

Lilian Mello Soares

INFLUÊNCIA DA IDADE, DA FUNÇÃO RENAL, DOS NÍVEIS SÉRICOS
DE CÁLCIO IÔNICO E DE DOIS DIFERENTES IMUNOENSAIOS NA
RELAÇÃO ENTRE 25-HIDROXIVITAMINA D E PARATORMÔNIO

Universidade Federal de Minas Gerais
Programa de Pós-Graduação em Patologia
Belo Horizonte – MG

2015

Lilian Mello Soares

INFLUÊNCIA DA IDADE, DA FUNÇÃO RENAL, DOS NÍVEIS SÉRICOS
DE CÁLCIO IÔNICO E DE DOIS DIFERENTES IMUNOENSAIOS NA
RELAÇÃO ENTRE 25-HIDROXIVITAMINA D E PARATORMÔNIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Patologia - área de concentração: Patologia Investigativa.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo de Souza Vasconcellos
Co-orientadora: Profa. Dra. Silvana Maria Elói Santos

Belo Horizonte – MG
2015

S676i Soares, Lilian Mello.
Influência da idade, da função renal, dos níveis séricos de cálcio iônico e de dois diferentes imunoenaios na relação entre 25-hidroxivitamina D e paratormônio [manuscrito]. / Lilian Mello Soares. - - Belo Horizonte: 2015. 75f.: il.
Orientador(a): Leonardo de Souza Vasconcellos.
Coorientador(a): Silvana Maria Elói Santos.
Área de concentração: Patologia Investigativa.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Vitamina D. 2. Cálcio. 3. Creatinina 4. Hormônio Paratireóideo. 5. Efeito Idade. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Vasconcellos, Leonardo de Souza. II. Santos, Silvana Maria Elói. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título

NLM : QY 100



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

UFMG

ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA

LILIAN MELLO SOARES

Realizou-se, no dia 09 de fevereiro de 2015, às 08:30 horas, Faculdade de Medicina - UFMG, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *INFLUÊNCIA DA IDADE, DA FUNÇÃO RENAL, DOS NÍVEIS SÉRICOS DE CÁLCIO IÔNICO E DE DOIS DIFERENTES IMUNOENSAIOS NA RELAÇÃO ENTRE 25-HIDROXIVITAMINA D E PARATORMÔNIO*, apresentada por LILIAN MELLO SOARES, número de registro 2013656070, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Leonardo de Souza Vasconcellos - Orientador (UFMG), Prof(a). Silvana Maria Eloi Santos (UFMG) - Coorientadora, Prof(a). Andreia Maria Camargos Rocha (UFMG), Prof(a). Maria Marta Sarquis Soares (UFMG) e Prof(a). Taciana de Figueiredo Soares (UFMG) – Membros Titulares.

A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada


Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 09 de fevereiro de 2015.


Prof(a). Leonardo de Souza Vasconcellos (Doutor)


Prof(a). Silvana Maria Eloi Santos (Doutora)


Prof(a). Andreia Maria Camargos Rocha (Doutora)


Prof(a). Maria Marta Sarquis Soares (Doutora)


Prof(a). Taciana de Figueiredo Soares (Doutora)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

UFMG

FOLHA DE APROVAÇÃO

INFLUÊNCIA DA IDADE, DA FUNÇÃO RENAL, DOS NÍVEIS SÉRICOS DE CÁLCIO IÔNICO E DE DOIS DIFERENTES IMUNOENSAIOS NA RELAÇÃO ENTRE 25-HIDROXIVITAMINA D E PARATORMÔNIO

LILIAN MELLO SOARES

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em PATOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, área de concentração PATOLOGIA INVESTIGATIVA.

Aprovada em 09 de fevereiro de 2015, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Leonardo de Souza Vasconcellos - Orientador
UFMG

Prof(a). Silvana Maria Eloi Santos - Coorientadora
UFMG

Prof(a). Andreia Maria Camargos Rocha
UFMG

Prof(a). Maria Marta Sarquis Soares
UFMG

Prof(a). Taciana de Figueiredo Soares
UFMG

Belo Horizonte, 9 de fevereiro de 2015.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Dr. Jaime Arturo Ramírez

Vice-reitora: Profa. Dra. Sandra Regina Goulart Almeida

Pró-reitor de Pós-graduação: Prof. Dr. Antônio de Paiva Duarte

Pró-reitora de Pesquisa: Profa. Dra. Adelina Martha dos Reis

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Vice-diretor: Prof. Dr. Humberto José Alves

Coordenadora Geral do Centro de Pós-graduação: Profa. Dra. Sandhi Maria Barreto

Coordenador do Programa de Pós-graduação em Patologia: Prof. Dr. Wagner Luiz Tafuri

Colegiado de Pós-graduação em Patologia:

Prof. Dr. Wagner Luiz Tafuri

Prof. Dr. Geovanni Dantas Cassali

Profa. Dra. Rosa Maria Esteves Arantes

Prof. Dr. Pedro Guatimosim Vidigal

Profa. Dra. Tatiane Alves da Paixão

Profa. Dra. Milene Alvarenga Rachid

Conrado de Oliveira Gamba (Representante discente)

Este trabalho foi desenvolvido pelo Grupo de Pesquisa em Patologia Clínica/Medicina Laboratorial da Universidade Federal de Minas Gerais (GPPCML/CNPq).

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos pais, Marco Antônio e Goretti, pela dedicação e imenso carinho.

Ao Filipi, pelo amor e cumplicidade, que fazem nossa caminhada mais serena e feliz.

Aos meus irmãos, Flávia e Renato, companheiros de todas as horas.

Ao Prof. Dr. Leonardo de Souza Vasconcellos, pela orientação, disponibilidade e confiança em todos os momentos.

À Profa. Dra. Silvana Maria Elói Santos, pelos valiosos ensinamentos.

Ao Dr. William Pedrosa, pela inestimável colaboração na construção deste trabalho.

Aos colegas do laboratório Hermes Pardini, pela amizade e apoio.

A Deus, amparo e força diante dos desafios.

RESUMO

Tem-se observado um aumento na prevalência de hipovitaminose D desde a adoção de valores de referência baseados em medidas funcionais, como a concentração sérica de 25-hidroxivitamina D (25OHD) capaz de suprimir a secreção de paratormônio (PTH). Embora esta abordagem não tenha levado à obtenção de um limiar definitivo, o ponto de corte de 30 ng/mL tem sido amplamente empregado. O objetivo deste trabalho foi analisar a relação entre resultados de 25OHD e PTH dosados simultaneamente, para avaliar a adequabilidade da utilização de pontos de corte universais para vitamina D. Investigou-se a influência da idade, da função renal, dos níveis séricos de cálcio iônico e de dois diferentes imunoenaios para dosagem de 25OHD (Architect[®] e LIAISON[®]) nesta relação. Foram obtidos 23.259 resultados emparelhados de 25OHD e PTH, dosados entre janeiro e dezembro de 2012, no laboratório Hermes Pardini. Não foi observado um platô de supressão do PTH na relação entre os dois analitos. As medianas de PTH para uma mesma concentração de 25OHD foram consistentemente mais altas com o avançar da idade e na subpopulação com alterações da função renal e/ou dos níveis séricos de cálcio iônico. A utilização de dois imunoenaios distintos para dosagem de 25OHD não alterou sua relação com o PTH. Concluindo, os valores de referência universais atualmente adotados não são adequados para avaliação dos níveis séricos de vitamina D. Idade, função renal e níveis de cálcio iônico da população estudada deveriam ser considerados na determinação funcional de suas concentrações ótimas e na interpretação dos resultados.

Palavras-chave: vitamina D; 25-hidroxivitamina D 2; calcifediol; hormônio paratireoideo; efeito idade; imunoenasão; cálcio; creatinina.

ABSTRACT

It has been noticed an increase in the prevalence of hypovitaminosis D since the introduction of reference values based on functional measurements, such as 25-hydroxyvitamin D (25OHD) levels that maximally suppress parathyroid hormone (PTH) secretion. Although this approach has not led to a definitive threshold, 30 ng/mL has been widely adopted as the cutoff value for defining optimal vitamin D status. The objective of this study was to analyze the relationship between 25OHD and PTH simultaneously measured, in order to assess the appropriateness of single universal thresholds for vitamin D. The influence of age, renal function and ionized calcium levels on this relationship was evaluated, as well as the impact of using two different assays for 25OHD testing (Architect[®] and LIAISON[®]). This was a cross-sectional analysis of 23,259 paired serum PTH and 25OHD levels, measured from January to December 2012. There was no evidence of a plateau relationship between these two analytes. For similar 25OHD concentrations, PTH medians were consistently higher with advancing age and in the subpopulation with impaired renal function and/or abnormal ionized calcium levels. Using different immunoassays for 25OHD testing had no significant impact on its relationship with PTH. In conclusion, single universal reference values are not suitable for assessing vitamin D status. Age, renal function and ionized calcium levels of the studied population should be taken into account in the definition of vitamin D optimal concentrations and in the interpretation of 25OHD results.

Keywords: vitamin D; 25-hydroxyvitamin D 2; calcifediol; parathyroid hormone; age factors; immunoassay; calcium; creatinine.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Características demográficas e resultados laboratoriais dos indivíduos com dosagens concomitantes de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) no laboratório Hermes Pardini, em 2012.43
- Tabela 2: Características demográficas e resultados laboratoriais dos indivíduos com dosagens concomitantes de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) no laboratório Hermes Pardini, em 2012, agrupados de acordo com a faixa etária.....45
- Tabela 3: Distribuição dos resultados de creatinina sérica (mg/dL) por faixa etária nos indivíduos com dosagens concomitantes de creatinina, 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH), no ano de 2012.47
- Tabela 4: Características demográficas e resultados laboratoriais das subpopulações de 2012 selecionadas de acordo com a função renal e os níveis séricos de cálcio iônico.48
- Tabela 5: Distribuição dos resultados de paratormônio (PTH) por intervalo de concentrações de 25-hidroxivitamina D (25OHD) nas subpopulações de 2012 selecionadas de acordo com a função renal e os níveis séricos de cálcio iônico.51
- Tabela 6: Características demográficas e resultados laboratoriais dos indivíduos com dosagens concomitantes de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) no laboratório Hermes Pardini, no ano de 2010.....51
- Tabela 7: Distribuição dos resultados de paratormônio (PTH) por intervalo de concentrações de 25-hidroxivitamina D (25OHD), nos anos de 2010 e 2012.....53

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Fontes, metabolismo e ações da vitamina D. UVB: Radiação Ultravioleta B; VDBP: *Vitamin D-Binding Protein* (Proteína Ligadora de Vitamina D); PTH: Paratormônio..... 19
- Figura 2: Organograma das populações estudadas. 25OHD: 25-Hidroxivitamina D; PTH: Paratormônio; TFGe: Taxa de Filtração Glomerular estimada; n: Número de indivíduos na amostra..... 37
- Figura 3: Total de dosagens de 25-hidroxivitamina D (25OHD) realizadas no laboratório Hermes Pardini entre os anos de 2008 e 2013, e percentual de 25OHD com relação ao total de exames executados nos mesmos anos..... 42
- Figura 4: Relação entre medianas de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) dos indivíduos distribuídos em 50 grupos (n=465) de acordo com os resultados de 25OHD, no ano de 2012..... 44
- Figura 5: Relação entre medianas de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) dos indivíduos distribuídos em 50 grupos de acordo com os resultados de 25OHD nas diferentes faixas etárias, no ano de 2012..... 46
- Figura 6: Medianas (Intervalo de Confiança de 95%) do paratormônio (PTH) por faixa etária, no ano de 2012, em indivíduos agrupados de acordo com os resultados de 25-hidroxivitamina D (25OHD): < 10,0 ng/mL (n=225), 10,0 a 19,9 ng/mL (n=4.244), 20,0 a 29,9 ng/mL (n=11.027), 30,0 a 49,9 ng/mL (n=7.245), e 50,0 a 160,0 ng/mL (n=518). As medianas de PTH dos grupos etários foram comparadas pelo teste Kruskal-Wallis em cada classe de 25OHD..... 47
- Figura 7: Relação entre medianas de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) nos indivíduos com dosagens concomitantes de creatinina, cálcio iônico, 25OHD e PTH em 2012 (grupo geral), na subpopulação com cálcio iônico na faixa de referência e Taxa de Filtração Glomerular estimada (TFGe) ≥ 60 mL/min/1,73m² (grupo normal), e na subpopulação com cálcio iônico alterado e/ou TFGGe < 60 mL/min/1,73m² (grupo alterado). Em todos os grupos, os indivíduos foram distribuídos em 50 subgrupos de acordo com os resultados de 25OHD..... 49
- Figura 8: Medianas do paratormônio (PTH) por intervalo de concentrações de 25-hidroxivitamina D (25OHD) na subpopulação de 2012 que realizou dosagens concomitantes de creatinina, cálcio iônico, 25OHD e PTH (Grupo Geral), na subpopulação com cálcio iônico na faixa de referência e Taxa de Filtração Glomerular estimada (TFGe) ≥ 60 mL/min/1,73m² (Grupo Normal), e na subpopulação com cálcio iônico alterado e/ou TFGGe < 60 mL/min/1,73m² (Grupo Alterado). 50
- Figura 9: Relação entre medianas de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) dos indivíduos distribuídos em 50 grupos de acordo com os resultados de 25OHD, nos anos de 2010 e 2012..... 52
- Figura 10: Medianas (Intervalo de Confiança de 95%) do paratormônio (PTH) por faixa de concentrações de 25-hidroxivitamina D (25OHD), nos anos de 2010 e 2012. As medianas de PTH foram comparadas pelo teste Mann-Whitney em cada classe de 25OHD..... 53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

25OHD	25-hidroxivitamina D
25OHD2	25-hidroxivitamina D2
25OHD3	25-hidroxivitamina D3
ANSA	<i>8-Anilino-1-Naphtalene Sulfonic Acid</i> (Ácido 8-Anilino-1-Naftaleno Sulfônico)
CAP	<i>College of American Pathologists</i>
CMIA	<i>Chemiluminescent Microparticle Immunoassay</i> (Imunoensaio Quimioluminescente por Micropartículas)
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DEQAS	<i>The International Vitamin D Quality Assessment Scheme</i>
dL	Decilitro
DRC	Doença Renal Crônica
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EUA	Estados Unidos da América
FGF23	<i>Fibroblast Growth Factor 23</i>
FPS	Fator de Proteção Solar
GPPCML	Grupo de Pesquisa em Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IMC	Índice de Massa Corporal
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
ISE	<i>Ion-Selective Electrode</i> (Eletrodo Íon-Seletivo)
LC-MS/MS	<i>Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry</i> (Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas em Tandem)
LOESS	<i>Locally Regression and Smoothing Scatterplot</i>
LOWESS	<i>Locally Weighted Regression and Scatterplot Smoothing</i>
MDRD	<i>Modification of Diet in Renal Disease</i>

mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
n	Número de indivíduos na amostra
ng	Nanograma
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
pg	Picograma
PHEX	<i>Phosphate regulating Endopeptidase Homolog, X-linked</i>
PTH	Paratormônio
RANK	<i>Receptor Activator of Nuclear factor κB</i>
RANKL	<i>Receptor Activator of Nuclear factor κB Ligand</i>
RLU	<i>Relative Light Units</i> (Unidades de Luz Relativas)
SRM	<i>Standard Reference Material</i> (Material de Referência Internacional)
TFGe	Taxa de Filtração Glomerular estimada
TRPV6	<i>Transient Receptor Potential cation channel, subfamily V, member 6</i>
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UPLC	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i>
UV	Ultravioleta
UVB	Ultravioleta B
VDBP	<i>Vitamin D-Binding Protein</i> (Proteína Ligadora de Vitamina D)
VDR	<i>Vitamin D Receptor</i> (Receptor de Vitamina D)
VDR-RXR	<i>Vitamin D Receptor-Retinoic X Receptor</i> (Receptor de Vitamina D-Receptor de Ácido Retinóico X)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 HISTÓRICO	16
2.2 FORMAS E FONTES DE VITAMINA D	17
2.3 METABOLISMO E FUNÇÕES DA VITAMINA D.....	18
2.4 AVALIAÇÃO DOS ESTOQUES DE VITAMINA D	20
2.5 CAUSAS DE HIPOVITAMINOSE D.....	21
2.6 CONSEQUÊNCIAS DA HIPOVITAMINOSE D.....	23
2.7 INDICAÇÕES DE DOSAGEM DE VITAMINA D	24
2.8 MÉTODOS DISPONÍVEIS.....	25
2.9 DIFICULDADES NA DOSAGEM DE 25-HIDROXIVITAMINA D.....	27
2.10 DIFERENÇAS ENTRE ENSAIOS	28
2.11 NOVOS VALORES DE REFERÊNCIA.....	32
3 OBJETIVOS.....	36
3.1 OBJETIVO GERAL	36
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
4.1 POPULAÇÃO E DADOS DO ESTUDO	37
4.2 DOSAGENS LABORATORIAIS	39
4.3 ANÁLISE DOS DADOS.....	41
5 RESULTADOS	42
6 DISCUSSÃO.....	54
7 CONCLUSÕES.....	60
8 PERSPECTIVAS FUTURAS	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
APÊNDICE A – PLANILHAS DE DADOS	70
ANEXO A - PARECER DO NÚCLEO DE APOIO À PESQUISA DO LABORATÓRIO HERMES PARDINI.....	74
ANEXO B - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (COEP) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (UFMG).....	75

1 INTRODUÇÃO

As solicitações de dosagem sérica de 25-hidroxivitamina D (25OHD), metabólito mais estável e abundante da vitamina D, cresceram exponencialmente na última década. Isso pode ser explicado em parte pelos inúmeros estudos que sugerem associação de baixos níveis de 25OHD com diversas condições clínicas, motivados pela descoberta de receptores de vitamina D e enzimas envolvidas em seu metabolismo em múltiplos tecidos. Estudos observacionais demonstram associação entre hipovitaminose D e mortalidade, doenças cardiovasculares, diabetes, neoplasias malignas, processos infecciosos, esclerose múltipla, doenças mentais, entre outras (HOLICK, 2004, 2006; ADAMS; HEWISON, 2010; ROSEN, 2011; THACHER; CLARKE, 2011). No entanto, fatores de confusão relacionados tanto aos desfechos clínicos quanto à diminuição dos níveis séricos de vitamina D, como obesidade, não podem ser descartados (THACHER; CLARKE, 2011; THEODORATOU *et al.*, 2014).

Outro motivo para o grande interesse pela vitamina D é a tendência mundial à hipovitaminose atualmente observada (ADAMS; HEWISON, 2010). Embora sejam aventadas razões como maior proteção contra o sol e aumento da obesidade, há que se considerar os novos pontos de corte preconizados em substituição aos valores de referência anteriores (ROSEN, 2011; ROSS *et al.*, 2011b). A proposta de definição das concentrações séricas de 25OHD que determinam efeitos deletérios à saúde, especialmente óssea, influenciou a adoção, na última década, de pontos de corte baseados em medidas funcionais para avaliar a “suficiência” de vitamina D, em substituição à determinação dos valores usualmente encontrados em 95% de uma população supostamente saudável (CAVALIER *et al.*, 2009).

Uma definição funcional muito utilizada baseia-se na concentração de 25OHD capaz de suprimir a secreção de paratormônio (PTH). No entanto, esta abordagem não levou à obtenção de um limiar definitivo, já que os níveis ótimos variam muito entre os estudos, sendo encontrados valores de 12 a 50 ng/mL na literatura (HOLICK *et al.*, 2011; ROSS *et al.*, 2011b; ROSEN *et al.*, 2012; VALCOUR *et al.*, 2012). Apesar disso, o ponto de corte de 30 ng/mL é amplamente utilizado (HOLICK *et al.*, 2011). O termo “insuficiência” é empregado quando os valores de 25OHD são inferiores aos níveis ótimos, mas superiores às concentrações consideradas para a definição de deficiência, associada a risco aumentado de raquitismo ou osteomalácia. Como a vitamina D controla a absorção do cálcio da dieta,

mesmo sua leve insuficiência é capaz de provocar uma elevação compensatória de PTH, associada a aumento da remodelação óssea (SALIBA *et al.*, 2011).

A falta de um consenso sobre os limiares estabelecidos para a definição de níveis ótimos de vitamina D tem implicações clínicas, podendo resultar em super ou subtratamento (SALIBA *et al.*, 2011). Algumas razões aventadas para a variação observada entre os pontos de corte propostos são as características das populações estudadas, como composição etária, prevalência de doença renal crônica e de hiperparatireoidismo primário, e a utilização de diferentes imunoensaios para dosagem de 25OHD (CAVALIER *et al.*, 2009; SALIBA *et al.*, 2011).

Faz-se necessário, portanto, aprofundar a investigação da relação entre 25OHD e PTH, considerando-se os fatores citados, para esclarecer se os valores de referência universais atualmente adotados são adequados ou levam a uma superestimativa da prevalência de hipovitaminose D.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

O caminho até a descoberta da vitamina D começou com a identificação de uma nova doença óssea infantil mais frequente em ricos que em pobres (THACHER; CLARKE, 2011). Glissen, DeBoot e Whistler observaram que as crianças acometidas apresentavam atraso do crescimento e desenvolviam deformidades esqueléticas, como projeções ósseas na caixa torácica (rosário raquítico) e pernas arqueadas (*genu varum*) ou joelhos “em X” (*genu valgum*). Em 1650, Francis Glisson publicou o primeiro tratado médico sobre essa doença, denominada raquitismo (HOLICK, 2004; THACHER; CLARKE, 2011).

Durante a Revolução Industrial, a prevalência do raquitismo aumentou muito nas áreas urbanas superpovoadas e poluídas, atingindo 40% a 60% das crianças, devido à baixa exposição à luz solar (THACHER; CLARKE, 2011). Em pouco tempo, o raquitismo passou a ser observado também no Nordeste dos Estados Unidos da América (EUA), já que condições ambientais semelhantes eram observadas nas cidades de Nova York e Boston. Sniadecki foi o primeiro autor a relatar, em 1822, a associação do raquitismo com a falta de exposição solar, ao publicar suas observações clínicas de que crianças que viviam na cidade de Varsóvia apresentavam uma alta prevalência da doença, ao contrário das que moravam nas áreas rurais (HOLICK, 2004; THACHER; CLARKE, 2011). Em 1890, Palm partiu da constatação de que crianças das cidades industrializadas da Grã-Bretanha tinham alto risco de desenvolver raquitismo, enquanto mesmo aquelas que viviam na miséria na Índia e China estavam livres da doença, para concluir que era importante reconhecer que essa doença poderia ser prevenida por banhos de sol (PALM, 1890). Em 1919, Huldschinsky expôs crianças com raquitismo a lâmpadas de mercúrio e relatou uma melhora considerável da doença, também observada por Hess e Unger, em 1921, em crianças expostas durante vários meses a luz solar no terraço de um hospital na cidade de Nova York (HULDSCHINSKY, 1919; HESS; UNGER, 1921). Esses achados levaram Hess & Weinstock e Steenbock & Black a irradiar uma grande variedade de substâncias, inclusive gramíneas e óleos vegetais, visando conferir atividade antirraquítica aos alimentos (HESS; WEINSTOCK, 1924; STEENBOCK; BLACK, 1924; HOLICK, 2004; THACHER; CLARKE, 2011).

Embora o óleo de fígado de bacalhau tenha sido estabelecido como um tratamento efetivo para o raquitismo em meados do século XIX, somente no início do século XX, o trabalho de Mellanby e McCollum levou à descoberta da vitamina D como o agente com propriedades antirraquíticas presente nesse composto (THACHER; CLARKE, 2011). Ela foi designada “D” por suceder as vitaminas A, B e C, previamente descobertas (ZHANG; NAUGHTON, 2010). A identificação da vitamina D na década de 1930 levou à fortificação do leite e de muitos outros produtos. Este processo praticamente erradicou o raquitismo em países da América do Norte e Europa (HOLICK, 2004; THACHER; CLARKE, 2011). No entanto, após a Segunda Guerra Mundial, o processo de fortificação não foi monitorado adequadamente e quantidades excessivas de vitamina D foram adicionadas a alguns produtos lácteos, causando um surto de intoxicação em crianças. Isto culminou na proibição da suplementação de vitamina D no leite na maioria dos países europeus, que persiste até os dias de hoje (HOLICK, 2004).

2.2 FORMAS E FONTES DE VITAMINA D

O termo Vitamina D diz respeito a suas duas formas: vitamina D₂ ou ergocalciferol e vitamina D₃ ou colecalciferol (HOLICK, 2006). Seus precursores (ergosterol e 7-deidrocolesterol, respectivamente) são estruturas de quatro anéis, relativamente rígidas, incorporadas à dupla camada lipídica da membrana plasmática celular (HOLICK, 2004).

Durante a exposição à luz solar, a radiação ultravioleta B (UVB) é absorvida pelo 7-deidrocolesterol (pró-vitamina D₃) presente na membrana plasmática de queratinócitos da epiderme e em fibroblastos da derme. A absorção da energia pelas duplas ligações no anel B resulta em rearranjo das mesmas e abertura do anel para formação da pré-vitamina D₃. Esta sofre uma isomerização térmica, dando origem à vitamina D₃, composto termodinamicamente mais estável, liberado no espaço extracelular (ADAMS; HEWISON, 2010; ZHANG; NAUGHTON, 2010). A proteína ligadora de vitamina D (VDBP, do inglês *Vitamin D-Binding Protein*), presente no leito capilar da derme, tem afinidade pela vitamina D₃ e a conduz até a circulação. A exposição solar prolongada não produz quantidades excessivas de vitamina D a ponto de provocar intoxicação porque a pré-vitamina D₃ formada e a vitamina D₃ que não atingiu a circulação absorvem radiação solar ultravioleta (UV) e são isomerizadas a fotoprodutos biologicamente inativos, como taquisterol e lumisterol (HOLICK, 2004, 2006; ZHANG; NAUGHTON, 2010).

A radiação solar UVB é a fonte primária de vitamina D3 para a maioria das pessoas, já que as fontes alimentares são limitadas. Estas incluem alguns peixes, como salmão e sardinha, gemas de ovos e óleo de fígado de bacalhau (HOLICK, 2004, 2006). A vitamina D2 é derivada da irradiação do ergosterol de plantas e fungos, e pode ser obtida pela ingestão de vegetais e cogumelos irradiados (HOLICK, 2006; ZHANG; NAUGHTON, 2010; THACHER; CLARKE, 2011).

Como poucas substâncias apresentam naturalmente um conteúdo considerável de vitamina D, ela é obtida da dieta principalmente por alimentos fortificados e suplementos orais (THACHER; CLARKE, 2011). A vitamina D2 é produzida comercialmente pela irradiação ultravioleta do ergosterol de leveduras e a vitamina D3, pela irradiação ultravioleta do 7-deidrocolesterol da lanolina. Ambas as formas podem ser utilizadas em suplementos de vitamina D e em alimentos enriquecidos, como leite, sucos, pães e cereais (HOLICK, 2007; ZHANG; NAUGHTON, 2010).

As vitaminas D2 e D3 provenientes da dieta são incorporadas a quilomícrons e transportadas pelo sistema linfático para a circulação venosa. A vitamina D ingerida ou produzida na pele pode ficar armazenada no tecido adiposo, sendo lentamente liberada (HOLICK, 2007).

2.3 METABOLISMO E FUNÇÕES DA VITAMINA D

A vitamina D sintetizada na pele ou obtida da dieta é biologicamente inerte (KENNEL; DRAKE; HURLEY, 2010). Ela é transportada até o fígado pela VDBP, onde sofre a primeira de duas hidroxilações sequenciais, necessárias para a formação do metabólito ativo. No parênquima hepático, a vitamina D é convertida à 25OHD ou calcidiol pela enzima vitamina D-25-hidroxilase (HOLICK, 2007; KENNEL; DRAKE; HURLEY, 2010). A hidroxilação adicional ocorre nos rins, por ação da enzima 25OHD-1 α -hidroxilase, e resulta na forma biologicamente ativa: a 1,25-dihidroxitamina D ou calcitriol (HOLICK, 2006, 2007; ADAMS; HEWISON, 2010; KENNEL; DRAKE; HURLEY, 2010; ZHANG; NAUGHTON, 2010).

As fontes de vitamina D e seu metabolismo estão representados na figura 1, que sumariza também suas funções, apresentadas a seguir.

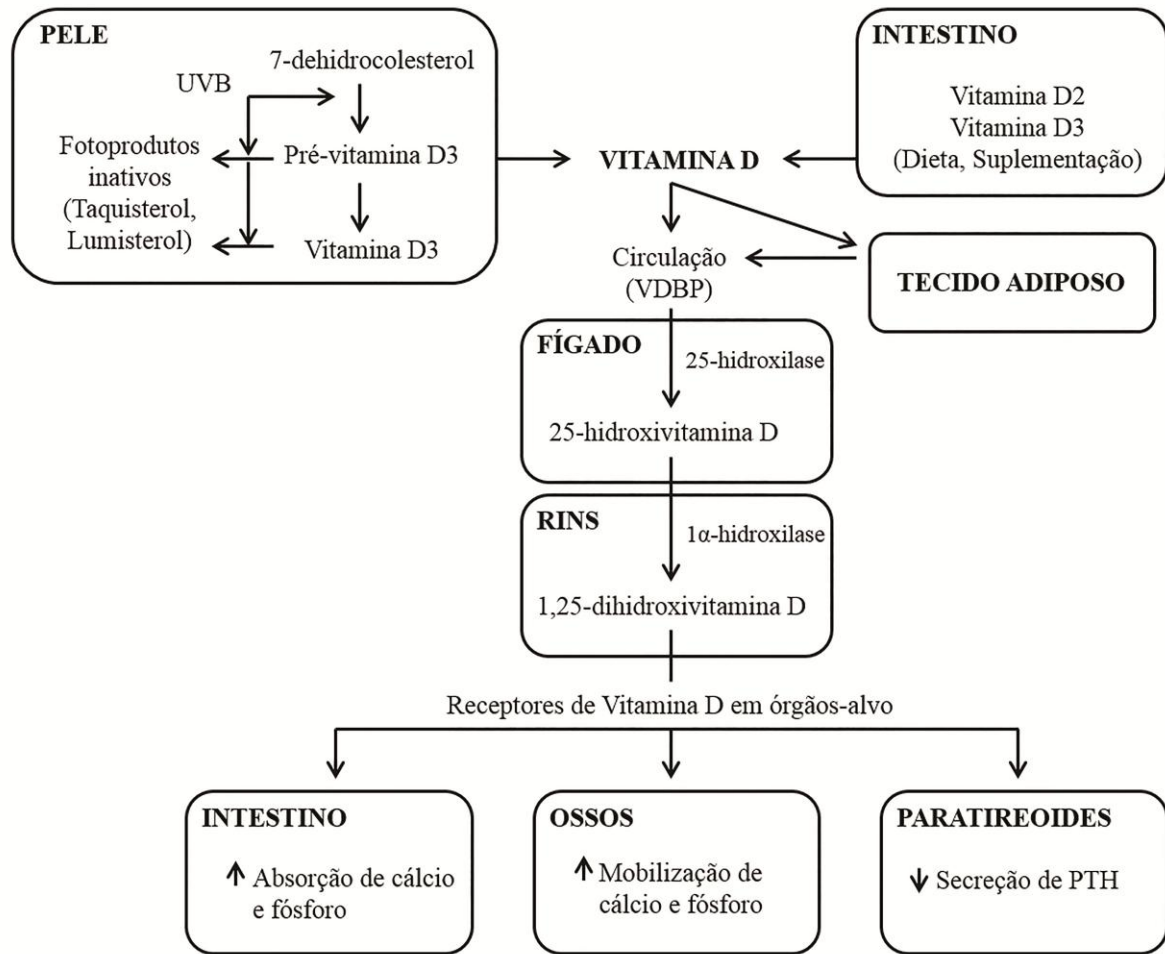


Figura 1: Fontes, metabolismo e ações da vitamina D. UVB: Radiação Ultravioleta B; VDBP: *Vitamin D-Binding Protein* (Proteína Ligadora de Vitamina D); PTH: Paratormônio.

A 1,25-dihidroxivitamina D é um ligante de alta afinidade para o receptor de vitamina D (VDR, do inglês *Vitamin D Receptor*) em tecidos alvo, onde age modulando a transcrição gênica (ADAMS; HEWISON, 2010). A interação da 1,25-dihidroxivitamina D com o complexo Receptor de Vitamina D-Receptor de Ácido Retinóico X (VDR-RXR, do inglês *Vitamin D Receptor-Retinoic X Receptor*) resulta em maior expressão do canal epitelial de cálcio TRPV6 (*Transient Receptor Potential cation channel, subfamily V, member 6*) e da calbindina 9K, uma proteína ligadora de cálcio, o que possibilita o transporte ativo desse íon através das células, aumentando a eficiência de sua absorção intestinal (HOLICK, 2007).

A 1,25-dihidroxivitamina D também é reconhecida por seu receptor nos osteoblastos, aumentando a expressão de RANKL (*Receptor Activator of Nuclear factor κ B Ligand*), que se liga a seu receptor RANK (*Receptor Activator of Nuclear factor κ B*) nos pré-osteoclastos,

induzindo sua conversão a osteoclastos maduros. Os osteoclastos produzem enzimas proteolíticas e ácidos para dissolver a matriz orgânica e os sais ósseos, liberando cálcio e fósforo para o sangue. Níveis séricos adequados de cálcio e fósforo são necessários para a mineralização óssea (HOLICK, 2006, 2007).

A produção renal de 1,25-dihidroxitamina D é regulada pelo PTH e pelas concentrações séricas de cálcio e fósforo. O PTH estimula a produção renal de 1,25-dihidroxitamina D, além de aumentar a reabsorção tubular de cálcio e sua mobilização óssea, por ativar osteoblastos que estimulam a transformação de pré-osteoclastos em osteoclastos maduros (HOLICK, 2007). Quando há deficiência de vitamina D, o consequente aumento de PTH restabelece a homeostase do cálcio. Por outro lado, a 1,25-dihidroxitamina D diminui a síntese e secreção de PTH, tanto pela redução da atividade das glândulas paratireoides, quanto pelo aumento do cálcio sérico (HOLICK, 2006, 2007).

A 1,25-dihidroxitamina D também é capaz de controlar sua própria síntese, inibindo a enzima 1α -hidroxilase e aumentando a expressão da enzima 24-hidroxilase, que leva a produção de 24,25-dihidroxitamina D (ácido calcitróico), metabólito biologicamente inativo excretado na bile (HOLICK, 2007; ROSEN, 2011).

2.4 AVALIAÇÃO DOS ESTOQUES DE VITAMINA D

O *status* de vitamina D no organismo é avaliado pela dosagem de 25OHD, o metabólito mais estável e abundante, com meia-vida de cerca de três semanas (ZHANG; NAUGHTON, 2010; THACHER; CLARKE, 2011). Ele apresenta alta afinidade pela VDBP, sua concentração sérica é substrato-dependente e a diminuição está associada a risco aumentado de fraturas. Por outro lado, o metabólito ativo 1,25-dihidroxitamina D apresenta valores séricos cerca de 1.000 vezes menor, meia-vida mais curta e seus níveis circulantes são mantidos mesmo na presença de hipovitaminose D. Isto se deve ao estreito controle fisiológico exercido pelo PTH, com aumento compensatório da atividade da enzima 1α -hidroxilase (ADAMS; HEWISON, 2010; GLENDENNING; INDERJEETH, 2012).

2.5 CAUSAS DE HIPOVITAMINOSE D

A hipovitaminose D está geralmente associada a problemas na síntese cutânea de vitamina D em resposta a exposição solar ou a condições médicas que afetam sua biodisponibilidade ou seu metabolismo (ZHANG; NAUGHTON, 2010). As principais causas são:

- Idade: os idosos apresentam diminuição do precursor 7-deidrocolesterol na pele, menor produção renal de 1,25-dihidroxitamina D, e baixa exposição a luz solar, devido a mobilidade reduzida e institucionalização (HOLICK, 2007; ZHANG; NAUGHTON, 2010).
- Pigmentação da pele: a melanina compete com o 7-deidrocolesterol pela absorção da radiação UVB, reduzindo a síntese cutânea de vitamina D (HOLICK, 2007; ZHANG; NAUGHTON, 2010).
- Dados geográficos: estação do ano, latitude e horário do dia são fatores que determinam o ângulo com que a luz solar atinge a superfície da Terra, denominado ângulo de Zenith. Quanto mais oblíquo for este ângulo, menos fótons de radiação UVB atingem a superfície terrestre (HOLICK, 2007).
- Filtro-solar: os protetores solares absorvem eficientemente a radiação UVB, impedindo sua interação com o 7-deidrocolesterol (ZHANG; NAUGHTON, 2010). A redução na síntese de vitamina D é de 92,5% com Fator de Proteção Solar (FPS) 8 e de 99% com FPS 15 (HOLICK, 2007).
- Má-absorção de gorduras: doenças colestáticas, fibrose cística, doença de Crohn e doença celíaca são exemplos de moléstias que afetam a absorção da vitamina D da dieta, já que esta é lipossolúvel (HOLICK, 2007).
- Doença renal crônica (DRC): nos estágios 2 e 3 da DRC, a hiperfosfatemia provoca aumento de FGF23 (*Fibroblast Growth Factor 23*), que diminui a atividade da enzima 1α -hidroxilase. Nos estágios 4 e 5 da DRC, a incapacidade de sintetizar quantidades adequadas de 1,25-dihidroxitamina D resulta em hipocalcemia e hiperparatireoidismo secundário (HOLICK, 2007).
- Obesidade: a vitamina D pode ter sua disponibilidade reduzida devido a "sequestro" pelo tecido adiposo. É observada relação inversa entre o Índice de Massa Corporal (IMC) e os níveis séricos de 25OHD (HOLICK, 2007; ZHANG; NAUGHTON, 2010).

- Insuficiência Hepática: a disfunção leve a moderada provoca má-absorção de vitamina D. Em disfunções hepáticas graves, há diminuição da atividade da enzima 25-hidroxilase e consequente redução da produção de 25OHD (HOLICK, 2007; KENNEL; DRAKE; HURLEY, 2010).
- Medicamentos, como anticonvulsivantes, glicocorticoides, antirretrovirais e imunossupressores: estimulam a atividade da enzima 24-hidroxilase que aumenta a produção do metabólito inativo 24,25-dihidroxitamina D (HOLICK, 2007; KENNEL; DRAKE; HURLEY, 2010).
- Síndrome Nefrótica: há redução dos níveis de VDBP e aumento da perda urinária de 25OHD ligada a esta proteína (HOLICK, 2007; KENNEL; DRAKE; HURLEY, 2010).
- Ingestão oral inadequada de vitamina D e desnutrição também são considerados fatores de risco, assim como a amamentação exclusiva, devido ao baixo conteúdo de vitamina D no leite materno (HOLICK, 2007; KENNEL; DRAKE; HURLEY, 2010).
- Outras doenças que afetam o metabolismo ou a ação da vitamina D (HOLICK, 2007):
 - Hiperparatireoidismo primário: o aumento do PTH estimula o metabolismo de 25OHD a 1,25-dihidroxitamina D.
 - Raquitismo dependente de vitamina D tipo 1: mutação da enzima 1 α -hidroxilase com redução ou ausência de síntese renal de 1,25-dihidroxitamina D.
 - Raquitismo dependente de vitamina D tipo 2 ou resistente a vitamina D: mutação do gene do VDR, com resistência parcial ou completa à ação da 1,25-dihidroxitamina D, resultando em níveis elevados da mesma.
 - Raquitismo dependente de vitamina D tipo 3: superprodução de proteínas que se ligam a elementos responsivos a hormônios, impedindo a ação da 1,25-dihidroxitamina D na transcrição gênica das células-alvo, com consequente aumento deste metabólito.
 - Raquitismo hipofosfatêmico autossômico dominante: mutação do gene do FGF23, reduzindo ou impedindo sua degradação, e causando fosfatúria, diminuição da absorção intestinal de fósforo, hipofosfatemia e diminuição da atividade da enzima 1 α -hidroxilase. Níveis de 1,25-dihidroxitamina D encontram-se no limite inferior de referência ou reduzidos.
 - Raquitismo hipofosfatêmico ligado ao X: mutação do gene PHEX (*Phosphate regulating Endopeptidase Homolog, X-linked*) eleva os níveis de FGF23 e outras fosfatoninas, causando fosfatúria, diminuição da absorção intestinal de fósforo,

hipofosfatemia e redução da atividade da enzima 1α -hidroxilase. Níveis de 1,25-dihidroxitamina D encontram-se no limite inferior de referência ou reduzidos.

- Osteomalácia oncogênica: ocorre secreção tumoral de FGF23 e, possivelmente, de outras fosfatoninas, causando fosfatúria, diminuição da absorção intestinal de fósforo, hipofosfatemia e diminuição da atividade da enzima 1α -hidroxilase. Níveis de 1,25-dihidroxitamina D encontram-se no limite inferior de referência ou reduzidos.
- Doenças granulomatosas: a conversão de 25OHD a 1,25-dihidroxitamina D em macrófagos provoca diminuição das concentrações do primeiro metabólito e aumento do segundo.
- Hipertireoidismo: o metabolismo aumentado de 25OHD resulta em redução de seus níveis séricos.

2.6 CONSEQUÊNCIAS DA HIPOVITAMINOSE D

Em situações extremas, em que os níveis de vitamina D estão muito baixos, ocorrem as manifestações clássicas de falhas na mineralização óssea: o raquitismo em crianças e a osteomalácia em adultos. O termo “deficiência de vitamina D” é utilizado nestes casos e o ponto de corte para sua definição varia de 10 a 20 ng/mL de 25OHD (WALLACE *et al.*, 2010; SALIBA *et al.*, 2011).

Como a vitamina D controla a absorção intestinal de cálcio, mesmo diminuições discretas de seus níveis resultam em elevação compensatória de PTH, associada a aumento da reabsorção óssea e, conseqüentemente, a osteopenia e osteoporose. O termo “insuficiência de vitamina D” diz respeito a esta categoria intermediária em que o déficit de vitamina D é menos intenso que na deficiência, mas seus níveis séricos ainda são inferiores aos considerados normais (WALLACE *et al.*, 2010; SALIBA *et al.*, 2011). A definição deste ponto de corte é motivo de grande controvérsia na literatura (HOLICK *et al.*, 2011; ROSS *et al.*, 2011b; ROSEN *et al.*, 2012; VALCOUR *et al.*, 2012). Adotando-se o valor de 30 ng/mL, a maioria da população mundial apresenta insuficiência de vitamina D, mesmo em países tropicais como o Brasil (ADAMS; HEWISON, 2010; ARABI *et al.*, 2010; UNGER *et al.*, 2010).

Além das conseqüências decorrentes do aumento da remodelação óssea, uma série de outras condições clínicas tem sido associada a insuficiência de vitamina D. Isto se deve à descoberta de receptores e enzimas envolvidas em seu metabolismo em diferentes células, como

macrófagos, células pancreáticas, colônicas, entre outras. A partir destes achados, os estudos sobre ações não-hormonais da vitamina D, autócrinas e parácrinas, multiplicaram-se (HOLICK, 2004, 2006).

Há evidências de ações relacionadas à regulação do sistema imune e a processos celulares envolvidos na carcinogênese, como diferenciação, proliferação e apoptose. Estudos epidemiológicos sugerem um papel protetor da vitamina D contra algumas doenças, como neoplasias, doenças cardiovasculares e diabetes tipo 1. No entanto, as evidências são indiretas e estudos clínicos randomizados com suplementação de vitamina D são necessários para identificar seus efeitos benéficos e adversos. Há relatos na literatura também sobre a associação de hipovitaminose D com esclerose múltipla, artrite reumatóide, asma, tuberculose, pneumonia, doença periodontal, e redução do tônus muscular (SEGERSTEN *et al.*, 2002; BEASTALL; RAINBOW, 2008; LEE *et al.*, 2008; ADAMS; HEWISON, 2010; WALLACE *et al.*, 2010; CHRISTAKOS; DELUCA, 2011; ROSEN, 2011; ROSS *et al.*, 2011a; THACHER; CLARKE, 2011).

2.7 INDICAÇÕES DE DOSAGEM DE VITAMINA D

Os inúmeros trabalhos sugerindo associação de níveis baixos de vitamina D com diversas condições clínicas e a epidemia de insuficiência atualmente observada têm provocado um aumento crescente da demanda por esse teste nos laboratórios clínicos (ADAMS; HEWISON, 2010; SATTAR *et al.*, 2012). No entanto, até o presente momento, não há evidências consistentes de benefícios da dosagem laboratorial de vitamina D na população geral assintomática (HOLICK *et al.*, 2011; ROSEN *et al.*, 2012; SATTAR *et al.*, 2012).

A realização deste teste é recomendada em situações relacionadas a maior risco de hipovitaminose D, como má-absorção intestinal, obesidade, doenças hepáticas ou renais, hiperparatireoidismo primário, doenças granulomatosas, uso de medicamentos que afetam o metabolismo da vitamina D (como anticonvulsivantes, glicocorticóides e antirretrovirais) e idade avançada (especialmente quando há história de queda ou fraturas não-traumáticas). A dosagem de vitamina D também está indicada em caso de sinais ou sintomas de raquitismo em crianças e osteomalácia em adultos, e em pacientes com dor óssea, osteoporose, ou naqueles que apresentam achados laboratoriais ou radiológicos sugestivos, como elevação de PTH, fosfatase alcalina total ou óssea, níveis séricos baixos de fósforo ou cálcio, e diminuição

da densidade mineral óssea (HOLICK, 2010; KENNEL; DRAKE; HURLEY, 2010; HOLICK *et al.*, 2011; THACHER; CLARKE, 2011; GLENDENNING; INDERJEETH, 2012; ROSEN *et al.*, 2012; ECK, 2013).

O posicionamento da *Endocrine Society*, publicado em 2011, inclui na categoria de risco aumentado parcela importante da população geral, como hispânicos e adultos com idade entre 19 e 50 anos (HOLICK *et al.*, 2011), sendo alvo de críticas de alguns autores (ROSEN *et al.*, 2012).

Portanto, as indicações de dosagem de vitamina D são ainda motivo de grande debate entre os estudiosos do assunto. Em alguns locais, medidas restritivas foram tomadas na tentativa de evitar solicitações consideradas inadequadas. Em Ontário, no Canadá, por exemplo, o reembolso dos testes é limitado pelo governo (CAILLET; SCHOTT, 2012; GREY; BOLLAND; DAVIDSON, 2012; PATTMAN *et al.*, 2012; VIETH, 2013).

2.8 MÉTODOS DISPONÍVEIS

Os primeiros métodos desenvolvidos para dosagem de 25OHD foram ensaios competitivos de ligação à proteína, descritos no início da década de 1970. Nestes, a 25OHD presente na amostra competia com 25-hidroxivitamina D3 (25OHD3) radiomarcada por uma quantidade limitada de VDBP. Os ensaios subsequentes eram baseados em separação cromatográfica (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC) e detecção direta UV, mas por serem mais dispendiosos, complexos e exigirem mão-de-obra especializada, não foram amplamente empregados. Por outro lado, muitos laboratórios eram capazes de adotar a técnica de radioimunoensaio para dosagem de 25OHD, desenvolvida em 1985, embora fosse manualmente trabalhosa e composta por muitas etapas operador-dependentes. Este método era capaz de atender a um volume limitado de testes e os problemas relacionados à manipulação de marcadores radioativos levaram ao desenvolvimento de imunoenaios que empregavam enzimas ou substâncias quimioluminescentes. Com o aumento das solicitações para dosagem de 25OHD, as técnicas manuais foram progressivamente substituídas por métodos incorporados a plataformas automatizadas, como ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), quimioluminescência e eletroquimioluminescência (HOLLIS, 2008; WALLACE *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2012; GLENDENNING; INDERJEETH, 2012).

O primeiro ensaio automatizado baseado na competição pela VDBP, revelada por quimioluminescência, foi desenvolvido pelo fabricante Nichols[®] para o analisador *Advantage*[®] e retirado do mercado poucos anos depois, em 2005. Foi identificada uma limitação no reconhecimento do metabólito 25-hidroxivitamina D2 (25OHD2) em comparação a 25OHD3. Em 2004, o fabricante DiaSorin[®] desenvolveu um método que utilizava o mesmo anticorpo empregado em uma técnica de radioimunoensaio, porém com revelação por quimioluminescência. Este teste foi lançado na plataforma automatizada LIAISON[®]. Em trabalho publicado por Ersfeld *et al.* (2004), foi demonstrado que este ensaio apresentava reatividade cruzada de 100% para as formas D2 e D3. No entanto, em estudo de Kimball e Vieth (2007), ele não demonstrou boa correlação com o radioimunoensaio do mesmo fabricante (DiaSorin[®]). Em 2007, o teste passou por modificações para que sua precisão e sensibilidade fossem aprimoradas, sendo renomeado LIAISON Total[®]. (WALLACE *et al.*, 2010; GLENDENNING; INDERJEETH, 2012).

Nos últimos anos, novos métodos automatizados para dosagem de 25OHD vêm sendo lançados no mercado. Estão disponíveis, por exemplo, testes fabricados pelas empresas Roche[®], IDS[®], Siemens[®] e Abbott[®]. Muitos deles foram reformulados para melhor adequação ao método considerado padrão-ouro: a Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas em Tandem - LC-MS/MS. (GLENDENNING; INDERJEETH, 2012).

Portanto, os métodos empregados para a dosagem de 25OHD podem ser divididos em dois grandes grupos: as técnicas baseadas em separação cromatográfica seguida de detecção direta não-imunológica e os ensaios competitivos (WALLACE *et al.*, 2010).

Os métodos de detecção direta são representados por HPLC e LC-MS/MS. Eles exigem equipamentos de custo mais elevado, mão-de-obra especializada e requerem procedimentos de extração da amostra que tornam o processo mais demorado, mas apresentam como vantagem a eliminação de substâncias interferentes. Nestes métodos, as formas moleculares 25OHD2 e 25OHD3 são dosadas separadamente. A tendência dos grandes centros de estudo é adotar a LC-MS/MS como método de referência (WALLACE *et al.*, 2010).

Já nos ensaios competitivos, uma primeira fase de pré-tratamento da amostra para separação da 25OHD de sua proteína ligadora é seguida pela etapa de competição com 25OHD marcada por anticorpos antivitaminas D ou por VDBP. São exemplos de ensaios competitivos os

métodos quimioluminescentes, eletroquimioluminescentes e os ensaios imunoenzimáticos. Estes testes apresentam como desvantagens a maior susceptibilidade a interferentes e o percentual variável de detecção de 25OHD₂. Neles, 25OHD₂ e 25OHD₃ são dosadas conjuntamente como 25OHD total. Por outro lado, esses ensaios podem ser empregados em plataformas automatizadas com grande capacidade produtiva, reduzindo os custos e o tempo para realização da dosagem. Por este motivo, os ensaios competitivos ainda têm sido os mais frequentemente adotados em grandes estudos populacionais e na rotina dos laboratórios clínicos, apesar do aumento da utilização de métodos de detecção direta nos últimos anos (DE LA HUNTY *et al.*, 2010; WALLACE *et al.*, 2010; GRANADO LORENCIO; BLANCO-NAVARRO; PEREZ-SACRSITAN, 2013).

2.9 DIFICULDADES NA DOSAGEM DE 25-HIDROXIVITAMINA D

O metabólito 25OHD é considerado um analito de difícil quantificação devido, principalmente, a sua natureza hidrofóbica, à alta afinidade pela VDBP e às formas moleculares existentes (CARTER, 2012).

O fato de esta molécula altamente hidrofóbica e lipofílica estar, em sua maior parte, ligada à VDBP, representa um desafio no desenvolvimento de imunoenaios para sua dosagem (FARRELL *et al.*, 2012b). Como os solventes orgânicos utilizados nos primeiros métodos desenvolvidos não são compatíveis com a maioria dos imunoenaios ou ensaios de ligação à proteína, formas alternativas de disponibilização da 25OHD têm sido desenvolvidas para os testes automatizados. Para avaliar a eficiência da liberação de 25OHD de sua proteína ligadora, Heijboer *et al.* (2012) realizaram um estudo em que ensaios disponíveis na rotina foram comparados a uma técnica de LC-MS/MS com diluição isotópica, utilizando-se amostras de pacientes com concentrações variadas de VDBP. As diferenças observadas entre os métodos foram dependentes da concentração de VDBP, provavelmente devido à extração incompleta da 25OHD de sua proteína ligadora (HEIJBOER *et al.*, 2012). De acordo com Farrell *et al.* (2012b), a competição entre os anticorpos de captura e a VDBP pela 25OHD ocorre principalmente em imunoenaios homogêneos de um só passo, em que 25OHD e VDBP não são completamente separadas. Outra dificuldade no desenvolvimento dos imunoenaios, citada por esses autores, é a produção de anticorpos contra moléculas antigênicas tão pequenas (FARRELL *et al.*, 2012b).

Contribui também para a complexidade do teste a necessidade de detecção de ambas as formas de 25OHD: 25OHD₂ e 25OHD₃. Diferenças no reconhecimento destes metabólitos podem levar a super ou subestimativa dos níveis de 25OHD, dependendo do ensaio empregado e do tipo de suplementação utilizada pelo paciente (ergocalciferol ou colecalciferol). Nos métodos cromatográficos, as duas formas são adequadamente dosadas e reportadas separadamente (BARAKE *et al.*, 2012; CARTER, 2012; FARRELL *et al.*, 2012b).

Outros metabólitos hidroxilados de vitamina D também podem interferir nos ensaios, como a 24,25-dihidroxitamina D e a 3-epi-25-hidroxitamina D. Todos os imunoenaios apresentam alta reatividade cruzada com 24,25-dihidroxitamina D, metabólito inativo presente em concentrações de até 5 ng/mL. Também é fonte potencial de variação entre os ensaios a reatividade existente contra os C3-epímeros. Como estas formas inativas possuem a mesma massa e um padrão de fragmentação semelhante a 25OHD₂ e 25OHD₃, elas representam um problema até mesmo para a LC-MS/MS. A interferência é mais significativa em crianças, já que estas formas representam 15% a 60% de sua 25OHD total. Embora a concentração de C3-epímeros seja geralmente baixa em adultos, foram observados níveis elevados em alguns indivíduos. Sua representatividade varia de 2,5% a 17% e não deve ser negligenciada (BARAKE *et al.*, 2012; CARTER, 2012; TAHSIN-SWAFIRI *et al.*, 2012; GRANADO LORENCIO; BLANCO-NAVARRO; PEREZ-SACRSITAN, 2013).

Alguns autores relatam também a interferência de anticorpos heterófilos nos imunoenaios para dosagem de vitamina D. Embora seja mais comum nos ensaios do tipo “sanduíche” que nos métodos competitivos, esta possibilidade não deve ser descartada (CAVALIER *et al.*, 2012).

Os fatores anteriormente citados podem ser responsáveis pela variabilidade observada entre os resultados dos diferentes ensaios existentes.

2.10 DIFERENÇAS ENTRE ENSAIOS

O desempenho dos diversos ensaios disponíveis para dosagem laboratorial de 25OHD foi analisado em estudos comparativos que demonstraram a inconsistência e variabilidade entre métodos e entre laboratórios, resultantes das diferentes formas de separação da 25OHD de sua

proteína ligadora e de como este metabólito foi detectado e quantificado (WAGNER; HANWELL; VIETH, 2009; CHEN *et al.*, 2012).

Durante algum tempo, o radioimunoensaio do fabricante DiaSorin[®] foi considerado o método de escolha para dosagem de 25OHD, sendo utilizado em muitos trabalhos sobre a associação de seus níveis com determinadas condições clínicas e também em estudos que estabeleceram os valores de referência atualmente adotados (WAGNER; HANWELL; VIETH, 2009; CAVALIER *et al.*, 2010; DE LA HUNTY *et al.*, 2010). Em estudo de Wagner, Hanwell e Vieth (2009), o ensaio quimioluminescente LIAISON[®] 25OH Vitamin D Total da DiaSorin[®] apresentou melhor correlação com o radioimunoensaio do mesmo fabricante que o teste Roche Modular[®] Vitamin D3 (25-OH). Embora a variação observada entre os métodos tenha sido inferior ao descrito em estudos prévios, os autores ressaltaram a necessidade de padronização dos ensaios.

Em geral, os trabalhos reportam uma correlação razoável entre os imunoenaios e as técnicas de LC-MS/MS, mas com *bias* significativo (SINGH, 2008).

Hsu, Soldo e Gupta (2013) observaram um melhor desempenho do ensaio LIAISON[®] 25OH Vitamin D Total, comparado ao Siemens ADVIA Centaur[®] Vitamin D Total, utilizando LC-MS/MS como referência. Diante das diferenças encontradas, os autores enfatizaram a importância da garantia de precisão e acurácia dos novos ensaios, especialmente nos limites de decisão, para a prática clínica.

Os mesmos imunoenaios foram comparados a uma técnica de cromatografia líquida (*Ultra Performance Liquid Chromatography* - UPLC), utilizando-se amostras de ensaio de proficiência e materiais de referência, no estudo de Tahsin-Swafiri *et al.* (2012). Ambos os métodos imunológicos apresentaram *bias* significativo, principalmente nas concentrações mais baixas, embora este tenha sido superior no ensaio ADVIA[®].

No trabalho de Chen *et al.* (2012), os resultados obtidos nos ensaios Roche Modular E170[®] Total Vitamin D e Siemens ADVIA Centaur[®] Vitamin D Total foram comparados à técnica LC-MS/MS e ao ensaio DiaSorin LIAISON[®]. Foi demonstrado *bias* positivo dos resultados do LIAISON[®] em relação à LC-MS/MS, assim como no estudo de Becker *et al.* (2012). Chen *et al.* (2012) também observaram *bias* negativo no ensaio ADVIA Centaur[®] e positivo no

ensaio do fabricante Roche[®], quando comparados à LC-MS/MS. Moon *et al.* (2012) apresentaram resultados semelhantes.

Em trabalho publicado em 2012, Farrell *et al.* avaliaram duas técnicas de LC-MS/MS, um radioimunoensaio (DiaSorin[®]) e cinco ensaios automatizados dos fabricantes Abbott[®] (Architect[®]), DiaSorin[®] (LIAISON[®]), IDS[®] (ISYS[®]), Roche[®] (E170[®], *monoclonal 25OH-D3 assay*) e Siemens[®] (Centaur[®]). A concordância entre as duas técnicas de LC-MS/MS foi excelente, sendo a média dos seus resultados utilizada como referência na comparação dos demais métodos. O desempenho do radioimunoensaio foi comparável a essas técnicas de detecção direta. Entre os imunoenaios automatizados, o *bias* médio observado variou de 0,2 ng/mL (LIAISON[®]) a 4,6 ng/mL (Architect[®]). Quando analisadas apenas as amostras com resultados inferiores a 8 ng/mL, a discrepância foi mais pronunciada e as diferenças percentuais variaram de 17% (ISYS[®]) a 118% (Centaur[®]) (FARRELL *et al.*, 2012b).

Em outra publicação do mesmo ano, Farrell *et al.* descreveram o desempenho de quatro imunoenaios (Abbott[®], DiaSorin[®], Roche[®] e Siemens[®]) em situações desafiadoras: amostras com baixas e altas concentrações de 25OHD, presença de anticorpos heterófilos e altos níveis da forma 25OHD2. Como o desenho dos ensaios é diferente, sua susceptibilidade a determinados interferentes também variou. O ensaio Siemens[®], por exemplo, demonstrou *bias* significativo nas amostras com concentrações baixas de 25OHD, enquanto os outros testes demonstraram resultados comparáveis a LC-MS/MS. Já o ensaio Roche[®] apresentou concentrações mais baixas que os demais métodos nas amostras com níveis mais altos de 25OHD. O ensaio Abbott[®] mostrou-se o mais susceptível a interferência por anticorpos heterófilos. Quando analisadas as amostras com altos níveis de 25OHD2, os resultados dos ensaios Roche[®] e Abbott[®] foram inferiores aos da LC-MS/MS. Já no ensaio Siemens[®], os resultados foram significativamente mais altos (FARRELL *et al.*, 2012a).

O desempenho de alguns ensaios pode não ser aceitável ao longo de toda a faixa de concentrações (intervalo de medição), especialmente nos limites de decisão (concentrações mais baixas), que apresentam grande relevância clínica. A sensibilidade dos testes pode ser diferente, afetando a classificação dos indivíduos quanto aos níveis de vitamina D, o que faz com que a prevalência de deficiência seja ensaio-dependente (TAHSIN-SWAFIRI *et al.*, 2012; GRANADO LORENCIO; BLANCO-NAVARRO; PEREZ-SACRSITAN, 2013). No estudo de Tahsin-Swafiri *et al.* (2012), a proporção de indivíduos nesta categoria foi de 44,7%

quando a dosagem de 25OHD foi realizada por UPLC, 32,4% quando utilizado o ensaio LIAISON[®] e 18,6% pelo teste ADVIA[®].

Farrell *et al.* (2012a) estudaram a concordância entre quatro imunoenaios e LC-MS/MS na classificação de adultos aparentemente saudáveis como deficientes em vitamina D (25OHD inferior a 10 ng/mL). A concordância foi muito boa para os ensaios Abbott[®] (Kappa = 0,844) e DiaSorin[®] (Kappa = 0,904), boa para o ensaio Roche[®] (Kappa = 0,741) e moderada para Siemens[®] (Kappa = 0,592). Neste último ensaio, oito dos 109 adultos aparentemente saudáveis foram classificados como deficientes (7,3%), comparado a apenas cinco pela LC-MS/MS (4,6%). A proporção de deficiência nos ensaios Abbott (3,7%) e DiaSorin (5,5%) foram mais próximas da observada com a LC-MS/MS (FARRELL *et al.*, 2012a).

Moon *et al.* (2012) também descreveram diferenças na prevalência de insuficiência de vitamina D, dependendo do ensaio utilizado. Ela foi maior com os ensaios ADVIA Centaur[®] (51,6%) e LIAISON[®] (52,2%) que com LC-MS/MS (44,6%), e menor com o teste Elecsys[®] do fabricante Roche[®] (37,6%). No estudo de Binkley *et al.* (2004), a proporção de indivíduos com níveis de vitamina D inferiores a 32 ng/mL variou de 17% a 90%, dependendo do laboratório em que as amostras foram analisadas.

Entre os métodos de separação cromatográfica e detecção direta, os estudos geralmente indicam boa concordância. No entanto, é importante ressaltar que, apesar de ser considerada o teste padrão-ouro, a LC-MS/MS não é uma técnica simples e há grande variabilidade em várias etapas do processo, como preparação da amostra, calibração e ionização/fragmentação, refletindo a falta de padronização também entre estes métodos (GRANADO LORENCIO; BLANCO-NAVARRO; PEREZ-SACRSITAN, 2013)

Por outro lado, os dados do ensaio de proficiência DEQAS (*The International Vitamin D Quality Assessment Scheme*) indicam uma diminuição gradual das diferenças interlaboratoriais nos últimos anos (TAHSIN-SWAFIRI *et al.*, 2012; GRANADO LORENCIO; BLANCO-NAVARRO; PEREZ-SACRSITAN, 2013). A participação neste programa de controle externo da qualidade é uma excelente forma de avaliar o desempenho analítico de um método. A cada três meses, os laboratórios recebem cinco amostras a serem testadas. Os resultados reportados são analisados estatisticamente e os participantes recebem um relatório com a média e desvio-padrão de todos os laboratórios. A acurácia de cada

resultado é definida pela diferença percentual em relação à média geral. Os resultados de cada método são também agrupados e uma média específica é calculada. A acurácia de determinado método é avaliada pela diferença percentual em relação à média de todos os laboratórios (CARTER *et al.*, 2004; HOLLIS, 2004; CARTER, 2011).

A tendência é que haja diminuição das diferenças entre os ensaios à medida que a padronização dos métodos evoluir com o material de referência internacional (SRM 972) desenvolvido pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST). Este é o primeiro material de referência certificado para determinação de metabólitos de vitamina D em soro humano, uma ferramenta importante para melhoria da acurácia e comparabilidade dos testes. No entanto, a interferência causada pelos lípidos presentes na amostra e pela VDBP, continuará representando um grande desafio aos fabricantes. (PHINNEY, 2008; FARRELL *et al.*, 2012b; PHINNEY *et al.*, 2012; GRANADO LORENCIO; BLANCO-NAVARRO; PEREZ-SACRSITAN, 2013)

2.11 NOVOS VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência tradicionalmente utilizados para 25OHD eram baseados nas concentrações usualmente encontradas em 95% da população geral. No entanto, estes valores eram considerados muito baixos pelos especialistas e a suplementação recomendada a partir deles era insuficiente. Isto levou à proposta de desenvolvimento de novos pontos de corte na última década, baseados nas concentrações de 25OHD em que não são observados efeitos deletérios para a saúde, especialmente a óssea. Na tentativa de determinar estes níveis ótimos, diferentes abordagens foram utilizadas, como as apresentadas a seguir (CAVALIER *et al.*, 2009; CAVALIER *et al.*, 2010; CARTER, 2011):

- Estudo da relação entre as concentrações séricas de 25OHD e PTH em populações aparentemente saudáveis: muitos trabalhos demonstram uma relação inversa não linear entre os dois parâmetros, com diminuição dos valores de PTH até que a 25OHD atinja uma concentração acima da qual o PTH mantém-se constante.
- Avaliação das concentrações de 25OHD relacionadas a ótima absorção intestinal de cálcio.
- Estudos sobre a associação entre concentrações de 25OHD e a frequência de determinadas doenças, como neoplasias, diabetes, esclerose múltipla, artrite reumatóide, tuberculose, hipertensão arterial e eventos cardiovasculares.

- Análise em estudos intervencionistas das concentrações médias de vitamina D relacionadas a efeitos positivos na redução do risco de fraturas, quedas, neoplasias, entre outros.

Dentre estes, o parâmetro atualmente mais empregado para a definição funcional dos níveis ótimos de vitamina D é a relação entre 25OHD e PTH. Em um trabalho clássico publicado por Chapuy *et al.* (1997), o platô de supressão do PTH foi atingido a partir de concentrações de 25OHD de 31 ng/mL.

Valores em torno de 30 ng/mL são propostos atualmente como ponto de corte para a definição de insuficiência de vitamina D por muitos autores (HOLICK, 2009; CAVALIER *et al.*, 2009), inclusive pela *Endocrine Society* (HOLICK *et al.*, 2011). No entanto, ainda não há consenso na literatura. Os especialistas do *Institute of Medicine* (IOM), por exemplo, defendem que níveis séricos de 25OHD iguais ou superiores a 20 ng/mL são suficientes para a maior parte da população geral (ROSS *et al.*, 2011b). Segundo este grupo, o posicionamento da *Endocrine Society* se baseia em opiniões de *experts* e em artigos selecionados sem uma revisão sistemática da literatura, e não haveria evidência científica suficiente para a adoção do ponto de corte de 30 ng/mL para a população geral. O comitê de especialistas do IOM considera, ainda, que a prevalência de hipovitaminose D tem sido superestimada devido à utilização destes valores (ROSS *et al.*, 2011a; ROSEN *et al.*, 2012).

Na revisão sistemática realizada pelo IOM, foi observado que os níveis de PTH atingem um platô de supressão em diferentes concentrações de 25OHD, variando entre 15 ng/mL e 50 ng/mL. Este valor parece ser influenciado por uma série de fatores, como idade, etnia e função renal. Portanto, a variabilidade entre os pontos de corte propostos poderia ser explicada pelas características das populações estudadas. Adicionalmente, deveriam ser consideradas as diferenças entre os métodos empregados em cada trabalho, já que estudos indicaram que os resultados de diferentes ensaios poderiam não ser comparáveis (SAI *et al.*, 2011; SALIBA *et al.*, 2011; ROSEN *et al.*, 2012; TAHSIN-SWAFIRI *et al.*, 2012).

Dentre as características das populações estudadas nos trabalhos destinados à definição de níveis ótimos de vitamina D, é importante ressaltar a faixa etária. Alguns autores destacam que a quantidade de vitamina D necessária para supressão do PTH aumenta com o avançar da idade. Estudos indicam que para concentrações semelhantes de 25OHD, os valores

correspondentes de PTH são consideravelmente mais altos em idosos e declinam mais lentamente com o aumento de 25OHD (VIETH; LADAK; WALFISH, 2003; DAWSON-HUGHES *et al.*, 2005; VALCOUR *et al.*, 2012).

Como a disfunção renal e a hipercalcemia também apresentam associação com elevação do PTH, independentemente dos níveis de 25OHD, outra questão importante a ser considerada é a prevalência de doença renal crônica e hiperparatireoidismo primário nas populações estudadas (MARCOCCI; CETANI, 2011; SALIBA *et al.*, 2011). No trabalho publicado por Saliba *et al.* (2011), a relação entre 25OHD e PTH na população geral do estudo foi comparada à obtida em um subgrupo de indivíduos com função renal e cálcio sérico normais. Neste subgrupo, as concentrações de PTH atingiram um nível constante de supressão a partir de valores séricos de 25OHD consideravelmente mais baixos que o observado na população geral do estudo.

Outro fator a ser considerado ao se analisar a discrepância entre os pontos de corte propostos na literatura é a utilização de diferentes métodos para dosagem de 25OHD. A natureza dos ensaios empregados e o procedimento de extração utilizado têm um papel importante na definição do valor de 25OHD abaixo do qual o PTH se eleva (SOUBERBIELLE *et al.*, 2001).

Embora pontos de corte baseados em definições funcionais sejam geralmente propostos para todos os ensaios utilizados, é mandatório que os métodos adotados para a dosagem estejam padronizados. No caso da 25OHD, estudos comparativos indicam que a variabilidade entre os ensaios disponíveis na prática clínica dificulta a generalização de limites de decisão e valores obtidos com um método podem não ser aplicáveis a outros. Moon *et al.* (2012) afirmaram que o uso de pontos de corte únicos para 25OHD poderia ser problemático e sugeriram a definição de limites específicos para cada teste. Binkley *et al.* (2004) ressaltaram que a definição arbitrária de níveis ótimos de vitamina D não seria possível ou amplamente aplicável diante da variabilidade interlaboratorial observada. Valores universais podem não ser adequados, e pontos de corte específicos para cada ensaio podem ser necessários (LIPS, 2004; SOUBERBIELLE *et al.*, 2005; CAVALIER *et al.*, 2010; BARAKE *et al.*, 2012; FARRELL *et al.*, 2012a; TAHSIN-SWAFIRI *et al.*, 2012).

Na prática, apesar das divergências entre os valores propostos nos diferentes estudos, o ponto de corte de 30 ng/mL tem sido amplamente adotado para definição de insuficiência de

vitamina D, considerada um fenômeno crescente para o qual medidas corretivas são recomendadas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a relação entre resultados de 25OHD e PTH séricos dosados simultaneamente, para avaliar a adequabilidade dos valores de referência universais adotados atualmente para 25OHD, baseados em sua relação funcional com níveis de PTH.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o volume de dosagens de 25OHD realizadas no laboratório Hermes Pardini, entre os anos de 2008 e 2013.
- Investigar a existência de um platô de supressão do PTH na relação entre 25OHD e PTH séricos dosados simultaneamente, em 2012.
- Analisar os efeitos da idade na relação entre 25OHD e PTH séricos.
- Comparar os resultados de creatinina entre as faixas etárias nos indivíduos que realizaram simultaneamente dosagens de 25OHD, PTH e creatinina, no ano de 2012.
- Determinar o impacto da presença de indivíduos com alterações da função renal e/ou dos níveis séricos de cálcio iônico nas populações selecionadas para estudo da relação entre 25OHD e PTH.
- Avaliar o comportamento da relação entre 25OHD e PTH quando utilizados dois imunoensaios distintos para quantificação de 25OHD.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado no Núcleo de Apoio à Pesquisa do laboratório Hermes Pardini em 22/11/2012 (Anexo A) e no Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG (Anexo B) em 17/05/2013 (CAAE: 15655213.4.0000.5149).

4.1 POPULAÇÃO E DADOS DO ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal, em que foram utilizados resultados laboratoriais e variáveis demográficas obtidos do banco de dados computadorizado do laboratório Hermes Pardini, que atende diretamente pacientes da região metropolitana de Belo Horizonte e atua como apoio a laboratórios de todo o Brasil. Para quantificar o aumento recente no número de solicitações de dosagem de 25OHD, foi realizado um levantamento do volume total deste teste nos anos de 2008 a 2013. As populações selecionadas no banco de dados para este estudo foram esquematizadas na figura 2.

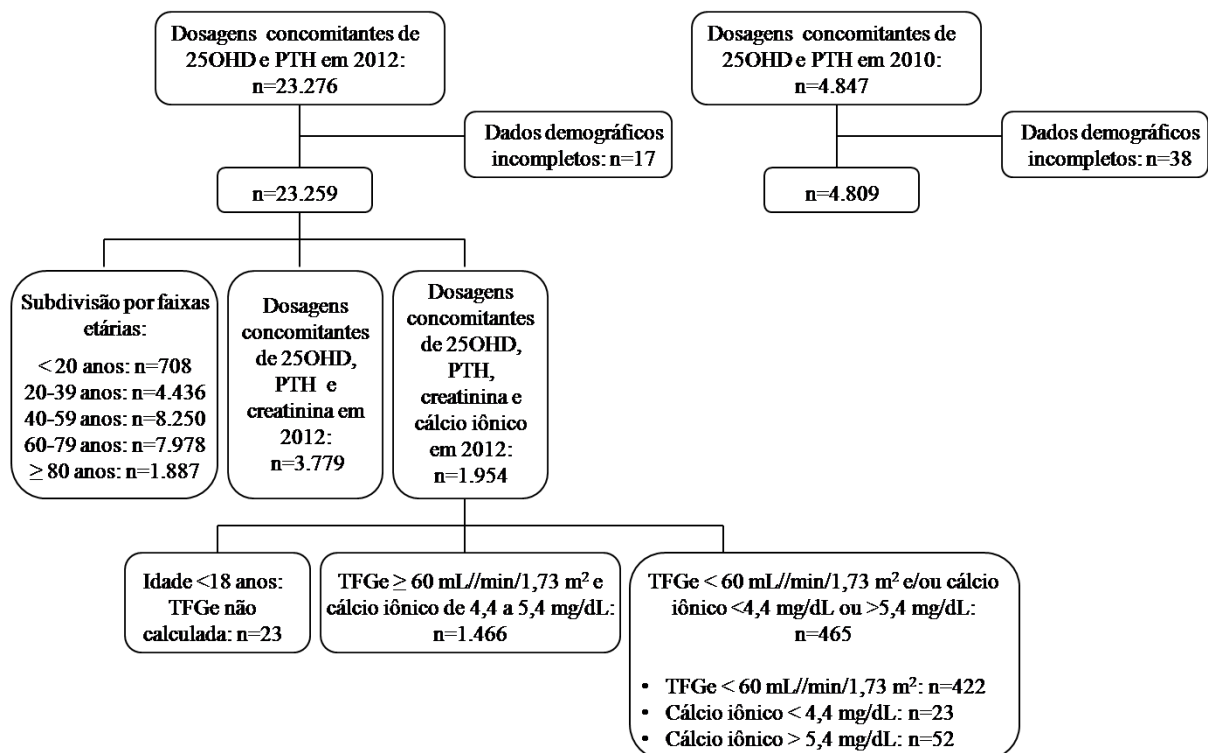


Figura 2: Organograma das populações estudadas. 25OHD: 25-Hidroxivitamina D; PTH: Paratormônio; TFGe: Taxa de Filtração Glomerular estimada; n: Número de indivíduos na amostra.

Para análise da relação entre 25OHD e PTH, foram incluídos todos os indivíduos que realizaram estes exames simultaneamente no ano de 2012. Dezesete pacientes foram excluídos da população selecionada por apresentarem informações demográficas incompletas, sendo obtidos 23.259 resultados emparelhados.

Para avaliação do efeito da idade, os dados do ano de 2012 foram subdivididos em cinco faixas etárias: inferior a 20 anos (n=708), 20 a 39 anos (n=4.436), 40 a 59 anos (n=8.250), 60 a 79 anos (n=7.978) e 80 anos ou mais (n=1.887).

Adicionalmente, foram selecionados os indivíduos das cinco faixas etárias que realizaram dosagens de creatinina, 25OHD e PTH, simultaneamente. No total, foram obtidos 3.779 resultados de creatinina para análise.

Para estudo da relação 25OHD-PTH em subpopulações selecionadas de acordo com função renal e níveis séricos de cálcio iônico, foram avaliados separadamente indivíduos que apresentavam dosagens concomitantes de creatinina, cálcio iônico, 25OHD e PTH (n=1.954). Os resultados de creatinina foram utilizados no cálculo da Taxa de Filtração Glomerular estimada (TFGe) pela equação desenvolvida no estudo *Modification of Diet in Renal Disease – MDRD* (STEVENSON *et al.*, 2006). Os indivíduos foram classificados em duas subpopulações: a denominada “normal”, composta por aqueles com TFGe igual ou superior a 60 mL/min/1,73m² e cálcio iônico entre 4,4 mg/dL e 5,4 mg/dL (n=1.466); e a subpopulação considerada “alterada”, formada pelos indivíduos com TFGe inferior a 60 mL/min/1,73m² e/ou níveis de cálcio iônico fora do intervalo de referência (n=465). Vinte e três pacientes do grupo inicial não foram incluídos nestas subpopulações por apresentarem idade inferior a 18 anos, o que impede a utilização da equação MDRD para cálculo da TFGe.

Para avaliar as diferenças entre os imunoenaios disponíveis para quantificação de vitamina D, foram selecionados os indivíduos com resultados de 25OHD e PTH séricos realizados simultaneamente em 2010. Neste ano, todas as dosagens de 25OHD foram realizadas em equipamento distinto do empregado em 2012, diferentemente do ano de 2011 em que ocorreu a transição entre os dois ensaios. Trinta e oito pacientes do ano de 2010 foram excluídos da população selecionada por apresentarem dados demográficos incompletos, sendo obtidos 4.809 resultados emparelhados para análise.

4.2 DOSAGENS LABORATORIAIS

Em 2012, as dosagens de 25OHD foram realizadas pelo teste Architect[®] 25-OH Vitamin D (Abbott Diagnostics, Chicago, IL, EUA), um imunoensaio quimioluminescente por micropartículas (CMIA, do inglês *Chemiluminescent Microparticle Immunoassay*), com intervalo de medição de 8,0 ng/mL a 160,0 ng/mL, sensibilidade funcional de 8,0 ng/mL, sensibilidade analítica de 1,9 ng/mL, e coeficiente de variação de 4,4%, em média. A reatividade cruzada reportada pelo fabricante é de 82% para 25OHD2 e 105% para 25OHD3.

Nesse teste, as amostras foram submetidas a um pré-tratamento com tampão de trietanolamina em metanol e ácido 8-anilino-1-naftaleno sulfônico (ANSA), utilizado para separar hormônios de suas proteínas ligadoras. Uma alíquota da amostra pré-tratada foi combinada ao diluente do ensaio e a micropartículas paramagnéticas revestidas por anticorpos antivitaminas D que se ligaram à 25OHD presente na amostra. Após um período de incubação, foi acrescentado à reação um complexo de vitamina D biotinizada e conjugado antibiotina marcado com acridínio, que se ligou aos sítios não ocupados nas micropartículas revestidas por antivitaminas D. Após a etapa de lavagem, foram adicionadas as soluções pré-ativadora e ativadora. A reação quimioluminescente resultante foi medida em unidades de luz relativas (RLU), sendo inversamente proporcional à concentração de vitamina D na amostra (ONG *et al.*, 2012).

No ano de 2010, as dosagens de 25OHD eram efetuadas no equipamento LIAISON[®] (DiaSorin, Stillwater, MN, EUA). O teste LIAISON[®] 25-OH Vitamin D Total é um imunoensaio quimioluminescente competitivo com intervalo de medição de 4,0 ng/mL a 150,0 ng/mL, sensibilidade funcional de 4,0 ng/mL, e coeficiente de variação de 3,5%, em média. A reatividade cruzada reportada pelo fabricante é de 104% para 25OHD2 e 100% para 25OHD3.

Nesse ensaio, as amostras foram submetidas a uma primeira incubação com tampão contendo etanol a 10% para que a 25OHD presente se dissociasse de sua proteína ligadora e se ligasse ao anticorpo específico na fase sólida (partículas magnéticas). Após 10 minutos, foi adicionada vitamina D conjugada a um derivado de isoluminol. Após uma segunda incubação de 10 minutos, o material não ligado foi removido em um ciclo de lavagem. Os reagentes ativadores foram então adicionados e iniciaram uma reação quimioluminescente. O sinal

obtido foi medido por um fotomultiplicador como RLU, sendo inversamente proporcional à concentração de 25OHD na amostra (WAGNER; HANWELL; VIETH, 2009).

As dosagens de PTH foram realizadas em 2012 e 2010 no analisador Unicel DXI[®], utilizando-se o teste Access[®] *Intact PTH* (Beckman Coulter, Fullerton, CA, EUA), um imunoenensaio quimioluminescente de dois sítios (tipo “sanduíche”), com intervalo de medição de 4 pg/mL a 3.500 pg/mL, sensibilidade funcional de 4 pg/mL, sensibilidade analítica de 1 pg/mL e coeficiente de variação de 9,4%, em média. O laboratório Hermes Pardini adota para o teste o intervalo de referência de 4 pg/mL a 58 pg/mL, estabelecido internamente.

Nesse imunoenensaio, as amostras foram combinadas a partículas paramagnéticas revestidas por anticorpos anti-PTH e a anticorpos monoclonais anti-PTH conjugados a fosfatase alcalina. Após a incubação, os materiais ligados à fase sólida foram retidos, enquanto os não ligados foram removidos por lavagem. Em seguida, foi adicionado o substrato quimioluminescente, e a luz gerada pela reação foi medida, sendo diretamente proporcional à concentração de PTH na amostra.

A creatinina foi dosada no equipamento Cobas[®] (Roche, Mannheim, BW, Alemanha) pelo método de Jaffé modificado, um ensaio colorimétrico cinético com intervalo de medição de 0,2 mg/dL a 25,0 mg/dL e coeficiente de variação de 2,64%, em média.

Os níveis séricos de cálcio iônico foram medidos diretamente por Eletrodo Íon-Seletivo (ISE, do inglês *Ion-Selective Electrode*) no analisador EasyLite[®] (Medica Corporation, Bedford, MA, EUA), com intervalo de medição de 0,4 mg/dL a 24,0 mg/dL e coeficiente de variação de 1,6%, em média.

Todas as dosagens laboratoriais foram realizadas no núcleo técnico do laboratório Hermes Pardini, que participa desde 2009 do programa de proficiência DEQAS. Para os testes PTH e cálcio iônico, é adotado desde 2011 o programa *College of American Pathologists* (CAP). Anteriormente, era utilizado para o PTH o programa de controle externo da qualidade *Control Lab*[®], empregado também para a creatinina.

4.3 ANÁLISE DOS DADOS

Para análise da relação entre 25OHD e PTH, os indivíduos selecionados foram organizados de acordo com as concentrações séricas de 25OHD (ordem crescente) e subdivididos em 50 grupos. Foram calculadas as medianas de 25OHD e PTH em cada grupo (Apêndice A). Para a avaliação gráfica da relação entre estes dois analitos, foi empregado o método LOESS (*Locally Regression and Smoothing Scatterplot*).

Os indivíduos foram também classificados em cinco grupos correspondentes às seguintes faixas de concentrações de 25OHD: inferior a 10,0 ng/mL; 10,0 a 19,9 ng/mL; 20,0 a 29,9 ng/mL; 30,0 a 49,9 ng/mL; e 50,0 a 160,0 ng/mL. Os resultados de PTH em cada intervalo foram comparados entre as cinco faixas etárias, as duas subpopulações (normal e alterada), e os dois imunoenaios utilizados para dosagem de 25OHD.

Os resultados foram expressos em números e proporções, em se tratando de variáveis discretas, e em medidas de tendência central e dispersão, em caso de variáveis contínuas. Para avaliação da distribuição dos resultados, foi adotado o teste D'Agostino Pearson. Diferenças nas proporções de variáveis categóricas foram analisadas utilizando-se o teste Qui-quadrado. Para comparação de variáveis contínuas de distribuição não-gaussiana em duas amostras independentes, foi utilizado o teste Mann-Whitney. Para análise de variáveis contínuas de distribuição não-gaussiana em mais de duas amostras independentes, foi empregado o teste Kruskal-Wallis. A análise estatística dos dados foi realizada nos programas *MedCalc for Windows*[®] (Ostend, Bélgica) versão 14.10.2 e *IBM*[®] *SPSS*[®] *Statistics* (Armonk, NY, EUA) versão 20. Foram adotados nível de significância de $p < 0,05$ e intervalo de confiança de 95%.

5 RESULTADOS

O levantamento do número de dosagens de 25OHD realizadas no laboratório Hermes Pardini entre os anos de 2008 e 2013 demonstrou aumento de 31,7 vezes nas solicitações deste exame nos últimos cinco anos (Figura 3). Em termos relativos, as dosagens de 25OHD representaram 0,13% do total de exames realizados em 2008 e atingiram 2,22% em 2013.

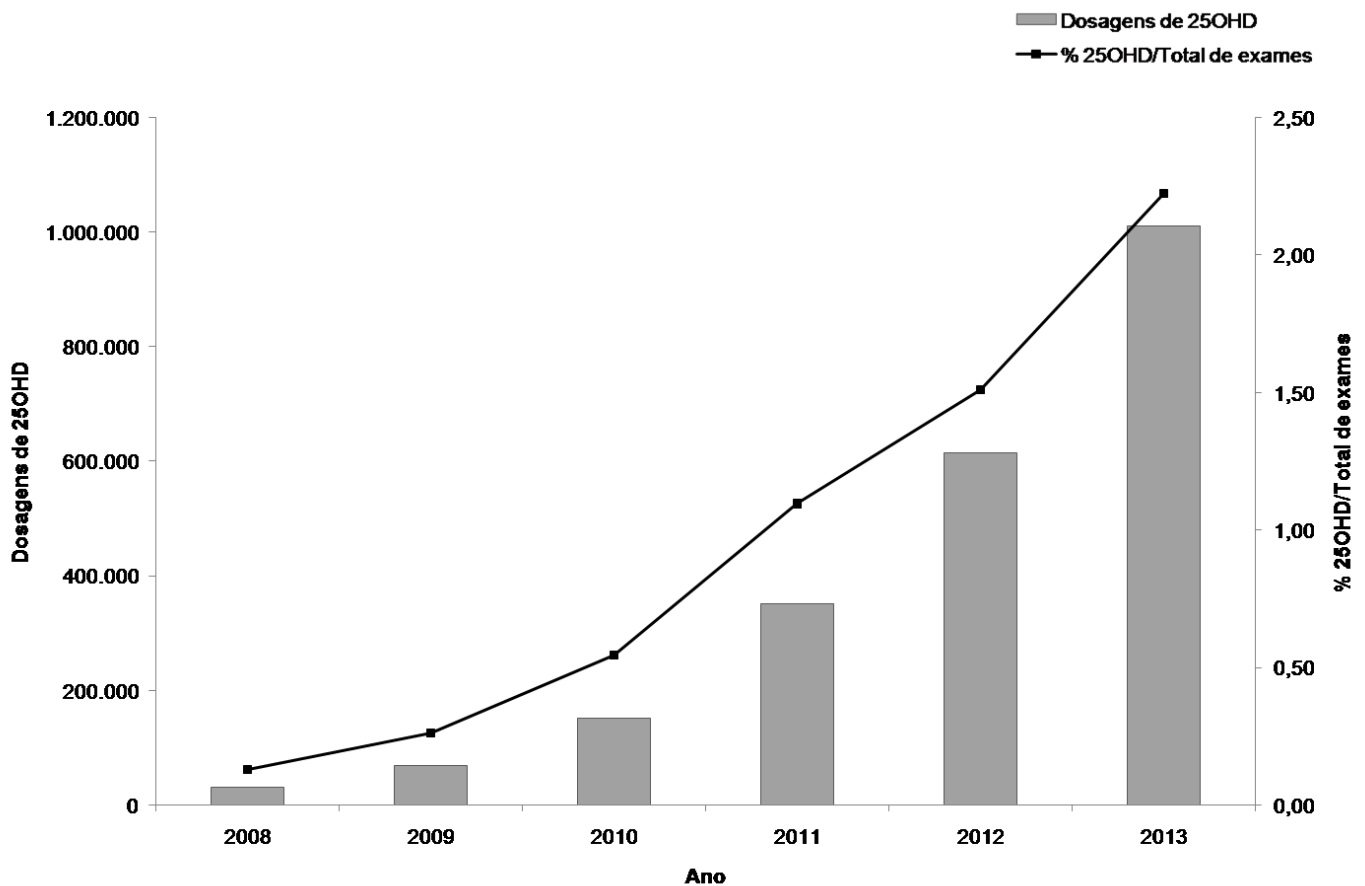


Figura 3: Total de dosagens de 25-hidroxivitamina D (25OHD) realizadas no laboratório Hermes Pardini entre os anos de 2008 e 2013, e percentual de 25OHD com relação ao total de exames executados nos mesmos anos.

A população que realizou simultaneamente os testes PTH e 25OHD em 2012, selecionada para a análise da relação entre os dois analitos (n=23.259), apresentou as características demográficas e os resultados laboratoriais descritos na tabela 1. A maior parte das amostras era proveniente da região sudeste do país (77,7%), seguida das regiões nordeste (11,8%), sul (7,2%), centro-oeste (1,8%) e norte (1,5%).

Tabela 1: Características demográficas e resultados laboratoriais dos indivíduos com dosagens concomitantes de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) no laboratório Hermes Pardini, em 2012.

PARÂMETROS	RESULTADOS
Idade (anos)	
Mediana (Intervalo Interquartil)	56 (42-68)
Intervalo Total	0-100
Sexo	
Feminino	18.918 (81,3%)
Masculino	4.341 (18,7%)
25OHD (ng/mL)	
Mediana (Intervalo Interquartil)	26,5 (21,4-32,0)
Intervalo Total	8,0-160,0
PTH (pg/mL)	
Mediana (Intervalo Interquartil)	38 (27-54)
Intervalo Total	1-10.580

As variáveis 25OHD e PTH não apresentaram distribuição normal nos 50 grupos obtidos após organização dos indivíduos de acordo com as concentrações de 25OHD, sendo utilizadas as medianas desses parâmetros na análise.

A curva LOESS, que descreve a relação encontrada entre as medianas de 25OHD e de PTH nos 50 grupos da população que realizou dosagens concomitantes destes analitos, em 2012, está representada na figura 4. Para níveis crescentes de 25OHD, foram observados valores de PTH continuamente mais baixos.

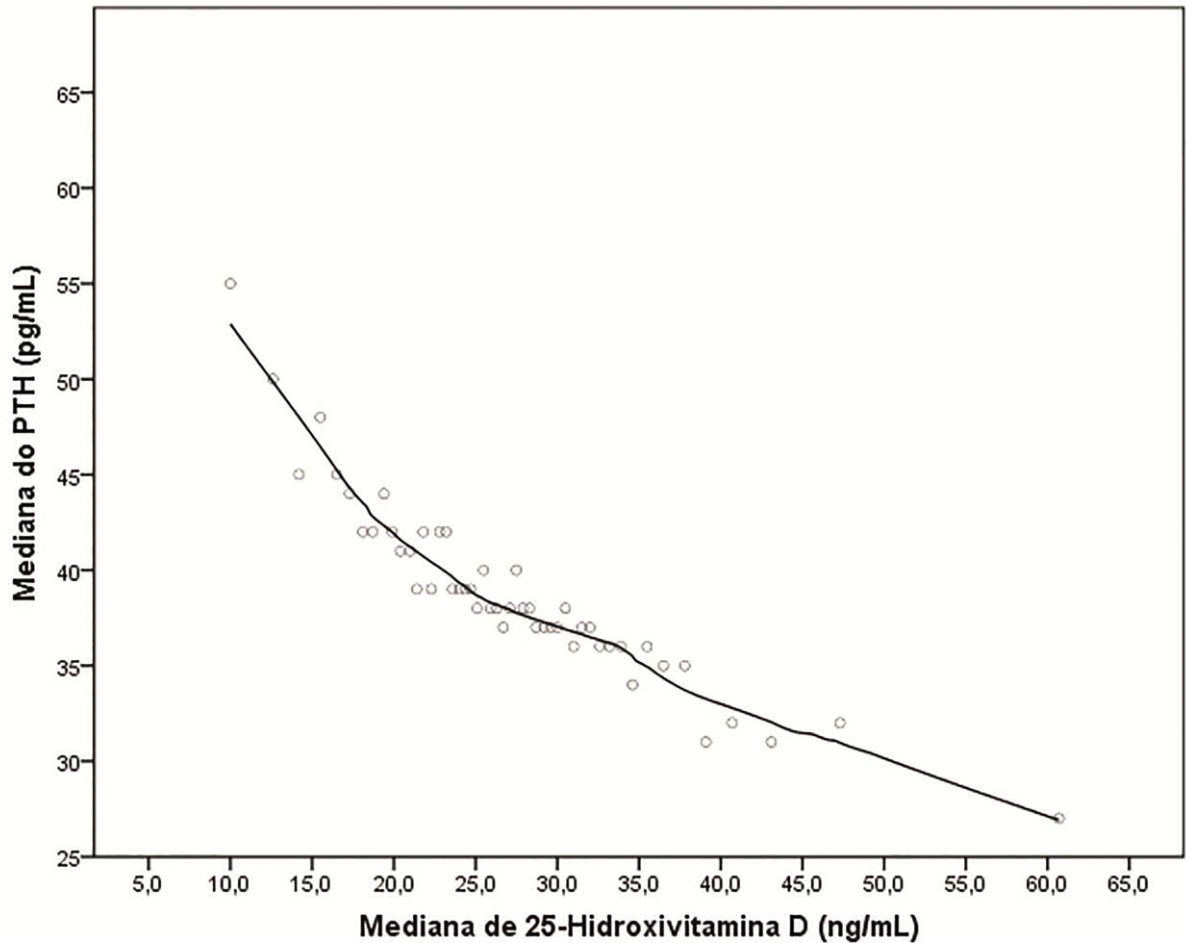


Figura 4: Relação entre medianas de 25-hidroxitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) dos indivíduos distribuídos em 50 grupos (n=465) de acordo com os resultados de 25OHD, no ano de 2012.

As características demográficas e os resultados laboratoriais dos indivíduos de cada faixa etária (inferior a 20 anos, 20 a 39 anos, 40 a 59 anos, 60 a 79 anos e 80 anos ou mais) dessa população estão descritos na tabela 2. Os resultados de 25OHD e PTH nos cinco grupos apresentaram diferença estatística ($p < 0,000001$). Os coeficientes de variação entre as medianas de 25OHD e PTH foram 3,0% e 26,8%, respectivamente. Os resultados de PTH de todas as faixas etárias foram diferentes entre si.

Tabela 2: Características demográficas e resultados laboratoriais dos indivíduos com dosagens concomitantes de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) no laboratório Hermes Pardini, em 2012, agrupados de acordo com a faixa etária.

PARÂMETROS	< 20 ANOS (n=708)	20 A 39 ANOS (n=4.436)	40 A 59 ANOS (n=8.250)	60 A 79 ANOS (n=7.978)	≥ 80 ANOS (n=1.887)	p
Idade (anos)^a	12 (6-17)	32 (28-36)	51 (46-55)	68 (64-73)	84 (81-86)	
Sexo						
Feminino	408 (57,6%)	3525 (79,5%)	6958 (84,3%)	6596 (82,7%)	1431 (75,8%)	
Masculino	300 (42,4%)	911 (20,5%)	1292 (15,7%)	1382 (17,3%)	456 (24,2%)	
25OHD (ng/mL)^a	26,8 (21,4-31,8) ^b	26,1 (21,2-31,8) ^c	26,5 (21,5-31,9) ^c	27,0 (21,9-32,4) ^d	25,0 (19,6-31,1) ^e	<0,000001 ^f
PTH (pg/mL)^a	24 (16-33) ^e	32 (24-45) ^e	37 (27-51) ^e	43 (31-61) ^e	50 (34-76) ^e	<0,000001 ^f

n: Número de indivíduos na amostra

^a Mediana (Intervalo Interquartil)

^b Diferença significativa ($p < 0,05$) com relação à faixa etária: ≥ 80 anos

^c Diferença significativa ($p < 0,05$) com relação às faixas etárias: 60 a 79 anos e ≥ 80 anos

^d Diferença significativa ($p < 0,05$) com relação às faixas etárias: 20 a 39 anos, 40 a 59 anos e ≥ 80 anos

^e Diferença significativa ($p < 0,05$) com relação a todas as faixas etárias

^f Teste Kruskal-Wallis

As curvas LOESS que ilustram as relações encontradas entre as medianas de 25OHD e PTH nos 50 grupos de cada faixa etária estão representadas na figura 5. Observa-se que as medianas de PTH para uma mesma 25OHD foram consistentemente mais altas com o avançar da idade ao longo de todo o intervalo de concentrações estudadas, com exceção apenas da faixa etária de 40 a 59 anos que apresentou discreta sobreposição nos extremos da curva.

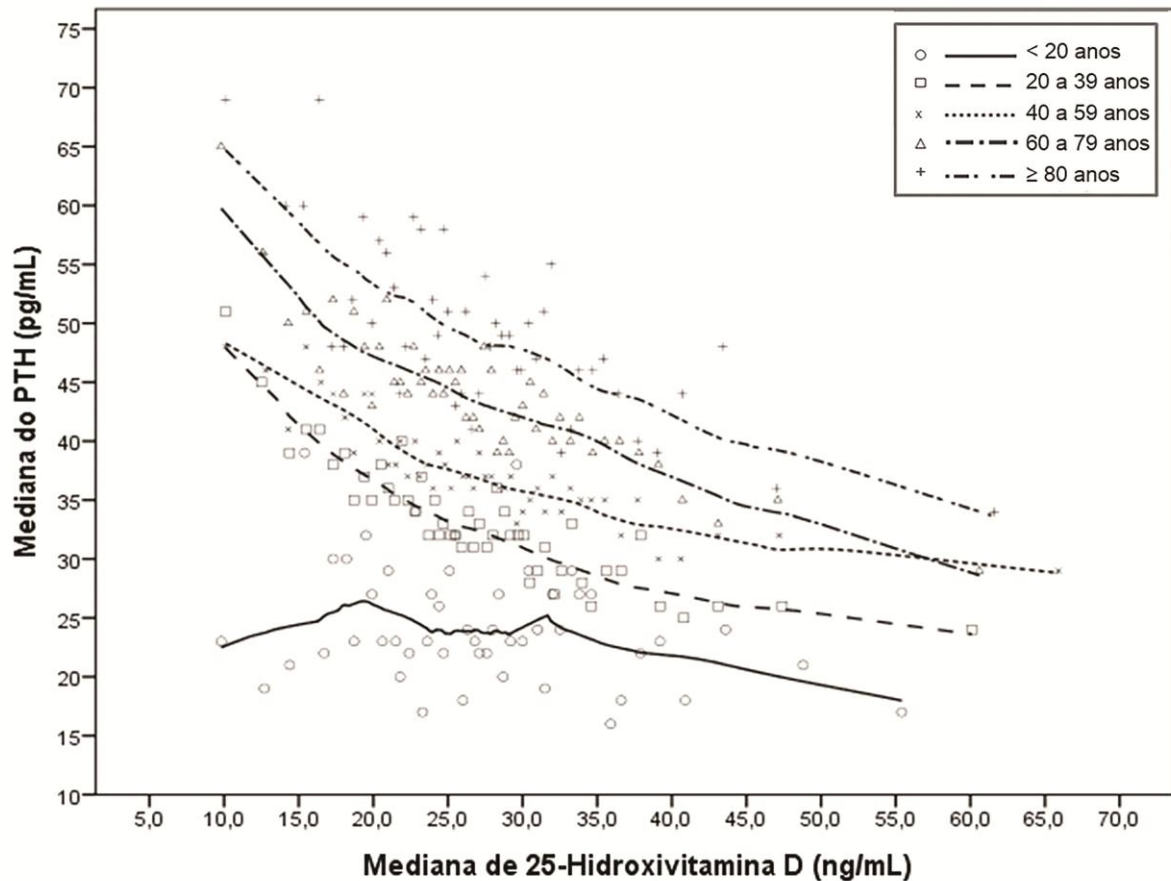


Figura 5: Relação entre medianas de 25-hidroxitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) dos indivíduos distribuídos em 50 grupos de acordo com os resultados de 25OHD nas diferentes faixas etárias, no ano de 2012.

A representação gráfica das medianas de PTH nos indivíduos classificados em cinco intervalos de concentrações de 25OHD (Figura 6) também demonstrou a diferença na relação 25OHD-PTH entre as faixas etárias. Com exceção do grupo com resultados inferiores a 10,0 ng/mL, as medianas de PTH foram progressivamente mais altas com o avançar da idade. As diferenças observadas entre os resultados de PTH obtidos em cada intervalo de concentrações de 25OHD nos cinco grupos etários foram significativas (teste Kruskal-Wallis). Todas as faixas etárias foram diferentes entre si nos grupos com concentrações de 25OHD de 10,0 ng/mL a 19,9 ng/mL, 20,0 ng/mL a 29,9 ng/mL e 30,0 ng/mL a 49,9 ng/mL.

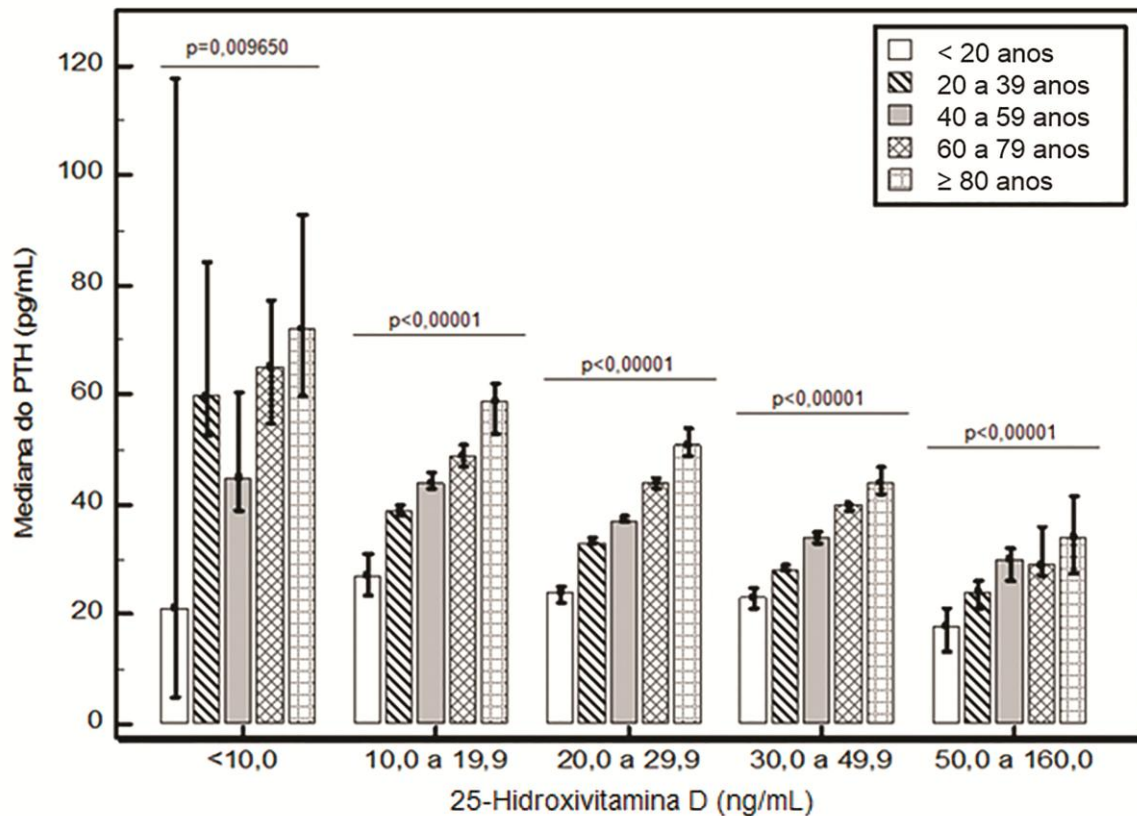


Figura 6: Medianas (Intervalo de Confiança de 95%) do paratormônio (PTH) por faixa etária, no ano de 2012, em indivíduos agrupados de acordo com os resultados de 25-hidroxivitamina D (25OHD): < 10,0 ng/mL (n=225), 10,0 a 19,9 ng/mL (n=4.244), 20,0 a 29,9 ng/mL (n=11.027), 30,0 a 49,9 ng/mL (n=7.245), e 50,0 a 160,0 ng/mL (n=518). As medianas de PTH dos grupos etários foram comparadas pelo teste Kruskal-Wallis em cada classe de 25OHD.

A distribuição dos resultados de creatinina dos indivíduos de cada faixa etária com dosagens concomitantes deste analito, PTH e 25OHD em 2012 está descrita na tabela 3. Os resultados de creatinina de todas as faixas etárias foram diferentes entre si.

Tabela 3: Distribuição dos resultados de creatinina sérica (mg/dL) por faixa etária nos indivíduos com dosagens concomitantes de creatinina, 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH), no ano de 2012.

CREATININA (mg/dL)	< 20 ANOS	20 A 39 ANOS	40 A 59 ANOS	60 A 79 ANOS	≥ 80 ANOS	TOTAL	p
Mediana	0,65 ^a	0,78 ^a	0,81 ^a	0,88 ^a	1,07 ^a	0,84	< 0,000001 ^b
Intervalo Interquartil	0,54-0,82	0,68-0,92	0,71-0,95	0,76-1,11	0,86-1,55	0,72-1,03	
n	81	677	1.276	1.393	352	3.779	

n: Número de indivíduos na amostra

^a Diferença significativa (p<0,05) com relação às demais faixas etárias

^b Teste Kruskal-Wallis

A relação 25OHD-PTH foi analisada separadamente nos indivíduos que realizaram dosagens concomitantes de creatinina, cálcio iônico, 25OHD e PTH, em 2012, e nas subpopulações “normal” e “alterada” obtidas a partir deste grupo “geral”. As características demográficas e os resultados laboratoriais dos três grupos estão descritos na tabela 4.

Tabela 4: Características demográficas e resultados laboratoriais das subpopulações de 2012 selecionadas de acordo com a função renal e os níveis séricos de cálcio iônico.

PARÂMETROS	GRUPO NORMAL ^a (n=1.466)	GRUPO ALTERADO ^b (n=465)	GRUPO GERAL ^c (n=1.954)	p ^d
Idade (anos)^e	53 (39-64)	71 (61-80)	57 (43-70)	<0,0001 ^f
Sexo				
Feminino	1.223 (83,4%)	370 (79,6%)	1.602 (82,0%)	0,0664 ^g
Masculino	243 (16,6%)	95 (20,4%)	352 (18,0%)	
25-Hidroxivitamina D (ng/mL)^e	25,7 (20,6-30,9)	25,6 (20,5-31,5)	25,7 (20,6-31,1)	0,9826 ^f
Paratormônio (pg/mL)^e	41,0 (31,0-54,0)	56,0 (39,0-92,3)	44,0 (32,0-60,0)	<0,0001 ^f
Cálcio Iônico (mg/dL)^e	4,84 (4,72-4,96)	4,92 (4,76-5,12)	4,88 (4,72-5,00)	<0,0001 ^f
Creatinina (mg/dL)^e	0,78 (0,69-0,87)	1,14 (0,99-1,50)	0,82 (0,72-0,98)	<0,0001 ^f

n: Número de indivíduos na amostra

^a Grupo Normal: subpopulação com Taxa de Filtração Glomerular estimada (TFGe) ≥ 60 mL/min/1,73m² e cálcio iônico na faixa de referência

^b Grupo Alterado: subpopulação com TFGe < 60 mL/min/1,73m² e/ou cálcio iônico fora do intervalo de referência

^c Grupo Geral: todos os indivíduos que realizaram dosagens concomitantes de 25OHD, PTH, creatinina e cálcio iônico no ano de 2012

^d Comparações realizadas entre Grupo Normal e Grupo Alterado

^e Mediana (Intervalo Interquartil)

^f Teste Mann-Whitney

^g Teste Qui-quadrado

Na subpopulação alterada, 90,8% dos indivíduos apresentavam TFGe inferior a 60 mL/min/1,73m², sendo considerados, neste estudo, portadores de doença renal crônica. Já a definição de hiperparatireoidismo primário foi baseada na elevação concomitante dos níveis séricos de PTH e cálcio iônico, em indivíduos com função renal normal, observada em 4,7% do grupo alterado.

As curvas LOESS que refletem a relação entre as medianas de 25OHD e PTH demonstram que a subpopulação normal selecionada apresentou medianas inferiores de PTH quando comparada à subpopulação alterada (Figura 7).

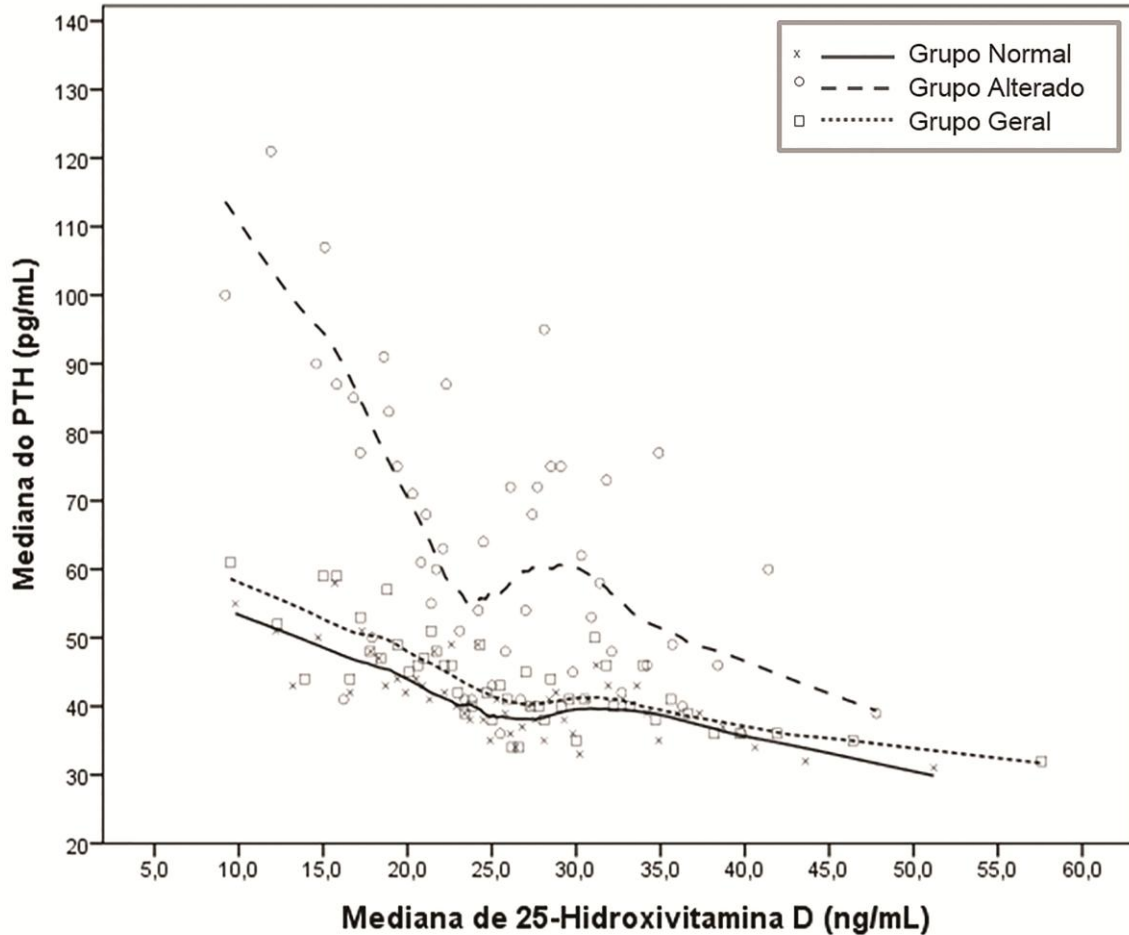


Figura 7: Relação entre medianas de 25-hidroxitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) nos indivíduos com dosagens concomitantes de creatinina, cálcio iônico, 25OHD e PTH em 2012 (grupo geral), na subpopulação com cálcio iônico na faixa de referência e Taxa de Filtração Glomerular estimada (TFGe) ≥ 60 mL/min/1,73m² (grupo normal), e na subpopulação com cálcio iônico alterado e/ou TFGe < 60 mL/min/1,73m² (grupo alterado). Em todos os grupos, os indivíduos foram distribuídos em 50 subgrupos de acordo com os resultados de 25OHD.

O grupo geral apresentou comportamento semelhante ao grupo normal, que representa 75% de sua população. No entanto, a proporção minoritária de indivíduos "alterados" no grupo geral (23,8%) foi suficiente para a observação de medianas de PTH mais altas que no grupo normal, principalmente nas concentrações mais baixas de 25OHD.

Os indivíduos das subpopulações foram também classificados em cinco grupos correspondentes a intervalos pré-estabelecidos de concentrações séricas de 25OHD. As medianas dos resultados de PTH em cada faixa de 25OHD estão representadas na figura 8. Os resultados de PTH das subpopulações normal e alterada foram comparados pelo Teste Mann-Whitney, sendo observada diferença significativa nos intervalos de 25OHD de 10,0 ng/mL a 19,9 ng/mL, 20,0 ng/mL a 29,9 ng/mL e 30,0 ng/mL a 49,9 ng/mL (Tabela 5).

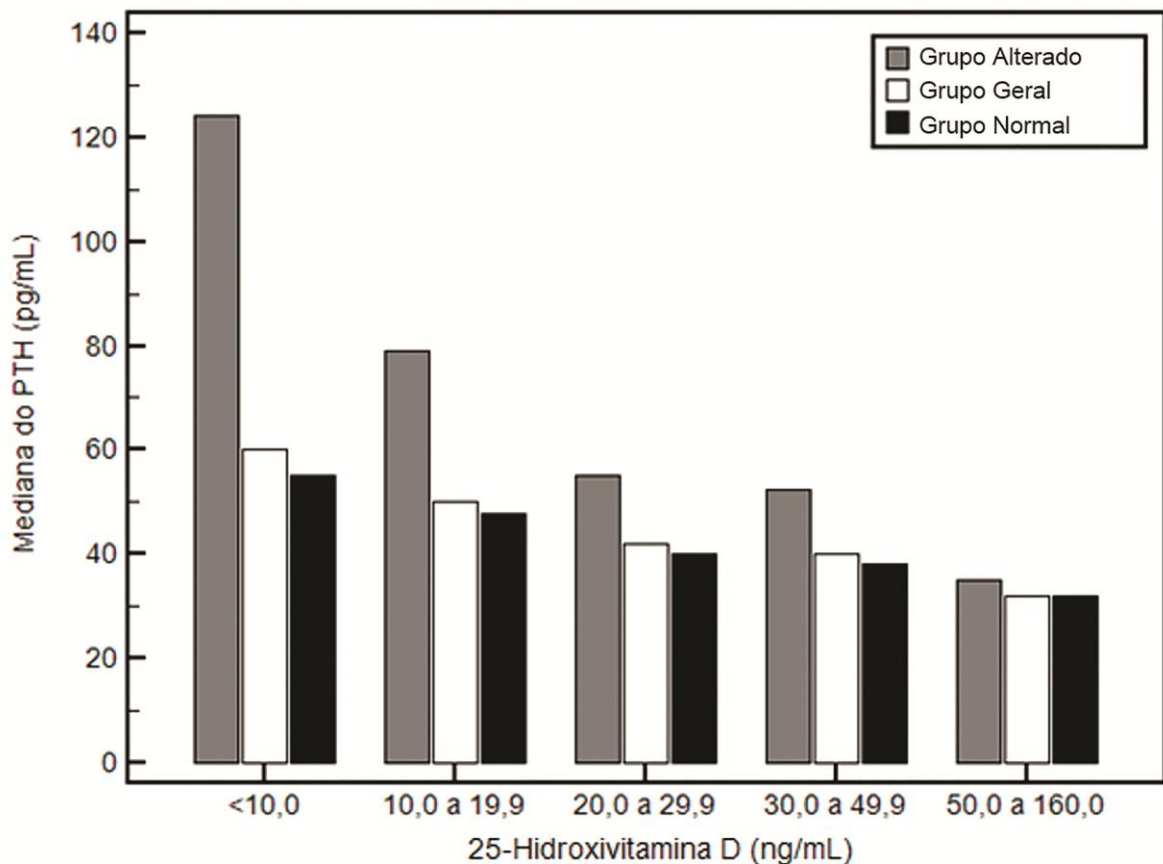


Figura 8: Medianas do paratormônio (PTH) por intervalo de concentrações de 25-hidroxivitamina D (25OHD) na subpopulação de 2012 que realizou dosagens concomitantes de creatinina, cálcio iônico, 25OHD e PTH (Grupo Geral), na subpopulação com cálcio iônico na faixa de referência e Taxa de Filtração Glomerular estimada (TFGe) ≥ 60 mL/min/1,73m² (Grupo Normal), e na subpopulação com cálcio iônico alterado e/ou TFGe < 60 mL/min/1,73m² (Grupo Alterado).

Tabela 5: Distribuição dos resultados de paratormônio (PTH) por intervalo de concentrações de 25-hidroxivitamina D (25OHD) nas subpopulações de 2012 selecionadas de acordo com a função renal e os níveis séricos de cálcio iônico.

25OHD (ng/mL)	GRUPO NORMAL ^a		GRUPO ALTERADO ^b		GRUPO GERAL ^c		p ^d
	n	PTH (pg/mL) ^e	n	PTH (pg/mL) ^e	n	PTH (pg/mL) ^e	
< 10,0	15	55,0 (48,2-64,7)	7	124,0 (33,2-477,3)	22	60,0 (48,0-84,0)	0,1693 ^f
10,0 a 19,9	318	48,0 (36,0-61,0)	102	79,0 (46,0-118,0)	423	50,0 (37,0-68,0)	<0,0001 ^f
20,0 a 29,9	705	40,0 (31,0-54,0)	215	55,0 (38,3-92,8)	929	42,0 (32,0-59,0)	<0,0001 ^f
30,0 a 49,9	401	38,0 (29,0-50,0)	130	52,5 (36,0-77,0)	542	40,0 (29,0-54,0)	<0,0001 ^f
50,0 a 160,0	27	32,0 (15,2-39,0)	11	35,0 (17,5-49,5)	38	32,0 (16,0-43,0)	0,4494 ^f

n: Número de indivíduos na amostra

^a Grupo Normal: subpopulação com Taxa de Filtração Glomerular estimada (TFGe) ≥ 60 mL/min/1,73m² e cálcio iônico na faixa de referência

^b Grupo Alterado: subpopulação com TFGe < 60 mL/min/1,73m² e/ou cálcio iônico fora do intervalo de referência

^c Grupo Geral: todos os indivíduos que realizaram dosagens concomitantes de 25OHD, PTH, creatinina e cálcio iônico no ano de 2012

^d Comparações realizadas entre PTH dos Grupos Normal e Alterado

^e Mediana (Intervalo Interquartil)

^f Teste Mann-Whitney

Na tabela 6, estão descritas as características demográficas e os resultados laboratoriais da população do ano de 2010, que realizou simultaneamente os exames PTH e 25OHD (equipamento LIAISON[®]).

Tabela 6: Características demográficas e resultados laboratoriais dos indivíduos com dosagens concomitantes de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) no laboratório Hermes Pardini, no ano de 2010.

PARÂMETROS	RESULTADOS
Idade (anos)	
Mediana (Intervalo Interquartil)	57 (43-69)
Intervalo Total	0-98
Sexo	
Feminino	3.990 (83,0%)
Masculino	819 (17,0%)
25OHD (ng/mL)	
Mediana (Intervalo Interquartil)	23,9 (18,1-30,0)
Intervalo Total	4,0-150,0
PTH (pg/mL)	
Mediana (Intervalo Interquartil)	40 (28-57)
Intervalo Total	1-1.791

A maior parte das amostras era proveniente da região sudeste do país (80,3%), seguida das regiões sul (7,6%), nordeste (6,9%), norte (3,8%) e centro-oeste (1,4%).

As curvas LOESS que representam as relações entre as medianas de 25OHD e PTH em 2010 e 2012 (Figura 9) foram semelhantes entre si.

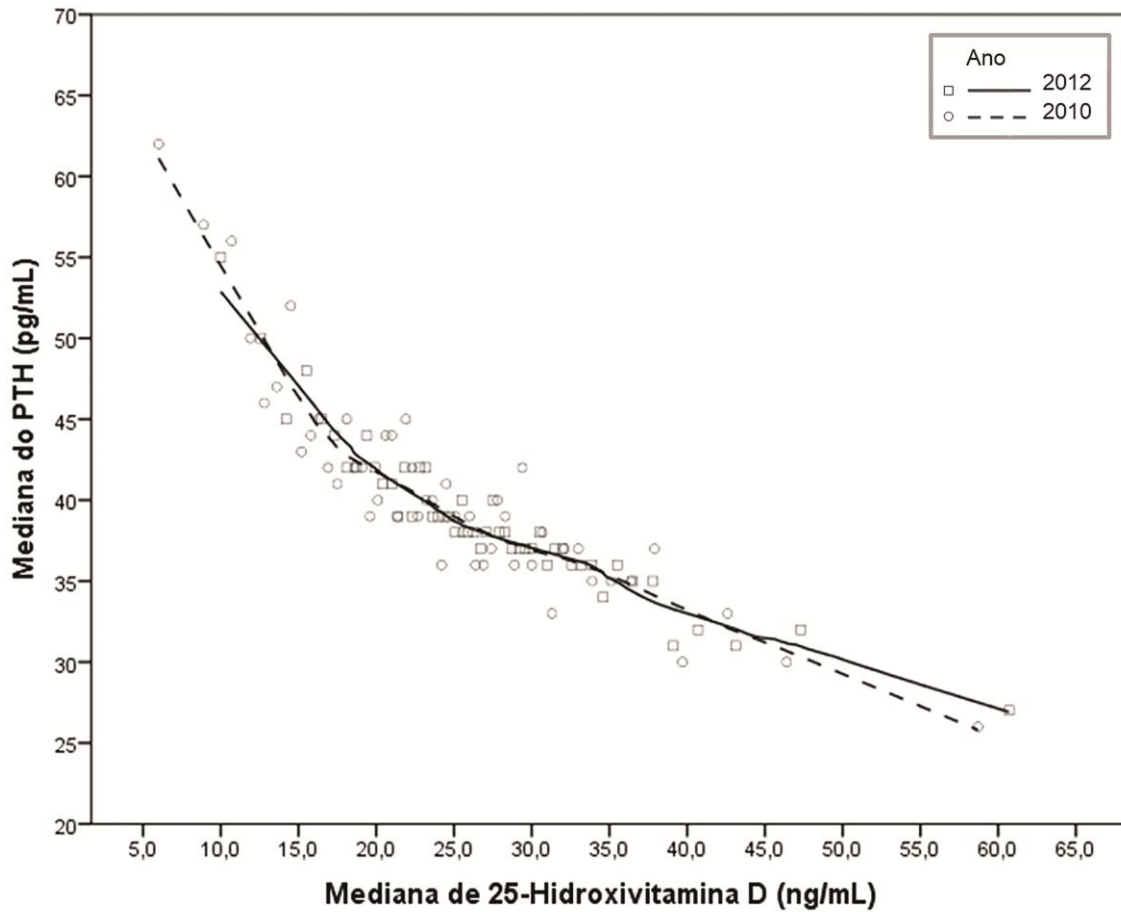


Figura 9: Relação entre medianas de 25-hidroxitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) dos indivíduos distribuídos em 50 grupos de acordo com os resultados de 25OHD, nos anos de 2010 e 2012.

A representação gráfica das medianas do PTH nos indivíduos classificados em cinco faixas de concentrações de 25OHD (Figura 10) evidenciou uma pequena discrepância no intervalo de valores mais baixos de 25OHD, mas não houve diferença estatística (tabela 7).

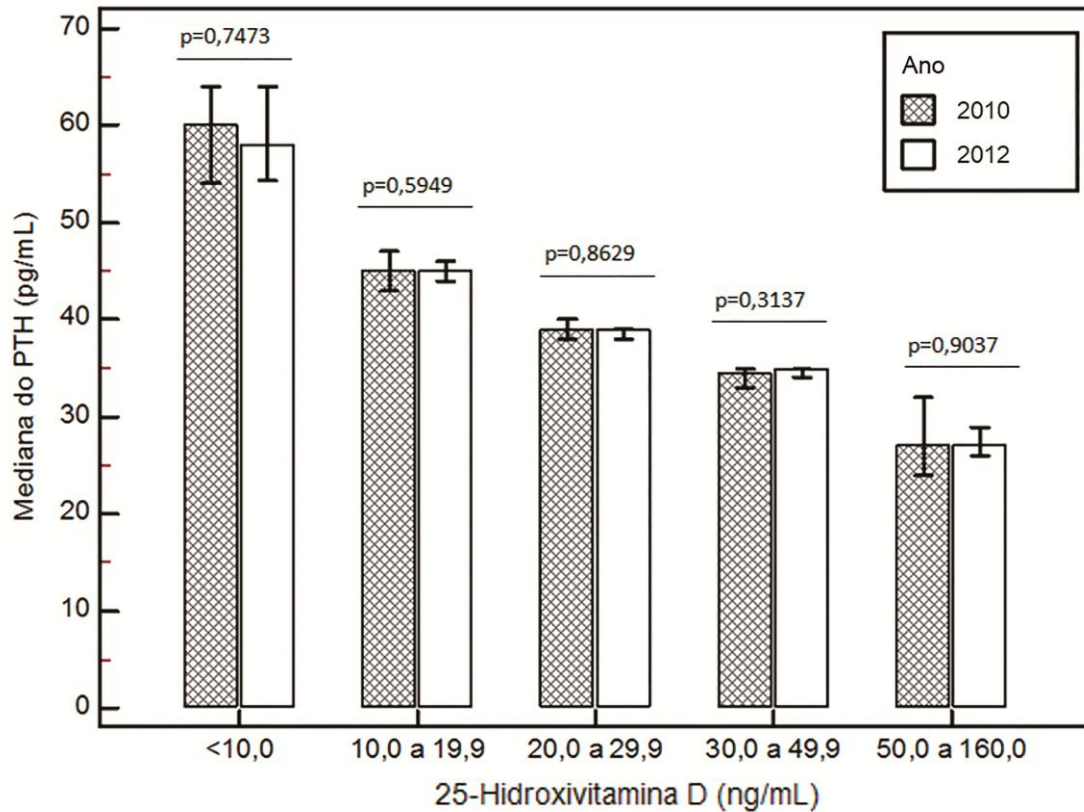


Figura 10: Medianas (Intervalo de Confiança de 95%) do paratormônio (PTH) por faixa de concentrações de 25-hidroxitamina D (25OHD), nos anos de 2010 e 2012. As medianas de PTH foram comparadas pelo teste Mann-Whitney em cada classe de 25OHD.

Tabela 7: Distribuição dos resultados de paratormônio (PTH) por intervalo de concentrações de 25-hidroxitamina D (25OHD), nos anos de 2010 e 2012.

25OHD (ng/mL)	2010		2012		P
	n	PTH (pg/mL) ^a	n	PTH (pg/mL) ^a	
< 10,0	175	60,0 (40,7-83,7)	225	58,0 (35,7-95,0)	0,7473 ^b
10,0 a 19,9	1375	45,0 (32,0-63,7)	4244	45,0 (32,0-66,0)	0,5949 ^b
20,0 a 29,9	2024	39,0 (27,0-55,0)	11027	39,0 (28,0-54,0)	0,8629 ^b
30,0 a 49,9	1120	34,5 (24,0-48,0)	7245	35,0 (25,0-48,0)	0,3137 ^b
50,0 a 160,0	105	27,0 (18,7-43,0)	518	27,0 (20,0 a 40,0)	0,9037 ^b

n: Número de indivíduos na amostra

^a Mediana (Intervalo Interquartil)

^b Teste Mann-Whitney

6 DISCUSSÃO

Nos últimos anos, tem sido observado um interesse crescente pela vitamina D, evidenciado pelo aumento expressivo do número de publicações sobre este tema e das solicitações de dosagem sérica de 25OHD nos laboratórios de todo o mundo (ADAMS; HEWISON, 2010; FARRELL *et al.*, 2012b). Isso pode ser explicado pela tendência mundial à hipovitaminose D observada quando adotados pontos de corte obtidos através de medidas funcionais para determinação dos níveis ótimos (ROSEN, 2011; ROSS *et al.*, 2011a). Uma definição funcional muito utilizada baseia-se na concentração sérica de 25OHD capaz de suprimir a secreção de PTH (CAVALIER *et al.*, 2009). A relação entre estes dois analitos foi investigada neste estudo, bem como a influência de fatores potencialmente interferentes.

O modelo escolhido para descrever a relação entre 25OHD e PTH foi a curva LOESS, por representar de forma mais fidedigna a relação entre duas variáveis contínuas, sem suposições prévias ou extrapolações (ALOIA *et al.*, 2006). Modelos semelhantes foram utilizados nos trabalhos de Vieth, Ladak e Walfish (2003) e Bischoff-Ferrari *et al.* (2004).

O volume total de dosagens de 25OHD realizadas no laboratório Hermes Pardini apresentou um aumento superior a 30 vezes entre os anos de 2008 e 2012, o que está de acordo com a tendência descrita por Sattar *et al.* (2012). Estes autores relatam elevações consideráveis na solicitação desse teste na Escócia e Inglaterra, e mencionam padrão semelhante nos EUA e Canadá.

Na curva que descreveu a relação entre 25OHD e PTH nas dosagens simultâneas realizadas em 2012, não foi observado um platô de supressão do PTH até a concentração máxima de 25OHD analisada. Os resultados do presente trabalho estão de acordo com os achados de Valcour *et al.* (2012), que descreveram um decréscimo suave do PTH, à medida que as concentrações de 25OHD aumentaram, sem evidência de uma assíntota horizontal. Vieth, Ladak e Walfish (2003) também não observaram um platô na relação entre PTH e 25OHD, e concluíram que a escolha de uma concentração ótima ou desejável de 25OHD baseada somente no PTH seria arbitrária. Chapuy *et al.* (1997), no entanto, demonstraram o contrário em um trabalho clássico em que níveis constantes de PTH foram obtidos a partir de 31 ng/mL de 25OHD. Ponto de corte semelhante foi obtido em um estudo brasileiro publicado em 2008 por Silva *et al.* (2008). Estes autores analisaram a relação entre 25OHD e PTH em 180

pacientes residentes na região metropolitana de Belo Horizonte, com idade entre 14 e 91 anos, e demonstraram elevação das concentrações de PTH em níveis de 25OHD abaixo de 32 ng/mL.

Como pode ser observado, há discordância entre os estudos quanto à existência de um platô de supressão do PTH nas curvas que ilustram sua relação com 25OHD. Uma possível explicação são os diferentes modelos empregados na análise. Segundo Aloia *et al.* (2006), não há consenso sobre o formato ideal da relação matemática entre as variáveis 25OHD e PTH, embora os gráficos de dispersão reportados na literatura sejam muito semelhantes. Ao utilizarem o modelo de decaimento exponencial empregado em muitos trabalhos, adotando a mesma abordagem de Chapuy *et al.* (1997), Vieth, Ladak e Walfish (2003) obtiveram um platô de supressão teórico do PTH em concentrações de 25OHD superiores a 29,2 ng/mL. No entanto, após a aplicação do modelo LOWESS (*Locally weighted regression and scatterplot smoothing*) aos mesmos dados, o PTH não atingiu níveis constantes de supressão. Os autores atribuem essa divergência ao fato de o modelo exponencial ser baseado em uma expectativa de observação de platô por parte do investigador, enquanto o método LOWESS revela a forma natural, verdadeira, da curva.

Quanto aos resultados dos indivíduos distribuídos de acordo com a faixa etária, embora tenha sido observada diferença estatística entre as concentrações de 25OHD, esta não se mostrou clinicamente relevante. O coeficiente de variação entre as medianas de 25OHD das cinco faixas etárias foi inferior até mesmo à imprecisão máxima aceitável (10%) para as dosagens laboratoriais de rotina deste analito, de acordo com as especificações da qualidade analítica propostas por Stöckl, Sluss e Thienpont (2009). Ao contrário do esperado, os níveis de vitamina D não apresentaram queda expressiva com o avançar da idade. Uma hipótese para este achado seria a provável suplementação de vitamina D, mais frequente nas faixas etárias consideradas de maior risco para osteoporose. No estudo de Dawson-Hughes, Harris e Dallal (1997), em que foram excluídos os indivíduos em uso de vitamina D suplementar, o declínio dos níveis de 25OHD com o avançar da idade foi confirmado.

Já as concentrações de PTH foram consistentemente mais altas nas idades mais avançadas, inclusive quando analisada sua relação com 25OHD pela curva LOESS. A avaliação das medianas de PTH dos indivíduos classificados em cinco grupos de concentrações de interesse de 25OHD confirmou essa observação, com exceção apenas do grupo com resultados

inferiores a 10,0 ng/mL. No entanto, a análise pode ter sido prejudicada pelo menor número de indivíduos com estes níveis de 25OHD em todas as faixas etárias.

O menor número de indivíduos também pode ter afetado a análise da faixa etária inferior a 20 anos que apresentou curva LOESS distinta dos demais grupos. A proporção entre homens e mulheres nessa faixa também é diferente, possivelmente devido ao direcionamento das dosagens de 25OHD à investigação de raquitismo carencial ou por outras causas (LEÃO *et al.*, 2005).

Os efeitos da idade na relação 25OHD-PTH demonstrados no presente trabalho estão de acordo com as observações de Valcour *et al.* (2012). Por outro lado, no estudo de Chapuy *et al.* (1997), o platô de supressão do PTH não foi influenciado pela idade, mas deve-se ressaltar que sua amostra foi composta apenas por indivíduos de 35 a 65 anos. Outros autores que avaliam a relação entre 25OHD e PTH se restringem a faixas etárias mais avançadas (LIPS *et al.*, 1988; MALABANAN; VERONIKIS; HOLICK, 1998; KRALL *et al.*, 1989; DAWSON-HUGHES; HARRIS; DALLAL, 1997). Alguns trabalhos incluem indivíduos jovens (THOMAS *et al.*, 1998; SILVA *et al.*, 2008), mas não estratificam por idade a análise da relação.

Segundo Maeda *et al.* (2007), o ponto de corte de 25OHD abaixo do qual a secreção de PTH começa a elevar-se é aparentemente mais baixo em jovens que em idosos. Vieth, Ladak e Walfish (2003) também questionaram se a relação entre 25OHD e PTH seria consistentemente válida e similar para todas as faixas etárias e concluíram que a quantidade de vitamina D necessária para supressão do PTH era superior nos idosos. De acordo com Dawson-Hughes *et al.* (2005), crianças e adultos jovens seriam provavelmente mais responsivos a 25OHD que os idosos. Por exemplo, para um idoso atingir o mesmo PTH de um jovem com 25OHD de 70 nmol/L (28 ng/mL), seus níveis séricos de 25OHD deveriam exceder 100 nmol/L (40 ng/mL). Em estudo publicado em 2010, Arabi *et al.* observaram que para os mesmos níveis de vitamina D, os idosos apresentavam concentrações de PTH 1,5 a 2 vezes mais altas que os adolescentes (ARABI *et al.*, 2010).

As diferenças observadas entre as faixas etárias provavelmente estão relacionadas à menor ingestão e absorção de cálcio nos idosos, e refletem também o declínio da função renal, demonstrado no presente trabalho pelas concentrações crescentes de creatinina com o avançar

da idade, apesar da diminuição de massa muscular observada habitualmente (PATTANAUNGKUL *et al.*, 2000; VIETH; LADAK; WALFISH, 2003; DAWSON-HUGHES *et al.*, 2005; SAI *et al.*, 2011). A redução da massa renal relacionada à idade resulta em diminuição da 1α -hidroxilação da 25OHD e conseqüente redução dos níveis de 1,25-dihidroxitamina D (PATTANAUNGKUL *et al.*, 2000). De acordo com Arabi *et al.* (2010), a definição dos níveis desejáveis de vitamina D com base na relação 25OHD-PTH deveria levar em consideração a idade e função renal da população alvo.

Para estudar a diminuição da absorção de cálcio com a idade, Pattanaungkul *et al.* (2000) avaliaram a absorção intestinal ativa de cálcio em resposta à 1,25-dihidroxitamina D em mulheres jovens e idosas. Os autores observaram uma sensibilidade significativamente mais alta ao calcitriol nas mulheres jovens. A resistência à ação da 1,25-dihidroxitamina D, demonstrada nas mulheres idosas, poderia contribuir para o balanço negativo do cálcio, hiperparatireoidismo secundário e perda óssea. As hipóteses aventadas para a resistência observada foram: diminuição de receptores para vitamina D nas células intestinais, alterações pós-receptor na ação do calcitriol e deficiência de estrógeno em idosas, já que este hormônio parece ter um efeito positivo direto sobre a resposta intestinal à 1,25-dihidroxitamina D.

Em estudo publicado em 1997, Kinyamu *et al.* concluíram que a menor absorção de cálcio observada nos idosos não foi conseqüente à diminuição de receptores de vitamina D. Eles sugeriram que os possíveis mecanismos envolvidos poderiam incluir alterações pós-transcricionais nas proteínas ligadoras de cálcio ou redução da resposta intestinal ao calcitriol devido à deficiência estrogênica (KINYAMU *et al.*, 1997).

Outros mecanismos sugeridos por Adami *et al.* (2008) para explicar a influência da idade na relação 25OHD-PTH foram o aumento de fatores de crescimento, alterações induzidas por citocinas em doenças inflamatórias crônicas, interações medicamentosas, e alterações qualitativas do receptor de vitamina D.

Analisando-se as subpopulações selecionadas de acordo com a função renal e os níveis de cálcio iônico no presente trabalho, observou-se uma influência destes fatores na relação 25OHD-PTH. A subpopulação considerada normal (TFGe igual ou superior a 60 mL/min/1,73m² e cálcio iônico na faixa de referência) apresentou níveis de PTH mais baixos em toda a faixa de 25OHD analisada na curva LOESS. Ao avaliar as medianas de PTH

dos indivíduos classificados em intervalos pré-definidos de 25OHD, as diferenças observadas entre os grupos normal e alterado não foram significativas nos extremos superior e inferior de concentrações, provavelmente devido ao menor número de amostras.

Em trabalho publicado em 2011, Saliba *et al.* observaram que na subpopulação do estudo composta por indivíduos com função renal e cálcio sérico normais, as concentrações de PTH atingiram um nível constante de supressão a partir de 18,5 ng/mL de 25OHD, enquanto na população geral, os níveis de PTH começaram a se elevar em concentrações de 25OHD iguais ou inferiores a 31,6 ng/mL (SALIBA *et al.*, 2011).

Nos estudos que avaliaram a relação entre 25OHD e PTH para definição dos pontos de corte, nem sempre os critérios de inclusão e exclusão utilizados para seleção dos indivíduos supostamente saudáveis estavam claramente descritos. Em alguns deles, a avaliação baseou-se apenas na anamnese médica e exame físico, como no trabalho de Aloia *et al.* (2006). Em outros, embora seja relatada a realização de dosagens de cálcio iônico e/ou creatinina sérica, aparentemente estes parâmetros não foram considerados na seleção da população (CHAPUY *et al.*, 1997; THOMAS *et al.*, 1998). Assim, condições clínicas frequentemente assintomáticas, como hiperparatireoidismo primário e doença renal crônica em seus estágios iniciais, podem não ter sido detectadas. No trabalho realizado por Silva *et al.* (2008), estas doenças estão entre os critérios de exclusão utilizados na seleção de pacientes, por meio de revisão de prontuários, para análise da relação entre 25OHD e PTH.

A falta de harmonização entre os ensaios destinados para a dosagem de 25OHD também é destacada na literatura. As diferenças entre os equipamentos existentes têm impacto na definição dos limites de decisão e valores obtidos com um método podem não ser aplicáveis a outros (BARAKE *et al.*, 2012; SOUBERBIELLE *et al.*, 2005; LIPS *et al.*, 2004; CAVALIER *et al.*, 2010; FARRELL *et al.*, 2012b; TAHSIN-SWAFIRI *et al.*, 2012).

No presente trabalho, foram comparados apenas os imunoensaios de dois fabricantes: Abbott[®] (Architect[®]) e DiaSorin[®] (LIAISON[®]). As semelhanças observadas entre as curvas que refletem a relação 25OHD-PTH nos anos de 2010 e 2012 não devem ser extrapoladas para outros imunoensaios. A pequena discrepância gráfica observada nas concentrações mais baixas de 25OHD, próximas dos limites de quantificação dos testes, está de acordo com o demonstrado na literatura. No trabalho de Farrell *et al.* (2012b), os imunoensaios

automatizados dos fabricantes avaliados - Abbott[®] (Architect[®]), DiaSorin[®] (LIAISON[®]), IDS[®] (ISYS[®]), Roche[®] (E170[®]) e Siemens[®] (Centaur[®]) - apresentaram divergência mais acentuada quando analisadas apenas amostras com resultados de 25OHD inferiores a 8 ng/mL.

Apesar da divergência gráfica observada no presente trabalho, não foi evidenciada diferença estatística entre os resultados de PTH de 2010 e 2012 na faixa de valores mais baixos de 25OHD, assim como nos demais intervalos de concentrações de interesse. Este achado está de acordo com os resultados de Farrell *et al.* (2012a), que analisaram a concordância entre quatro imunoenaios e LC-MS/MS na classificação de adultos aparentemente saudáveis como deficientes em vitamina D (25OHD inferior a 10 ng/mL). A concordância com o método de referência (LC-MS/MS) foi considerada muito boa para os ensaios Abbott[®] e DiaSorin[®].

A principal limitação do presente trabalho foi a indisponibilidade de dados clínicos dos indivíduos estudados, bem como informações referentes a ingestão de cálcio e medicamentos. A ausência de medidas da absorção intestinal de cálcio e de marcadores laboratoriais de remodelação óssea também restringiu a presente investigação.

Embora os bancos de dados laboratoriais geralmente não incluam as informações clínicas supracitadas, sua utilização é uma prática comum nos estudos que avaliam a relação entre 25OHD e PTH (SALIBA *et al.*, 2011; VALCOUR *et al.*, 2012). A principal vantagem desta estratégia é a obtenção de um volume expressivo de dados. Até o momento, não foram identificados na literatura pesquisada estudos brasileiros com amostra semelhante ou maior que a do presente trabalho. A utilização do banco de dados computadorizado do laboratório Hermes Pardini possibilitou ainda a análise de resultados de indivíduos provenientes de todo o território nacional, principalmente de origem ambulatorial.

A partir do presente trabalho, é possível afirmar que valores de referência universais não são adequados para avaliação dos níveis de vitamina D. A relação entre 25OHD e PTH é modulada pela idade e influenciada pela proporção de indivíduos com doença renal crônica e hiperparatireoidismo primário na população analisada. Estes fatores devem ser considerados na determinação funcional dos níveis ótimos de vitamina D e na interpretação de seus resultados.

7 CONCLUSÕES

- Houve aumento expressivo do número de dosagens de 25OHD no laboratório Hermes Pardini entre os anos de 2008 e 2013.
- Não foi observado um platô de supressão na relação entre 25OHD e PTH séricos dosados simultaneamente no laboratório Hermes Pardini, em 2012.
- A relação entre 25OHD e PTH é modulada pela idade: as concentrações de PTH correspondentes a determinado nível de 25OHD foram consistentemente mais altas nos idosos.
- O efeito da idade sobre a relação 25OHD-PTH pode ser explicado pelo declínio da função renal, evidenciado pelas concentrações crescentes de creatinina, a despeito da diminuição de massa muscular observada habitualmente em idosos.
- A relação entre 25OHD e PTH é influenciada pela proporção de indivíduos com doença renal crônica e hiperparatireoidismo primário na população analisada. Quando selecionada apenas a subpopulação considerada normal, os níveis de PTH foram mais baixos em toda a faixa de 25OHD estudada.
- Não foi evidenciada diferença significativa na relação 25OHD-PTH quando comparados os resultados dos anos de 2010 e 2012, em que foram utilizados para dosagem de 25OHD os equipamentos LIAISON[®] (DiaSorin[®]) e Architect[®] (Abbott[®]), respectivamente.
- Em resumo, os valores de referência universais atualmente adotados não são adequados para avaliação dos níveis de vitamina D.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

Publicações recentes indicam a necessidade de aprimoramento da avaliação do *status* de vitamina D, incluindo a dosagem de VDBP ou uma medida direta da 25OHD biodisponível (CARTER; PHINNEY, 2014). Powe *et al.* (2013) observaram diferenças étnicas na prevalência de polimorfismos genéticos relacionados a menores níveis de VDBP que resultam em concentrações mais altas de 25OHD biodisponível estimada. A alta frequência destas alterações em negros poderia explicar a maior prevalência de baixas concentrações de 25OHD sem manifestações clínicas ou laboratoriais associadas. No entanto, testes para dosagem de VDBP ou para 25OHD biodisponível ainda não estão validados para uso diagnóstico e mais estudos são necessários para melhor compreensão deste novo parâmetro (CARTER; PHINNEY, 2014; HOLICK, 2013). Enquanto isso, novos trabalhos devem ser desenvolvidos para obtenção de valores de referência mais adequados para a dosagem de 25OHD atualmente disponível.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMI, S. *et al.* Relationship between serum parathyroid hormone, vitamin D sufficiency, age, and calcium intake. **Bone**, v. 42, n. 2, p. 267-70, Feb 2008.

ADAMS, J. S.; HEWISON, M. Update in vitamin D. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, n. 2, p. 471-8, Feb 2010.

ALOIA, J. F. *et al.* Optimal vitamin D status and serum parathyroid hormone concentrations in African American women. **Am J Clin Nutr**, v. 84, n. 3, p. 602-9, Sep 2006.

ARABI, A. *et al.* Age but not gender modulates the relationship between PTH and vitamin D. **Bone**, v. 47, n. 2, p. 408-12, Aug 2010.

BARAKE, M. *et al.* 25-hydroxyvitamin D assay variations and impact on clinical decision making. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 97, n. 3, p. 835-43, Mar 2012.

BEASTALL, G.; RAINBOW, S. Vitamin D reinvented: implications for clinical chemistry. **Clin Chem**, v. 54, n. 4, p. 630-2, Apr 2008.

BECKER, N. *et al.* Inaccurate 25-hydroxyvitamin D results from a common immunoassay. **Clin Chem**, v. 58, n. 5, p. 948-50, May 2012.

BINKLEY, N. *et al.* Assay variation confounds the diagnosis of hypovitaminosis D: a call for standardization. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 7, p. 3152-7, Jul 2004.

BISCHOFF-FERRARI, H. A. *et al.* Positive association between 25-hydroxy vitamin D levels and bone mineral density: a population-based study of younger and older adults. **Am J Med**, v. 116, n. 9, p. 634-9, May 2004.

CAILLET, P.; SCHOTT, A. M. Vitamin D testing. **Lancet**, v. 379, n. 9827, p. 1699; author reply 1700-1, May 2012.

CARTER, G. D. Accuracy of 25-hydroxyvitamin D assays: confronting the issues. **Curr Drug Targets**, v. 12, n. 1, p. 19-28, Jan 2011.

_____. 25-hydroxyvitamin D: a difficult analyte. **Clin Chem**, v. 58, n. 3, p. 486-8, Mar 2012.

CARTER, G.D.; PHINNEY, K.W. Assessing vitamin D status: time for a rethink? **Clin Chem**, v. 60, n. 6, p. 809-11, Jun 2014.

CARTER, G. D. *et al.* How accurate are assays for 25-hydroxyvitamin D? Data from the international vitamin D external quality assessment scheme. **Clin Chem**, v. 50, n. 11, p. 2195-7, Nov 2004.

CAVALIER, E. *et al.* Vitamin D: current status and perspectives. **Clin Chem Lab Med**, v. 47, n. 2, p.120-7, 2009.

_____. Measurement uncertainty of 25-OH vitamin D determination with different commercially available kits: impact on the clinical cut offs. **Osteoporos Int**, v. 21, n. 6, p.1047-51, Jun 2010.

_____. Human anti-animal interference in DiaSorin LIAISON total 25(OH)-vitamin D assay: towards the end of a strange story? **Clin Chim Acta**, v. 413, n. 3-4, p. 527-8, Feb 2012.

CHAPUY, M. C. *et al.* Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. **Osteoporos Int**, v. 7, n. 5, p. 439-43, 1997.

CHEN, Y. *et al.* Performance evaluation of Siemens ADVIA Centaur and Roche MODULAR Analytics E170 Total 25-OH Vitamin D assays. **Clin Biochem**, v. 45, n. 16-17, p. 1485-90, Nov 2012.

CHRISTAKOS, S.; DELUCA, H. F. Minireview: Vitamin D: is there a role in extraskeletal health? **Endocrinology**, v. 152, n. 8, p. 2930-6, Aug 2011.

DAWSON-HUGHES, B.; HARRIS, S. S.; DALLAL, G. E. Plasma calcidiol, season, and serum parathyroid hormone concentrations in healthy elderly men and women. **Am J Clin Nutr**, v. 65, n. 1, p. 67-71, Jan 1997.

DAWSON-HUGHES, B. *et al.* Estimates of optimal vitamin D status. **Osteoporos Int**, v. 16, n. 7, p. 713-6, Jul 2005.

DE LA HUNTY, A. *et al.* UK Food Standards Agency Workshop Consensus Report: the choice of method for measuring 25-hydroxyvitamin D to estimate vitamin D status for the UK National Diet and Nutrition Survey. **Br J Nutr**, v. 104, n. 4, p. 612-9, Aug 2010.

ECK, L. M. Should family physicians routinely screen for vitamin D deficiency? Yes: targeted screening in at-risk populations is prudent. **Am Fam Physician**, v. 87, n. 8, p. od1, Apr 2013.

ERSFELD, D. L. *et al.* Analytical and clinical validation of the 25 OH vitamin D assay for the LIAISON automated analyzer. **Clin Biochem**, v. 37, n. 10, p. 867-74, Oct 2004.

FARRELL, C. *et al.* 25-Hydroxyvitamin D testing: challenging the performance of current automated immunoassays. **Clin Chem Lab Med**, v. 50, n. 11, p. 1953-63, Nov 2012a.

FARRELL, C. J. *et al.* State-of-the-art vitamin D assays: a comparison of automated immunoassays with liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods. **Clin Chem**, v. 58, n. 3, p. 531-42, Mar 2012b.

GLENDENNING, P.; INDERJEETH, C. A. Vitamin D: methods of 25 hydroxyvitamin D analysis, targeting at risk populations and selecting thresholds of treatment. **Clin Biochem**, v. 45, n. 12, p. 901-6, Aug 2012.

GRANADO LORENCIO, F.; BLANCO-NAVARRO, I.; PEREZ-SACRSITAN, B. Critical evaluation of assays for vitamin D status. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 16, n. 6, p. 734-40, Nov 2013.

GREY, A.; BOLLAND, M.; DAVIDSON, J. Vitamin D testing. **Lancet**, v. 379, n. 9827, p.1699; author reply 1700-1, May 2012.

HEIJBOER, A. C. *et al.* Accuracy of 6 routine 25-hydroxyvitamin D assays: influence of vitamin D binding protein concentration. **Clin Chem**, v. 58, n. 3, p. 543-8, Mar 2012.

HESS, A. F.; UNGER, L. J. The cure of infantile rickets by sunlight. **JAMA**, v. 77, p. 39-41, 1921.

HESS, A. F.; WEINSTOCK M. Antirachitic properties imparted to inert fluids and to green vegetables by ultraviolet irradiation. **J Biol Chem**, v. 62, p. 301-13, 1924.

HOLICK, M. F. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. **Am J Clin Nutr**, v. 80, n. 6 Suppl, p. 1678S-88S, Dec 2004.

_____. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. **Mayo Clin Proc**, v. 81, n. 3, p. 353-73, Mar 2006.

_____. Vitamin D deficiency. **N Engl J Med**, v. 357, n. 3, p. 266-81, Jul 2007.

_____. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. **Ann Epidemiol**, v. 19, n. 2, p. 73-8, Feb 2009.

_____. The D-lemma: to screen or not to screen for 25-hydroxyvitamin D concentrations. **Clin Chem**, v. 56, n. 5, p. 729-31, May 2010.

_____. Bioavailability of vitamin D and its metabolites in black and white adults. **N Engl J Med**, v. 369, n. 21, p.2047-8, Nov 2013.

HOLICK, M. F. *et al.* Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 7, p.1911-30, Jul 2011.

HOLLIS, B. W. Editorial: The determination of circulating 25-hydroxyvitamin D: no easy task. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 7, p. 3149-51, Jul 2004.

_____. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: challenges and needs. **Am J Clin Nutr**, v. 88, n. 2, p. 507S-510S, Aug 2008.

HSU, S. A.; SOLDI, J.; GUPTA, M. Evaluation of two automated immunoassays for 25-OH vitamin D: comparison against LC-MS/MS. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 136, p. 139-45, Jul 2013.

HULDSCHINSKY K. Heilung von Rachitis durch Kunstliche Hohensonne. **Dtsch Med Wochenschr**, v. 45, p. 712-3, 1919.

KENNEL, K. A.; DRAKE, M. T.; HURLEY, D. L. Vitamin D deficiency in adults: when to test and how to treat. **Mayo Clin Proc**, v. 85, n. 8, p. 752-7, Aug 2010.

KIMBALL, S. M.; VIETH, R. A comparison of automated methods for the quantitation of serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D. **Clin Biochem**, v. 40, n. 16-17, p. 1305-10, Nov 2007.

KINYAMU, H. K. *et al.* Association between intestinal vitamin D receptor, calcium absorption, and serum 1,25 dihydroxyvitamin D in normal young and elderly women. **J Bone Miner Res**, v. 12, n. 6, p. 922-8, Jun 1997.

KRALL, E. A. *et al.* Effect of vitamin D intake on seasonal variations in parathyroid hormone secretion in postmenopausal women. **N Engl J Med**, v. 321, n. 26, p. 1777-83, Dec 1989.

LEÃO, E. *et al.* Escorbuto e raquitismo. In: _____. **Pediatria Ambulatorial**. 4. ed. Belo Horizonte: Coopmed, 2005. p. 335-41.

LEE, J. H. *et al.* Vitamin D deficiency an important, common, and easily treatable cardiovascular risk factor? **J Am Coll Cardiol**, v. 52, n. 24, p. 1949-56, Dec 2008.

LIPS, P. Which circulating level of 25-hydroxyvitamin D is appropriate? **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 89-90, n. 1-5, p. 611-4, May 2004.

LIPS, P. *et al.* The effect of vitamin D supplementation on vitamin D status and parathyroid function in elderly subjects. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 67, n. 4, p. 644-50, Oct 1988.

MAEDA, S. S. *et al.* The effect of sun exposure on 25-hydroxyvitamin D concentrations in young healthy subjects living in the city of Sao Paulo, Brazil. **Braz J Med Biol Res**, v. 40, n. 12, p. 1653-9, Dec 2007.

MALABANAN, A.; VERONIKIS, I. E.; HOLICK, M. F. Redefining vitamin D insufficiency. **Lancet**, v. 351, n. 9105, p. 805-6, Mar 1998.

MARCOCCI, C.; CETANI, F. Clinical practice. Primary hyperparathyroidism. **N Engl J Med**, v. 365, n. 25, p. 2389-97, Dec 2011.

MOON, H. W. *et al.* Comparison of four current 25-hydroxyvitamin D assays. **Clin Biochem**, v. 45, n. 4-5, p. 326-30, Mar 2012.

ONG, L. *et al.* Current 25-hydroxyvitamin D assays: do they pass the test? **Clin Chim Acta**, v. 413, n. 13-14, p. 1127-34, Jul 2012.

PALM, T. A. The geographical distribution and aetiology of rickets. **Practitioner**, v. 14, p. 270-342, 1890.

PATTANAUNGKUL, S. *et al.* Relationship of intestinal calcium absorption to 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25(OH)₂D] levels in young versus elderly women: evidence for age-related intestinal resistance to 1,25(OH)₂D action. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 85, n. 11, p. 4023-7, Nov 2000.

PATTMAN, S. *et al.* Vitamin D testing. **Lancet**, v. 379, n. 9827, p.1699-700; author reply 1700-1, May 2012.

PHINNEY, K. W. Development of a standard reference material for vitamin D in serum. **Am J Clin Nutr**, v. 88, n. 2, p. 511S-512S, Aug 2008.

PHINNEY, K. W. *et al.* Development and certification of a standard reference material for vitamin D metabolites in human serum. **Anal Chem**, v. 84, n. 2, p. 956-62, Jan 2012.

POWE, C.E. *et al.* Vitamin D-binding protein and vitamin D status of black Americans and white Americans. **N Engl J Med**, v. 369, n. 21, p. 1991-2000, Nov 2013.

ROSEN, C. J. Clinical practice. Vitamin D insufficiency. **N Engl J Med**, v. 364, n. 3, p. 248-54, Jan 2011.

ROSEN, C. J. *et al.* IOM committee members respond to Endocrine Society vitamin D guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 97, n. 4, p. 1146-52, Apr 2012.

ROSS, A. C. *et al.* The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 1, p. 53-8, Jan 2011a.

_____. **Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D**. Washington (DC): National Academies Press (US), 2011b.

SAI, A. J. *et al.* Relationship between vitamin D, parathyroid hormone, and bone health. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 3, p. E436-46, Mar 2011.

SALIBA, W. *et al.* The relationship between serum 25(OH)D and parathyroid hormone levels. **Am J Med**, v. 124, n. 12, p. 1165-70, Dec 2011.

SATTAR, N. *et al.* Increasing requests for vitamin D measurement: costly, confusing, and without credibility. **Lancet**, v. 379, n. 9811, p. 95-6, Jan 2012.

SEGERSTEN, U. *et al.* 25-hydroxyvitamin D(3)-1alpha-hydroxylase expression in normal and pathological parathyroid glands. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 87, n. 6, p. 2967-72, Jun 2002.

SILVA, B. C. 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, 2008.

SINGH, R. J. Are clinical laboratories prepared for accurate testing of 25-hydroxy vitamin D? **Clin Chem**, v. 54, n. 1, p. 221-3, Jan 2008.

SOUBERBIELLE, J. C. *et al.* Vitamin D status and redefining serum parathyroid hormone reference range in the elderly. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 7, p. 3086-90, Jul 2001.

_____. Assay-specific decision limits for two new automated parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D assays. **Clin Chem**, v. 51, n. 2, p. 395-400, Feb 2005.

STEENBOCK, H.; BLACK, A. The induction of growth promoting and calcifying properties in a rat by exposure to ultraviolet light. **J Biol Chem**, v. 61, p. 408-22, 1924.

STEVENS, L. A. *et al.* Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. **N Engl J Med**, v. 354, n. 23, p. 2473-83, Jun 2006.

STÖCKL, D.; SLUSS, P.M.; THIENPONT, L.M. Specifications for trueness and precision of a reference measurement system for serum/plasma 25-hydroxyvitamin D analysis. **Clin Chim Acta**, v. 308, n. 1-2, p. 8-13, Oct 2009.

TAHSIN-SWAFIRI, S. *et al.* The prevalence of vitamin deficiency in clinical practice is assay-dependent. **Clin Nutr**, v. 31, n. 6, p. 1011-4, Dec 2012.

THACHER, T. D.; CLARKE, B. L. Vitamin D insufficiency. **Mayo Clin Proc**, v. 86, n. 1, p. 50-60, Jan 2011.

THEODORATOU, E. *et al.* Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. **BMJ**, v. 348, p. g2035, 2014.

THOMAS, M. K. *et al.* Hypovitaminosis D in medical inpatients. **N Engl J Med**, v. 338, n. 12, p. 777-83, Mar 1998.

UNGER, M. D. *et al.* Vitamin D status in a sunny country: where has the sun gone? **Clin Nutr**, v. 29, n. 6, p. 784-8, Dec 2010.

VALCOUR, A. *et al.* Effects of age and serum 25-OH-vitamin D on serum parathyroid hormone levels. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 97, n. 11, p. 3989-95, Nov 2012.

VIETH, R. The future of "vitamin D", i.e. 25-hydroxyvitamin D, testing. **Clin Biochem**, v. 46, n. 3, p. 189, Feb 2013.

VIETH, R.; LADAK, Y.; WALFISH, P. G. Age-related changes in the 25-hydroxyvitamin D versus parathyroid hormone relationship suggest a different reason why older adults require more vitamin D. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 88, n. 1, p. 185-91, Jan 2003.

WAGNER, D.; HANWELL, H. E.; VIETH, R. An evaluation of automated methods for measurement of serum 25-hydroxyvitamin D. **Clin Biochem**, v. 42, n. 15, p. 1549-56, Oct 2009.

WALLACE, A. M. *et al.* Measurement of 25-hydroxyvitamin D in the clinical laboratory: current procedures, performance characteristics and limitations. **Steroids**, v. 75, n. 7, p. 477-88, Jul 2010.

ZHANG, R.; NAUGHTON, D. P. Vitamin D in health and disease: current perspectives. **Nutr J**, v. 9, p. 65, 2010.

APÊNDICE A – Planilhas de Dados

População geral de 2012 com dosagens concomitantes de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH)		
Grupo	Mediana de 25OHD (ng/mL)	Mediana de PTH (pg/mL)
1	10,0	55
2	12,6	50
3	14,2	45
4	15,5	48
5	16,5	45
6	17,3	44
7	18,1	42
8	18,7	42
9	19,4	44
10	19,9	42
11	20,4	41
12	21,0	41
13	21,4	39
14	21,8	42
15	22,3	39
16	22,8	42
17	23,2	42
18	23,6	39
19	24,0	39
20	24,4	39
21	24,7	39
22	25,1	38
23	25,5	40
24	25,9	38
25	26,3	38
26	26,7	37
27	27,1	38
28	27,5	40
29	27,9	38
30	28,3	38
31	28,7	37
32	29,2	37
33	29,6	37
34	30,0	37
35	30,5	38
36	31,0	36
37	31,5	37
38	32,0	37
39	32,6	36
40	33,2	36
41	33,9	36
42	34,6	34
43	35,5	36
44	36,5	35
45	37,8	35
46	39,1	31
47	40,7	32
48	43,1	31
49	47,3	32
50	60,7	27

População de 2012 com dosagens concomitantes de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH) por faixa etária

Grupo	< 20 anos		20 a 39 anos		40 a 59 anos		60 a 79 anos		≥ 80 anos	
	Mediana de 25OHD (ng/mL)	Mediana de PTH (pg/mL)	Mediana de 25OHD (ng/mL)	Mediana de PTH (pg/mL)	Mediana de 25OHD (ng/mL)	Mediana de PTH (pg/mL)	Mediana de 25OHD (ng/mL)	Mediana de PTH (pg/mL)	Mediana de 25OHD (ng/mL)	Mediana de PTH (pg/mL)
1	9,8	23	10,1	51	10,1	48	9,8	65	10,1	69
2	12,7	19	12,5	45	12,8	46	12,6	56	12,5	56
3	14,4	21	14,4	39	14,3	41	14,3	50	14,1	60
4	15,4	39	15,5	41	15,5	48	15,5	51	15,3	60
5	16,7	22	16,4	41	16,5	45	16,4	46	16,4	69
6	17,3	30	17,3	38	17,3	44	17,3	52	17,2	48
7	18,2	30	18,1	39	18,1	42	18,0	44	18,0	48
8	18,7	23	18,7	35	18,7	39	18,7	51	18,6	52
9	19,5	32	19,4	37	19,4	44	19,4	48	19,3	59
10	19,9	27	19,9	35	19,9	44	19,9	43	19,9	50
11	20,6	23	20,5	38	20,4	40	20,4	48	20,4	57
12	21,0	29	21,0	36	21,0	38	20,9	52	20,9	56
13	21,5	23	21,4	35	21,5	38	21,4	45	21,4	53
14	21,8	20	21,9	40	21,8	40	21,8	45	21,8	44
15	22,4	22	22,3	35	22,3	37	22,3	44	22,2	48
16	22,8	34	22,8	34	22,8	40	22,7	48	22,7	59
17	23,3	17	23,2	37	23,1	37	23,2	45	23,2	58
18	23,6	23	23,7	32	23,6	38	23,5	46	23,5	47
19	23,9	27	24,1	35	24,0	36	24,0	44	24,0	52
20	24,4	26	24,4	32	24,4	39	24,4	46	24,3	49
21	24,7	22	24,7	33	24,8	38	24,7	44	24,7	58
22	25,1	29	25,2	32	25,2	36	25,1	46	25,0	51
23	25,5	32	25,5	32	25,6	40	25,5	45	25,5	43
24	26,0	18	25,9	31	26,0	37	25,9	46	25,9	44
25	26,3	24	26,4	34	26,4	37	26,2	42	26,2	51
26	26,8	23	26,7	31	26,7	36	26,7	42	26,6	41
27	27,1	22	27,1	33	27,1	39	27,1	41	27,1	44
28	27,6	22	27,6	31	27,5	37	27,4	48	27,5	54
29	28,0	24	28,0	32	27,9	37	27,9	46	27,8	48
30	28,4	27	28,3	36	28,4	36	28,3	39	28,2	50
31	28,7	20	28,8	34	28,8	36	28,7	40	28,6	49
32	29,2	23	29,2	32	29,2	37	29,1	39	29,1	49
33	29,6	38	29,7	32	29,6	33	29,5	42	29,6	46
34	30,0	23	30,1	32	30,0	34	30,0	43	29,9	46
35	30,4	29	30,5	28	30,5	35	30,5	45	30,4	50
36	31,0	24	31,0	29	31,0	36	30,9	41	30,9	47
37	31,5	19	31,5	31	31,5	34	31,4	44	31,4	51
38	32,0	27	32,1	27	32,0	37	32,0	40	31,9	55
39	32,5	24	32,6	29	32,6	34	32,5	42	32,6	39
40	33,3	29	33,3	33	33,2	36	33,2	40	33,2	41
41	33,8	27	34,0	28	33,9	35	33,8	42	33,8	46
42	34,6	27	34,6	26	34,6	35	34,7	39	34,7	46
43	35,9	16	35,6	29	35,5	35	35,5	40	35,4	47
44	36,6	18	36,6	29	36,6	32	36,5	40	36,4	44
45	37,9	22	37,9	32	37,7	35	37,8	39	37,7	40
46	39,2	23	39,2	26	39,1	30	39,1	38	39,0	39
47	40,9	18	40,8	25	40,6	30	40,7	35	40,7	44
48	43,6	24	43,1	26	43,1	32	43,1	33	43,4	48
49	48,8	21	47,4	26	47,2	32	47,1	35	47,0	36
50	55,4	17	60,1	24	65,9	29	60,6	29	61,6	34

População de 2012 com dosagens concomitantes de 25-hidroxivitamina D (25OHD), paratormônio (PTH), cálcio iônico e creatinina por subpopulação

Grupo	Geral		Normal		Alterada	
	Mediana de 25OHD (ng/mL)	Mediana de PTH (pg/mL)	Mediana de 25OHD (ng/mL)	Mediana de PTH (pg/mL)	Mediana de 25OHD (ng/mL)	Mediana de PTH (pg/mL)
1	9,5	61	9,8	55	9,2	100
2	12,3	52	12,2	51	11,9	121
3	13,9	44	13,2	43	14,6	90
4	15,0	59	14,7	50	15,1	107
5	15,8	59	15,7	58	15,8	87
6	16,6	44	16,6	42	16,2	41
7	17,2	53	17,3	51	16,8	85
8	17,8	48	17,8	48	17,2	77
9	18,4	47	18,3	47	17,9	50
10	18,8	57	18,7	43	18,6	91
11	19,4	49	19,4	44	18,9	83
12	20,1	45	19,9	42	19,4	75
13	20,6	46	20,5	44	20,3	71
14	21,0	47	20,9	43	20,8	61
15	21,4	51	21,3	41	21,1	68
16	21,7	48	21,6	48	21,4	55
17	22,2	46	22,2	42	21,7	60
18	22,6	46	22,6	49	22,1	63
19	23,0	42	22,9	40	22,3	87
20	23,4	39	23,4	39	23,1	51
21	23,8	40	23,7	38	23,4	41
22	24,3	49	24,2	49	23,8	41
23	24,7	42	24,5	38	24,2	54
24	25,0	38	24,9	35	24,5	64
25	25,5	43	25,3	41	25,0	43
26	25,9	41	25,8	39	25,5	36
27	26,2	34	26,1	36	25,8	48
28	26,6	34	26,4	34	26,1	72
29	27,0	45	26,8	37	26,7	41
30	27,3	40	27,2	40	27,0	54
31	27,8	40	27,6	38	27,4	68
32	28,1	38	28,1	35	27,7	72
33	28,5	44	28,4	41	28,1	95
34	29,1	40	28,8	42	28,5	75
35	29,6	41	29,3	38	29,1	75
36	30,0	35	29,8	36	29,8	45
37	30,5	41	30,2	33	30,3	62
38	31,1	50	30,7	41	30,9	53
39	31,8	46	31,2	46	31,4	58
40	32,2	40	31,9	43	31,8	73
41	33,2	40	32,8	41	32,1	48
42	34,0	46	33,6	43	32,7	42
43	34,7	38	34,2	39	34,2	46
44	35,6	41	34,9	35	34,9	77
45	36,6	39	36,0	39	35,7	49
46	38,2	36	37,3	39	36,3	40
47	39,7	36	38,7	37	38,4	46
48	41,9	36	40,6	34	39,8	36
49	46,4	35	43,6	32	41,4	60
50	57,6	32	51,2	31	47,8	39

População geral de 2010 com dosagens concomitantes de 25-hidroxivitamina D (25OHD) e paratormônio (PTH)		
Grupo	Mediana de 25OHD (ng/mL)	Mediana de PTH (pg/mL)
1	6,0	62
2	8,9	57
3	10,7	56
4	11,9	50
5	12,8	46
6	13,6	47
7	14,5	52
8	15,2	43
9	15,8	44
10	16,3	45
11	16,9	42
12	17,5	41
13	18,1	45
14	18,6	42
15	19,1	42
16	19,6	39
17	20,1	40
18	20,6	44
19	21,0	44
20	21,4	39
21	21,9	45
22	22,3	42
23	22,7	39
24	23,2	40
25	23,6	40
26	24,2	36
27	24,5	41
28	25,1	39
29	25,5	38
30	26,0	39
31	26,4	36
32	26,9	36
33	27,4	37
34	27,8	40
35	28,3	39
36	28,9	36
37	29,4	42
38	30,0	36
39	30,7	38
40	31,3	33
41	32,1	37
42	33,0	37
43	33,9	35
44	35,1	35
45	36,4	35
46	37,9	37
47	39,7	30
48	42,6	33
49	46,4	30
50	58,7	26

**ANEXO A - Parecer do Núcleo de Apoio à Pesquisa do Laboratório Hermes
Pardini**



PARECER DO NÚCLEO DE APOIO À PESQUISA

NÚMERO DO PROJETO	21/2012
TÍTULO DO PROJETO	Efeitos da idade na relação entre 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) e Paratormônio (PTH) e Análise de seus níveis médios em adultos jovens saudáveis em quatro imunoenaios utilizados na prática laboratorial.
NOME DO PESQUISADOR	Lilian Mello Soares
1) ANÁLISE DO PROJETO	<p>1.1) Tema e objetivos: análise quanto ao conteúdo da proposta, mérito científico. O estudo tem por objetivo analisar a relação entre 25(OH)D e o PTH, avaliando criticamente os valores de corte utilizados para 25(OH)D. Apesar de ser um tema amplamente debatido ainda carece de conclusões definitivas na literatura. A regionalização da discussão também é um aspecto que merece consideração. A possibilidade de discussão dos valores de corte baseados em valores de PTH com kits distintos de 25(OH) permitirá uma discussão interessante.</p> <p>1.2) Metodologia: análise quanto à adequação da metodologia ao objetivo e disponibilidade. Trata-se de um estudo observacional transversal. A análise será do banco de dados do laboratório Hermes Pardini (HP). A análise dos dados proposta adequa-se ao objetivo proposto.</p>
2) ORÇAMENTO E CRONOGRAMA:	adequação da programação, prazos e custos. Cronograma estabelecido com prazo para o estudo entre março de 2013 a fevereiro de 2015. – A pesquisadora é candidata ao programa de pós-graduação (Mestrado) da UFMG.
3) PRINCIPAIS ASPECTOS POSITIVOS	Tema eminentemente laboratorial; metodologicamente exequível; baixo custo.
4) PRINCIPAIS ASPECTOS NEGATIVOS	Sem aspectos negativos a pontuar.
5) COMENTÁRIOS E RECOMENDAÇÕES GERAIS	Após análise do projeto foram feitas algumas sugestões: comparabilidade da relação do PTH e 25(OH) com dois kits distintos de 25(OH)D; avaliação de subgrupos de pacientes com dosagens de cálcio e creatinina; mudança do objetivo principal do trabalho e melhor detalhamento dos objetivos secundários.
6) PARECER CONCLUSIVO	Projeto de boa relevância para o HP, trazendo conteúdo de abrangência laboratorial e cujos resultados poderão, eventualmente, ser utilizados em uma perspectiva científica. A publicação desse estudo em meios científicos trará mais visibilidade ao HP. Nível de Prioridade: 1A

AVALIAÇÃO FINAL DA PROPOSTA

Favorável Não favorável

Favorável com restrições (especificar) _____

Conteúdo sigiloso:

NOME: William Pedrosa
ASSINATURA: 



**ANEXO B - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade
Federal de Minas Gerais (UFMG)**



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


Projeto: CAAE – 15655213.4.0000.5149

**Interessado(a): Prof. Leonardo de Souza Vasconcellos
Departamento de Propedêutica Complementar
Faculdade de Medicina - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 17 de maio de 2013, o projeto de pesquisa intitulado "**Efeitos da idade na relação entre 25-hidroxivitamina D (250HD) e paratormônio (PTH) e análise de seus níveis médios em adultos jovens saudáveis em quatro imunoenaios utilizados na prática laboratorial**" 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.


Prof. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG