. 2005 (Accessed 14 February), <http://www.ipaq.ki.se>.
- [24] Centers for disease control and prevention. About BMI for adults. 2016 (Accessed 19 March 2016), http://www.cdc.gov/healthyweight/assessing/bmi/adult_bmi/index.html.
- [25] Vasques AC, et al. Sagittal abdominal diameter as a surrogate marker of insulin resistance in an admixed population – Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *PLoS One 2015*;10(5). ISSN: 1932-6203:e0125365.

Please cite this article in press as: Carvalho-Rassbach M, et al., Is the association between vitamin D, adiponectin, and insulin resistance present in normal weight or obese? A pilot study, *Clinical Nutrition Experimental* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2018.10.004>

- [26] Ferreira CES, et al. Consensus – reference ranges of vitamin D [25(OH)D] from the Brazilian medical societies. Brazilian Society of clinical Pathology/laboratory medicine (SBPC/ML) and Brazilian Society of Endocrinology and metabolism (SBEM). *J Bras Patol Med Lab* December 2017;53(6). ISSN: 1676-2444:377–81.
- [27] Matthews DR, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* Jul 1985;28(7). ISSN: 0012-186X:412–9.
- [28] Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* Jun 2004;27(6). ISSN: 0149-5992: 1487–95.
- [29] Barchetta I, et al. Hypovitaminosis D is independently associated with metabolic syndrome in obese patients. *PLoS One* 2013;8(7). ISSN: 1932-6203:e68689.
- [30] McGill AT, et al. Relationships of low serum vitamin D3 with anthropometry and markers of the metabolic syndrome and diabetes in overweight and obesity. *Nutr J* 2008;7(4). ISSN: 1475-2891.
- [31] Gulseth HL, et al. Serum vitamin D concentration does not predict insulin action or secretion in European subjects with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* Apr 2010;33(4). ISSN: 1935-5548:923–5.
- [32] Grimmes G, et al. Vitamin D, insulin secretion, sensitivity, and lipids: results from a case-control study and a randomized controlled trial using hyperglycemic clamp technique. *Diabetes* Nov 2011;60(11). ISSN: 1939-327X:2748–57.
- [33] Wright OR, et al. The effect of 25-hydroxyvitamin D on insulin sensitivity in obesity: is it mediated via adiponectin? *Can J Physiol Pharmacol* Jun 2013;91(6). ISSN: 1205-7541:496–501.
- [34] Liu E, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin d is associated with markers of the insulin resistant phenotype in nondiabetic adults. *J Nutr* Feb 2009;139(2). ISSN: 1541-6100:329–34.
- [35] Botella-Carretero JL, et al. Vitamin D deficiency is associated with the metabolic syndrome in morbid obesity. *Clin Nutr* Oct 2007;26(5). ISSN: 0261-5614:573–80.
- [36] Oliveira RM, et al. Association of vitamin D insufficiency with adiposity and metabolic disorders in Brazilian adolescents. *Public Health Nutr* Apr 2014;17(4). ISSN: 1475-2727:787–94.
- [37] Gagnon C, et al. Low serum 25-hydroxyvitamin D is associated with increased risk of the development of the metabolic syndrome at five years: results from a national, population-based prospective study (The Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study: AusDiab). *J Clin Endocrinol Metab* Jun 2012;97(6). ISSN: 1945-7197:1953–61.
- [38] Nunlee-Bland G, et al. Vitamin D deficiency and insulin resistance in obese African-American adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2011;24(1–2). ISSN: 0334-018X:29–33.
- [39] Chiu KC, et al. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* May 2004; 79(5). ISSN: 0002-9165:820–5 (Print)0002-9165.
- [40] Vaidya A, et al. The influence of body mass index and renin-angiotensin-aldosterone system activity on the relationship between 25-hydroxyvitamin D and adiponectin in Caucasian men. *Eur J Endocrinol* Jun 2011;164(6):995–1002. 1479-683X.
- [41] Kardas F, Kendirci M, Kurtoglu S. Cardiometabolic risk factors related to vitamin d and adiponectin in obese children and adolescents. *Int J Endocrinol* 2013;2013. ISSN: 1687-8337:503270.
- [42] Aguirre L, et al. Increasing adiposity is associated with higher adipokine levels and lower bone mineral density in obese older adults. *J Clin Endocrinol Metab* Sep 2014;99(9). ISSN: 1945-7197:3290–7.
- [43] Maestro B, et al. Stimulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3 of insulin receptor expression and insulin responsiveness for glucose transport in U-937 human promonocytic cells. *Endocr J* Aug 2000;47(4). ISSN: 0918-8959:383–91 (Print) 0918-8959.
- [44] Kadowaki S, Norman AW. Dietary vitamin D is essential for normal insulin secretion from the perfused rat pancreas. *J Clin Invest* Mar 1984;73(3). ISSN: 0021-9738:759–66 (Print) 0021-9738.
- [45] Norman AW, et al. Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. *Science* Aug 15 1980;209(4458). ISSN: 0036-8075:823–5 (Print) 0036-8075.
- [46] Chertow BS, et al. Cellular mechanisms of insulin release: the effects of vitamin D deficiency and repletion on rat insulin secretion. *Endocrinology* Oct 1983;113(4). ISSN: 0013-7227:1511–8 (Print) 0013-7227.
- [47] Bournon PM, Billaudel B, Faure-Dussert A. Influence of vitamin D3 deficiency and 1,25 dihydroxyvitamin D3 on de novo insulin biosynthesis in the islets of the rat endocrine pancreas. *J Endocrinol* Jan 1999;160(1). ISSN: 0022-0795:87–95 (Print) 0022-0795.
- [48] Pittas AG, et al. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* Jun 2007;92(6). ISSN: 0021-972X:2017–29 (Print)0021-972X.
- [49] Zeitz U, et al. Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor. *Faseb J* Mar 2003;17(3). ISSN: 0892-6638:509–11.
- [50] Al-Daghri NM, et al. Association of VDR-gene variants with factors related to the metabolic syndrome, type 2 diabetes and vitamin D deficiency. *Gene* Jun 2014;542(2). ISSN: 1879-0038:129–33.
- [51] O'Sullivan A, et al. Biochemical and metabolomic phenotyping in the identification of a vitamin D responsive metabolotype for markers of the metabolic syndrome. *Mol Nutr Food Res* May 2011;55(5). ISSN: 1613-4133:679–90.
- [52] Cobayashi F, Lourenço BH, Cardoso MA. 25-Hydroxyvitamin D3 levels, Bsm1 polymorphism and insulin resistance in Brazilian Amazonian children. *Int J Mol Sci* Jun 2015;16(6). ISSN: 1422-0067:12531–46.
- [53] Bidulescu A, et al. Association between vitamin D and adiponectin and its relationship with body mass index: the META-health study. *Front Public Health* 2014;2:193.
- [54] Cediël G, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D associated with indicators of body fat and insulin resistance in prepubertal children. *Int J Obes* Jun 2016;40(1). ISSN: 1476-5497:147–52.
- [55] Al-Daghri NM, et al. Hypovitaminosis D associations with adverse metabolic parameters are accentuated in patients with Type 2 diabetes mellitus: a body mass index-independent role of adiponectin? *J Endocrinol Invest* Jan 2013;36(1). ISSN: 1720-8386:1–6.
- [56] Wamberg L, et al. Expression of vitamin D-metabolizing enzymes in human adipose tissue – the effect of obesity and diet-induced weight loss. *Int J Obes* May 2013;37(5). ISSN: 1476-5497:651–7.
- [57] Earthman CP, et al. The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications. *Int J Obes* Mar 2012;36(3). ISSN: 1476-5497:387–96.

6. Conclusão e considerações Finais

A obesidade e insuficiência de vitD são problemas prevalentes e crescentes no Brasil e no mundo^{2; 69}. Essas afecções estão associadas^{77; 78; 79; 80; 82; 83}. Nessa amostra, mostrou-se associação negativa entre vitD e percentual de gordura. Além disso, existem indícios de associação tanto da obesidade, quanto da concentração sérica de vitD com a resistência à insulina e adiponectina em algumas populações. No entanto, essas associações com a obesidade são controversas, de modo que alguns autores encontraram associação inversa^{35; 37; 115}, outros, direta¹¹⁶, bem como ausência de associação^{90; 117}.

Usando um modelo transversal, o presente estudo verificou as possíveis associações entre concentrações séricas de vitamina D com resistência à insulina (usando o HOMA-IR) e adiponectina em portadores de obesidade e eutróficos, com cor de pele auto referida como branca.

A alta prevalência de insuficiência de vitD encontrada nessa amostra, acompanha os dados já relatados por outros trabalhos no Brasil^{70; 71}, apesar de ser uma população residente em país tropical.

Não foi encontrada associação dentre os fatores estudados, mantendo, portanto, a controvérsia encontrada na literatura.

Alguns estudos mostram que podem haver fatores étnicos relacionados à associação da vitD com a adiponectina, como o estudo META-health, em que encontraram-se diferentes associações que dependiam de raça, IMC e sexo⁵⁴. Outros estudos mostraram que fatores genéticos como alterações de polimorfismos dos VDR poderiam levar a perfis de risco distintos para doenças associadas à vitamina D^{9; 26; 65; 118}. Há, portanto, muito ainda a ser descoberto sobre a inter-relação entre esses fatores.

Esse estudo apresenta algumas limitações pelo tamanho da população, apesar de ter sido feito o cálculo amostral, bem como pelos critérios para sua seleção, como a cor da pele, deixando-o com baixa validade externa por possuir pouca representatividade da população brasileira. No entanto, a cor da pele foi definida para que se pudesse padronizar a população do estudo. Apesar disso, houve boa validade interna com a coleta de dados por um único pesquisador devidamente treinado e a dosagem em duplicidade da adiponectina. O estudo foi importante por ser um dos primeiros a avaliar a relação entre vitD, adiponectina e resistência à insulina em uma amostra com indivíduos portadores de obesidade e eutróficos, brasileiros.

Existe uma escassez de estudos com populações brasileiras explorando esse tópico, e novos estudos englobando um maior número de pessoas de regiões diferentes do Brasil, com diversas cores de pele, bem como outros marcadores sorológicos inflamatórios (como TNF- α e Il-6, Il-8 e outras adipocinas) serão necessários, de modo a entender melhor essas associações nessa população. No entanto, para esse estudo os resultados não permitem concluir sobre uma possível associação entre vitD e adiponectina ou resistência à insulina.

7. Referências Bibliográficas

- 1 WHO. <http://www.who.int/features/factfiles/obesity/facts/en/index1.html>, p. Fact sheet, 2008. Acesso em: 10 January 2016.
- 2 IBGE; SAÚDE, P. N. D. **Pesquisa Nacional de Saúde. Microdados de sobrepeso e obesidade no Brasil.** http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/pns/2013_vol2/default_microdados.shtm 2013-2015.
- 3 CENTERSFOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. About BMI for adults. http://www.cdc.gov/healthyweight/assessing/bmi/adult_bmi/index.html, 2016. Acesso em: 19.03.2016.
- 4 PROENÇA, A. R. et al. New concepts in white adipose tissue physiology. **Braz J Med Biol Res**, v. 47, n. 3, p. 192-205, Feb 2014. ISSN 1414-431X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24676492> >.
- 5 VAINIO, H.; KAAKS, R.; BIANCHINI, F. Weight control and physical activity in cancer prevention: international evaluation of the evidence. **Eur J Cancer Prev**, v. 11 Suppl 2, p. S94-100, Aug 2002. ISSN 0959-8278. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12570341> >.
- 6 OLEFSKY, J. M.; GLASS, C. K. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. **Annu Rev Physiol**, v. 72, p. 219-46, 2010. ISSN 1545-1585. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20148674> >.
- 7 GUIMARÃES, D. E. D. et al. **Adipokines: a new view of adipose tissue.** Universidade Federal do Rio de Janeiro. Revista de Nutrição, p.549-559. 2007
- 8 VAIDYA, A. et al. The influence of body mass index and renin-angiotensin-aldosterone system activity on the relationship between 25-hydroxyvitamin D and adiponectin in Caucasian men. **Eur J Endocrinol**, v. 164, n. 6, p. 995-1002, Jun 2011. ISSN 1479-683X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21402748> >.
- 9 AL-DAGHRI, N. M. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity and inflammosomal activity. **PLoS One**, v. 9, n. 7, p. e102141, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25020064> >.
- 10 LI, S. et al. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. **JAMA**, v. 302, n. 2, p. 179-88, Jul 2009. ISSN 1538-3598. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19584347> >.
- 11 LORENTE-CEBRIÁN, S. et al. Differential effects of 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol on MCP-1 and adiponectin production in human white adipocytes. **Eur J Nutr**, v. 51, n. 3, p. 335-42, Apr 2012. ISSN 1436-6215. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21701898> >.

- 12 MUST, A.; STRAUSS, R. S. Risks and consequences of childhood and adolescent obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 23 Suppl 2, p. S2-11, Mar 1999. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10340798> >.
- 13 WAMBERG, L. et al. Investigations of the anti-inflammatory effects of vitamin D in adipose tissue: results from an in vitro study and a randomized controlled trial. **Horm Metab Res**, v. 45, n. 6, p. 456-62, Jun 2013. ISSN 1439-4286. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23322512> >.
- 14 CHRISTIANSEN, T.; RICHELSEN, B.; BRUUN, J. M. Monocyte chemoattractant protein-1 is produced in isolated adipocytes, associated with adiposity and reduced after weight loss in morbid obese subjects. **Int J Obes (Lond)**, v. 29, n. 1, p. 146-50, Jan 2005. ISSN 0307-0565. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15520826> >.
- 15 GAO, D.; TRAYHURN, P.; BING, C. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits the cytokine-induced secretion of MCP-1 and reduces monocyte recruitment by human preadipocytes. **Int J Obes (Lond)**, v. 37, n. 3, p. 357-65, Mar 2013. ISSN 1476-5497. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22508334> >.
- 16 LIHN, A. S. et al. Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects. **Mol Cell Endocrinol**, v. 219, n. 1-2, p. 9-15, Apr 2004. ISSN 0303-7207. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15149722> >.
- 17 FU, M. et al. A Nuclear Receptor Atlas: 3T3-L1 adipogenesis. **Mol Endocrinol**, v. 19, n. 10, p. 2437-50, Oct 2005. ISSN 0888-8809. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16051663> >.
- 18 BLUMBERG, J. M. et al. Complex role of the vitamin D receptor and its ligand in adipogenesis in 3T3-L1 cells. **J Biol Chem**, v. 281, n. 16, p. 11205-13, Apr 2006. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16467308> >.
- 19 NIMITPHONG, H. et al. 25-hydroxyvitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ promote the differentiation of human subcutaneous preadipocytes. **PLoS One**, v. 7, n. 12, p. e52171, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23272223> >.
- 20 KONG, J.; LI, Y. C. Molecular mechanism of 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 cells. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 290, n. 5, p. E916-24, May 2006. ISSN 0193-1849. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16368784> >.
- 21 SUN, X.; ZEMEL, M. B. Role of uncoupling protein 2 (UCP2) expression and 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 in modulating adipocyte apoptosis. **FASEB J**, v. 18, n. 12, p. 1430-2, Sep 2004. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15231722> >.
- 22 SERGEEV, I. N. Vitamin D-Cellular Ca(2+) link to obesity and diabetes. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 164, p. 326-330, Nov 2016. ISSN 1879-1220. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26592177> >.
- 23 HONEK, J. et al. Brown adipose tissue, thermogenesis, angiogenesis: pathophysiological aspects. **Horm Mol Biol Clin Investig**, v. 19, n. 1, p. 5-11, Jul 2014. ISSN 1868-1891. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25390012> >.

- 24 SHI, H. et al. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits uncoupling protein 2 expression in human adipocytes. **FASEB J**, v. 16, n. 13, p. 1808-10, Nov 2002. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12223452> >.
- 25 VIMALESWARAN, K. S. et al. Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. **PLoS Med**, v. 10, n. 2, p. e1001383, 2013. ISSN 1549-1676. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23393431> >.
- 26 _____. Genetic association analysis of vitamin D pathway with obesity traits. **Int J Obes (Lond)**, v. 37, n. 10, p. 1399-406, Oct 2013. ISSN 1476-5497. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23381556> >.
- 27 TZOTZAS, T. et al. Rising serum 25-hydroxy-vitamin D levels after weight loss in obese women correlate with improvement in insulin resistance. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, n. 9, p. 4251-7, Sep 2010. ISSN 1945-7197. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20534751> >.
- 28 KITABCHI, A. E. et al. Role of insulin secretion and sensitivity in the evolution of type 2 diabetes in the diabetes prevention program: effects of lifestyle intervention and metformin. **Diabetes**, v. 54, n. 8, p. 2404-14, Aug 2005. ISSN 0012-1797. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16046308> >.
- 29 THIBAUT, V. et al. The increase in serum 25-hydroxyvitamin D following weight loss does not contribute to the improvement in insulin sensitivity, insulin secretion and β -cell function. **Br J Nutr**, v. 114, n. 2, p. 161-8, Jul 2015. ISSN 1475-2662. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26132208> >.
- 30 RYAN, A. S.; NICKLAS, B. J. Reductions in plasma cytokine levels with weight loss improve insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women. **Diabetes Care**, v. 27, n. 7, p. 1699-705, Jul 2004. ISSN 0149-5992. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15220249> >.
- 31 MATHER, K. J. et al. Adiponectin, change in adiponectin, and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. **Diabetes**, v. 57, n. 4, p. 980-6, Apr 2008. ISSN 1939-327X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18192541> >.
- 32 OUCHI, N. et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. **Circulation**, v. 102, n. 11, p. 1296-301, Sep 2000. ISSN 1524-4539. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10982546> >.
- 33 KOBAYASHI, H. et al. Selective suppression of endothelial cell apoptosis by the high molecular weight form of adiponectin. **Circ Res**, v. 94, n. 4, p. e27-31, Mar 2004. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14752031> >.
- 34 CHANDRAN, M. et al. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? **Diabetes Care**, v. 26, n. 8, p. 2442-50, Aug 2003. ISSN 0149-5992. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12882876> >.

- 35 WALKER, G. E. et al. Pediatric obesity and vitamin D deficiency: a proteomic approach identifies multimeric adiponectin as a key link between these conditions. **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. e83685, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24404137> >.
- 36 SUNG, C. C. et al. Role of vitamin D in insulin resistance. **J Biomed Biotechnol**, v. 2012, p. 634195, 2012. ISSN 1110-7251. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22988423> >.
- 37 VAIDYA, A.; WILLIAMS, J. S.; FORMAN, J. P. The independent association between 25-hydroxyvitamin D and adiponectin and its relation with BMI in two large cohorts: the NHS and the HPFS. **Obesity (Silver Spring)**, v. 20, n. 1, p. 186-91, Jan 2012. ISSN 1930-739X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21760630> >.
- 38 VU, V.; RIDDELL, M. C.; SWEENEY, G. Circulating adiponectin and adiponectin receptor expression in skeletal muscle: effects of exercise. **Diabetes Metab Res Rev**, v. 23, n. 8, p. 600-11, Nov 2007. ISSN 1520-7552. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17966120> >.
- 39 NUNLEE-BLAND, G. et al. Vitamin D deficiency and insulin resistance in obese African-American adolescents. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 24, n. 1-2, p. 29-33, 2011. ISSN 0334-018X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21528812> >.
- 40 ZIEMKE, F.; MANTZOROS, C. S. Adiponectin in insulin resistance: lessons from translational research. **Am J Clin Nutr**, v. 91, n. 1, p. 258S-261S, Jan 2010. ISSN 1938-3207. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19906806> >.
- 41 RÜHL, R.; LANDRIER, J. F. Dietary regulation of adiponectin by direct and indirect lipid activators of nuclear hormone receptors. **Mol Nutr Food Res**, v. 60, n. 1, p. 175-84, Jan 2016. ISSN 1613-4133. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26610729> >.
- 42 ARITA, Y. et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 257, n. 1, p. 79-83, Apr 1999. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10092513> >.
- 43 KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 6, p. 2548-56, Jun 2004. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15181022> >.
- 44 HOTTA, K. et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 20, n. 6, p. 1595-9, Jun 2000. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10845877> >.
- 45 KUMADA, M. et al. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 23, n. 1, p. 85-9, Jan 2003. ISSN 1524-4636. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12524229> >.
- 46 TURER, A. T. et al. Adipose tissue mass and location affect circulating adiponectin levels. **Diabetologia**, v. 54, n. 10, p. 2515-24, Oct 2011. ISSN 1432-0428. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21779869> >.

- 47 KOSZOWSKA, A. U. et al. Obesity, adipose tissue function and the role of vitamin D. **Cent Eur J Immunol**, v. 39, n. 2, p. 260-4, 2014. ISSN 1426-3912. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26155133> >.
- 48 SPRANGER, J. et al. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. **Lancet**, v. 361, n. 9353, p. 226-8, Jan 2003. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12547549> >.
- 49 ROSEN, E. D.; SPIEGELMAN, B. M. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 847-53, Dec 2006. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17167472> >.
- 50 WIJESEKARA, N. et al. Adiponectin-induced ERK and Akt phosphorylation protects against pancreatic beta cell apoptosis and increases insulin gene expression and secretion. **J Biol Chem**, v. 285, n. 44, p. 33623-31, Oct 2010. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20709750> >.
- 51 GANNAGÉ-YARED, M. H. et al. Vitamin D in relation to metabolic risk factors, insulin sensitivity and adiponectin in a young Middle-Eastern population. **Eur J Endocrinol**, v. 160, n. 6, p. 965-71, Jun 2009. ISSN 1479-683X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19289535> >.
- 52 STOKIĆ, E. et al. Vitamin D and Dysfunctional Adipose Tissue in Obesity. **Angiology**, v. 66, n. 7, p. 613-8, Aug 2015. ISSN 1940-1574. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25053676> >.
- 53 VILARRASA, N. et al. Is plasma 25(OH) D related to adipokines, inflammatory cytokines and insulin resistance in both a healthy and morbidly obese population? **Endocrine**, v. 38, n. 2, p. 235-42, Oct 2010. ISSN 1559-0100. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21046484> >.
- 54 BIDULESCU, A. et al. Association between Vitamin D and Adiponectin and Its Relationship with Body Mass Index: The META-Health Study. **Front Public Health**, v. 2, p. 193, 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25353014> >.
- 55 DE SOUZA, W. N. et al. Association between 25-hydroxyvitamin D and inflammatory biomarker levels in a cross-sectional population-based study, Sao Paulo, Brazil. **Nutr Res**, v. 36, n. 1, p. 1-8, Jan 2016. ISSN 0271-5317.
- 56 LIPS, P. Vitamin D physiology. **Prog Biophys Mol Biol**, v. 92, n. 1, p. 4-8, Sep 2006. ISSN 0079-6107. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16563471> >.
- 57 MATYJASZEK-MATUSZEK, B.; LENART-LIPIŃSKA, M.; WOŹNIAKOWSKA, E. Clinical implications of vitamin D deficiency. **Prz Menopauzalny**, v. 14, n. 2, p. 75-81, Jun 2015. ISSN 1643-8876. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26327893> >.
- 58 DAWSON-HUGHES, B. et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. **Osteoporos Int**, v. 21, n. 7, p. 1151-4, Jul 2010. ISSN 1433-2965. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20422154> >.

- 59 MAEDA, S. S. et al. Recommendations of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM) for the diagnosis and treatment of hypovitaminosis D. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 58, n. 5, p. 411-33, Jul 2014. ISSN 1677-9487. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25166032> >.
- 60 BECKMAN, M. J. et al. Human 25-hydroxyvitamin D3-24-hydroxylase, a multicatalytic enzyme. **Biochemistry**, v. 35, n. 25, p. 8465-72, Jun 1996. ISSN 0006-2960. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8679605> >.
- 61 ROSENSTREICH, S. J.; RICH, C.; VOLWILER, W. Deposition in and release of vitamin D3 from body fat: evidence for a storage site in the rat. **J Clin Invest**, v. 50, n. 3, p. 679-87, Mar 1971. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4322721> >.
- 62 WAMBERG, L. et al. Expression of vitamin D-metabolizing enzymes in human adipose tissue -- the effect of obesity and diet-induced weight loss. **Int J Obes (Lond)**, v. 37, n. 5, p. 651-7, May 2013. ISSN 1476-5497. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22828938> >.
- 63 DING, C. et al. Vitamin D signalling in adipose tissue. **Br J Nutr**, v. 108, n. 11, p. 1915-23, Dec 2012. ISSN 1475-2662. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23046765> >.
- 64 BIKLE, D. D. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. **Chem Biol**, v. 21, n. 3, p. 319-29, Mar 2014. ISSN 1879-1301. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24529992> >.
- 65 AL-DAGHRI, N. M. et al. Association of VDR-gene variants with factors related to the metabolic syndrome, type 2 diabetes and vitamin D deficiency. **Gene**, v. 542, n. 2, p. 129-33, Jun 2014. ISSN 1879-0038. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24680778> >.
- 66 SERGEEV, I. N. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and type 2 diabetes: Ca²⁺-dependent molecular mechanisms and the role of vitamin D status. **Horm Mol Biol Clin Investig**, v. 26, n. 1, p. 61-5, Apr 2016. ISSN 1868-1891. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26876815> >.
- 67 SERGEEV, I. N.; RHOTEN, W. B. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 evokes oscillations of intracellular calcium in a pancreatic beta-cell line. **Endocrinology**, v. 136, n. 7, p. 2852-61, Jul 1995. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7789310> >.
- 68 MATTHEWS, D. G. et al. Adipose-specific Vdr deletion alters body fat and enhances mammary epithelial density. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 164, p. 299-308, Nov 2016. ISSN 1879-1220. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26429395> >.
- 69 SPEDDING, S. Vitamin D and human health: celebrating diversity. **Nutrients**, v. 6, n. 1, p. 11-4, Jan 2014. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24451305> >.
- 70 SARAIVA, G. L. et al. [Prevalence of vitamin D deficiency, insufficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly inpatients and living in the community of the city of São Paulo, Brazil]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 51, n. 3, p. 437-42, Apr 2007. ISSN 0004-2730. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17546243> >.

- 71 SILVA, B. C. et al. [Prevalence of vitamin D deficiency and its correlation with PTH, biochemical bone turnover markers and bone mineral density, among patients from ambulatories]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 52, n. 3, p. 482-8, Apr 2008. ISSN 1677-9487. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18506273> >.
- 72 ALVAREZ-LEITE, J. I. Nutrient deficiencies secondary to bariatric surgery. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 7, n. 5, p. 569-75, Sep 2004. ISSN 1363-1950 (Print) 1363-1950.
- 73 PEREIRA-SANTOS, M. et al. Obesity and vitamin D deficiency: is there an association? **Obes Rev**, v. 17, n. 5, p. 484, May 2016. ISSN 1467-7881.
- 74 OLIVEIRA, R. M. et al. Association of vitamin D insufficiency with adiposity and metabolic disorders in Brazilian adolescents. **Public Health Nutr**, v. 17, n. 4, p. 787-94, Apr 2014. ISSN 1475-2727. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23659537> >.
- 75 CHRISTAKOS, S. et al. Vitamin D: beyond bone. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1287, p. 45-58, May 2013. ISSN 1749-6632. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23682710> >.
- 76 HEWISON, M. Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 39, n. 2, p. 365-79, table of contents, Jun 2010. ISSN 1558-4410. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20511058> >.
- 77 LIEL, Y. et al. Low circulating vitamin D in obesity. **Calcif Tissue Int**, v. 43, n. 4, p. 199-201, Oct 1988. ISSN 0171-967X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3145124> >.
- 78 GONZÁLEZ-MOLERO, I. et al. Hypovitaminosis D and incidence of obesity: a prospective study. **Eur J Clin Nutr**, v. 67, n. 6, p. 680-2, Jun 2013. ISSN 1476-5640. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23422920> >.
- 79 ROCK, C. L. et al. Weight loss is associated with increased serum 25-hydroxyvitamin D in overweight or obese women. **Obesity (Silver Spring)**, v. 20, n. 11, p. 2296-301, Nov 2012. ISSN 1930-739X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22402737> >.
- 80 TAMER, G. et al. Is vitamin D deficiency an independent risk factor for obesity and abdominal obesity in women? **Endokrynol Pol**, v. 63, n. 3, p. 196-201, 2012. ISSN 0423-104X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22744625> >.
- 81 STOKIĆ, E. et al. Obesity and Vitamin D Deficiency: Trends to Promote a More Proatherogenic Cardiometabolic Risk Profile. **Angiology**, Mar 2014. ISSN 1940-1574. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24658164> >.
- 82 SOSKIĆ, S.; STOKIĆ, E.; ISENOVIĆ, E. R. The relationship between vitamin D and obesity. **Curr Med Res Opin**, v. 30, n. 6, p. 1197-9, Jun 2014. ISSN 1473-4877. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24640937> >.

- 83 YBARRA, J.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, J.; PÉREZ, A. Hypovitaminosis D and morbid obesity. **Nurs Clin North Am**, v. 42, n. 1, p. 19-27, v, Mar 2007. ISSN 0029-6465. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17270587> >.
- 84 VANLINT, S. Vitamin D and obesity. **Nutrients**, v. 5, n. 3, p. 949-56, Mar 2013. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23519290> >.
- 85 ABBAS, M. A. Physiological functions of Vitamin D in adipose tissue. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 165, n. Pt B, p. 369-381, Jan 2017. ISSN 1879-1220. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27520301> >.
- 86 TARGHER, G. et al. Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 17, n. 7, p. 517-24, Sep 2007. ISSN 1590-3729. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16928437> >.
- 87 EARTHMAN, C. P. et al. The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications. **Int J Obes (Lond)**, v. 36, n. 3, p. 387-96, Mar 2012. ISSN 1476-5497. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21694701> >.
- 88 SNEVE, M.; FIGENSCHAU, Y.; JORDE, R. Supplementation with cholecalciferol does not result in weight reduction in overweight and obese subjects. **Eur J Endocrinol**, v. 159, n. 6, p. 675-84, Dec 2008. ISSN 1479-683X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19056900> >.
- 89 MASON, C. et al. Effects of weight loss on serum vitamin D in postmenopausal women. **Am J Clin Nutr**, v. 94, n. 1, p. 95-103, Jul 2011. ISSN 1938-3207. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21613554> >.
- 90 NIMITPHONG, H. et al. The association between vitamin D status and circulating adiponectin independent of adiposity in subjects with abnormal glucose tolerance. **Endocrine**, v. 36, n. 2, p. 205-10, Oct 2009. ISSN 1559-0100. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19597711> >.
- 91 HEWISON, M. Vitamin D and immune function: an overview. **Proc Nutr Soc**, v. 71, n. 1, p. 50-61, Feb 2012. ISSN 1475-2719. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21849106> >.
- 92 NONN, L. et al. Inhibition of p38 by vitamin D reduces interleukin-6 production in normal prostate cells via mitogen-activated protein kinase phosphatase 5: implications for prostate cancer prevention by vitamin D. **Cancer Res**, v. 66, n. 8, p. 4516-24, Apr 2006. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16618780> >.
- 93 YU, X. P.; BELLIDO, T.; MANOLAGAS, S. C. Down-regulation of NF-kappa B protein levels in activated human lymphocytes by 1,25-dihydroxyvitamin D3. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 92, n. 24, p. 10990-4, Nov 1995. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7479923> >.

- 94 VITSEVA, O. I. et al. Inducible Toll-like receptor and NF-kappaB regulatory pathway expression in human adipose tissue. **Obesity (Silver Spring)**, v. 16, n. 5, p. 932-7, May 2008. ISSN 1930-7381. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18292749> >.
- 95 CALTON, E. K. et al. The Impact of Vitamin D Levels on Inflammatory Status: A Systematic Review of Immune Cell Studies. **PLoS One**, v. 10, n. 11, p. e0141770, 2015. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26528817> >.
- 96 AHMAD, R. et al. Elevated expression of the toll like receptors 2 and 4 in obese individuals: its significance for obesity-induced inflammation. **J Inflamm (Lond)**, v. 9, n. 1, p. 48, Nov 2012. ISSN 1476-9255. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23191980> >.
- 97 ZITTERMANN, A. et al. Vitamin D supplementation enhances the beneficial effects of weight loss on cardiovascular disease risk markers. **Am J Clin Nutr**, v. 89, n. 5, p. 1321-7, May 2009. ISSN 1938-3207. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19321573> >.
- 98 SCHLEITHOFF, S. S. et al. Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Am J Clin Nutr**, v. 83, n. 4, p. 754-9, Apr 2006. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16600924> >.
- 99 SHAB-BIDAR, S. et al. Improvement of vitamin D status resulted in amelioration of biomarkers of systemic inflammation in the subjects with type 2 diabetes. **Diabetes Metab Res Rev**, v. 28, n. 5, p. 424-30, Jul 2012. ISSN 1520-7560. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22344966> >.
- 100 SERGEEV, I. N.; SONG, Q. High vitamin D and calcium intakes reduce diet-induced obesity in mice by increasing adipose tissue apoptosis. **Mol Nutr Food Res**, v. 58, n. 6, p. 1342-8, Jun 2014. ISSN 1613-4133. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24449427> >.
- 101 AL-DAGHRI, N. M. et al. Hypovitaminosis D associations with adverse metabolic parameters are accentuated in patients with Type 2 diabetes mellitus: a body mass index-independent role of adiponectin? **J Endocrinol Invest**, v. 36, n. 1, p. 1-6, Jan 2013. ISSN 1720-8386. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22183134> >.
- 102 NAGPAL, J.; PANDE, J. N.; BHARTIA, A. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of the short-term effect of vitamin D3 supplementation on insulin sensitivity in apparently healthy, middle-aged, centrally obese men. **Diabet Med**, v. 26, n. 1, p. 19-27, Jan 2009. ISSN 1464-5491. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19125756> >.
- 103 OOSTERWERFF, M. M. et al. Effect of moderate-dose vitamin D supplementation on insulin sensitivity in vitamin D-deficient non-Western immigrants in the Netherlands: a randomized placebo-controlled trial. **Am J Clin Nutr**, v. 100, n. 1, p. 152-60, Jul 2014. ISSN 1938-3207. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24898240> >.
- 104 SALEHPOUR, A. et al. Does vitamin D3 supplementation improve glucose homeostasis in overweight or obese women? A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. **Diabet Med**, v. 30, n. 12, p. 1477-81, Dec 2013. ISSN 1464-5491. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23822797> >.

- 105 VAIDYA, A. et al. The influence of sodium- and calcium-regulatory hormone interventions on adipocytokines in obesity and diabetes. **Metabolism**, v. 62, n. 4, p. 539-47, Apr 2013. ISSN 1532-8600. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23142162> >.
- 106 NESSVI, S. et al. Association of 25-hydroxyvitamin D3]levels in adult New Zealanders with ethnicity, skin color and self-reported skin sensitivity to sun exposure. **Photochem Photobiol**, v. 87, n. 5, p. 1173-8, Sep-Oct 2011. ISSN 0031-8655.
- 107 CARGILL, J. et al. Validation of brief questionnaire measures of sun exposure and skin pigmentation against detailed and objective measures including vitamin D status. **Photochem Photobiol**, v. 89, n. 1, p. 219-26, Jan-Feb 2013. ISSN 0031-8655.
- 108 KIM, Y.; PARK, I.; KANG, M. Convergent validity of the international physical activity questionnaire (IPAQ): meta-analysis. **Public Health Nutr**, v. 16, n. 3, p. 440-52, Mar 2013. ISSN 1475-2727. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22874087> >.
- 109 NICAISE, V.; CRESPO, N. C.; MARSHALL, S. Agreement between the IPAQ and accelerometer for detecting intervention-related changes in physical activity in a sample of Latina women. **J Phys Act Health**, v. 11, n. 4, p. 846-52, May 2014. ISSN 1543-5474. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23575348> >.
- 110 WHOCENTERSFOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. About BMI classification for adults. <http://apps.who.int/whodoc/publications/monographs/9789246467283/annex1.html>, 2004. Acesso em: 14.February.19.03.2016.
- 111 VASQUES, A. C. et al. Sagittal Abdominal Diameter as a Surrogate Marker of Insulin Resistance in an Admixed Population--Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). **PLoS One**, v. 10, n. 5, p. e0125365, 2015. ISSN 1932-6203.
- 112 FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chem**, v. 18, n. 6, p. 499-502, Jun 1972. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4337382> >.
- 113 MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412-9, Jul 1985. ISSN 0012-186X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3899825> >.
- 114 IPAQ. Guidelines for Data Processing and Analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) - Short and Long Forms. <http://www.ipaq.ki.se>, 2005. Acesso em: 14. February.
- 115 MCGILL, A. T. et al. Relationships of low serum vitamin D3 with anthropometry and markers of the metabolic syndrome and diabetes in overweight and obesity. **Nutr J**, v. 7, p. 4, 2008. ISSN 1475-2891. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18226257> >.
- 116 DE SOUZA, W. N. et al. Association between 25-hydroxyvitamin D and inflammatory biomarker levels in a cross-sectional population-based study, São Paulo, Brazil. **Nutr Res**, v. 36, n. 1, p. 1-8,

Jan 2016. ISSN 1879-0739. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26773775> >.

- 117 WRIGHT, O. R. et al. The effect of 25-hydroxyvitamin D on insulin sensitivity in obesity: is it mediated via adiponectin? **Can J Physiol Pharmacol**, v. 91, n. 6, p. 496-501, Jun 2013. ISSN 1205-7541. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23746304> >.
- 118 COBAYASHI, F.; LOURENÇO, B. H.; CARDOSO, M. A. 25-Hydroxyvitamin D3 Levels, BsmI Polymorphism and Insulin Resistance in Brazilian Amazonian Children. **Int J Mol Sci**, v. 16, n. 6, p. 12531-46, Jun 2015. ISSN 1422-0067. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26047339> >.

Apêndice 1- Protocolo de Coleta de Dados**Questionário do Estudo: Níveis de vitD em obesos e não obesos: associações com adiponectina e resistência a insulina**

Iniciais do nome e sobrenome:

data:

Sexo: () fem () masc

Idade ____

Escolaridade: ____ (anos de estudo)

Cor de pele: () branca () parda () negra () amarela () outros

Doenças que possuo: () pressão alta () diabetes () insuficiência renal () câncer () outros _____ () nenhuma

Medicações que uso: _____

Suplementos de vitaminas que usei nos últimos 6 meses: _____

Tenho costume de usar filtro solar: () diariamente várias vezes ao dia () diariamente uma vez ao dia () as vezes, só quando me exponho ao sol () raramente () nunca

Tenho contato com o sol (horas por dia em média) () < 1 h () 1 a 2 h () 2 a 4 h () > 4 h

Atividades que faço ao ar livre durante a semana incluindo caminhadas

Estou grávida ou tenho chance de estar? () sim () não

Histórico de alimentação habitual

Café da manhã: _____

Lanche: _____

Almoço: _____

Lanche da tarde: _____

Jantar: _____

Ceia: _____

IPAQ - QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO CURTA -

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gastou fazendo atividade física na **ÚLTIMA** semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim.

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 pense somente nas atividades que você realiza **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 sentado 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

2. Medida dos dados antropométricos e anotação em prontuário

Peso=

Altura=

IMC (peso/alt²)=

Circunferência abdominal=

% de gordura por bioimpedância =

3.Dados laboratoriais.

25-HidroxivitD =

adiponectina=

Glicemia de jejum=

Insulina=

Índice HOMA [Insulina (mUI/mL) x glicemia (mg/dL) X 0.05551]/ 22,5 =

colesterol total=

HDL=

LDL=,

triglicérides=

creatinina=

Apêndice 2- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título do projeto: Níveis de vitD em obesos e não obesos: associações com adiponectina e resistência à insulina

O Sr(a). está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa acima citado.

O texto abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos realizando. Sua colaboração neste estudo será muito importante para nós, mas, se desistir a qualquer momento, isto não causará nenhum prejuízo a você.

O estudo deseja avaliar os níveis de vitD3 e sua relação com outros exames de sangue que avaliam a resistência à insulina, como a adiponectina. A adiponectina é uma proteína secretada pelo tecido adiposo na circulação sanguínea e que influencia o metabolismo sistêmico. Sua secreção é inversamente relacionada à resistência à insulina. Em contraste com a maioria das proteínas secretadas pelo tecido adiposo, as quais estão elevadas na obesidade, a adiponectina está diminuída ou mesmo inalterada em diferentes graus de adiposidade. A adiponectina parece melhorar os fatores de risco associados à obesidade. A resistência à insulina ocorre quando esse hormônio não consegue agir de forma adequada no organismo. Desta forma, avaliando se existe associação entre obesidade, vitD adiponectina e resistência à insulina, poderemos melhorar o acompanhamento clínico dos pacientes.

Estou ciente que:

- Responderei a uma entrevista de curta duração para que meus dados de peso, altura, idade, índice de massa corporal [peso/(altura X altura)], bioimpedância, uso de medicações, doenças em tratamento, possam ser anotados em um prontuário próprio do médico responsável e que farei todos os exames solicitados no laboratório São Marcos (o laboratório entrará em contato comigo e agendará para coleta em meu domicílio ou em uma das unidades indicadas para a pesquisa)
- Estes exames já fazem parte da rotina de exames a serem solicitados na minha consulta com exceção da adiponectina. No entanto a dosagem da mesma não trará qualquer custo adicional ao meu diagnóstico e/ou tratamento.
- Este estudo não me trará nenhum risco associado, além do risco de qualquer coleta habitual de sangue, já que as coletas para exames seriam realizadas independente da minha participação nesta pesquisa, e seguem um protocolo previamente existente no setor de exames do laboratório São Marcos.
- Este estudo poderá me trazer benefícios na avaliação de minha saúde e potencializar possíveis diagnósticos médicos e caso sejam detectadas alterações, direcionar o meu tratamento. Os resultados do estudo poderão gerar orientações de cuidados específicos para os pacientes, melhorando seu atendimento.

- A participação neste estudo não tem objetivo de me submeter a qualquer tratamento, bem como não me acarretará qualquer despesa financeira extra.
- Tenho a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação.
- A desistência não causará nenhum prejuízo à minha saúde ou bem estar físico.
- Os resultados obtidos durante esse estudo serão mantidos em segredo, mas concordo que sejam divulgados em revistas científicas, congressos ou pôster de eventos médicos, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados.
- Caso eu desejar, poderei tomar conhecimento dos resultados ao final da pesquisa.
- A minha participação é voluntária, portanto, não receberei nenhuma forma de remuneração.
- Posso entrar em contato com o pesquisador responsável para esclarecimento de qualquer dúvida.
- Tenho o direito de ligar para o Comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) para esclarecimento de dúvidas quanto aos aspectos éticos do projeto.

Receberei uma via desse termo de consentimento de igual teor, devidamente assinada pelos pesquisadores responsáveis

Eu _____,

Residente no endereço

Portador(a) da identidade _____, nascido(a) em ____/____/____ e inscrito no CPF _____, abaixo assinado(a), concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário do estudo : “Níveis de vitD3 em pacientes obesos e não obesos: associações com adiponectina e resistência à insulina”

Declaro que obtive todas as informações necessárias, bem como todos os eventuais esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas.

Médicos responsáveis:

Dra. Marina Carvalho Rassbach. Endereço: Rua Rodrigues Caldas 670-14 andar Belo Horizonte MG CEP 30190120 Telefone : 33357696

Dra. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz. Endereço: Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da UFMG- Hospital Borges da Costa. Av. Prof Alfredo Balena, 110 Belo Horizonte, MG. CEP30130-100 Telefone (31) 34099552.

Dra. Jacqueline Isaura Alvarez Leite. Endereço: Instituto alfa do departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas - Faculdade de Medicina da UFMG. Av. Prof Alfredo Balena, 110 Belo Horizonte, MG. CEP30130-100 .

Comitê de ética em pesquisa -Av. Antônio Carlos, 6627 - Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005 Campus Pampulha Belo Horizonte, MG – Brasil 31270-901 telefax 31 3409-4592 coep@prpq.ufmg.br

Belo Horizonte ____ de _____ de 20 ____.

_____ Data ____ / ____ / ____

Nome do voluntário

_____ Data ____ / ____ / ____

Assinatura do voluntário

_____ Data ____ / ____ / ____

Responsável pelo projeto

Anexo I – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

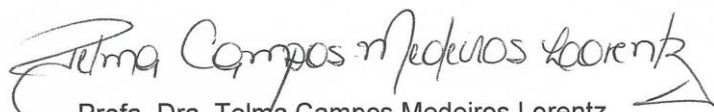
Projeto: CAAE – 42364915.0.0000.5149

Interessado(a): Prof^a. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina- UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 28 de abril de 2015, o projeto de pesquisa intitulado " **Níveis de vitamina D3 em pacientes obesos e não obesos: correlação com adiponectina e resistência à insulina**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.


Prof. Dra. Telma Campos Medeiros Lorentz
Coordenadora do COEP-UFMG

Formação da Aluna

- Título de Especialista em Nutrologia pela ABRAN e Associação Médica Brasileira
- Pos-graduação *latu sensu* em Nutrologia pela ABRAN
- Pos-graduação *latu sensu* em Nutrição Clínica pelo GANEP
- Residência em Clínica Médica credenciada pelo MEC
- Medicina pela Universidade Federal de Minas Gerais