

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Patologias relacionadas com a vitamina D. Níveis séricos na população de Vila Real de acordo com os dados fornecidos pelo Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro

Dissertação para obtenção do grau de mestre em
Biologia Clínica Laboratorial

Délia Stroia

Orientadores:

Prof. Doutora Maria Cristina Guiomar Antunes

Doutor José António de Carvalho



Vila Real, 2019

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Patologias relacionadas com a vitamina D. Níveis séricos na população de Vila Real de acordo com os dados fornecidos pelo Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro

Dissertação para obtenção do grau de mestre em
Biologia Clínica Laboratorial

Délia Stroia

Orientadores:

Prof. Doutora Maria Cristina Guiomar Antunes

Doutor José António de Carvalho



Vila Real, 2019

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Patologias relacionadas com a vitamina D. Níveis séricos na população de Vila Real de acordo com os dados fornecidos pelo Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro

Dissertação para obtenção do grau de mestre em
Biologia Clínica Laboratorial

Délia Stroia

Composição do Júri

Presidente do Júri _____
1º Vogal _____
2º Vogal _____
Classificação _____
Data de Apreciação _____

Vila Real, 2019

Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Clínica Laboratorial (Decreto-Lei nº 74/2006 com as alterações introduzidas pelos Decretos-Lei nº 107/2008 e nº 230/2009).

Agradecimentos

Um agradecimento muito especial à minha orientadora, Professora Doutora Cristina Antunes, pela disponibilidade e por ter aceite o convite de participar neste trabalho e guiar-me, por estar sempre disponível em esclarecer dúvidas e pela amizade.

Ao Doutor Carlos Pereira, que me ensinou a parte prática, manusear as máquinas Architect 2000 e Cobas 6000 e, também, ler e interpretar os resultados das análises no computador.

Ao Doutor José António de Carvalho, meu coorientador, responsável pela parte de *Serviço de Patologia Clínica* do hospital de Trás-os-Montes e Alto Douro (Unidade de Vila Real), onde estagiei, por me ter ajudado a resolver grande parte burocrática do trabalho e pela disponibilidade para esclarecer dúvidas e ensinar.

Ao meu amigo e padrinho de praxe, Micael Santos, que, com os conhecimentos adquiridos durante a realização da sua dissertação e tese, me ajudou e ensinou muitas coisas úteis, não apenas para este trabalho, mas também para a vida.

Aos meus colegas de curso e estágio, Mariana Ribeiro, Cláudio Pacheco e Rui Varela, pelo companheirismo e amizade.

Índice

Agradecimentos	5
Índice de tabelas	8
Índice de figuras	9
Abreviaturas	10
Resumo	1
Abstract	1
CAPÍTULO I	3
INTRODUÇÃO	3
1.1 Vitamina D	4
1.1.2 Função fisiológica da vitamina D	8
1.3 Concentrações séricas ótimas de vitamina D	10
1.3.1 Hipovitaminose D	10
1.3.2 Toxicidade da vitamina D	10
1.4 Determinação dos níveis séricos da vitamina	11
1.4.1 Metodologias para a quantificação de vitamina D	12
CAPÍTULO II	13
Objetivos	13
2.1 Objetivos	14
CAPÍTULO III	15
Metodologia	15
3.1 Amostra em estudo	16
3.2 Caracterização geral da amostra	17
3.3 Recolha e processamento das amostras de sangue	17
3.4 Análise laboratorial da quantificação da vitamina D	18
3.5 Recolha/análise dos dados	19
3.6 Análise estatística	19
CAPÍTULO IV	21
Resultados e discussão	21
4.1 Resultados estatísticos	22
4.1.1 Associação entre o nível sérico de vitamina D e as patologias estudadas	22
4.1.2 Associação entre o género e as patologias	27
4.1.3 Associação entre idade e patologia	29
4.1.4 Número de pacientes de Vila Real associados às patologias estudadas	33
CAPÍTULO V	36

Considerações finais	36
5.1 Considerações finais.....	37
CAPÍTULO VI	39
Referências bibliográficas	39
6.1 Referências Bibliográficas	40

Índice de tabelas

Tabela 1 – Teor de vitamina D em alimentos, expresso em unidades internacionais.....	5
Tabela 2 – Caracterização da amostra em estudo	17
Tabela 3 – Valores de Fisher correspondentes à associação entre o nível sérico de vitamina D e as doenças estudadas	22
Tabela 4 - Valores de Fisher correspondentes à associação entre o género e as doenças estudadas.....	27
Tabela 5 – Associação entre as idades e as doenças através dos valores de V de Cramer e valores de significância assintótica para os dois grupos de idades do sexo masculino, e os três grupos do sexo feminino.....	30
Tabela 6 – Frequência absoluta e percentual dos pacientes que apresentam pelo menos uma das dez doenças mencionadas considerando-se valores de vitamina D sérica em níveis anormais, insuficiente	33

Índice de figuras

Figura 1. Fórmulas esteroquímicas: (a) 5 α -colestano, com a respetiva numeração dos carbonos e a denominação dos anéis do ciclo pentanoperidrofenantreno; (b) 7-dihidrocolesterol; (c) colecalciferol (Vitamina D₃); (d) ergocalciferol (Vitamina D₂); (e) 25-hidroxivitamina D [25(OH)D ou calcidiol]; (f) 1,25-dihidroxivitamina D [1,25(OH)₂D ou calcitriol]. a: o 5- α -colestano é um dos esteroides utilizados como referência para numeração dos carbonos, segundo orientações da IUPAC (16); b: as estruturas apresentadas para a 25(OH)D e 1 α ,25(OH)₂D são aquelas derivadas do colecalciferol (Castro, 2011)..... 6

Figura 2. Nível sérico de vitamina D em mulheres pós-menopáusicas com diabetes mellitus tipo 2..... 29

Abreviaturas

VDR – Recetor nuclear da Vitamina D

VDP – Proteína de ligação da Vitamina D

PTH – paratormona ou hormona paratiroideia

25(OH)D – 25-hidroxivitamina D ou calcidiol, soma de 25(OH)D₂ e 25(OH)D₃

1,25(OH)₂D – 1,25-hidroxivitamina D₃ ou calcitriol (forma ativa da vitamina D)

IMC – índice de massa corporal

MES – 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid

EDTA – Ácido etilendiaminotetracético

UI – unidade internacional

UVB – radiação ultravioleta B

Resumo

A vitamina D é essencial ao bom funcionamento do organismo e a sua origem pode ser dietética ou corporal através da ação da radiação UVB sobre o 7-dihidrocolesterol. Possui um recetor nuclear expresso em quase todos os tipos de células tendo como função a expressão génica. As proteínas produzidas são essenciais às funções vitais e a uma saúde plena.

O objetivo do trabalho é: averiguar quais as doenças mais relacionadas com a concentração sérica de vitamina D, descobrir se há doenças mais propícias de surgir em homens ou mulheres, relacionar, em cada género, as dez doenças estudadas com a idade, ver quais as doenças mais frequentes e menos frequentes em pacientes com deficiência da vitamina.

Foram analisadas as fichas clínicas de 708 pacientes de entre os quais 383 do sexo masculino e 325 do sexo feminino; 580 com deficiência em vitamina D (< 20 ng/mL) e 128 com níveis normais (30-100 ng/mL), em pacientes adultos e idosos, entre 30 e 99 anos, e realizaram-se quatro estudos estatísticos: a influência da concentração sérica de vitamina D na saúde (estudaram-se dez doenças); influência do género com cada uma das dez doenças para averiguar quais são mais frequentes nos homens ou nas mulheres; e a influência da idade (dentro de cada género) com as doenças; e por último fez-se a contagem dos pacientes para cada uma das dez doenças (com insuficiência de vitamina D), no distrito de Vila Real, através de dados obtidos no Hospital de Trás-os-Montes e Alto Douro.

Os dados fornecidos pelo hospital, no Serviço de Patologia Clínica, foram retirados através do programa SCLinic e analisados no programa de estatística SPSS. Estes foram organizados por sexo, primeiro semestre dos anos 2016, 2017 e 2018, concentração sérica de vitamina D (deficiência e suficiência) e grupos de idades de 30 a 65 e 65 a 99 para o sexo masculino e de 30 a 50, de 50 a 65 e de 65 a 99 para o sexo feminino.

Laboratorialmente, a determinação da vitamina D sérica realizou-se no autoanalisador Architect 2000i pelo método imunológico de quimioluminescência, utilizando um kit de reagentes constituído por micropartículas revestidas com IgG (imunoglobulinas G) anti-vitamina D (monoclonal de coelho) em tampão MES, um conjugado de vitamina D marcada com acridínio em solução tampão MES e surfactante, tampão citrato com EDTA, metanol, ácido 8-anilino-1-naphthalenesulfonic (ANSA) e surfactante (produzidos na Irlanda pela *Abbott*).

De acordo com os resultados estatísticos obtidos as doenças que mais se associam com o nível sérico de vitamina D são as hepáticas e os distúrbios mentais e as que apresentam menor associação são as infeções, as neoplasias e as lesões: fraturas ósseas.

No estudo estatístico que associa o género às doenças observa-se que as únicas doenças independentes do sexo são as fraturas ósseas e as neoplasias, enquanto que as outras são mais frequentes num dos sexos.

A associação da idade às doenças sugere maior associação às infecções, obesidade, hipertensão, doenças renais e diabetes mellitus. Os três primeiros estudos são relativos à totalidade dos pacientes, 708.

Em relação ao último estudo, as doenças mais frequentes na população de vila real (estudo realizado sobre a amostra de pacientes deficitários em vitamina D, 580) são as infecções, a hipertensão e, com percentagens similares, as doenças renais, obesidade e neoplasias, com 55,9; 47,8; 32,8; 31,9 e 31,6%, respetivamente.

É importante manter uma concentração ótima de vitamina D no organismo para uma boa saúde física e mental e, portanto, melhor qualidade de vida. Uma simples caminhada ou a redução do uso de protetor solar nas horas de menos calor são opções para a ativação do mecanismo de formação da vitamina D.

Palavras-chave: vitamina D e patologias clínicas.

Abstract

Vitamin D is essential to the proper functioning of the body and its origin can be dietary or body through the action of UVB radiation on 7-dihydrocholesterol. It has a nuclear receptor expressed in almost all cell types for gene expression function. The proteins produced are essential for vital functions and full health.

The objective of the work is: to find out which diseases are more related to serum vitamin D concentration, to find out if there are diseases more likely to appear in men or women, to relate, in each gender, the ten diseases studied with age, to see which more frequent and less frequent diseases in patients with vitamin deficiency.

The clinical records of 708 patients were analyzed, including 383 males and 325 females; 580 with vitamin D deficiency (<20 ng / mL) and 128 with normal levels (30-100 ng / mL) in adult and elderly patients between 30 and 99 years, and four statistical studies were performed: the influence of serum vitamin D concentration in health (ten diseases were studied); gender influence with each of the ten diseases to determine which are more common in men or women; and the influence of age (within each gender) on disease; Finally, the patients were counted for each of the ten diseases (with vitamin D insufficiency), in Vila Real district, through data obtained at the Trás-os-Montes and Alto Douro Hospital.

The data provided by the hospital in the Clinical Pathology Service were taken through the SCLinic program and analyzed using the SPSS statistics program. These were organized by sex, first semester of 2016, 2017 and 2018, serum vitamin D concentration (deficiency and sufficiency) and age groups from 30 to 65 and 65 to 99 for males and from 30 to 50 from 50 65 and 65 to 99 for females.

Laboratory determination of serum vitamin D was performed on the Architect 2000i autoanalyzer by the chemiluminescence immunoassay using a reagent kit consisting of anti-vitamin D (rabbit monoclonal) IgG (immunoglobulin G) coated microparticles in MES buffer, a acridinium-labeled vitamin D conjugate in MES buffer and surfactant, citrate buffer with EDTA, methanol, 8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid (ANSA) and surfactant (produced in Ireland by Abbott).

According to the statistical results obtained, the diseases that are most associated with serum vitamin D level are liver and mental disorders and those with the lowest association are infections, neoplasms and injuries: bone fractures.

In the statistical study that associates gender with diseases, it is observed that the only diseases independent of sex are bone fractures and neoplasms, while the others are more frequent in one sex.

The association of age with disease suggests a greater association with infections, obesity, hypertension, kidney disease and diabetes mellitus. The first three studies concern all patients, 708.

In relation to the last study, the most common diseases in the Vila Real population (study conducted on the sample of vitamin D deficient patients, 580) are infections, hypertension and, with similar percentages, kidney diseases, obesity and neoplasms, with 55.9; 47.8; 32.8; 31.9 and 31.6%, respectively.

It is important to maintain an optimal concentration of vitamin D in the body for good physical and mental health and thus a better quality of life. A simple walk or reduced use of sunscreen in less hot hours are options for activating the mechanism of vitamin D formation.

Keywords: vitamin D and clinical pathologies.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

1.1 Vitamina D

A vitamina D é uma hormona esteroide lipossolúvel, produzida no organismo. É habitualmente conhecida como vitamina pois a sua fonte também é dietética. Possui um recetor nuclear (VDR) e capacidade de regulação da expressão génica (Rech, 2014). VDR esta expresso em quase todos os tipos de células do organismo (Terol, 2013). Por definição uma vitamina é um composto que o corpo carece, mas não sintetiza sendo obtida através da alimentação. De acordo com esta definição, a vitamina D não é uma vitamina porque aproximadamente 90% é sintetizada no organismo, mais especificamente na pele. A ligação da vitamina D na sua forma ativa a VDR, com a participação de co-ativadores e corretores de transcrição, determinam a indução ou repressão da transcrição de genes (Terol, 2013).

Existem duas formas da vitamina D: vitamina D₃ ou colecalciferol, e corresponde à molécula sintetizada na pele e que está também presente em alguns alimentos, principalmente peixes gordos de mar frio, e a vitamina D₂ ou ergocalciferol que tem origem vegetal (Castro, 2011).

A concentração sérica de vitamina D é mensurada através da 25(OH)D. A forma biologicamente ativa, 1,25(OH)₂D, não é indicada para este propósito devido a três fatores como, a concentração sérica é rigidamente mantida em valores normais; a concentração de 25(OH)D é aproximadamente 100 vezes maior em relação à de 1,25(OH)₂D e a hidroxilação da 25(OH)D a 1,25(OH)₂D ocorre em vários tecidos suprimindo as necessidades locais (Garcia, 2011).

Na Tabela 1 apresentam-se os teores médios de vitamina D, expresso em unidades internacionais, em alguns alimentos. Outra fonte dietética são os alimentos fortificados com esta vitamina, como leite, iogurte e manteiga. As vitaminas D₂ e D₃ podem também ser encontradas em muitos suplementos alimentares, aconselhados medicamente em situações clínicas deficitárias de vitamina D (Rech, 2014).

Tabela 1 – Teor de vitamina D em alimentos, expresso em unidades internacionais (Rech, 2014)

Alimentos (100g)	Vitamina D (UI)
Arenque cru	1628
Atum cru	216
Bacalhau seco	204
Camarão cozido	144
Linguado cru	60
Salmão cozido	120
Ostra crua	320
Cogumelo seco-shitake	1660
Leite integral	40
Leite magro	40
Manteiga	56
Ovo	52

Quando proveniente da alimentação, a vitamina D é absorvida juntamente com as gorduras no intestino delgado, auxiliada pela bÍlis. Após a absorção intestinal, é incorporada nos quilomicrons e transportada através do sistema linfático. A partir deste momento, o metabolismo é semelhante ao da vitamina D₃ endógena, sintetizada pela pele (Cavalier, et al., 2012).

A etapa inicial do processo de síntese endógena da vitamina D envolve o precursor 7-dihidrocolesterol, presente no plasma, na membrana dos queratinócitos epidérmicos e fibroblastos dérmicos e exposição à luz ultravioleta B (UVB) (comprimento de onda médio, 290-315 nm). Na Figura 1 estão representadas as fórmulas químicas das diversas formas da vitamina D (Castro, 2011). O precursor 7-dihidrocolesterol sofre uma reação fotoquímica com rearranjo e abertura do anel B, após radiação UVB, para formar a pré-vitamina D₃ ou, também denominada, colecalciferol (Terol, 2013). Esta é transferida para a proteína de ligação circulante de vitamina D, VDP, uma proteína com uma meia-vida longa que pode estar reduzida na doença hepática, na síndrome nefrótica e na desnutrição. No corpo humano, há um equilíbrio entre 25(OH)D e VDP (Cavalier, et al., 2012); é

hidroxilada para 25(OH)D₃ (calcidiol) no fígado através da ação da 25-hidroxilase. A hidroxilação de 25(OH)D₃ a 1,25(OH)₂ D₃ ocorre predominantemente nos rins e é mediada pela 1 α -hidroxilase. A 1 α -hidroxilase atua também noutros tipos de células, incluindo queratinócitos, células imunitárias e osteoclastos. Tanto o colecalciferol (vit. D) como o calcitriol (vit. D ativada) podem ser irreversivelmente metabolizados através de uma série de eventos de oxidação da cadeia lateral, levando a sua inativação (Rech, 2014).

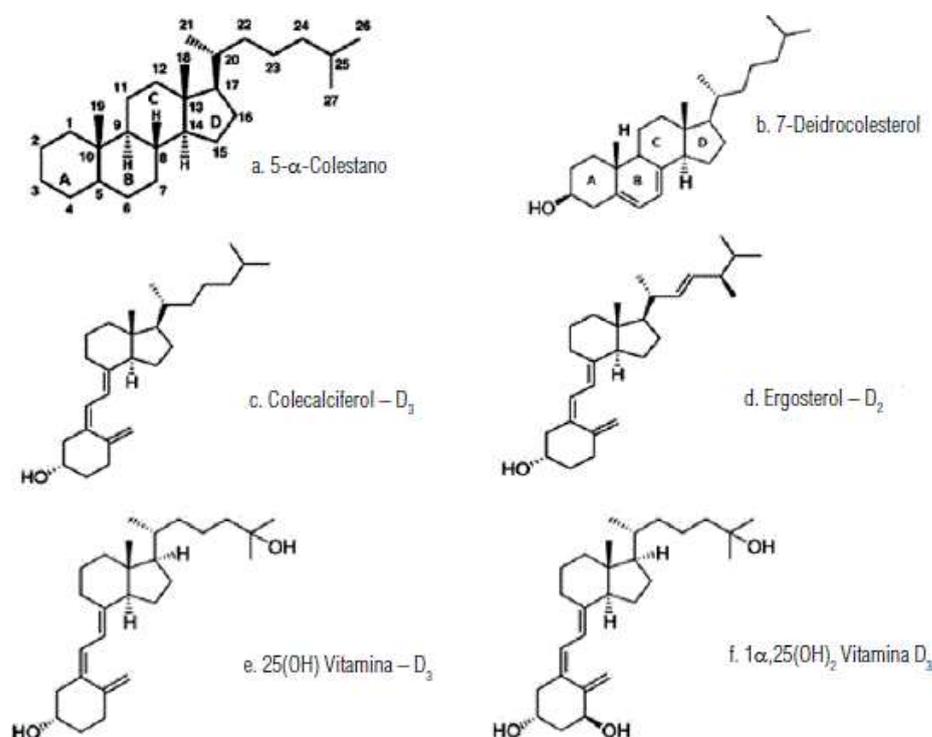


Figura 1. Fórmulas estereoquímicas: (a) 5 α -colestano, com a respetiva numeração dos carbonos e a denominação dos anéis do ciclo pentanoperidrofenantreno; (b) 7-dihidrocolesterol; (c) colecalciferol (Vitamina D₃); (d) ergocalciferol (Vitamina D₂); (e) 25-hidroxivitamina D [25(OH)D ou calcidiol]; (f) 1,25-dihidroxivitamina D [1,25(OH)₂D ou calcitriol]. a: o 5 α -colestano é um dos esteroides utilizados como referência para numeração dos carbonos, segundo orientações da IUPAC; b: as estruturas apresentadas para a 25(OH)D e 1 α ,25(OH)₂D são aquelas derivadas do colecalciferol (Castro, 2011).

As mudanças a nível social das grandes cidades, a idade cada vez mais envelhecida da população, os níveis de obesidade em constante crescimento, os hábitos sedentários e o uso abusivo de protetor solar são das causas mais frequentes para a afeção dos níveis normais de vitamina D em todo o mundo (Maeda e Castro, 2013). As causas primárias para a deficiência de vitamina D esta associada à exposição solar reduzida e à baixa ingestão de alimentos ricos nesta. A deficiência secundária é devida a várias doenças que inviabilizam a absorção adequada como, doença celíaca, doença inflamatória, insuficiência pancreática intestinal, fibrose cística, colestase hepática, doença de Crohn e pós-cirurgia gástrica; ou as hidroxilações devido a casos clínicos no fígado e nos rins; e ainda, algumas drogas que aumentam o catabolismo da 25(OH)D, como antiepiléticos e glicocorticóides (Chávez, 2016).

Amplio estudo britânico, abrangendo crianças e adolescentes entre 4 e 17 anos, observou que os usos anuais de mais de quatro ciclos de glucocorticoides orais aumentam o risco de fraturas. Estes esteroides possuem efeito catabólico sobre o músculo e sobre a vitamina D, que compromete a mineralização óssea, uma vez que o osso e o músculo estão intimamente interligados. Além disso, a corticoterapia crônica favorece a adipogénese e a obesidade, com sequestro e redução da vitamina D (Sarinho e Melo, 2017).

Os fatores comportamentais, como a atividade física, é fundamental para manter bons níveis de vitamina D. Segundo um estudo realizado em adolescentes brasileiros demonstra que apenas 36,4% destes apresentam níveis séricos adequados de vitamina D, com prevalência nos adolescentes ativos. No entanto, para o sexo masculino ativo a quantificação dos níveis de vitamina D foram mais satisfatórios que no sexo feminino igualmente ativas (Silva, 2016).

1.1.2 Função fisiológica da vitamina D

A deficiência de vitamina D, determinada pelas concentrações séricas de 25(OH)D, é conhecida por comprometer a saúde músculo-esquelética, o que aumentou o interesse no estudo dos testes de vitamina D tentando substituir os métodos radioativos por imunoensaios totalmente automatizados (Freeman et al., 2015).

A vitamina D desempenha papéis fundamentais na manutenção da homeostase do cálcio, na prevenção do raquitismo e osteomalacia, inibição de doenças autoimunes, melhoria do sistema imunitário e cardiovascular e inibição da progressão do cancro, como o do peito, cólon e pâncreas (Bailey, 2012). A vitamina D ainda participa noutros processos importantes do organismo como, o metabolismo da glicose, contribuindo para a prevenção da diabetes mellitus e síndrome metabólica (Rocha, et al., 2017), regulação do sistema renina-angiotensina, crescimento celular, estabilização da membrana, angiogénese, apoptose, psoríase, esclerose múltipla (Alizadeh, 2015), doenças autoimunes e inflamatórias, depressão e doenças cardiovasculares como a hipertensão, doença arterial coronária e insuficiência cardíaca (Jorge, et al., 2017). A vitamina D interage com o sistema imunitário através de sua ação sobre a regulação e a diferenciação de células como linfócitos, macrófagos e células natural killer, além de interferir na produção de citocinas. Entre os efeitos imunitários sobre qual atua, destacam-se: diminuição da produção de interleucina-2, do interferão gama e do fator de necrose tumoral; inibição da expressão da interleucina-6 e inibição da secreção e produção de autoanticorpos pelos linfócitos B (Marques et al., 2010).

A absorção intestinal de cálcio ocorre na presença da calbindina, proteína de ligação do cálcio é controlada pela síntese proteica da vitamina D, que também reduz a excreção de cálcio pelos rins (Holick, 2016).

A hipocalcemia compromete o sistema ectodérmico manifestando-se por pele seca, queda de cabelo, unhas quebradiças, alterações dos dentes ou defeitos no esmalte, podendo comprometer o sistema cardíaco com aumento do espaço QT no eletrocardiograma (Arioli e Corrêa, 1999).

Outra função importante da vitamina D é manter os níveis adequados de PTH no organismo. Elevados níveis de vitamina D inibem a secreção de paratormona (PTH) na

glândula paratiroide, por intermédio da ligação do complexo formado pelo recetor de vitamina D (VDR) e a vitamina D ativada ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) ao elemento de resposta da vitamina D com ação negativa na região promotora do gene da PTH, no núcleo das células das paratiroides. Níveis elevados de cálcio também promovem inibição da taxa de transcrição do gene da PTH, através da ação dos recetores sensíveis ao cálcio nas paratiroides, contribuindo para a inibição da secreção desta hormona. Pelo contrário, com o défice de vitamina D ou a hipocalcemia há indução da secreção de PTH e os seus níveis séricos aumentam. Níveis de vitamina D inferiores a 30 ng/ml já se associam a níveis séricos de PTH elevados (Silva, 2013).

1.3 Concentrações séricas ótimas de vitamina D

Embora as concentrações ótimas ainda estejam em debate, considerou-se válido adotar valores menores que 30 ng/mL para insuficiência de vitamina D e valores menores que 20 ng/mL para deficiência. No entanto pondera-se a ideia de que concentrações ótimas de vitamina D seriam aquelas necessárias para manter o PTH em concentrações normais (Rech, 2014). Atendendo a estes níveis podem ocorrer casos clínicos de hipovitaminose e toxicidade por níveis elevados desta vitamina.

1.3.1 Hipovitaminose D

Além da baixa ingestão de alimentos que contém vitamina D, a exposição inadequada ao sol, a disfunção hepática ou renal e a função intestinal comprometida poderão ocasionar deficiências na forma ativa desta vitamina. Os principais sinais e sintomas relacionados com a hipovitaminose D são dores musculares, fraqueza generalizada, depressão e psoríase. O conhecimento do nível sérico de 25(OH)D auxilia a estimar as reservas corporais da vitamina, a identificar a necessidade de suplementação e determinar a dose a ser utilizada no tratamento (Holick, 2016).

O raquitismo causado pela deficiência de vitamina D, causa desmineralização nos ossos das crianças em virtude da absorção insuficiente de cálcio. Problemas semelhantes ocorrem como resultado do crescimento durante a puberdade. Nos adultos, a osteomalacia é causada, também, pela desmineralização dos ossos, principalmente das mulheres com pouca exposição solar, geralmente depois de várias gestações (Holick, 2016).

1.3.2 Toxicidade da vitamina D

Alguns lactentes são sensíveis à ingestão de apenas 50 ug/dia de vitamina D, que elevam a concentração plasmática do cálcio, o que pode acarretar a contração dos vasos sanguíneos, hipertensão arterial e calcinose (calcificação dos tecidos moles). Embora a ingestão dietética excessiva de vitamina D seja tóxica, a exposição exagerada ao Sol não provoca intoxicação porque a capacidade de sintetizar a precursor 7-dihidrocolesterol é

limitada e a exposição prolongada da pré-vitamina D à luz solar resulta na formação de compostos inativos (Holick, 2016).

1.4 Determinação dos níveis séricos da vitamina

Apesar da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ser o metabolito biologicamente ativo da vitamina D, a determinação desta num indivíduo é realizada pela dosagem sérica de $25(\text{OH})\text{D}$ (Castro, 2011).

Os estudos séricos relativos às concentrações de $25(\text{OH})\text{D}$ são afetados e diferenciados de acordo com diferenças na suplementação e/ou alimentação, a idade da população em estudo, estação de ano e latitude.

Alguns estudos posteriores demonstraram que as concentrações de $25(\text{OH})\text{D}_2$ endógeno são geralmente muito baixas, menos de cinco por cento das concentrações séricas totais de $25(\text{OH})\text{D}$; no entanto, isto pode mudar substancialmente após a suplementação com vitamina D_2 . Assim, as diretrizes atuais para a medição das concentrações séricas totais de $25(\text{OH})\text{D}$ estipulam que os ensaios devem reconhecer $25(\text{OH})\text{D}_3$ e $25(\text{OH})\text{D}_2$ em unidades equimolares para evitar diagnósticos errados (Freeman, 2015).

Os laboratórios clínicos foram assim pressionados a investigar novas soluções e plataformas confiáveis automatizadas para análise de $25(\text{OH})\text{D}$ de maneira a acompanhar o volume exigido (Cavalier, et al., 2012).

1.4.1 Metodologias para a quantificação de vitamina D

A quantificação dos níveis séricos de vitamina D foi realizada através de imunoenaios de quimioluminescência, coespecífica para 25(OH)D₂ e 25(OH)D₃, fornecendo como resultado a concentração de 25(OH)D total com calibração de seis pontos. O método é usado para a medição quantitativa de 25(OH) vitamina D em amostras de soro e plasma humano (Koivula, 2013). Outras técnicas de quantificação são a cromatografia líquida associada a espectrometria de massa (LC-MS/MS) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPCL) que determinam separadamente a vitamina D₂ e D₃ (Castro, 2011).

A vitamina D é uma molécula muito lipofílica e, portanto, pode haver interferências não específicas de outros lípidos. Durante o teste, faz-se deslocar o analito contendo a proteína de ligação à vitamina D (VDP). Geralmente assume-se que esse deslocamento é de 100%, mas não há evidências de que é realmente o que acontece durante a reação (Cavalier, et al., 2012).

A avaliação da vitamina D no ARCHITECT apresenta um kit com excelentes coeficientes de variação. Em caso de deficiência nesta vitamina, a recuperação com 25(OH)D₂ é possível, porém este kit pode não ter sensibilidade para o monitoramento de pacientes tratados com vitamina D₂. Verificou-se que tanto o soro como o plasma (EDTA) são adequados para a determinação de 25(OH)D, porém há uma ligeira, mas significativa diferença entre estes dois meios, sendo que as amostras de soro proporcionam resultados significativamente mais elevados que os de plasma com EDTA (Cavalier, et al., 2012).

CAPÍTULO II

Objetivos

2.1 Objetivos

Foram realizados quatro estudos estatísticos, onde se interpretaram os valores de Fisher, V de Cramer, valores de significância assintótica, frequência absoluta e percentagem, em relação aos pacientes que frequentaram o hospital de Trás-os-Montes e Alto Douro, Unidade de Vila Real, nos três últimos anos, 2016, 2017 e 2018, com várias doenças: infeções, fraturas ósseas, obesidade, hipertensão, neoplasias, doenças hepáticas, doenças renais, osteoporose/osteoartrose, diabetes mellitus e distúrbios psicológicos, com a finalidade de:

- Averiguar quais as doenças mais relacionadas com a concentração sérica de vitamina D;
- Descobrir se há doenças mais propícias de surgir em homens ou mulheres;
- Relacionar, em cada género, as dez doenças estudadas com a idade;
- Ver quais as doenças mais frequentes e menos frequentes em pacientes com deficiência da vitamina.

Sensibilizar o público para os cuidados a ter em conta a fim de minimizar problemas de saúde, é outra finalidade, secundária, deste trabalho.

CAPÍTULO III

Metodologia

3.1 Amostra em estudo

A amostra consiste em adultos e idosos de ambos os sexos com idades compreendidas entre os 30 e 99 anos que frequentaram o Hospital de Trás-os-Montes e Alto Douro durante o primeiro período escolar do ano letivo 2017/18. Os dados foram recolhidos no programa fornecido pelo centro hospitalar, SCLinic, analisados e tratados através dos programas Excel e SPSS.

Os dados pessoais dos pacientes em estudo são ocultos tendo-se recolhido apenas os dados relativos ao estado de saúde física e psicológica.

Os dados fornecidos pelo hospital indicavam três valores de vitamina D em alguns pacientes. Isto porque alguns fizeram tratamentos vitamínicos para aumentar a concentração desta no sangue. O valor recolhido foi o primeiro, que é o que indica o valor da vitamina antes da toma de qualquer suplemento vitamínico.

Foram analisados 708 pacientes de entre os quais 383 do sexo masculino e 325 do sexo feminino; 580 com deficiência em vitamina D (< 20 ng/mL) e 128 com níveis normais (30-100 ng/mL).

Apresentando níveis insuficientes de vitamina D:

Homens entre 30 e 65 anos → 142

Homens entre 65 e 99 anos → 199

Mulheres entre 30 e 50 anos → 29

Mulheres entre 50 e 65 anos → 89

Mulheres entre 65 e 99 anos → 109

Apresentando níveis normais de vitamina D:

Homens entre 30 e 65 anos → 12

Homens entre 65 e 99 anos → 24

Mulheres entre 30 e 50 anos → 18

Mulheres entre 50 e 65 anos → 25

Mulheres entre 65 e 99 anos → 48

3.2 Caracterização geral da amostra

A Tabela 2 indica as variáveis para recolha dos dados: nível de vitamina D, sexo, idade e ano. VD indica a concentração sérico de vitamina D, inferior a 20 ng/mL e entre 30 a 100 ng/mL; os sexos feminino e masculino; os intervalos de idades (três femininos e dois masculinos); e os anos de recolha hospitalar da informação.

Tabela 2 – Caracterização da amostra em estudo

VD (ng/mL)		Sexo		Idades (anos)			Datas		
<20	30-100	F	M	30 a 50	50 a 65	65 a 99	2016	2017	2018
	X	X		X	X	X			X
	X	X		X	X	X		X	
	X	X		X	X	X	X		
X		X		X	X	X			X
X		X		X	X	X		X	
X		X		X	X	X	X		
	X		X	X		X			X
	X		X	X		X		X	
	X		X	X		X	X		
X			X	X		X			X
X			X	X		X		X	
X			X	X		X	X		

3.3 Recolha e processamento das amostras de sangue

A recolha do sangue pelos técnicos especializados requer a utilização de seringas apropriadas. Depois da sua recolha é transferido para os tubos de recolha de acordo com a finalidade da sua análise. Na parte de imunologia para análise da vitamina D no Architect 2000i, o sangue era recolhido em tubos secos esterilizados, sem anticoagulante adicionado sendo a análise sorológica e não plasmática.

Todos os tubos são identificados com o nome do paciente; a área de análise no laboratório, por exemplo para a parte de imunologia as identificações são: tubo seco imunologia,

imunoalergologia, entre outras; o local de recolha, neste caso VReal; a(s) máquina(s) onde se vão inserir os tubos para a recolha de informação, neste caso Arc para o Architect 2000i e CAP para a Cobas 6000e.

O sangue é recolhido e centrifugado a uma velocidade de 4000 rotações por minuto durante 10 minutos. Após a centrifugação os tubos são colocados em raques para serem introduzidos na máquina. Depois de alguns minutos de processamento, os valores da vitamina D e de outras substâncias ficam armazenados no computador que, posteriormente, são tratados pelos técnicos superiores responsáveis de maneira a disponibilizar a informação ao paciente.

3.4 Análise laboratorial da quantificação da vitamina D

A determinação da vitamina D sérica realiza-se no autoanalisador Architect 2000i pelo método imunológico, utilizando um kit de reagentes constituído por micropartículas, um conjugado e um diluente, produzidos na Irlanda pela *Abbott*.

Micropartículas - Micropartículas revestidas com IgG (imunoglobulinas G) anti-vitamina D (monoclonal de coelho) em tampão MES. Concentração mínima sólida de 0.04%.

Conjugado - Vitamina D marcada com acridínio em tampão MES e surfactante. Concentração mínima de 12 ng/mL.

Diluente – Tampão citrato com EDTA, metanol, ácido 8-anilino-1-naphthalenesulfonic (ANSA) e surfactante.

A quantificação dos níveis séricos de vitamina D realiza-se através de imunoensaios de quimioluminescência. Esta técnica é coespecífica para 25(OH)D₂ e 25(OH)D₃, fornecendo como resultado a concentração de 25(OH)D total com calibração de seis pontos. O método é usado para a medição quantitativa de 25(OH) vitamina D em amostras de soro e plasma humano (Koivula, 2013). Neste caso a quantificação é sorológica.

3.5 Recolha/análise dos dados

O processo de recolha de dados consistiu na análise detalhada e pormenorizada das fichas de diagnóstico dos pacientes através da plataforma SClínic disponibilizada pelo centro hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro de Vila Real no Serviço de Patologia Clínica, onde foi realizado o estudo, e introduzidos no Excel. A ficha de diagnóstico relata todas as doenças do paciente, atuais ou passadas, portanto todo o historial de saúde até ao momento em que esses dados foram registados. Desta forma é possível relacionar as doenças com carência em vitamina D a longo prazo. Estes dados estão disponíveis apenas na base de dados do hospital e a sua recolha, feita através do programa SClínic, foi possível através do número de processo do paciente.

Os dados foram separados por sexo, idades, anos (2016, 2017 e 2018) e nível de concentração sérica da vitamina, deficiência (<20ng/ml) e suficiência (30-100ng/ml). Assim, para os homens os dados foram recolhidos nas faixas etárias de 30 a 65 anos e 65 a 99, já nas mulheres, entre 30 a 50, 50 a 65 e 65 a 99. Os dados são referentes aos anos de 2016, 17 e 18 nos meses de janeiro a junho.

3.6 Análise estatística

A análise estatística dos dados realizou-se no programa estatístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*), software de manipulação, análise e apresentação de resultados de análise de dados de utilização predominantemente nas Ciências Sociais e Humanas (Maroco, 2007). Analisaram-se os seguintes valores de referência: Valores de Fisher (associação das dez doenças com a concentração sérica de vitamina D e com o sexo), significância assintótica (bilateral) e V de Cramer (associação, para os dois sexos, entre os grupos de idades com cada uma das dez doenças).

Fisher propôs a interpretação de que o *p-value* é o índice de evidência indutiva contra a hipótese nula, significando que, se $p < 0.05$, então a evidência contra a hipótese nula é significativa. Quanto menor o valor de *p* maior a associação entre as variáveis. Segundo Fisher um *p-value* em torno de 0.05 não deve ser desvalorizado devendo-se realizar novos testes (Maroco, 2007). Em todas as análises estatísticas foram considerados valores de significância assintótica bilateral e valores de Fisher, $p < 0.05$

Para calcular a magnitude do efeito, foi calculado o Coeficiente de Correlação V de Cramer, um coeficiente não-paramétrico apropriado para medir a intensidade de associação entre duas variáveis nominais (Maroco, 2007). Para melhor interpretação dos resultados e sua análise considera-se V de Cramer x 100 para obtenção de resultados percentis em relação à associação entre as variáveis.

CAPÍTULO IV

Resultados e discussão

4.1 Resultados estatísticos

4.1.1 Associação entre o nível sérico de vitamina D e as patologias estudadas

A Tabela 3 mostra a associação entre o nível sérico de vitamina D, e cada uma das dez doenças. Os resultados têm em conta a amostra total do estudo, 708 pacientes, de entre os quais 580 com deficiência em vitamina D e 128 apresentando níveis normais.

Tabela 3 – Valores de Fisher correspondentes à associação entre o nível sérico de vitamina D e as doenças estudadas

Doença	Vitamina D
Infeção	0,134
Fratura óssea	0,165
Obesidade	0,000
Hipertensão	0,063
Neoplasia	0,117
Doenças hepáticas	0,000
Doenças renais	0,036
Osteoporose	0,005
Diabetes Mellitus	0,015
Distúrbios psicológicos	0,001

Observando a tabela pode-se concluir que, as infeções, as fraturas ósseas, a hipertensão e as neoplasias não estão associados a níveis séricos de vitamina D porque os valores de Fisher são relativamente superiores a 0.05. Isto é, estas doenças não são afetadas diretamente pela concentração sérica de vitamina D.

Por outro lado, a obesidade, as doenças hepáticas, as doenças renais, a osteoporose e osteoartrose, a diabetes mellitus e os distúrbios psicológicos estão associadas à concentração de vitamina D sérica. Deste modo, os pacientes portadores destas doenças sofrem de concentrações insuficientes desta vitamina.

O resultado deste trabalho mostra que não há associação entre Vit. D e infeção ($p=0.134$). Vários autores defendem nas suas obras que as infeções localizadas, septicemias e

inflamações são influenciadas pela concentração de vitamina D sérica dados que não corroboram com os resultados deste estudo. De acordo com Sarinho e Melo (2017), a doença inflamatória crônica promove a liberação de citocinas, desnutrição, imobilização prolongada, perda de massa muscular, atraso da puberdade e diminuição da exposição solar, comprometendo de forma negativa a saúde óssea.

A vitamina D tem sido associada ao risco de infecções pulmonares em vários estudos. Ongaratto, et al. (2017) verificaram que indivíduos com fibrose cística, com baixos níveis de vitamina D, apresentaram significativamente mais episódios de exacerbações pulmonares, que está associada à diminuição da função pulmonar ao longo do tempo. A suplementação com alta dose de colecalciferol (vitamina D₃) proporciona uma melhoria clínica com redução dos dias de tratamento com antibioterapia, num período de 6 meses. Os mesmos autores descobriram que a suplementação de vitamina D em doses altamente concentradas está associada à redução de duas citocinas inflamatórias: a interleucina-6 e o fator de necrose tumoral alfa.

Estudo realizado em pacientes com doenças inflamatórias intestinais e baixos níveis de vitamina D mostrou um número significativo de marcadores inflamatórios e sorológicos. De acordo com as conclusões deste estudo, a deficiência em vitamina D está relacionada com a doença inflamatória intestinal (Scolaro, et al., 2018).

Há associação entre Vit. D e as doenças ósseas: osteoporose e osteoartrose ($p=0.005$). A vitamina D está diretamente relacionada com a concentração de cálcio e consequentemente com a densidade óssea como explicado na introdução.

O resultado (tabela 3) mostra que não há associação entre Vit. D e fraturas ($p=0.165$). Um estudo importante realizado por Chapuy, et al. (1992) em França, que consistiu em repor à normalidade os níveis séricos de vitamina D elementar em mulheres cujo nível sérico médio era insuficiente, concluiu que há uma redução no risco de fraturas vertebrais e fraturas não vertebrais.

Estudo experimental onde se suplementou 500 mg de cálcio e 700 UI de vitamina D mostra uma diminuição da perda óssea e uma redução no número de fraturas não vertebrais e a reposição de 400 UI de vitamina D durante o inverno reduziu a perda da massa óssea que ocorre neste período (Premaor e Furlanetto, 2005).

O resultado da tabela 3 mostra que há associação entre a Vit. D e a obesidade ($p < 0.001$). A obesidade é uma epidemia global associada a várias outras doenças como a diabetes mellitus tipo 2, hipertensão, problemas músculo-esqueléticas, cancro e distúrbios psicológicos. Estudos demonstram que a obesidade é um dos fatores que cada vez mais afeta a taxa de mortalidade mundial. O excesso de peso e a obesidade estão relacionadas com doenças ósseas, deficiência em vitamina D e cálcio e, do mesmo modo, com elevadas concentrações da hormona paratiroideia (PTH). Desta forma, chegou-se à conclusão que a obesidade esta diretamente relacionada com a perda da densidade óssea. A razão deste acontecimento deve-se ao facto da vitamina D ficar armazenada no tecido gordo, diminuindo assim a sua mobilidade, portanto a sua biodisponibilidade (Vasconcelos, et al., 2010).

O resultado apresentado na tabela acima indica que não há associação entre a Vitamina e a hipertensão ($p = 0.063$). A associação da deficiência de vitamina D com as doenças cardiovasculares tem por base o sistema renina-angiotensina-aldosterona. Este sistema hormonal estimula o aumento da pressão arterial por vasoconstrição e retenção de água através dos rins. A vitamina D atua sobre a expressão genética da renina, inibindo-a. Desta forma há um controlo sobre a pressão arterial fazendo com que se mantenha baixa ou em níveis normais (Jorge, et al., 2017). Van Ballegooijen et al. (2015) acompanhou 5.066 pessoas sem hipertensão, durante 6 anos, na cidade holandesa de Groningen, mensurando o nível sérico de vitamina D. No final do estudo 20,5% desenvolveram hipertensão. Concluiu-se que baixos níveis de vitamina D estão associados a um maior risco de desenvolvimento da doença. Caravaca, et al. (2017) confirmam que não foi possível demonstrar até ao momento até que ponto a suplementação com formas ativas da vitamina D melhorasse alguns parâmetros cardiovasculares relevantes, entre eles a hipertensão.

Um amplo estudo populacional que analisou uma amostra de 12.644 americanos, mostrou que a pressão arterial sistólica e a pressão de pulso correlacionam-se inversamente com os níveis de vitamina D, isto é, quanto maior a concentração sérica de Vitamina D, menor a pressão arterial dos pacientes. A prevalência da hipertensão associada à deficiência de vitamina D foi confirmada em outros estudos amplos como o *German National Interview and Examination Survey* e o *British Birth Cohort* (Jorge, et al., 2017).

A vitamina D funciona apenas como um método de prevenção e retardamento da doença e não como uma substância com efeitos terapêuticos. Desta forma, pessoas com baixos

níveis de vitamina D estarão mais propensos a contrair a doença, no entanto uma reposição posterior para níveis normais não fará com que a doença cure, apenas poderá melhorar, não significativamente.

Os resultados observados nas tabelas 3 sugerem que não há associação entre Vit. D ($p=0.117$) e neoplasias, no entanto muitos estudos têm demonstrado a importância e influência da vitamina D no desenvolvimento e progressão das neoplasias, como mostram os estudos de Kostner (2009). Fernandes (2013) defende no seu trabalho que pacientes com cancro da mama têm níveis séricos menores de vitamina D em relação às que não possuem cancro. No entanto, uma meta-análise de 35 estudos que analisou a concentração sérica de vitamina D com os cancros da próstata, mama e cólon, verificou que não há correlação com os cancros da mama e próstata, apenas com o do cólon.

As doenças hepáticas estudadas neste trabalho são as hepatites A, B, C e alcoólicas, cirrose e insuficiência hepática. O resultado deste trabalho (tabela 3) mostra que há uma grande associação entre Vit. D e doenças hepáticas ($p<0.001$). As doenças hepáticas mais frequentes nas fichas diagnóstico, nos pacientes de Vila Real, estão relacionadas com consumo excessivo de álcool, cirroses alcoólicas e hepatites alcoólicas.

Problemas no fígado afeta a hidroxilação da vitamina, de forma que esta depende do bom funcionamento do órgão para existir em quantidades normais no organismo. O fígado constitui um dos principais responsáveis pela reposição da vitamina D. O processo de 25-hidroxilação ocorre no sistema microsomal hepático poucas horas após os hepatócitos receberem a vitamina D. A formação da vitamina D ativa, calcitriol, é um processo importante, já que esta possui meia vida curta e, em quantidades fisiológicas, é pouco ativa. Distúrbios associados ao cálcio, hormona da paratiroide e vitamina D são frequentemente associados às doenças hepáticas crônicas (Moreira, et al., 2004).

O resultado observado na tabela 3, indica que há associação entre a vitamina e doenças renais ($p=0.036$). A suplementação com formas ativas de vitamina D é essencial no tratamento de doenças minerais ósseas que esta intimamente ligada a doenças renais crônicas. Como explicado também por Abrita, et al. (2017), concentrações elevadas da hormona paratiróideia em pacientes em diálise foram suplementados com cálcio, a maioria com vitamina D via oral e uma pequena percentagem com ativadores seletivos de recetores de vitamina D, para normalização das mesmas.

A Sociedade de Nefrologia Italiana publicou, em 2016, uma "declaração de posição" sobre a vitamina D em pacientes com doença renal crônica, sugerindo que os que têm uma concentração plasmática de 25(OH)D inferior a 30 ng/mL deveriam ser tratados com suplementos de vitamina na forma ativa, nas quantidades estabelecidas pelos nefrologistas (Cardoso e Pereira, 2018).

De acordo com os artigos estudados acima existe correlação entre a hipovitaminose D e doenças renais, o que vai de encontro com os nossos resultados. Porém Caravaca, et al. (2017) afirmam que apesar do tratamento com suplementos de vitamina D proporcionarem uma melhoria na redução da proteinúria, induz a uma redução da função renal. Devido a esta controvérsia deverão ser realizados mais estudos para se chegar a uma conclusão de como e em que quantidades a suplementação da vitamina deve ser administrada para melhorar patologias renais de modo a não prejudicar os rins.

Existe associação entre Vit. D e diabetes Mellitus ($p=0.015$). Rech (2014) explica a correlação entre a vitamina D e a diabetes devido à ação que esta tem sobre o fluxo de cálcio, essencial à indução da função secretora das células β e à conversão da pró-insulina a insulina. Entre as diversas atividades extra esqueléticas desta vitamina, talvez a mais provável seja na resistência à insulina. Aquando do desenvolvimento da diabetes mellitus tipo 2 há alterações na função das células β pancreáticas, redução da sensibilidade à insulina e inflamação sistémica. A vitamina D parece atuar nas células β do pâncreas facilitando a secreção de insulina a partir da ligação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ao recetor VDR nestas células. Além disso, a secreção de insulina é um processo dependente de cálcio, portanto, o aumento da vitamina D ativa, leva a um maior influxo de cálcio para as células. Portanto alterações no fluxo de cálcio, têm efeitos sobre a função secretora da célula β . Adicionalmente, a deficiência de 25(OH)D dificulta a capacidade das células- β na conversão da pró-insulina à insulina. Wierzbicka, et al. (2016) mostrou nos seus trabalhos que adolescentes com diabetes mellitus tipo 1 têm tendência para apresentar maior deficiência em vitamina D, coincidindo com perturbações no controlo glicémico e composição corporal. A vitamina D foi positivamente relacionados com massa muscular e negativamente com massa gorda.

Existe associação entre a vitamina D e distúrbios psicológicos ($p=0.001$). A relação muito íntima entre distúrbios mentais e nível sérico de vitamina D é devida à hipocalcemia, que provoca excitabilidade neural. O cálcio é um mineral essencial ao bom funcionamento

celular. Distúrbios mentais como depressão, irritabilidade, nervosismo e ansiedade têm sido associados à hipocalcemia (Arioli e Corrêa, 1999).

4.1.2 Associação entre o gênero e as patologias

A Tabela 3 relata a associação entre gênero e doenças através dos valores de Fisher. Os resultados têm em conta a amostra total do estudo, 708 pacientes, de entre os quais 325 mulheres e 383 homens e tem como objetivo verificar quais das dez doenças têm preferência de gênero e quais não.

Tabela 4 – Valores de Fisher correspondentes à associação entre o gênero e as doenças estudadas

Doença	Gênero
Infeção	0.001
Fratura óssea	0.340
Obesidade	0.057
Hipertensão	0.011
Neoplasia	0.149
Doenças hepáticas	0.000
Doenças renais	0.005
Osteoporose	0.001
Diabetes Mellitus	0.025
Distúrbios psicológicos	0.001

Quanto à relação entre o sexo e as doenças conclui-se que fraturas ósseas, neoplasias e obesidade são independentes de gênero, isto é, estas patologias aparecem com a mesma taxa de frequência nos homens e nas mulheres, o que não se verifica nas restantes doenças, que têm maior prevalência apenas num dos sexos.

De acordo com a tabela há associação entre o gênero e as infeções ($p=0.001$). No entanto, não foram encontrados outros estudos que comprove haver relação entre o sexo e as infeções.

Em relação às duas doenças ósseas: osteoartrose e osteoporose, verifica-se que existe associação com o género ($p=0.001$). A osteoporose é um problema de saúde mundial relacionada com o envelhecimento da população, relacionando-se à significativa morbidade, mortalidade e redução da qualidade de vida. No entanto esta doença pode ser minimizada ou mesmo tratada através de uma dieta saudável, prevenção de quedas e programas de exercícios físicos. É uma doença crónica caracterizada pela diminuição da massa óssea e resistência óssea, aumentando assim o risco de fraturas. A osteoporose primária, geralmente, afeta as mulheres após a menopausa devido à redução significativa dos níveis de estrogénio e, apenas mais tarde os homens devido ao sedentarismo cada vez mais acentuado (Shu, et al., 2017).

O resultado (tabela 4) mostra que há uma grande associação entre doenças hepáticas e o género ($p<0.001$). As doenças hepáticas mais frequentes nas fichas diagnóstico, dos pacientes de Vila Real, estão relacionadas com o consumo excessivo de álcool: cirroses alcoólicas e hepatites alcoólicas. Verificou-se uma maior prevalência destas patologias nos homens, explicando-se assim a relação entre a vitamina e o sexo, como explica também Moreira, et al. (2004) quanto aos maus hábitos alimentares.

Existe associação entre sexo e doenças renais ($p=0.005$), de acordo com os resultados deste trabalho e como apoiado por Herrero, et al. (2018): níveis baixos de vitamina D afetam 94% dos pacientes em hemodiálise, valor mais alto do que o esperado uma vez que a localização é numa zona com muito sol (Espanha). Os pacientes mais afetados são a população idosa, com maior prevalência nas mulheres, pacientes menos expostos ao sol ou com uso frequente de proteção solar, menor consumo de alimentos ricos em vitamina D e menos tratados com Estatinas.

Existe associação entre Vit. D e diabetes ($p=0.015$), de acordo com este trabalho, e como é defendido também por Lopez, et al. (2017) que averiguaram que as mulheres após a menopausa têm maior probabilidade para desenvolver diabetes mellitus tipo 2, através de um estudo transversal, em pacientes equatorianas (85,7% apresentaram níveis baixos de vitamina D) com a doença, com um nível médio de vitamina D de 22 ng/mL. Deste estudo retira-se que a deficiência em vitamina D foi significativamente mais frequente nas mulheres pós-menopáusicas equatorianas com diabetes mellitus tipo 2 comparados com os controlos sem a doença.

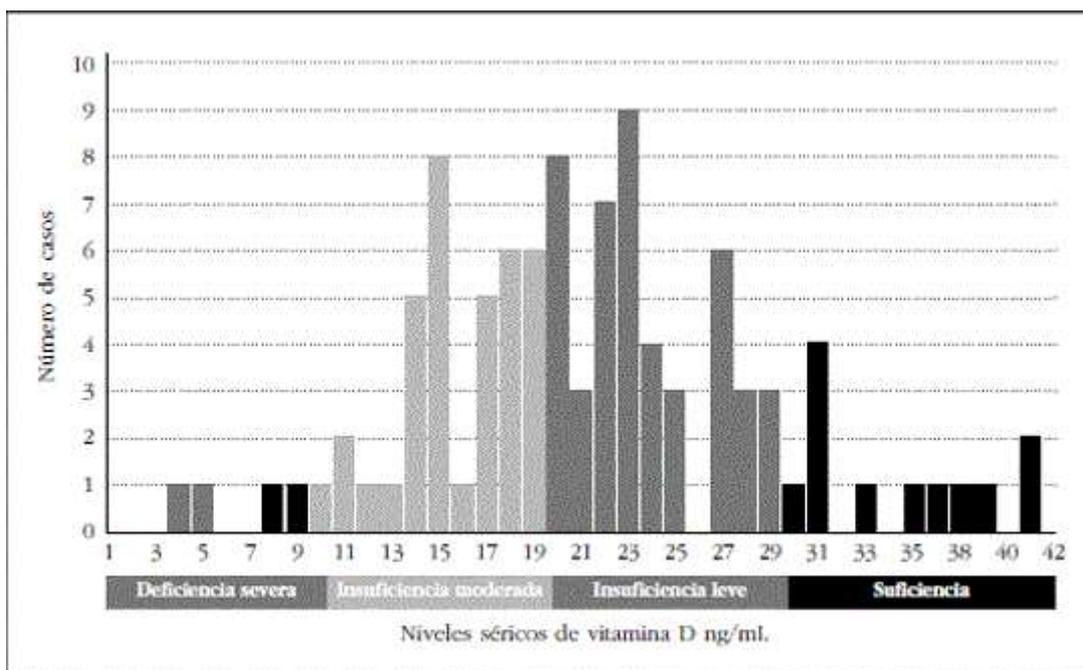


Figura 2. Nível sérico de vitamina D em mulheres pós-menopáusicas com diabetes mellitus tipo 2 (Lopez, et al. 2017)

O maior número de casos de mulheres pós-menopáusicas com diabetes apresentam insuficiência moderada e leve da vitamina.

O resultado da tabela 4 mostra que há uma associação íntima entre distúrbios psicológicos e gênero ($p=0.001$) porém, não foram encontradas outras provas escritas que comprovem o mesmo.

4.1.3 Associação entre idade e patologia

A tabela 4 indica a associação entre idade (dentro de cada gênero) e doença através dos valores de V de Cramer e valores de significância assintótica (p). Os resultados correspondem à amostra total do estudo, de entre os quais 226 homens entre 65 e 99 anos e 157 entre 30 e 65 (total de 383); 49 mulheres entre 30 e 50 anos, 117 entre 50 e 65 anos e 159 entre 65 e 99 (total de 325).

Tabela 5 – Associação entre as idades e as doenças através dos valores de V de Cramer e valores de significância assintótica para os dois grupos de idades do sexo masculino, e os três grupos do sexo feminino

Doenças	Homens		Mulheres	
	V Cramer	<i>p-value</i>	V Cramer	<i>p-value</i>
Infeção	0.144	0.005	0.223	<0.001
Fratura óssea	0.006	0.907	0.206	0.001
Obesidade	0.114	0.026	0.293	<0.001
Hipertensão	0.256	<0.001	0.401	<0.001
Neoplasia	0.177	0.001	0.098	0.211
Doenças hepáticas	0.101	0.048	0.056	0.599
Doenças renais	0.230	<0.001	0.235	<0.001
Osteoporose	0.092	0.070	0.151	0.024
Diabetes Mellitus	0.176	0.001	0.238	<0.001
Distúrbios psicológicos	0.017	0.740	0.047	0.703

Para valores de significância inferiores a 0.05 ($p < 0.05$) retira-se que há uma associação forte entre a doença e a idade do paciente, sendo que o valor de Cramer indica qual a percentagem dessa mesma associação. Neste caso, para os dois sexos, as doenças que se manifestam com uma idade cada vez mais avançada são as infeções, a obesidade, a hipertensão, as doenças renais e a diabetes mellitus. No caso dos homens, ainda as neoplasias e as doenças hepáticas, contrariamente das mulheres que apresentam maior propensão para as fraturas ósseas, provavelmente devido à entrada na menopausa e consequentemente diminuição da densidade óssea, e a osteoporose e osteoartrose pela mesma razão já que estes dois problemas de saúde estão intimamente interligados.

A Food and Nutrition Board triplicou a recomendação da ingestão de vitamina A e D a idosos com mais de 70 anos para 600 UI/dia e dobrou-a para os que têm idades entre 50 e 70 anos para 400 UI/dia. As recomendações atuais indicam que os jovens adultos precisam de menos vitamina D do que os adultos mais velhos para manter a concentração de 25(OH)D saudável no organismo (Vieth, et al., 2003).

Em relação às infeções, existe associação com a idade ($p=0.005$ e $p < 0.001$, com 14.4% e 22.3%, para os dados masculinos e femininos, respetivamente). A causa das infeções é,

muitas vezes, devida a outros problemas de saúde ou a intervenções pós-cirúrgicas e, portanto, aparecem em idades mais avançadas.

A osteoporose e osteoartrose sugere uma associação com a idade ($p=0.07$ e $p=0.024$), sendo o grau de associação de 9,2% e 15,1% para os géneros masculinos e femininos, respetivamente. O pico da densidade óssea ocorre da década de trinta na vida do ser humano e é maioritariamente determinado pelos fatores genéticos, estilo de vida e estado de saúde do indivíduo. A nutrição, o estado hormonal, a prática de exercício físico, drogas, álcool, tabaco e cafeína são os fatores que mais influenciam a densidade óssea (Maeda e Castro, 2013). A intervenção farmacológica para retardar ou diminuir os riscos destas doenças, é feita através do uso de bifosfonatos, moduladores seletivos do recetor de estrogénio, calcitonina, teriparatida e estrogênio. É importante salientar que as melhorias proporcionadas por esses agentes são acrescentadas à suplementação de cálcio e vitamina D (Borges e Bilezikian, 2006).

A obesidade esta relacionada com a idade ($p=0.026$ e $p<0.001$, 11,4 e 29,3% para os dados masculinos e femininos, respetivamente). A vitamina D fica armazenada no tecido gordo diminuindo a sua biodisponibilidade e isto é independente da idade. O excesso de peso é uma doença que necessita de controlo e abstinência. Estudo realizado por Cembranel, et al. (2017) evidenciou que indivíduos entre 20 e 29 anos que tiveram um menor consumo de cálcio, vitamina A e vitamina D também apresentaram maiores valores de IMC e de circunferência abdominal. Por outro lado, indivíduos entre 50 e 63 anos, apresentaram uma relação direta entre o consumo destes micronutrientes e valores elevados de IMC e circunferência abdominal. Conclui-se assim que, em idades mais avançadas, a obesidade não esta diretamente influenciada apenas pelo consumo errado de micronutrientes, mas sim pelo estilo de vida menos ativo e metabolismo lento.

O resultado do estudo sobre a associação da idade às doenças hepáticas ($p=0.048$ e $p=0.599$, para os dados masculinos e femininos, respetivamente), sugere que esta não existe. Não foram encontrados estudos que comprovem que as doenças de fígado sejam mais frequentes em alguma faixa etária, de tal forma que estas aparecem devido a maus hábitos alimentares, consumo excessivo de álcool, outros problemas de saúde ou histórico familiar em qualquer idade, tanto nos homens como nas mulheres.

As doenças renais estão associadas à idade com $p < 0.001$, tanto para os dados masculinos e femininos com 23 e 23,5% de associação, respectivamente. Como explica o Herrero, et al. (2018) estas doenças são mais frequentes em idades mais avançadas tanto nos homens como nas mulheres.

A diabetes mellitus é igualmente relacionada com a idade ($p < 0.001$) e as taxas de associação são de 17,6 e 23,8% para o sexo masculino e feminino, respectivamente, como também é explicado por Lopez, et al. (2017) que chegou à conclusão de que as mulheres a partir da menopausa, a partir dos 50 anos, tem maior probabilidade para desenvolver a doença.

Os distúrbios psicológicos não se associam à idade, com $p = 0.740$ e $p = 0.703$, para os dados masculinos e femininos, respectivamente. As manifestações clínicas da hipocalcemia estão relacionadas a um aumento da excitabilidade neuromuscular. A intensidade dos sintomas varia entre os indivíduos dependendo do grau de hipocalcemia e da velocidade da sua queda. As convulsões generalizadas podem ser desencadeadas pela hipocalcemia nas pessoas predispostas. Vários distúrbios mentais têm sido associados à hipocalcemia como depressão mental, irritabilidade, nervosismo e ansiedade, independentemente da idade (Arioli e Corrêa, 1999). A deficiência de vitamina D pode levar ao desenvolvimento de demência causada pelo aumento dos péptidos β solúveis e insolúveis cerebrais e uma diminuição das suas propriedades anti-inflamatórias/antioxidantes. Da mesma forma esta ligada à depressão por uma redução do tamponamento de cálcio no cérebro. Em mães grávidas pode prejudicar o desenvolvimento normal do feto: autismo, transtornos esquizofrênicos, lesão cerebral e outras doenças mentais (Anjum, et al., 2018). A hipovitaminose D em pacientes geriátricos constitui um marcador subestimado no mau desempenho cognitivo e demência. Deverá haver um controlo contínuo dos níveis de vitamina D séricos em todas as pessoas, principalmente idosas, e suplementar quaisquer défices desta vitamina (Łukaszyk, et al., 2018).

4.1.4 Número de pacientes de Vila Real associados às patologias estudadas

Na tabela seguinte são apresentadas a frequência absoluta e percentual para cada uma das dez doenças estudadas. A amostra total do estudo foi de 708 pacientes, no entanto, nesta parte tem-se em consideração apenas os pacientes com valores de vitamina D sérica insuficientes, 580. Desta forma, associa-se melhor a sua anormalidade com a frequência e o desenvolvimento das doenças.

Tabela 6 - Frequência absoluta e percentual dos pacientes que apresentam pelo menos uma das dez doenças mencionadas considerando-se valores de vitamina D sérica em níveis anormais, insuficiente.

Doença	Frequência Absoluta	Percentagem
Infeção	324	55,9
F. óssea	86	14,8
Obesidade	185	31,9
Hipertensão	277	47,8
Neoplasias	183	31,6
Doenças hepáticas	149	25,7
Doenças renais	190	32,8
Osteoporose	108	18,6
Diabetes Mellitus	154	26,6
Distúrbios psicológicos	146	25,2
Total de Doentes	580	100

De acordo com os resultados da Tabela 6 deduz-se que as patologias mais frequentes em pacientes com níveis baixos de vitamina D são as infeções e a hipertensão, enquanto que as menos frequentes são as fraturas ósseas, a osteoporose e osteoartrose.

As infeções são as patologias mais frequentes nos pacientes deficitários em vitamina D com, aproximadamente, 60% e as neoplasias em quinto lugar da classificação com 31,6% da população em estudo. Segundo Martineau, et al. (2018) identificaram-se 532 estudos, com uma análise a 11321 pacientes, entre 0 e 95 anos, que a suplementação com vitamina D associa-se à redução do risco de infeções respiratórias agudas. Também Herr, et al. (2011) e Hutchinson, et al. (2000) descobriram nos seus estudos que os polimorfismos do recetor de Vitamina D têm a capacidade de prevenir o desenvolvimento da tuberculose e diminuir até 50% o risco de desenvolvimento do cancro do cólon, próstata e mama.

Neuhouse, et al. (2008) mostram também que que pacientes com cancro da mama sofrem de hipovitaminose D.

A hipertensão, um problema de saúde tão comum na nossa população, esta em segundo lugar da classificação com, aproximadamente, 48% de pacientes portadores que, simultaneamente, apresentam níveis insuficientes de vitamina D. Forman, et al. (2003) analisaram a probabilidade de desenvolvimento de hipertensão em mulheres com deficiência em vitamina D em comparação às que apresentaram níveis suficientes. Concluiu-se que as que apresentaram deficiência da vitamina tiveram 47% maior propensão para desenvolver a doença.

As doenças renais são das mais influenciadas pela hipovitaminose D, terceiro lugar da tabela, com, aproximadamente, 33% de doentes afetados por estas patologias. Embora se saiba que pacientes com doenças renais crónicas são mais propensos a níveis insuficientes de 25(OH)D, os estudos que comprovam isso são realizados em pacientes hospitalizados, como confirmam Caravaca, et al. (2017) e Abrita, et al. (2017). No entanto Mehrotra, et al. (2008) fizeram um estudo numa amostra aleatória da população não hospitalizada nos Estados Unidos que demonstrou independência entre doenças renais crónicas e 25(OH)D. Talvez a deficiência na vitamina seja apenas um fator de risco para o desenvolvimento ou progressão das doenças renais.

A obesidade ou o excesso de peso estão em quarto lugar da tabela com uma percentagem similar às neoplasias, aproximadamente, 32%. Pacientes obesos, com síndromes de má absorção e pacientes com tratamentos medicamentosos que afetam o metabolismo da vitamina D, sugeriu-se uma dose duas a três vezes maior de vitamina D, 6 000 a 10 000 UI/dia, para manter um nível de 25(OH)D acima de 30 ng/mL, seguido de um tratamento de manutenção de 3000 a 6000 UI/dia (Holick, et al., 2011).

A diabetes Mellitus é a sexta patologia mais frequente com, aproximadamente, 27% pacientes portadores. Schuch, et al. (2009) evidenciaram a associação inversa entre resistência à insulina e 25(OH)D. A existência de relação entre 25(OH)D e resistência à insulina representada pelo modelo de avaliação da homeostase da sensibilidade à insulina e o índice de sensibilidade à insulina em 808 participantes não diabéticos que as concentrações séricas de 25(OH)D foram inversamente associadas às concentrações da glicemia em jejum e insulina em jejum.

As doenças hepáticas e os distúrbios psicológicos, 26 e 25%, respectivamente, (sétimo e oitavo lugares na tabela) mostram que a hipovitaminose D esta na origem do desenvolvimento ou progressão destas doenças, como sugerem também os estudos de Moreira, et al. (2004) em relação as doenças hepáticas e Arioli e Corrêa (1999), Anjum, et al. (2018) e Łukaszyk, et al. (2018) em relação aos distúrbios psicológicos.

Nas últimas posições da tabela estão as doenças ósseas, osteoporose e osteoartrose com 19% e as fraturas com 15% de pacientes afetados. A osteoporose afeta 200 milhões de pessoas em todo o mundo, um terço das mulheres entre os 60 e os 70 anos e dois terços das mulheres com 80 anos ou mais. Aproximadamente 30% das mulheres com mais de 50 anos têm uma ou mais fraturas vertebrais. Aproximadamente um em cinco homens a partir dos 50 anos tem uma fratura relacionada à osteoporose. Anualmente são registadas cerca de 750 000 fraturas vertebrais, 250 000 fraturas de quadril, 250 000 fraturas de pulso e 250 000 outras fraturas nos EUA (Lewiecki, et al. 2006). Shu, et al. (2018) observaram que pacientes com fraturas osteoporóticas apresentam menor IMC e os brancos são mais prevalentes. Tanto Shu, et al. (2018) como Chapuy, et al. (1992) mostraram que as fraturas são mais frequentes em idosos, maior parte mulheres.

CAPÍTULO V

Considerações finais

5.1 Considerações finais

A vitamina D é uma vitamina lipossolúvel essencial, por vezes também considerada uma hormona devido à sua origem não apenas dietética, mas, principalmente, intrínseca ao corpo humano. Esta vitamina está presente em inúmeras funções no nosso organismo. Entre as mais importantes são a homeostasia do cálcio, igualmente um mineral essencial ao funcionamento celular, uma vez que induz à abertura e fecho dos canais de cálcio, densidade óssea e sistema neuromuscular.

De acordo com os resultados estatísticos obtidos sugere-se que as doenças associadas à vitamina D são as hepáticas, a obesidade, os distúrbios psicológicos, a osteoporose, a diabetes mellitus e as doenças renais, respetivamente, por ordem decrescente de associação, isto é, as mais associadas são as hepáticas e as menos as renais. As fraturas ósseas, infeções, neoplasias e hipertensão sugere-se ausência de associação com o nível sérico da vitamina.

Quanto ao estudo relativo ao género e às doenças observou-se que as únicas doenças independentes do sexo são as fraturas ósseas e as neoplasias (valor de Fisher mais baixo, significativamente, em relação às fraturas). As restantes oito patologias têm maior probabilidade de serem desenvolvidas por homens ou mulheres.

O segundo estudo estatístico (tabela 4), em relação ao sexo masculino, onde se consideraram os valores V de Cramer, verificou-se que as doenças que mais se relacionam às idades são as infeções, a hipertensão, as neoplasias e as doenças renais com percentagens de associação de 14%, 25%, 17% e 23%, respetivamente. Contrariamente, as fraturas ósseas e os distúrbios psicológicos são as que menos se associam à idade, com percentagens de associação de 0,6% e 1,7%, respetivamente.

Relativamente ao sexo feminino, as doenças que mais se associam às idades são as infeções, as fraturas ósseas, a obesidade, a hipertensão, as doenças renais e a diabetes com percentagens de associação de 22%, 20%, 29%, 40%, 23% e 23%, respetivamente. Por outro lado, para as que menos se relacionam são as doenças hepáticas e os distúrbios psicológicos com percentagens de associação de 5,6% e 4,7%, respetivamente.

Conclusões relativas à Tabela 6 em relação a pacientes com deficiência em vitamina D sérica, retira-se que as doenças mais frequentes são as infecções e a hipertensão com percentagens de 55,9 e 47,8%, respetivamente, enquanto que as menos frequentes são as fraturas e a osteoporose/osteoartrose com percentagens de 14,8 e 18,6%, respetivamente.

Com isto conclui-se que são várias as doenças dependentes da idade, género e nível sérico de vitamina D e, portanto, é necessário mante-la em concentrações normais para que problemas de saúde sejam minimizados e, assim, manter uma qualidade de uma vida duradoura e uma saúde plena. Segundo Labronici, et al. (2013), evidencias recentes mostram que a exposição ao sol nem sempre garante níveis saudáveis de vitamina D. Avaliaram-se 93 adultos no Havai que ficaram expostos ao sol, sem proteção, por mais de 20 horas semanais, e relataram que 51% apresentaram níveis inadequados de vitamina D.

CAPÍTULO VI

Referências bibliográficas

6.1 Referências Bibliográficas

Abrita, R. R., Pereira, B. D. S., Fernandes, N. D. S., Abrita, R., Huaira, R. M. N. H., Bastos, M. G. & Fernandes, N. M. D. S. (2018). Evaluation of prevalence, biochemical profile, and drugs associated with chronic kidney disease-mineral and bone disorder in 11 dialysis centers. *Brazilian Journal of Nephrology*, 40(1), 26-34.

Alizadeh, N., Khalili, H., Mohammadi, M. & Abdollahi, A. (2015). Serum Vitamin D levels at admission predict the length of intensive care unit stay but not in-hospital mortality of critically ill surgical patients. *Journal of research in pharmacy practice*, 4(4), 193.

Anjum, I., Jaffery, S. S., Fayyaz, M., Samoo, Z. & Anjum, S. (2018). The Role of Vitamin D in Brain Health: A Mini Literature Review. *Cureus*, 10(7).

Arioli, E. L. & Corrêa, P. H. S. (1999). Hipocalcemia. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 43(6), 467-471.

Borges, J. L. C. & Bilezikian, J. P. (2006). Update on osteoporosis therapy. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 50(4), 755-763.

Cabral, M., Araújo, J., Teixeira, J., Barros, H., Martins, S., Guimarães, J. T. & Ramos, E. (2016). Vitamin D levels and cardiometabolic risk factors in Portuguese adolescents. *International journal of cardiology*, 220, 501-507.

Cardoso, M. P. & Pereira, L. A. (2019). Native vitamin D in pre-dialysis chronic kidney disease. *Revista de la Sociedad Española de Nefrología*, 39(1), 18-28.

Castro, L. C. (2011). O sistema endocrinológico vitamina D. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 55(8), 566-75.

Cavalier, E., Carlisi, A., Bekaert, A. C., Rousselle, O., Chapelle, J. P., & Souberbielle, J. C. (2012). Analytical evaluation of the new Abbott Architect 25-OH vitamin D assay. *Clinical biochemistry*, 45(6), 505-508.

Cembranel, F., Hallal, A. L. C., González-Chica, D. A. & d'Orsi, E. (2017). Relação entre consumo alimentar de vitaminas e minerais, índice de massa corporal e circunferência da cintura: um estudo de base populacional com adultos no Sul do Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 33.

Chapuy, M. C., Arlot, M. E., Duboeuf, F., Brun, J., Crouzet, B., Arnaud, S., Delmas, P. D. & Meunier, P. J. Vitamin D₃ and Calcium to Prevent Hip Fractures in Elderly Women (1992). *N Engl J Med*, 327, 1637-42.

Fernandes, S. C. (2013). Via da vitamina D em tumores de mama de cadelas (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Forman, J. P., Curhan, G. C., Taylor, E. N. (2008). Plasma 25-Hydroxyvitamin D Levels and Risk of Incident Hypertension Among Young Women. *Hypertension*, 52, 828-32.

Freeman, J., Wilson, K., Spears, R., Shalhoub, V. & Sibley, P. (2015). Performance evaluation of four 25-hydroxyvitamin D assays to measure 25-hydroxyvitamin D₂. *Clinical biochemistry*, 48(16-17), 1097-1104.

Frias, A. I. M. (2016). Relatório de estágio: mestrado em análises clínicas (Master's thesis).

Garcia, V. C. (2011). Relação entre estado nutricional da vitamina D e pressão arterial em adultos residentes na cidade de São Paulo (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Gonçalves, F. D. T. (2010). Genes de reparo do DNA e de susceptibilidade genética em pacientes com melanoma maligno (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Herr, C., Greulich, T., Koczulla, R., Meyer, S., Zakharkina, T., Branscheidt, M., Eschmann, R., Bals, R. (2011). The role of vitamin D in pulmonary disease: COPD, asthma, infection, and cancer. *Respiratory Research*, 12-31.

Herrero, M. A., Fernández, A. A., Lozano, M. Á. G., Parga, L. L., Paz, R. A. P., Abelló, E. G. & García, J. V. (2018). Déficit de vitamina D en pacientes en hemodiálisis y factores relacionados. *Enferm Nefrol*, 21(1), 18-24.

Holick, D. M. (2016). Vitamina D – como um simples tratamento pode tratar doenças tão importantes. 1ª edição. Marcador Editora, Barcarena.

Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R. P., Murad, M. H. & Weaver, C. M. (2011). Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 96, 1911–30.

Hutchinson, P. E., Osborne, J. E., Lear, J. T., Smith, A. G., Bowers, P. W., Morris, P. N., Jones, P. W., York, C., Strange, R. C. & Fryer, A. A. (2000). Vitamin D Receptor Polymorphisms Are Associated with Altered Prognosis in Patients with Malignant Melanoma. *Clinical Cancer Research*, 6, 498–504.

Jorge, A. J. L., Cordeiro, J. R., Rosa, M. L. G. & Bianchi, D. B. C. (2018). Deficiência da Vitamina D e Doenças Cardiovasculares. *Int J Cardiovasc Sci*, 31(4), 422-432.

Koivula, M. K., Matinlassi, N., Laitinen, P. Ä. I. V. I. & Risteli, J. U. H. A. (2013). Four automated 25-OH total vitamin D immunoassays and commercial liquid chromatography tandem-mass spectrometry in Finnish population. *Clin Lab*, 59(3-4), 397-405.

Köstner, K. I. M., Denzer, N., Mueller, C. S., Klein, R., Tilgen, W. & Reichrath, J. (2009). The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. *Anticancer research*, 29(9), 3511-3536.

Labronici, P. J., Blunck, S. S., Lana, F. R., Esteves, B. B., Franco, J. S., Fukuyama, J. M., Pires, R. E. S. (2013). Vitamina D e sua relação com a densidade mineral óssea em mulheres na pós-menopausa. *Rev Bras Ortop.*, 48(3), 228-35.

Lewiecki, E. M., Silverman, S. L. (2006). Redefining Osteoporosis Treatment: Who to Treat and How Long to Treat. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 50(4), 694-704.

López G. E., Orces, C. H., Guerrero, F. K., Segale, B. A., Veliz, O. J. & Bajaaná, G. W. (2018). Insuficiencia de vitamina D en mujeres postmenopáusicas ecuatorianas con diabetes mellitus tipo 2. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, 10(1), 7-14.

Łukaszyk, E., Bień-Barkowska, K. & Bień, B. (2018). Cognitive Functioning of Geriatric Patients: Is Hypovitaminosis D the Next Marker of Cognitive Dysfunction and Dementia?. *Nutrients*, 10(8).

Maeda, S. S. & Lazaretti-Castro, M. (2014). An overview on the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 58(2), 162-171.

Maroco, J. (2007). Análise Estatística – com utilização do SPSS. 3ª edição. Edições Sílabo, Lisboa.

Marques, C. D. L., Dantas, A. T., Fragoso, T. S. & Duarte, A. L. B. P. (2010). A importância dos níveis de vitamina D nas doenças autoimunes. *Rev Bras Reumatol*, 50(1), 67-80.

Martineau, A. R, Jolliffe, D.A., Hooper, R.L., Greenberg, L., Aloia, J.F., Bergman. P. (2018). Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review. *Rev Port Med Geral Fam*, 34, 48-50.

Mehrotra, R., Kermah, D., Budoff, M., Salusky, I. B., Mao, S. S., Gao, Y. L., Takasu, J., Adler, S. & Norris, K. (2008). Hypovitaminosis D in Chronic Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 3, 1144–51.

Moreira, R. O., Duarte, M. P. & Farias, M. L. F. (2004). Distúrbios do eixo cálcio-PTH-vitamina D nas doenças hepáticas crônicas. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 48(4), 443-50.

Neuhouser, M. L., Sorensen, B., Hollis, B. W., Ambis, A., Ulrich, C. M., McTiernan, A., Bernstein, L., Wayne, S., Gilliland, F., Baumgartner, K., Baumgartner, R. & Ballard-Barbash, R. (2008). Vitamin D insufficiency in a multiethnic cohort of breast cancer Survivors. *Am J Clin Nutr*, 88, 133–9.

Ongaratto, R. (2015). *Associação entre hipovitaminose D e frequência de exacerbações pulmonares em crianças e adolescentes com fibrose cística* (Master's thesis, Universidade Católica do Rio Grande do Sul).

Pedrosa-Castro, M. A. C. & Lazaretti-Castro, M. (2005). Papel da vitamina D na função neuro-muscular. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 49(4), 495-502.

Premaor, M. O. & Furlanetto, T. W. (2006). Hipovitaminose D em adultos: entendendo melhor a apresentação de uma velha doença. *Arquivos brasileiros de endocrinologia & metabologia*, 50 (1), 25-37.

Rech, C. (2014). *Vitamina D e sua relação com a resistência à ação da insulina em portadores de diabetes mellitus tipo 2.* (Master's thesis, Universidade Federal de Santa Catarina).

Restrepo Valencia, C. A. & Aguirre Arango, J. V. (2016). Vitamin D (25 (OH) D) in patients with chronic kidney disease stages 2-5. *Colombia Médica*, 47(3), 160-166.

Rocha, L. M., Baldan, D. C. D. S., Souza, A. L., Chaim, E. A., Pavin, E. J. & Alegre, S. M. (2017). Body composition and metabolic profile in adults with vitamin D deficiency. *Revista de Nutrição*, 30(4), 419-430.

Santos, A., Amaral, T. F., Guerra, R. S., Sousa, A. S., Álvares, L., Moreira, P. & Borges, N. (2017). Vitamin D status and associated factors among Portuguese older adults: results from the Nutrition UP 65 cross-sectional study. *BMJ open*, 7(6).

Scolaro, B. L., Barretta, C., Matos, C. H., Malluta, E. F., Almeida, I. B. T. D., Braggio, L. D. & Specht, C. M. (2018). Deficiency of vitamin D and its relation with clinical and laboratory activity of inflammatory bowel diseases. *Journal of Coloproctology (Rio de Janeiro)*, 38(2), 99-104.

Schuch, N. J., Garcia, V. C., Martini, L. A. (2009). Vitamina D e doenças Endocrinometabólicas. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, 53(5), 625-33.

Shu, M. M., Canhos, A. L., Ocampos, G. P., Plapler, P. G., Camargo, O. P. & Rezende, M. U. D. (2018). Profile of patients with osteoporotic fractures at a tertiary orthopedic trauma center. *Acta Ortopédica Brasileira*, 26(2), 117-122.

Silva, A. C. M. D. (2016). Vitamina D, atividade física e tempo de tela em escolares do estudo de riscos cardiovasculares em adolescentes (ERICA). (Doctoral dissertation, Universidade de Brasília).

Silva, A. M., Ferreira, M. A., Freitas, C., & Borges, F. (2013). Elevação isolada da paratormona após paratiroidectomia por hiperparatiroidismo primário. *Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo*, 8(1), 40-43.

Terol, A. M. (2013). Vitamina D y Cáncer. *Instituto de Investigaciones Biomédicas de Madrid*.

Tomita, I. N. & Bulhões, L. O. S. Comparação de métodos para a determinação analítica de antibióticos do tipo b-lactamas. (Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos).

Valero Chávez, F. J., Luengo Pérez, L. M., & Cubero Juárez, J. (2016). Adecuación de las peticiones de los niveles de vitamina D al laboratorio. *Nutrición Hospitalaria*, 33(5), 1159-1163.

Vasconcelos, R. S. D., Viégas, M., Marques, T. F., Diniz, E. T., Lucena, C. S., Câmara Neto, J. B. & Bandeira, F. (2010). Factors associated with secondary hyperparathyroidism

in premenopausal women undergoing Roux-en-Y gastric bypass for the treatment of obesity. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 54(2), 233-238.

Vieth, R., Ladak, Y. & Walfish, P. G. (2003). Age-Related Changes in the 25-Hydroxyvitamin D *Versus* Parathyroid Hormone Relationship Suggest a Different Reason Why Older Adults Require More Vitamin D. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(1), 185–91.

Wierzbicka, E., Szalecki, M., Pludowski, P., Jaworski, M. & Brzozowska, A. (2016). Vitamin D status, body composition and glycemc control in Polish adolescents with type 1 diabetes. *Minerva endocrinologica*, 41(4), 445-455.