



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

RAMARA KADIJA FONSECA SANTOS

**Presença de polimorfismos genéticos no receptor de vitamina D e padrão da
reserva corporal de micronutrientes e suas relações com os marcadores lipídicos,
do controle glicêmico, e da resposta inflamatória de indivíduos com diabetes
mellitus tipo 2**

Aracaju/SE

2024



RAMARA KADIJA FONSECA SANTOS

Presença de polimorfismos genéticos no receptor de vitamina D e padrão da reserva corporal de micronutrientes e suas relações com os marcadores do controle glicêmico, perfis lipídico e inflamatório de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador (a): Profa. Dra. Ana Mara de Oliveira e Silva

Coorientador (a): Profa. Dra. Liliane Viana Pires

Aracaju/SE

2024

RAMARA KADIJA FONSECA SANTOS

Presença de polimorfismos genéticos no receptor de vitamina D e padrão da reserva corporal de micronutrientes e suas relações com os marcadores do controle glicêmico, perfil lipídico e inflamatório de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde.

Aprovada em: _29/_02/_2024_____

Orientador (a): Prof.(a) Dr.(a) Ana Mara de Oliveira e Silva
Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. Danilo Rodrigues Pereira da Silva
Universidade Federal de Sergipe

Prof.(a) Dr.(a) Márcia Ferreira Cândido de Souza
Universidade Federal de Sergipe

Prof.(a) Dr.(a) Carla Soraya Costa Maya
Universidade Estadual do Ceará

Prof. (a) Dr.(a) Cristiane Cominetti
Universidade Federal de Goiás

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA SAÚDE – BISAU
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

S237p Santos, Ramara Kadija Fonseca
Presença de polimorfismos genéticos no receptor de vitamina D e padrão da reserva corporal de micronutrientes e suas relações com os marcadores do controle glicêmico, perfil lipídico e inflamatório de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 / Ramara Kadija Fonseca Santos ; orientadora Ana Mara de Oliveira e Silva ; coorientadora Liliane Viana Pires. – Aracaju, 2024.
89 f. : il.

Tese (doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, 2024.

1. Ciências da saúde. 2. Diabetes mellitus. 3. Vitamina D. 4. Glicemia. 5. Inflamação. 6. Micronutrientes. I. Silva, Ana Mara de Oliveira e, orient. II. Pires, Liliane Viana, coorient. III. Título.

CDU 616.379-008.64

*Ao meu filho Gabriel por ser minha maior força
e estímulo em persistir.*

*Aos Nutricionistas que buscam diariamente
mudar vidas pela alimentação.*

*Aos pesquisadores que acreditam e lutam
diariamente pela ciência.*

“O que é escrito sem esforço em geral é lido
sem prazer”
Samuel Johnson

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus e todos os anjos de luz que me acompanharam e me guiaram até aqui fazendo com que minha fé não fosse abalada mesmo em momentos de adversidades, e me mostraram as melhores escolhas a serem tomadas durante essa desafiadora trajetória. Dentre esses anjos, agradeço ao meu filho Gabriel, meu anjo, que anunciou as boas vindas em meus caminhos e iluminou cada cantinho que passei depois da sua chegada. Obrigada por ter me escolhido, por ter me ensinado sobre ser forte, por me mostrar como certos momentos da vida, por mais que difíceis, podem ser leves. Te agradeço meu filho, por todos “te amo” antes de dormir, por todos abraços e carinhos trocados após um dia que parecia não ter fim, e por entender, mesmo tão novinho, todos os momentos que mamãe precisou ficar longe de você para concluir essa etapa. Eu te amo!

Minha mais sincera gratidão ao meu esposo. Obrigada por acreditar em mim mesmo em momentos que nem eu mesma acreditei. Obrigada por me permitir continuar, por compreender minha ausência, por relevar meus picos de estresse e por zelar por mim durante todo esse período. Essa vitória é nossa, você foi essencial nesse percurso!

Aos meus pais, meus irmãos e demais familiares, que tanto torceram por mim, que me promoveram os melhores momentos para renovar as energias e enfrentar cada batalha ao longo desse percurso. Vocês serão minha base sempre. Em especial, agradeço a minha prima e comadre Lys, à Tia Nita, Aimée, Levi e Ronei. Obrigada por todo apoio, por perceberem a exaustão tomando conta de mim e serem o suporte que eu precisei nesse trajeto. Amo muito vocês!

À minha orientadora Ana Mara. Faltam palavras para expressar tamanha gratidão. Você foi a responsável para que eu continuasse trilhando meu sonho. Suas palavras e seu apoio desde o momento da descoberta da gestação até quando eu achei que a sobrecarga da vida não me deixaria concluir essa etapa foram fundamentais. Obrigada pela disponibilidade em fazer reuniões depois dos nossos filhos dormirem, quase nas madrugadas, obrigada por entender toda vez que Gabriel estava com febre, pela preocupação, pela compreensão. Você tem o dom da praticidade, do raciocínio, mas seu lado materno é externado aos seus alunos pelos quais você zela de uma maneira exemplar. Me espelho em você, em seguir seus passos. Que sorte a minha ter você como orientadora, e ter você em minha vida. Nossa relação é externada pela amizade de nossos filhos e isso me engrandece a alma.

À minha coorientadora Liliane Viana Pires. Obrigada por colocar cada degrau em minha escada para que chegasse aqui. Obrigada por não ter me soltado. Obrigada por ler cada

linha de tudo que eu faço, por estar comigo aos quarenta e cinco minutos de cada segundo tempo. Obrigada pelas orações, pelas demonstrações de carinho, por acreditar em mim, por me alertar que eu precisava dormir, por conversar sobre a vida. Você é a fada que nunca quero perder na vida. Espero que nossa amizade nunca se abale. Serei sempre sua orientanda e amiga, conte comigo!

Chegar até o final desse percurso sozinha seria impossível. Mas Deus, que nunca me desampara trata de colocar e recolocar as pessoas certas em minha vida. E agradeço a ele pela vida delas em todas as minhas orações.

Não chegaria aqui se minha prima Isana não tivesse reaparecido em minha vida após quase vinte anos sem eu ter contato. Reencontro de almas. Lembro do abraço que dei nela quando fui vê-la na casa da nossa avó. Foi a sensação mais incrível. Dias depois ela passou a cuidar de nosso Gabriel como eu nunca poderia imaginar que alguém cuidaria. Lembro de cada momento que me vi na porta do quarto observando o tanto de amor que ela dava ao meu filho enquanto eu estava vivendo loucamente os primeiros dois anos do doutorado. “Nana” digo sem medo de errar: devo esse título a você! Você foi meu chão, meus braços, minha cabeça, meu coração durante todo o período que você passou aqui. Obrigada, obrigada e obrigada! Conta comigo para tudo! Você e a família que você construiu terão sempre o apoio dessa prima aqui.

À Lorena e Robinho. Obrigada por tudo! Por perceberem quando eu estava triste ou quando ansiedade estava me assolando. Por serem minha base aqui em Sergipe, por se preocuparem tanto comigo e com Gabriel. Pelos almoços, jantares, momentos de conversa fiada, resenhas e risadas. Tão bom ter vocês comigo! Levarei vocês para onde eu for.

Aos presentes que a UFS me deu. Minha amiga Paula Brandão. Amiga, sou muito grata pela sua amizade. Você que me socorre quando eu mais preciso. Nossas conversas por vídeo foram acalantos à alma. Você foi essencial para que eu conseguisse avançar. Obrigada por tudo! Te amo! Externo meus agradecimentos à toda sua família, por ter me acolhido desde o primeiro dia que os conheci.

Ao outro presente, Charlene. Chai, obrigada pelas conversas mais sinceras e precisas que você teve comigo desde que cheguei à UFS, pelos cafés cheios de amor, que acalmam a alma e o coração, pelos rolês, pelos sorrisos. Tenho a sorte de ter ganhado vocês de presente. Agradeço também a todos do LABNUT. Todo meu percurso acadêmico tem cheirinho de LABNUT. Lá construí lindos laços. Aprendi tudo sobre pesquisa, análises e muito sobre a vida.

Agradeço ao professor Silvânio Costa pela parceria, pela disponibilidade e por não medir esforços para ajudar em uma parte crucial do trabalho. Essa parceria não acabará nunca! Muito obrigada mesmo!

À Liga Acadêmica de Nutrição em Diabetes (LANUD). Às Secretarias Municipais de Saúde de Aracaju e São Cristóvão por terem permitido a realização dessa pesquisa nas Unidades Básicas de Saúde (UBS). Ao Cafisio, pela disponibilização de uma sala para realização das coletas e ao Ulabclin (Hospital Universitário), por possibilitar a realização de algumas análises bioquímicas. Ao Centro de Diabetes de Sergipe, pelo auxílio no recrutamento de voluntários. À Dimese, pela parceria na realização da análise de peptídeo C. Agradecimento especial às equipes de saúde de família das Unidades Básicas de Saúde, em especial aos agentes comunitários de saúde, por toda dedicação e esforço no recrutamento de voluntários.

Agradeço de todo o coração aos voluntários que aceitaram participar desta pesquisa e aos laboratórios parceiros: Lanef, Lafac, LAFAPI, GMBio, LQA e Laboratório de Enzimologia. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) pelo esforço em nos proporcionar o melhor. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos e pelo fomento disponibilizado para realização deste trabalho.

RESUMO

Presença de polimorfismos genéticos no receptor de vitamina D e padrão da reserva corporal de micronutrientes e sua relação com os marcadores do controle glicêmico, perfis lipídico e inflamatório de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, 2024.

Polimorfismos genéticos de nucleotídeos únicos (SNPs) e haplótipos no receptor da vitamina D (VDR), e as deficiências de vitamina D, magnésio (Mg), zinco (Zn), cálcio (Ca) e potássio (K) são fatores que isoladamente contribuem para o inadequado controle metabólico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2). Assim, o objetivo deste estudo foi testar a associação entre a presença de SNPs no VDR, haplótipos e padrões da reserva corporal de micronutrientes com marcadores do controle glicêmico, lipídico e perfil inflamatório de indivíduos com DM2. Para isso, uma metanálise avaliou a associação entre a presença dos SNPs no VDR e marcadores do controle glicêmico, lipídico e perfil inflamatório de indivíduos com DM2, seguindo as orientações do MOOSE e registrada no PROSPERO (nºCRD42021268152). A busca sistemática dos dados foi realizada nas bases de dados PubMed, EMBASE e SCOPUS. Foram incluídos estudos que compararam os valores de marcadores do controle glicêmico, perfil lipídico e inflamatório entre os genótipos identificados. A qualidade dos estudos foi avaliada pela escala da *Newcastle-Ottawa*. Os tamanhos de efeito foram testados utilizando modelo de efeito randômico e reportados em diferença padronizada de média (SMD) e intervalo de confiança 95% (IC95%). Paralelamente, estudo observacional, transversal foi realizado com 160 adultos com DM2, ambos os sexos, residentes em Sergipe. Foram coletadas informações sociodemográficas, realizada avaliação antropométrica e da composição corporal, e colhido sangue para identificação dos SNPs, e avaliação dos marcadores bioquímicos de controle glicêmico e lipídico. A frequência dos SNPs, desequilíbrio de ligação e o teste de Hardy-Weinberg foram calculados e SNPs com frequência maior que 1% inseridos no modelo dos haplótipos. Os SNPs e haplótipos, e os padrões da reserva corporal de micronutrientes, estabelecidos por meio da análise de componentes principais e estratificados em quartis foram inseridos nos testes de modelos de regressão logística binária (variáveis dependentes valores de alvo terapêutico para a glicemia de jejum, percentual de hemoglobina glicada (%HbA1c) e (Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance (HOMA-IR) ajustados para sexo, idade, tempo de diagnóstico e Índice de Massa Corporal (IMC), significância $p < 0,05$. A metanálise identificou quatro SNPs: FokI (rs2228570); BsmI (rs1544410); TaqI (rs731236) e Apal (rs7975232). Os SNPs FokI e BsmI foram associados com maior %HbA1c (SMD=0.409, $p=0,002$) e triacilglicerol (SMD=0.206, $p=0,023$), respectivamente. No estudo observacional, o SNP BsmI se associou ao aumento do %HbA1c (OR=2.071, $p=0.045$), mas os haplótipos não contribuíram para o inadequado controle glicêmico. Dois padrões da reserva corporal de micronutrientes foram estabelecidos. Os menores quartis dos Padrão 1 (Mg, Zn, Ca e K) e Padrão 2 (25(OH)D e Zn) apresentaram 4,319 ($p=0,019$), e 3,970 ($p = 0,038$) vezes mais chances de aumentar os valores de HOMA-IR e %HbA1c, respectivamente. Conclui-se que os SNPs FokI e BsmI no VDR e padrão da reserva corporal de micronutrientes explicados pelas menores concentrações de 25(OH)D, Zn, Mg, Ca e K contribuem para o mau controle metabólico de indivíduos com DM2.

Descritores: diabetes tipo 2. vitamina D. glicemia. Inflamação. Micronutrientes. receptor de vitamina D. polimorfismo genético.

ABSTRACT

Presence of genetic polymorphisms in the vitamin D receptor and pattern of micronutrient body reserves and their relationship with markers of glycemic control, lipid profile and inflammation in individuals with type 2 diabetes mellitus. Federal University of Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, 2024.

Genetic single nucleotide polymorphisms (SNPs) and haplotypes in the vitamin D receptor (VDR), and deficiencies in vitamin D, magnesium (Mg), zinc (Zn), calcium (Ca) and potassium (K) are factors that alone contribute to inadequate metabolic control in individuals with type 2 diabetes mellitus (DM2). Thus, the aim of this study is to associate the presence of SNPs in the VDR, haplotypes and patterns of micronutrient body reserves with markers of glycemic control, lipid levels and inflammatory profile in individuals with DM2. To this end, a meta-analysis evaluated the association between the presence of SNPs in the VDR and markers of glycemic control, lipid levels and inflammatory profile in individuals with DM2, following the MOOSE guidelines and registered with PROSPERO (n^oCRD42021268152). A systematic search of the data was carried out in the PubMed, EMBASE and SCOPUS databases. Studies comparing the values of markers of glycemic control, lipid profile and inflammation between the identified genotypes were included. The quality of the studies was assessed using the Newcastle-Ottawa scale. Effect sizes were tested using a random-effects model and reported as standardized mean difference (SMD) and 95% confidence interval (95%CI). In parallel, an observational, cross-sectional study was carried out with 160 adults with DM2, both sexes, living in Sergipe. Sociodemographic information was collected, anthropometric and body composition assessments were carried out, and blood was drawn to identify SNPs and assess biochemical markers of glycemic and lipid control. The frequency of SNPs, linkage disequilibrium and the Hardy-Weinberg test were calculated and SNPs with a frequency greater than 1% were inserted into the haplotype model. The SNPs and haplotypes, and the micronutrient body reserve patterns established by principal component analysis and stratified into quartiles, were entered into the binary logistic regression model tests (dependent variables therapeutic target values for fasting glycemia, percent of glycated hemoglobin (%HbA1c) and Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance (HOMA-IR) adjusted for gender, age, time of diagnosis and BMI, significance $p < 0.05$). The meta-analysis identified four SNPs: FokI (rs2228570); BsmI (rs1544410); TaqI (rs731236) and ApaI (rs7975232). The FokI and BsmI SNPs were associated with higher %HbA1c (SMD=0.409, $p=0.002$) and triacylglycerol (SMD=0.206, $p=0.023$), respectively. In the observational study, the BsmI SNP was associated with increased %HbA1c (OR=2.071, $p=0.045$), but the haplotypes did not contribute to inadequate glycemic control. Two patterns of body micronutrient reserve were established. The lowest quartile of Pattern 1 (Mg, Zn, Ca and K) and Pattern 2 (25(OH)D and Zn) were 4.319 ($p=0.019$) and 3.970 ($p=0.038$) times more likely to increase HOMA-IR and %HbA1c values, respectively. It is concluded that SNPs in the VDR and the pattern of micronutrient body reserves explained by the lower concentration of 25(OH)D, Zn, Mg, Ca and K contribute to poor metabolic control in individuals with DM2.

Descriptors: type 2 diabetes; vitamin D; glycemia; inflammation; micronutrients; vitamin D receptor; genetic polymorphism.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2	16
2.2	Aspectos metabólicos da diabetes <i>mellitus</i> tipo 2	17
2.3	Papel da vitamina D no controle glicêmico, lipídico e resistência à insulina na diabetes <i>mellitus</i> tipo 2	24
2.3.1	Relação da presença de SNPs e haplótipos no gene VDR com controle metabólico na diabetes <i>mellitus</i> tipo 2	26
2.4	Papel dos minerais zinco, magnésio, cálcio e potássio no controle glicêmico e resistência à insulina em indivíduos com diabetes <i>mellitus</i> tipo 2	31
3	OBJETIVOS.....	34
3.1	Objetivo Geral	34
3.2	Objetivos específicos.....	34
4.	Casuística e métodos	36
4.1	Objetivo específico 1	36
4.1.1	Estratégia de busca	36
4.1.2	Critérios de elegibilidade	38
4.1.3	Seleção dos estudos e extração dos dados	38
4.1.4	Avaliação da qualidade metodológica	39
4.2	Objetivos específicos 2 e 3	40
4.2.1	Casuística	40
4.2.2	Medidas antropométricas e de composição corporal	41
4.2.3	Coleta de amostras biológicas	42
4.2.4	Avaliação das concentrações de micronutrientes no plasma.....	42
4.2.5	Avaliação da concentração sérica de 25(OH)D e PTH	43
4.2.6	Avaliação dos marcadores bioquímicos do controle glicêmico.....	44
4.2.7	Extração do DNA, Genotipagem e identificação dos haplótipos	44

5. Análise estatística	45
6. Aspectos éticos	47
7. Resultados.....	47
7.1 Polimorfismos no gene do receptor de vitamina D, controle metabólico e inflamatório de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2: uma meta análise de estudos observacionais.....	48
7.1.1 Características dos estudos	49
7.1.2 Meta análise	54
7.1.3 Avaliação da qualidade metodológica	58
7.2 SNPs e haplótipos no gene do VDR, e padrão da reserva corporal de micronutrientes em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2.....	58
7.2.1 Característica da população	58
7.2.2 Associação entre a presença dos SNPs FokI (rs2228570), TaqI (rs731236) e BsmI (rs1544410), e haplótipos no gene do VDR e marcadores do controle glicêmico de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2	60
7.2.3 Associação entre o padrão da reserva corporal de micronutrientes, controle glicêmico e resistência à insulina em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2	64
8. Discussão	67
9. Conclusões e considerações finais.....	72
Referências	74
Apêndice A. Questionário socioeconômico e de anamnese nutricional.....	87
Anexo 1. Comprovante de publicação de artigo em periódico Qualis A1 medicina Capes.	90
Anexo 2. Comprovante submissão artigo Qualis A1 medicina Capes	91

1 INTRODUÇÃO

A diabetes *mellitus* tipo 2 é uma doença de etiologia complexa e multifatorial, (Langenberg; Lotta, 2018; Reisberg et al., 2017; Travers; McCarthy, 2011), influenciada pela interação entre fatores genéticos (Schillinger et al., 2023) como a presença de polimorfismos de nucleotídeos únicos (*Single Nucleotide Polymorphisms*, SNPs) e ambientais como as deficiências nutricionais (Bilous; Donnelly, 2010; Stumvoll; Goldstein; Haeften, 2005; Zakaria et al., 2021). Dentre os SNPs, localizados no gene do receptor de vitamina D (*Vitamin D Receptor*, VDR) e avaliados em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 destacam-se os SNPs FokI (rs2228570) (Mackawy; Badawi, 2014; Safar et al., 2018); BsmI (rs1544410) (Khan et al., 2019; Nam et al., 2021); TaqI (rs731236) (Bid et al., 2009; Safar et al., 2018a) e Apal (rs7975232) (Nam et al., 2021).

Esses SNPs podem alterar a ação da vitamina D na síntese, secreção e ação da insulina (Ortlepp et al., 2001; Safar et al., 2018; Uitterlinden et al., 2004), bem como contribuir para a resistência à insulina por comprometer a função da vitamina D como cofator na atividade de enzimas antioxidantes, e aumentar a secreção de citocinas pró-inflamatórias como as interleucinas, especialmente a interleucina 6 (IL6) e o fator de necrose tumoral alfa (*Tumor Necrosis Factor alpha*, TNF-alfa) (Zhong et al., 2014). Além disso, SNPs no VDR foram associados às alterações no metabolismo de lipídios e consequentemente inadequado perfil lipídico em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 (Han et al., 2017; Paulo, 2011). Os estudos que avaliam a relação entre os SNPs no gene VDR e o controle metabólico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 são controversos (Han et al., 2017; Paulo, 2011), sendo que a localização dos SNPs e formação de haplótipos podem explicar esses resultados (Razi et al., 2018; Uitterlinden et al., 2004).

Adicionalmente, a adequada reserva corporal de micronutrientes favorece o controle glicêmico, adequado perfil lipídico e melhora da resposta inflamatória em humanos (Dubey; Thakur; Chattopadhyay, 2020; Valdés-Ramos et al., 2015; Vondra; Hampl, 2021). Indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 apresentam deficiência de micronutrientes envolvidos diretamente em processos de síntese, secreção e ação da insulina, tais como a vitamina D avaliada pela concentração sérica de 25 hidroxivitamina D (25(OH)D), e plasmática do Zinco (Zn), Magnésio (Mg), Cálcio (Ca) e Potássio (K) (Valdés-Ramos et al., 2015).

O Zn, via transportador de zinco 8 (ZnT8), contribui para armazenamento de moléculas de insulina mais estáveis (Chausmer, 1998), e enquanto a expressão de VDRs

nas células beta pancreáticas explica a ação da vitamina D na síntese da insulina (Neelankal John; Jiang, 2018; Zeitz et al., 2003) e sua secreção a partir da indução dos canais de Ca. A vitamina D ainda favorece a homeostase do Ca, Mg e K (Christakos et al., 2017; Pittas et al., 2007). O Ca e o K são essenciais para a exocitose dos grânulos de insulina do citoplasma para a membrana plasmática e sua consequente secreção pelas células beta pancreáticas (Berridge, 2017; Szymczak-Pajor, Drzewoski; Śliwińska, 2020). Já o Mg atua na fosforilação dos receptores de insulina (*Insulin Receptors* – IR), levando assim à translocação do transportador de glicose 4 (*Glucose transportes* GLUT-4) e captação de glicose pelos tecidos periféricos (Huang, 2014). A resposta à ação dos micronutrientes no metabolismo da glicose é individual e leva em consideração as características genéticas do indivíduo e a interação com o ambiente (Khan et al., 2019; Travers; McCarthy, 2011).

Estudos que avaliam os micronutrientes de maneira conjunta no controle metabólico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 não são reportados na literatura, no entanto, isoladamente exercem funções importantes na homeostase do metabolismo da glicose, perfis lipídico e inflamatório e consequentemente na melhor resposta a ação da insulina (Chausmer, 1998; Neelankal John; Jiang, 2018; Szymczak-Pajor; Drzewoski; Śliwińska, 2020).

Apesar de fatores genéticos e ambientais interagirem na gênese da diabetes *mellitus* tipo 2, e da literatura reportar a relação entre a presença de SNPs no VDR com o maior risco de desenvolver a doença (Han, et al., 2017; Liu et al., 2021), ainda não está esclarecida a associação entre a presença dos SNPs no gene do VDR e seus haplótipos com o controle glicêmico, perfil lipídico e inflamatório de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2. Ao mesmo tempo padrões da reserva corporal de micronutrientes e sua associação com variáveis preditoras do controle glicêmico não foram estabelecidas em indivíduos com este tipo de diabetes. Desta maneira, este estudo justifica-se pela possibilidade de discutir de maneira concomitante aspectos genéticos e ambientais que estão associados com o controle metabólico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 e assim contribuir para elucidação de lacunas científicas inerentes ao tema. Além disso, pode subsidiar ensaios clínicos randomizados (ECR) que busquem avaliar o efeito de estratégias nutricionais para o controle glicêmico, melhora do perfil lipídico e da ação da insulina que considerem características genéticas e padrões de reserva corporal de micronutrientes em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Diabetes *mellitus* tipo 2

A diabetes *mellitus* tipo 2 é uma doença crônica caracterizada por hiperglicemia persistente decorrente da falha na síntese, secreção e ação da insulina, ou da associação desses fatores (Elsayed et al., 2023). O Brasil encontra-se em sexto lugar no *ranking* mundial de diagnóstico de diabetes com 15.733,6 milhões de pessoas com idade entre 20 e 79 anos diagnosticados com algum tipo da doença no país no ano de 2021 (IDF, 2021). Dados atualizados do Inquérito “Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico – VIGITEL”, publicados em 2023, mostram frequência de diagnóstico de 10,2% de algum tipo de diabetes no Brasil, sendo que na cidade de Aracaju a frequência é de 9,6% (95% IC 7,3 – 11,9) (Brasil, 2023).

A diabetes *mellitus* tipo 2 é uma doença poligênica (Langenberg; Lotta, 2018; Reisberg et al., 2017; Travers; McCarthy, 2011), cuja manifestação é influenciada por fatores como hábitos alimentares e inatividade física (Schillinger et al., 2023), e corresponde a 90 a 95% dos mais de 536 milhões de diagnósticos de diabetes no mundo em indivíduos com idade entre 20 e 79 anos (IDF, 2021). Ainda, a diabetes *mellitus* tipo 2 é considerada uma doença crônica onerosa tanto para o indivíduo quanto para o estado, uma vez que o inadequado controle metabólico do indivíduo com a doença está associado ao risco aumentado de doenças cardiovasculares, retinopatia, nefropatia e neuropatia diabéticas e amputações (Chatterjee; Khunti; Davies, 2017; IDF, 2021), como sendo observado que no Brasil, cerca de 30% dos custos do Sistema Único de Saúde (SUS) com hospitalizações, procedimentos ambulatoriais e medicamentos são referentes ao cuidado da diabetes (Nilson et al., 2020).

Indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 são normalmente oligossintomáticos ou assintomáticos, sendo os sintomas manifestados após anos de exposição à hiperglicemia (SBD, 2023). Os principais sintomas da diabetes são poliúria, polidipsia, perda repentina de peso e visão turva, e o principal sinal clínico é a presença da acantose *nigricans*, característica da resistência à insulina presente primordialmente em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 (SBD, 2023).

Nesse sentido, recomenda-se o rastreamento da doença em indivíduos assintomáticos com mais de 45 anos de idade que apresentem sobrepeso e/ou obesidade, e pelo menos mais um dos fatores de risco associados, como: histórico familiar de

diabetes em parentes de primeiro grau, ser afro descendente, hispânico e indígena, ter histórico de doença cardiovascular, hipertensão arterial, elevados valores de triacilglicerol, acantose *nigricans*, pré-diabetes, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (*human immunity vírus* – HIV) e mulheres com síndrome dos ovários policísticos e história de diabetes gestacional (ADA, 2019).

O diagnóstico da diabetes *mellitus* tipo 2 se dá mediante confirmação de pelo menos um dos critérios: concentrações de glicemia em jejum ou glicose ao acaso maior que 126 mg/dL (7,0 mmol/L), teste oral de tolerância à glicose (após 2 horas de administração da carga oral de 75 g de glicose) maior que 200 mg/dL (11,1 mmol/L) e percentual de hemoglobina glicada (%HbA1c) maior que 6,5 % (48,0 mmol/L) (Elsayed et al., 2023).

A principal característica metabólica observada em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 é a disfunção da atividade da insulina nos processos de captação de glicose, glicogênese, gliconeogênese e regulação da lipólise e lipogênese (SBD, 2023; Stumvoll; Goldstein; Haeften, 2005).

2.2 Aspectos metabólicos da diabetes *mellitus* tipo 2

A diabetes *mellitus* tipo 2 é caracterizada pela hiperglicemia, hiperinsulinemia, hiperglucagonemia, resistência dos tecidos periféricos à ação da insulina, aumento da produção hepática de glicose, disfunção das incretinas, aumento da lipólise e, consequentemente, de ácidos graxos livres circulantes, aumento da reabsorção renal da glicose e diferentes graus de deficiência na síntese e secreção da insulina (SBD, 2023; Stumvoll; Goldstein; Haeften, 2005).

A insulina é um polipeptídeo composto por 51 aminoácidos, sintetizada pelas células beta nas ilhotas de *Langerhans* do pâncreas mediante a ativação do gene da insulina (Boland; Rhodes; Grimsby, 2017), que codifica o precursor pré-pró insulina com uma sequência de sinal N terminal, permitindo sua entrada no lúmen do retículo endoplasmático rugoso e facilitando o dobramento e formação da pró-insulina, um pró-hormônio composto por três cadeias peptídicas, cadeia A, B e C e estabilizado por três ligações de sulfeto (Steiner et al., 1976). Por meio da ação de duas enzimas pró-hormônios convertase sensíveis ao cálcio, a PCSK2 (PC2) e PCSK3 (PC1/3), ocorre a quebra da pró-insulina, o que dá origem a duas moléculas de insulina (cadeias A e B) e uma molécula denominada peptídeo C (cadeia C) (Shennan et al., 1995). A pró-insulina é então

transportada do retículo endoplasmático rugoso para o complexo de Golgi, onde é armazenada em grânulos de insulina imaturos, sendo secretada em processo estimulado pela glicose (Boland; Rhodes; Grimsby, 2017; Steiner et al., 1976).

A falha na síntese e secreção da insulina é uma das características inerentes ao processo patológico da diabetes *mellitus* tipo 2, implicando em necessidade de insulinoterapia, normalmente após dez anos de diagnóstico da doença. O aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (*reactive oxygen specie* - ROS) nas células beta, e menor atividade de sistemas antioxidantes enzimáticos nas mesmas podem explicar tal característica (Stumvoll; Goldstein; Haeften, 2005).

A secreção da insulina se dá principalmente por estímulo da presença da glicose circulante, que penetra no citosol das células beta pancreáticas por mecanismo facilitado pelos GLUT1 e GLUT2 (Lee et al., 1994). No citosol, a glicose sofre ação da enzima glicoquinase, originando a glicose 6 fosfato, a qual é oxidada para a produção de adenosina trifosfato (ATP) (Mastrototaro; Roden, 2021; Saad, 2002). O aumento intracelular de ATP favorece o fechamento dos canais de potássio sensíveis a ATP, aumentando as concentrações de potássio no interior da célula, o que provoca alteração do potencial da membrana e despolarização da mesma. Com isto, estimula a abertura dos canais de cálcio e o influxo do cálcio para o interior da célula (Lee et al., 1994). Maior concentração intracelular de cálcio favorece o processo de exocitose dos grânulos de insulina para a membrana celular e sua secreção (Tokarz; Macdonald; Klip, 2018).

Após secretada, a insulina age nos tecidos-alvo (fígado, músculos e tecido adiposo) como principal mediadora de processos de captação de glicose, glicogênese e lipogênese, e como reguladora da gliconeogênese e lipólise (Saad, 2002). Nesses tecidos, a ação da insulina é iniciada pela sua ligação ao receptor de insulina (*Insulin Receptor* – IR), os quais possuem duas subunidades sendo uma alfa e uma beta (Saad, 2002). A ligação da insulina à subunidade alfa (localizada no meio extracelular) é o ponto inicial para a primeira etapa da cascata de sinalização da insulina, promovendo atividade tirosina quinase na subunidade beta (intracelular) (Tokarz; Macdonald; Klip, 2018). A autofosforilação da subunidade beta faz com que vários substratos do receptor de insulina (*insulin receptor substrate* – IRS) sejam fosforilados em tirosina, o que desencadeia o processo intracelular de sinalização da insulina (Saad, 2002). Falhas nos processos extra e intracelular da cascata de sinalização da insulina leva o indivíduo à resistência à ação desse hormônio com prejuízos importantes nas vias metabólicas que estão associadas ao desenvolvimento de doenças crônicas não-transmissíveis, como a diabetes *mellitus* tipo 2 (Lebovitz, 2001).

Os IRS1 e IRS2 são de maior relevância na cascata de sinalização da insulina, uma vez que o IRS1 possui 22 moléculas de tirosina e por isso tem elevada capacidade de fosforilação, enquanto o IRS2 possui 70% da capacidade de fosforilação do IRS (Saad, 2002). Os IRS1 e IRS2 fosforilados ativam a fosfatidilinositol 3-quinase (*phosphatidylinositol 3-kinase*, PI3K), que possui uma subunidade catalítica de 110 kDa e outra regulatória de 85 kDa contendo as porções SH2 e SH3 (Norton et al., 2022). Essa etapa de ativação da PI3K é considerada a principal via de ação da insulina, pois aumenta as concentrações de fosfatidilinositol-3-fosfato, considerado essencial para ativação da proteína quinase B (Akt), especificamente a Akt2, responsável por controlar a translocação do GLUT4 para a membrana celular e estimular a captação da glicose nas células musculares e adiposas (Holman; Sandoval, 2001).

A diabetes *mellitus* tipo 2 está relacionada principalmente à obesidade (Kahn; Hull; Utzschneider, 2006). A resistência à insulina é clinicamente definida como a incapacidade endógena ou exógena da insulina aumentar a utilização da glicose em populações normais (Lebovitz, 2001), e pode ocorrer em dois contextos: extracelular e intracelular (Ferrannini, 1998; Mastrototaro; Roden, 2021). No meio extracelular, o hormônio não consegue reconhecer e ligar-se à subunidade alfa do seu receptor, interrompendo o início da cascata de sinalização da insulina. Intracelular, ocorre a fosforilação em serina dos IRS mediada pela ação das citocinas inflamatórias e estresse oxidativo, não ativando as principais vias de atuação da insulina (Lebovitz, 2001).

Em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, a resistência à insulina é decorrente, pelo menos em parte, da inflamação crônica de baixo grau induzida pelo ganho de peso, o qual provoca aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias, tais como o TNF- α e as IL1 β e IL6, prejudiciais às etapas de sinalização da insulina (Czech, 2017; Kahn; Hull; Utzschneider, 2006). O TNF- α ativa o inibidor do fator nuclear Kappa -B quinase subunidade beta I kappa quinase beta (*inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta* – IKK β) (Weisberg et al., 2003), que fosforila IRS1 em serina, interrompendo a via da PI3K/Akt (Lebovitz, 2001; Mastrototaro; Roden, 2021). Ainda, a IL6 regula a expressão dos supressores da sinalização de citocinas (*Suppressors Of Cytokine Signalling* – SOCS) 1 e 3 que levam à ubiquitinação e degradação dos IRS, alterando sua fosforilação e inibindo a captação da glicose (Rehman et al., 2017; Weisberg et al., 2003).

No âmbito hepático, a ativação da via PI3K/Akt explica ainda a ação da insulina na glicogênese e gliconeogênese. A PI3K ativa a proteína fosfatase 1 e a Akt inativa a glicogênio sintase quinase-3 (*Glycogen Synthase Kinase-3*, GSK-3), e ambas

desfosforilam a glicogênio sintase aumentando sua atividade no processo de glicogênese (Norton et al., 2022). No tecido adiposo, a insulina ativa a proteína FoxO (*Forkhead box-containing gene, O subfamily*), que é substrato da Akt, exportando-a para o citoplasma. Assim a FoxO reduz a expressão de genes controlados por glicídios e promove a expressão de genes que aumentam a sensibilidade da insulina dos adipócitos. Além disso, aumenta a expressão endógena da glicose-6-fosfatase (G-6-Pase) e liga-se à fosfoenolpiruvato carboxiquinase (*phosphoenolpyruvate carboxykinase* - PEPCK) bloqueando a gliconeogênese (Haeusler et al., 2014).

Adicionalmente, no citosol de células hepáticas a FoXO1 possibilita a maior expressão do fator de transcrição da proteína 1c ligadora do elemento regulatório de esterol (*sterol response elemento-binding proteins- SREBP-1c*), estimulando a síntese de ácidos graxos em períodos de jejum. Enquanto que no tecido adiposo atua estimulando o acúmulo de triacilglicerol e do receptor ativado por proliferador de peroxissomo gama (PPAR- γ) dando à insulina a característica de principal hormônio no processo da lipogênese (Haeusler et al., 2014). Ademais, via redução da atividade da lipase hormônio sensível (LHS), mediada pela proteína quinase A (PKA), a insulina age normalmente inibindo a lipólise e impedindo a circulação de ácidos graxos livres na corrente sanguínea (Sakurai et al., 2021).

A figura 1 resume os mecanismos de ação da insulina nos processos de captação de glicose nos tecidos periféricos, lipólise, glicogênese, lipogênese e gliconeogênese via PI3K/Akt.

Figura 1. Ação da insulina via PI3K/AKT nos processos de captação de glicose, lipólise, glicogênese e lipogênese.

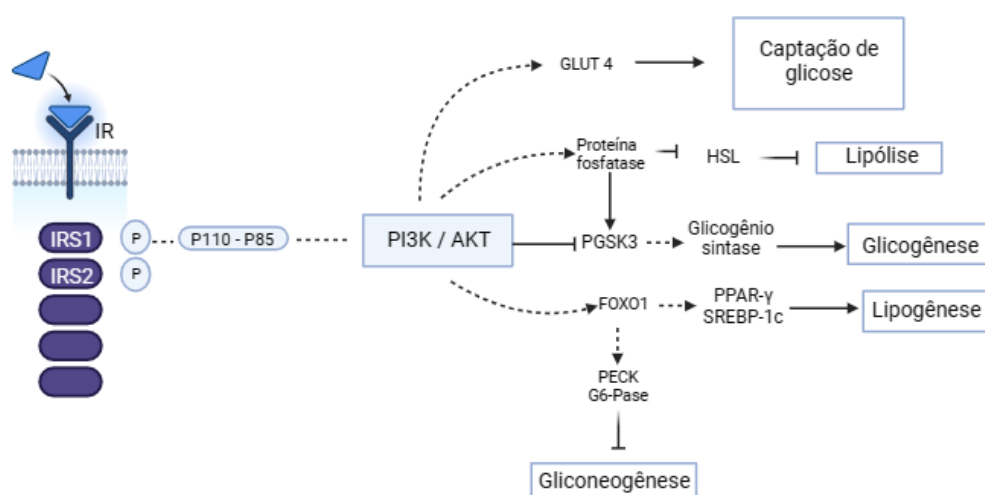


Imagem criada pelo próprio autor usando o site biorender.com. Adaptado de Lebovitz, (2001); Mastrototaro; Roden, (2021); Saad, (2002). Após secretada, a insulina age nos tecidos alvo (fígado, músculo e tecido adiposo) como principal mediadora de processos de captação de glicose, glicogênese e lipogênese, e como reguladora da gliconeogênese e lipólise. Nesses tecidos, a ação da insulina é iniciada pela sua ligação à subunidade alfa do receptor de insulina (*Insulin receptor*, IR) (extracelular), sendo o ponto inicial para a primeira etapa da cascata de sinalização da insulina, promovendo atividade tirosina quinase na subunidade beta (intracelular). A autofosforilação da subunidade beta faz com que vários substratos do IR (*insulin receptor substrate* – IRS) sejam fosforilados em tirosina, o que desencadeia o processo intracelular de sinalização da insulina. A fosforilação dos IRS1 e IRS2 é de maior importância para o papel da insulina nos metabolismos glicídico e lipídico, uma vez que os IRS1 e IRS2 fosforilados ativam a PI3K. A PI3K ativada aumenta as concentrações de fosfatidilinositol-3-fosfato considerado essencial para ativação da Akt. A ativação da via da Akt favorece a translocação do GLUT4 e consequentemente captação da glicose circulante; ativa a proteína fosfatase que pode reduzir a lipólise por modular a atividade do HLS, fosforila a GSK3 originando a PGSK3 estimulando a glicogênese; por outro lado, a formação do FoxO aumenta a expressão endógena da G-6-Pase e liga-se à PEPCCK bloqueando a gliconeogênese, além de dá possibilidade para a maior expressão do fator de transcrição da SREBP-1c no fígado e no tecido adiposo e do PPAR- γ no tecido adiposo estimulando a lipogênese. **Legenda:** IR, insulin receptor; IRS, *Insulin receptors substrats*; PI3K, fosfatidilinositol 3-quinase; Akt, proteína quinase B; GLUT4, transportador de glicose 4; HLS, Lipase Hormônio Sensível; GSK3, glicogênio sintase quinase-3; PGSK3, glicogênio sintase quinase-3 fosfatase; FoxO, *Forkhead box-containing gene, O subfamily*; G-6-Pase, glicose 6 fosfatase; PEPCCK, fosfoenolpiruvato carboxiquinase; SREBP-1c, proteína 1c ligadora do elemento regulatório de esterol; PPAR- γ , proliferador de peroxissoma gama; $\longrightarrow$ promove/aumenta; $\dashrightarrow$ ativa; —| bloqueia.

Diante da ação da insulina, observa-se que a consequência da resistência à insulina é a hiperglicemia crônica decorrente da menor captação de glicose pelos tecidos periféricos, levando à hiperinsulinemia, aumento da produção hepática de glicose (gliconeogênese), aumento da lipólise e lipogênese e, consequentemente, de ácidos graxos livres circulantes e dislipidemia, o que leva os indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 a uma condição de alteração metabólica de origem multifatorial (Vilas-Boas et al., 2021).

A hiperinsulinemia via ativação da GSK3, aumenta a síntese de glicogênio no fígado e no músculo (Lebovitz, 2001), ao mesmo tempo em que aumenta expressão gênica de enzimas gliconeogênicas como a PEPCCK, G-6-Pase e frutose-1,6-bifosfatase I (*fructose-1,6-bisphosphatase I* – FBPase 1), e inibe a translocação do fator do FoxO do núcleo celular para o citoplasma onde, associado ao PPAR coativador 1 alfa, estimula a gliconeogênese principalmente por ativar a PEPCCK (Haeusler et al., 2014).

A lipogênese se dá pela ativação da expressão gênica de proteínas SREBP que levam à transcrição de genes como o da β -hidroxi- β -metilglutaril-Coenzima A (HMG-CoA) redutase, da ácido graxo sintase e da acetilcoenzima A carboxilase (acetil-CoA-carboxilase), favorecendo a síntese hepática de ácidos graxos e colesterol, e consequente aumento das concentrações de ácidos graxos livres circulantes (Li et al., 2011; Sakurai et al., 2021).

Em resposta à hiperinsulinemia, o aumento na secreção do glucagon é observado em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, o que favorece a gliconeogênese, sendo mais um fator contribuinte para a hiperglicemia (Lund et al., 2014). A hiperglucagonemia e a hiperinsulinemia são condições que podem ser influenciadas pela disfunção na secreção dos hormônios incretinas peptídeo-1 semelhante ao glucagon (*glucagon-like peptide-1*, GLP-1) e peptídeo insulínico dependente de glicose (*glucose-dependent insulintropic peptide*, GIP) (Bajaj; Al-Jabri; Verma, 2018; Lund et al., 2014; Lund et al., 2011). Individualmente, o GIP aumenta a secreção de glucagon pelas células alfa pancreáticas favorecendo a hiperglucagonemia (Lund et al., 2014) e o GLP1 age contribuindo para a abertura dos canais de cálcio via PDX-1, aumentando a secreção da insulina (Saad, 2002). A condição de alteração da função das incretinas também é observada em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 e mostra a complexidade da doença (Lund et al., 2011; Stumvoll; Goldstein; Haeften, 2005).

O comprometimento do controle glicêmico em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 leva à síntese de produtos finais de glicação avançada (*Advanced Glycation End-products*, AGEs), que interagem com receptores de AGEs (*Receptors of Advanced Glycation End-products*, RAGEs) em tecidos vasculares, neuronais, endotélio e do coração tornando a diabetes *mellitus* tipo 2 um fator de risco isolado para o desenvolvimento de complicações micro e macrovasculares, como as retinopatias, neuropatias e doenças cardiovasculares, bem como a nefropatia diabética potencializada pela busca exaustiva do corpo em eliminar o excesso de glicose circulante, levando à glicosúria (Khalid; Petroianu; Adem, 2022). A figura 2 ilustra a complexa fisiopatologia da diabetes *mellitus* tipo 2, considerando a resistência à insulina e as consequências nos metabolismos glicídico, lipídico e resposta inflamatória que favorecem a hiperglicemia crônica e desenvolvimentos de complicações associadas à doença.

Figura 2. Mecanismos envolvidos na diabetes *mellitus* tipo 2.

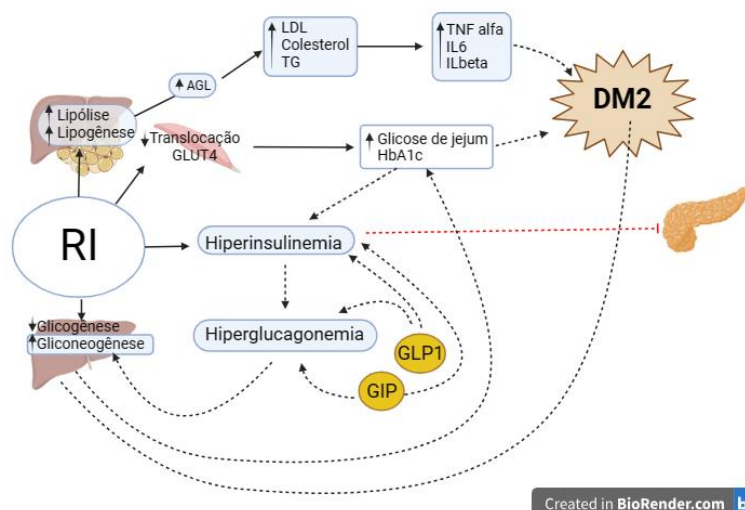


Imagem criada pelo próprio autor usando BioRender.com. Adaptado de: Lebovitz, (2001); Khalid; Petroianu; Adem, (2022).

Legenda: A resistência à insulina (RI) e as diferentes formas de retroalimentação levam à hiperglicemia na diabetes *mellitus* tipo 2. A RI reduz a translocação do transportador de glicose GLUT4 e consequentemente a captação da glicose circulante observado pelos elevados valores de glicose de jejum, que quando mantido por três a quatro meses leva à glicação da hemoglobina, representada pelo aumento no %HbA1c. A hiperglicemia crônica faz com que as células beta do pâncreas passem a secretar maior quantidade de insulina, levando à hiperinsulinemia e em contrapartida as células alfas secretam maior quantidade do hormônio análogo à insulina, o glucagon, favorecendo à hiperplacogonemia. A hiperplacogonemia associada a RI aumentam a gliconeogênese, elevando significativamente a glicose circulante. A hiperplacogonemia pode ainda ser acentuada pela disfunção dos hormônios incretina GLP1 e GIP, situação comum na diabetes *mellitus* tipo 2. Adicionalmente, a RI leva ao aumento da lipólise e lipogênese acarretando em maior concentração de ácido graxos livres circulantes, caracterizada pelos elevados valores de LDL-c, TG e colesterol total. A hiperglicemia crônica, e os ácidos graxos livres circulantes em excesso aumentam a secreção de citocinas pró inflamatórias como a IL6 e o TNF α , que levam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), responsáveis pelos danos celulares em nível hepático, renal, neuronal e cardíaco, desencadeando as complicações inerentes ao inadequado controle glicêmico da diabetes *mellitus* tipo 2. Ainda, as EROs e a secreção de insulina extenuante pelo pâncreas acarreta dano e falha nas células beta pancreáticas, inibindo a síntese do hormônio. —> Efeito direto;> efeito indireto; —| inibe atividade.

Alguns micronutrientes além de estarem envolvidos nos processos de síntese e secreção da insulina, contribuem para a melhora da resposta à ação desse hormônio, e consequentemente, melhoram o controle glicêmico e o perfil lipídico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, e contribuem para a redução da inflamação crônica observada nesses indivíduos (Chausmer, 1998; Lee et al., 1994; Palacios et al., 2020). Dentre esses micronutrientes, destacam-se a vitamina D, e os minerais Zn, Mg, Ca e K, que agem em mecanismos diretos desde a síntese, secreção e ação da insulina, cujas deficiências tem sido associadas ao inadequado controle metabólico (Berridge, 2017; Chutia; Lynrah, 2015; Ekmekcioglu et al., 2016; Farooq et al., 2020; Kim; Oh; Hong, 2018).

2.3 Papel da vitamina D nos controles glicêmicos, lipídico e resistência à insulina na diabetes *mellitus* tipo 2

A vitamina D tem sido mostrada como importante micronutriente na redução do risco de complicações metabólicas em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 (Bertocchini et al., 2018; Neelankal; John; Jiang, 2018), e pode ser obtida via a ingestão de alimentos fontes de ergocalciferol ou colecalciferol ou após exposição aos raios UVB, que fazem a quebra fotolítica da molécula de 7-deidrocolesterol (7-DHC) na epiderme, dando início à síntese endógena de vitamina D (Holick, 2017).

A biodisponibilidade da vitamina D obtida pela alimentação pode ser influenciada pela composição da dieta e alterações na secreção biliar (Grüdtner; Weingrill; Fernandes, 1997). Ao mesmo tempo, a síntese endógena da vitamina D também pode ser influenciada pelas variações climáticas, faixa etária, cor da pele, uso frequente de bloqueadores solar, e presença de variações genéticas nos genes responsáveis pela ativação da vitamina (Holick; MacLaughlin; Doppelt, 1981; MacLaughlin; Holick; Invest, 1985; Pludowski et al., 2018).

Após obtida ou sintetizada, a vitamina D liga-se à uma proteína de transporte específica e é carregada até o fígado (Grüdtner; Weingrill; Fernandes, 1997) onde sofrerá a primeira reação de hidroxilação, mediante ação da 25-hidroxilase o que dá origem à 25(OH)D ou calcidiol. A 25(OH)D apresenta maior meia-vida quando comparada a 1,25 dihidroxivitamina D (1,25(OH)D), originária da segunda hidroxilação da vitamina D em nível renal, sendo, portanto, a melhor forma de mensuração da reserva corporal da vitamina D (Grüdtner; Weingrill; Fernandes, 1997; Holick et al., 2011).

A faixa de concentração adequada da reserva corporal de vitamina D é baseada no papel da 1,25(OH)D em manter a secreção do paratormônio (PTH) normal e, consequente a saúde óssea. Sendo assim, concentrações de 25(OH)D menores que 20 ng/mL são consideradas deficientes, entre 20 e 29 ng/mL, insuficientes e maior ou igual a 30 ng/mL suficientes para manter a secreção adequada de PTH (Holick et al., 2011). Com o avanço da ciência e as descobertas a respeito do papel da 1,25(OH)D em atividades não ósseas no corpo humano, recomenda-se que, em grupos especiais, tais como indivíduos com obesidade e diabetes *mellitus* tipo 2 os valores séricos de 25(OH)D mantenham-se entre 40 e 60 ng/mL para que a 1,25(OH)D possa exercer suas funções em mecanismos não relacionados à saúde óssea, como por exemplo na síntese e secreção da insulina (Gröber; Holick, 2019; Pludowski et al., 2019).

Para exercer suas funções genômicas e não genômicas, a 1,25(OH)D se liga ao VDR localizado em diferentes tecidos e órgãos (Holick et al., 2011). Os VDRs são receptores nucleares pertencentes à família de receptores hormonais nucleares 1 (Yamada; Shimizu; Yamamoto, 2003), que ativados pela 1,25(OH)D translocam-se para o núcleo celular onde ligam-se ao receptor X do ácido retinóico (RXR), formando um heterodímero, que interage com elementos de resposta ao VDR (*Vitamin D Response Elements* - VDREs) e modula a atividade de diversos genes, como o da insulina (Mitri; Muraru; Pittas, 2011), e daqueles envolvidos na regulação da síntese de citocinas pró-inflamatórias (Jia et al., 2015; Malik et al., 2017). VDRs são expressos no pâncreas e explica a ação da vitamina D na síntese da insulina (Jia et al., 2015).

A ligação da 1,25(OH)D ao VDR presente nas células beta pancreáticas gera uma resposta genômica ocasionando ativação transcricional do gene da insulina e sua consequente sua síntese (Mitri; Muraru; Pittas, 2011). Ainda a 1,25(OH)D atua na conversão da molécula de pró insulina em insulina (Morró et al., 2020). Corroborando ao exposto, menor expressão e atividade do receptor de insulina nas células beta e maior expressão de genes relacionados à gliconeogênese foi observado em peixes zebra com maior concentração de glicose sanguínea e menor concentração de 1,25(OH)D, situação que foi revertida após a oferta dietética de vitamina D (Shao et al., 2022).

A ativação do VDR favorece respostas não genômicas da vitamina D por meio da indução de canais voltagem-dependente de transporte de íons transmembrana (Ca; Cl), do controle do influxo e da quantidade de Ca no citosol e da ativação de segundos mensageiros, como o AMP cíclico, PKA e fosfolipase C (DeLuca, 1967; Goltzman, 2018; Yamada; Shimizu; Yamamoto, 2003). Esses mecanismos também podem explicar a atuação da vitamina D ativa na rápida absorção de cálcio pelo epitélio duodenal e na exocitose dos grânulos de insulina pelas células beta pancreáticas (Bertocchini et al., 2018; Grudtner; Weingrill; Fernandes, 1997; Pittas et al., 2007).

A 1,25(OH)D regula a secreção de citocinas pró inflamatórias pelos adipócitos, diminuindo a expressão de quimiocinas e citocinas por meio da *Mitogen-Activated Protein Kinases* (MAPquinase) p38 (Cimini et al., 2017) e da via inflamatória clássica do factor nuclear kappa B (*Nuclear Factor Kappa B*, NF-κB), reduzindo a secreção de citocinas pró inflamatórias que contribuem para a resistência à insulina (Aranow, 2011; Grudet et al., 2020). Adicionalmente, a 1,25(OH)D regula a maturação das células dendríticas e a resposta das células T à ativação dos receptores *Toll like* (*Toll Like Receptors*, TLR) (Chagas et al., 2012), promove a proliferação das células anti-

inflamatórias Th-2 e reguladoras T (Tregs) e consequente secreção de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10, IL-4, IL-5 e fator de crescimento transformador beta (*Transforming Growth Factor beta*, TGF) (Aranow, 2011; Grudet et al., 2020). Estudos tem mostrado um potencial papel da vitamina D na ativação do sistema antioxidante enzimático Superóxido dismutase / Glutathione peroxidase (SOD/GPx), caracterizando a vitamina como um agente importante no sistema antioxidante enzimático do corpo humano (Dong et al., 2012; Pfeffer et al., 2018).

Al-Daghri et al. (2013) mostraram em um estudo randomizado com 153 indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 que as concentrações de 25(OH)D foram diretamente associadas à secreção de insulina e inversamente à resistência à insulina mediante análise do índice de resistência à insulina *Homeostasis Model Assessment of insulin resistance* (HOMA-IR). Ademais, a correlação inversa entre as concentrações de 25(OH)D no soro e os valores do percentual de hemoglobina glicada (%HbA1c) foi observada em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 (Yassin; Masoud; Yasin, 2019). No entanto, Hutchinson et al. (2013) não observaram associações entre os valores da 25(OH)D e a sensibilidade à insulina ao avaliar 194 indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2. E apesar da elevada prevalência de deficiência de vitamina D ser reportada em mulheres com diabetes *mellitus* tipo 2, a associação desta condição com maiores valores de %HbA1c não foi observada (Mariam et al., 2019).

A presença de SNPs no gene do VDR pode comprometer a função genômica da vitamina D (Karonova et al., 2018; Khan et al., 2019). Os principais SNPs observados no gene do VDR, que são associados direta ou indiretamente com o controle metabólico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 são, o FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236) e ApaI (rs7975232) (Karonova et al., 2018; Razi et al., 2018; Safar et al., 2018; Yan et al., 2022). Esses SNPs podem ainda formar haplótipos e explicar a complexidade genômica inerente à gênese e ao controle metabólico da diabetes *mellitus* tipo 2 (Razi et al., 2018).

2.3.1 Relação da presença de SNPs e haplótipos no gene VDR com controle metabólico na diabetes *mellitus* tipo 2

O VDR está localizado na região q11-q13 do cromossomo 12, abrange no mínimo 105kb, possui 14 éxons, sendo os éxons de 2 a 9 codificadores de proteína e os éxons 1a-1f não traduzidos (Jia et al., 2015; Ogunkolade et al., 2002). O VDR apresenta-se com

extensa região promotora e não mostra ligação com outros genes e, portanto, pode explicar isoladamente o risco aumentado para o desenvolvimento de determinadas doenças (Uitterlinden et al., 2004), o que explica também a necessidade de avaliar a associação entre os SNPs e haplótipos identificados neste gene com o desenvolvimento das doenças crônicas não-transmissíveis como a diabetes *mellitus* tipo 2 (Razi et al., 2018).

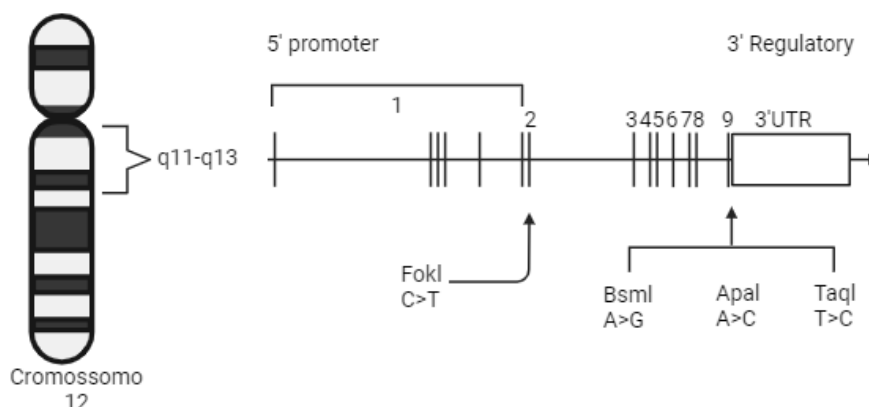
A presença de SNPs no VDR tem sido amplamente estudada, uma vez que o VDR está presente em células e tecidos específicos, como nas células beta pancreáticas e no tecido adiposo, sendo fator ativador para processos metabólicos importantes na homeostase corporal, como diferenciação de adipócitos, e metabolismo de carboidratos e lipídeos (Faghfour et al., 2020; Uitterlinden et al., 2004; Wang; Zhu; DeLuca, 2012).

A presença de VDR em células beta do pâncreas explica o papel da vitamina D na síntese da insulina (Berridge, 2017). No tecido adiposo subcutâneo e visceral, o VDR contribui para ação da vitamina D na diferenciação celular (Kamei et al., 1993), ao mesmo tempo em que parece aumentar a expressão da proteína desacopladora 1 (*Uncoupling Protein 1*, UCP1) no tecido adiposo marrom e consequentemente, atuando na termogênese, sendo importante agente protetor para o desenvolvimento da obesidade (Xu; Lou; Kong, 2019).

O SNP FokI (rs2228570) está localizado no éxon 2, na posição 30920 *e resulta na substituição da citosina (C) por timina (T) (Uitterlinden et al., 2004) e não está em desequilíbrio de ligação com qualquer um dos outros SNPs no VDR. Neste caso, é considerado um fator independente de alterações na atuação do VDR (Bertocchini et al., 2017). Já os SNPs BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236) e ApaI (rs7975232) estão localizados na região regulatória 3'UTR do VDR, entre os éxons 8 e 9, apresentando forte desequilíbrio de ligação. As possíveis associações entre os mesmos justificam a necessidade de estudos que avaliem os haplótipos (Uitterlinden et al., 2004). O SNP BsmI (rs1544410) está localizado na posição 63980 do gene, resulta na substituição de adenina (A) por guanina (G); o ApaI (rs7975232) encontra-se na posição 47845054 do gene e resulta na substituição de adenina (A) por citosina (C); e o TaqI (rs731236) está na posição 47844974 do gene e resulta na substituição de timina (T) por citosina (C) (Uitterlinden et al., 2004).

A figura 3 mostra a localização do VDR no cromossomo 12 e dos SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236) e ApaI (rs7975232) no gene.

Figura 3. Localização do VDR no cromossomo 12 e dos SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236) e ApaI (rs7975232) no gene do VDR.



Elaborado pelo próprio autor utilizando a BioRender.com. Adaptado de Faghfour et al. (2020); Uitterlinden et al. (2004); Wang; Zhu; DeLuca, (2012); Yamada; Shimizu; Yamamoto, (2003)

Legenda: C, citosina; T, timina; A, adenina; G, guanina.

O SNP FokI (rs2228570) no VDR origina uma proteína com 424 aminoácidos considerada mais curta do que a gerada na presença do alelo selvagem (427 aminoácidos) (Safar et al., 2018); porém, a proteína mais curta apresenta melhor atividade transcricional, sendo que essa atividade pode variar conforme tecido-alvo e interação com fatores de co-transcrição (Uitterlinden et al., 2004).

A frequência da presença do SNP FokI (rs2228570) varia conforme a raça da população estudada. Em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 asiáticos foi de 51 %, eurodescendentes 34 % e afrodescendentes 24 % (Uitterlinden et al., 2004). Em chilenos com diabetes *mellitus* tipo 2 a frequência do genótipo TT foi de 25% e do alelo T foi de 55% (Angel et al., 2016), e nos iranianos o genótipo TT foi de 71,43% (Hossein-Nezhad et al., 2009). Ainda, a frequência do genótipo TT para o SNP FokI (rs2228570) em egípcios com diabetes *mellitus* tipo 2 e síndrome metabólica foi maior (34,3%), enquanto naqueles com diabetes *mellitus* tipo 2 e sem síndrome metabólica foi de 17% e nos indivíduos saudáveis foi de 8,3% (Mackawy e Badawi, 2014). Quanto a frequência do alelo T nos indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 iranianos, indianos e chilenos foi observada a frequência de 22,85% 22,85% (Hossein-nezhad et al., 2009), 32% (Bid et al., 2009) e 55% (Angel et al., 2016) respectivamente.

Os efeitos diretos do SNP FokI (rs2228570) no controle glicêmico de pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2 ainda são pouco estudados e os resultados são controversos. Acredita-se que a proteína mais curta (424 aminoácidos) apresente melhor ligação com a

1,25(OH)D, contribuindo para a atividade da vitamina na secreção de insulina pelas células beta pancreáticas e menor resistência à insulina, reduzindo assim o risco de desenvolvimento da diabetes *mellitus* tipo 2 (Wang et al., 2012). No entanto, Mackaww; Badawi, (2014) ao avaliarem o SNP Fok1 (rs2228570) em egípcios com diabetes *mellitus* tipo 2 e com síndrome metabólica não encontraram diferenças nos marcadores bioquímicos em indivíduos com genótipo polimórfico (TT). Os autores observaram, ainda, que a presença de genótipo selvagem se relacionou com dificuldade na síntese e secreção da insulina, redução da expressão dos IRS e aumento de fatores inflamatórios. Contraponto aos achados, metanálise mostrou que não há associação entre SNP FokI (rs2228570) e a resistência à insulina, independente do modelo recessivo ou dominante em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 de diferentes etnias (Han, et al., 2017).

No polimorfismo BsmI (rs1544410), o genótipo GG e AG estão respectivamente associados com risco significativo e moderado para o desenvolvimento da diabetes *mellitus* tipo 2 (Ortlepp et al., 2001). Indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 apresentaram maior prevalência do genótipo GG e AG quando comparados a indivíduo saudáveis (29,66 vs 21,98%, e 44,87 vs 41,76%), respectivamente (Safar et al., 2018). A elevada prevalência do alelo G para o SNP BsmI (rs1544410) em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 também foi observada em população do norte da Índia (GG 30% e AG 52%) (Bid et al., 2009).

Uma sequência de análise de ensaios clínicos mostrou que o SNP BsmI (rs1544410) é um fator de risco para o desenvolvimento de doenças coronarianas, enquanto os SNPs FokI (rs2228570) e Apal (rs7975232) são fatores de risco para o desenvolvimento de doenças coronarianas apenas em pessoas brancas (Yan et al., 2022).

Apesar dos estudos que estabelecem relação entre o SNP BsmI (rs1544410) e marcadores do controle metabólico de pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2 serem controversos, acredita-se que o SNP BsmI (rs1544410) contribui indiretamente para o aumento da resistência à insulina por estar associado ao aumento de peso corporal e metabolismo de lipídeos (Faghfour et al., 2020; Gholami et al., 2024). A presença do alelo G do SNP BsmI (rs1544410) foi associada com obesidade (Nam et al., 2021; Safar et al., 2018) e maiores valores de colesterol total e lipoproteína de baixa densidade (*Low Density Lipoprotein*, LDL) em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 sem síndrome metabólica (Safar et al., 2018) e com síndrome metabólica (Mackaww; Badawi, 2014). Em contrapartida, o SNP BsmI (rs1544410) não mostrou associação com marcadores do controle glicêmico, lipídico e resistência à insulina em pacientes com diabetes *mellitus*

tipo 2 sem componentes da síndrome metabólica (Mackawy; Badawi, 2014). Adicionalmente, metanálise mostrou que apesar de não haver associação entre o Bsm1 (rs1544410) com a resistência à insulina, esse SNP associa-se com componentes da síndrome metabólica (Han et al., 2017).

São poucos os estudos que avaliam os SNPs Taql (rs731236) e Apal (rs7975232), de maneira isolada em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, mas a presença do alelo C para o SNP Taql (rs731236) e do alelo C para o Apal (rs7975232) aumentou o risco de desenvolvimento da diabetes em população da Arábia Saudita (Alkhedaide et al., 2024). Apesar de ser observada elevada frequência do SNP Taql (rs731236) em indianos com diabetes *mellitus* tipo 2 (genótipo CC 36% e genótipo CT 49%) não houve associação significativa entre esse polimorfismo e alterações em marcadores do controle glicêmico, perfis lipídico e inflamatório (Bid et al., 2009). Semelhantemente, o SNP Apal (rs7975232) não foi associado com o aumento da resistência à insulina em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 em metanálise realizada com estudos desenvolvidos em diferentes países (Han et al., 2017). No entanto, em população com diabetes *mellitus* tipo 2 no Emirados Árabes, o SNP Apal (rs7975232) foi associado com maiores valores de colesterol total e LDL-c (Safar et al., 2018).

As divergências nos estudos que avaliam o efeito dos SNPs FokI (rs2228570), Bsm1 (rs1544410), Apal (rs7975232) e Taql (rs731236) nos desfechos metabólicos de pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2 podem ser explicadas pelas características étnicas das populações e pela relação dos haplótipos com as variáveis avaliadas (Razi et al., 2018). Haplótipos são combinações de blocos de polimorfismos adjacentes, e que normalmente o comprimento dos blocos são proporcionais à força do desequilíbrio de ligação do SNP (Ken-Dror; Humphries; Drenos, 2013). A área de desequilíbrio de ligação descreve a associação (ou co-ocorrência) de alelos de polimorfismos adjacentes entre si (Wall; Pritchard, 2003).

O tamanho do bloco de haplótipos pode variar entre 5 e >50 kb. Isso reflete a necessidade de genotipagem de poucos polimorfismos para conhecer a variância da área representada pelo haplótipo (Judson; Stephens; Windemuth, 2000; Ken-Dror; Humphries; Drenos, 2013). Assim, os estudos que buscam determinar um mapa de haplótipos no genoma humano têm sido encorajados.

A identificação dos SNPs, do desequilíbrio de ligação e dos haplótipos é essencial para estabelecer associações entre os SNPs e o risco de doenças e para a variação populacional de certos fenótipos de interesse (Judson; Stephens; Windemuth, 2000; Wall;

Pritchard, 2003), bem como compreender se a associação estabelecida é explicada pelo efeito do alelo avaliado, do desequilíbrio de ligação ou por um ou mais outros alelos que estão ligados a este alelo dentro do haplótipo (Judson; Stephens; Windemuth, 2000). Os haplótipos para os SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410) e TaqI (rs731236) foram associados a maior susceptibilidade ao desenvolvimento de diabetes em população do Emirados Árabes (Safar et al., 2018), e os haplótipos dos SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410) e ApaI (rs7975232) associado maior risco de desenvolvimento da diabetes *mellitus* tipo 2 em indianos (Bid et al., 2009).

Além das características genéticas, o estado nutricional dos indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 tem relação com o controle glicêmico, perfil lipídico, resposta inflamatória e resistência à insulina em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 (Stumvoll; Goldstein; Haeften, 2005). Minerais como Zn, Mg, Ca e K são descritos em mecanismos de síntese, secreção e ação da insulina e consequente controle metabólico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 (Chausmer, 1998; Coregliano-Ring; Goia-Nishide; Rangel, 2022; Pittas et al., 2007).

2.4 Papel dos minerais zinco, magnésio, cálcio e potássio no controle glicêmico e resistência à insulina em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2

O Zn é o segundo elemento-traço mais comum no corpo humano (Chausmer, 1998; Jomova; Valko, 2011) e contribui para a ativação e transcrição do gene da insulina, formando a molécula de pré-pró insulina (Huang, 2014). Transportado para as células beta pancreáticas via transportador de zinco ZnT8, o Zn penetra nas vesículas de insulina permitindo que as moléculas de insulina sejam armazenadas em forma de cristais de Zn, deixando-as mais estáveis estruturalmente (Chausmer, 1998).

O Zn, por meio da participação na enzima SOD, reduz a formação de espécies reativas (Jomova; Valko, 2011) e, por meio da metalotioneína, uma proteína rica em cisteína com alta afinidade por íons de metais pesados bivalentes, o Zn protege as células contra espécies reativas que podem causar danos celulares e apoptose das células (Vardatsikos; Pandey; Srivastava, 2013), modula positivamente a proteína dedo de zinco A20 e reduz a produção de citocinas inflamatórias que ativam do NF-κB através da via proteína associada ao receptor TNF (*TNF receptor-associated factor*, TRAF) (Prasad, 2009; Prasad et al., 2007).

Comparando indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 e indivíduos saudáveis se observou maior deficiência de Zn naqueles com a doença, estando associada a maior %HbA1c (Farooq et al., 2020). Por outro lado, maiores concentrações de Zn foram associadas aos maiores valores de HOMA-IR, glicose de jejum e insulina sérica em idosos com diabetes *mellitus* tipo 2 quando comparado àqueles saudáveis (Grădinaru et al. 2021).

Recente metanálise com 14 estudos mostrou que a suplementação com 100 mg, 120 mg e 140 mg por dia de Zn durante 12 semanas, reduziu as concentrações de colesterol total, LDL-c e Triacilglicerol (TAG), respectivamente, melhorando o perfil lipídico em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, principalmente naqueles com deficiência do micronutriente (Heidari Seyedmahalle et al. 2023). No entanto, a suplementação com 30 mg de Zn por dia não foi suficiente para melhorar o perfil metabólico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 (Attia et al., 2022).

O Mg é o segundo cátion intracelular mais comum e atua como cofator em mais de 300 reações enzimáticas (Liu; Dudley, 2020). Sua absorção pode ser influenciada por fatores hormonais, integridade da membrana intestinal, nível de acidez, presença de doenças crônicas, bem como interações com outros nutrientes (DiNicolantonio; O'Keefe; Wilson, 2018). Dentre suas funções, o Mg age na fosforilação dos receptores de insulina, levando assim à translocação do GLUT4 para a membrana das células (Morakinyo; Samuel; Adekunbi, 2018) .

Estudo prévio com indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 de Sergipe, mostrou a deficiência de magnésio em 92,5% de 147 adultos avaliados, o que foi associado ao padrão dietético não saudável e contribuiu com o aumento de chance de inadequado controle glicêmico avaliado por meio do %HbA1c (Santos et al., 2023). A hipomagnesemia foi associada a maiores valores de glicose de jejum, glicose após duas horas de sobrecarga e %HbA1c em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 (Ilkay et al., 2019). Corroborando o exposto, valores maiores de %HbA1c foram observados em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 e deficiência de Mg, e os valores médios de Mg plasmático foram significativamente menores em indivíduos que apresentaram microalbuminúria, mostrando associação entre a deficiência do nutriente e a progressão da doença (Zahra et al., 2021).

Adicionalmente, indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 britânicos com maior ingestão diária de Mg apresentavam menor prevalência de doença coronariana quando comparados aos com menor ingestão do micronutriente (Gant et al., 2018). Além disso, o Mg apresenta-se como importante micronutriente antioxidante por compor enzimas do

sistema antioxidante endógeno e em uma revisão sistemática a deficiência de Mg contribuiu para o aumento da produção de ROS mitocondrial e, supressão do sistema de defesa antioxidante enzimático SOD/GPx em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 (Liu; Dudley, 2020).

O K é um micronutriente essencial, estando em abundância no meio intracelular (Ekmekcioglu et al., 2016; Grillo et al., 2019). O K e o Ca agem em conjunto na secreção da insulina, como observado quando indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 apresentaram menor concentração de Ca sérico, o que foi inversamente relacionado com o %HbA1c (Hassan et al., 2016). A deficiência de K decorrente de uso de medicamentos que alteram a biodisponibilidade do nutriente foi associada com comprometimento da secreção da insulina devido a hiperpolarização da membrana diminuindo o influxo de Ca para o interior da célula (Ekmekcioglu et al., 2016). Somando-se a isso a ingestão insuficiente de Zn, K e Ca foi associada com maior %HbA1c e TAG em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 residentes em Sergipe (Brandão-Lima et al., 2018).

A vitamina D, Mg, Zn, Ca e K interagem entre si em mecanismos envolvendo o metabolismo da glicose e atividade da insulina. As concentrações de Ca são influenciadas pelas concentrações de 25(OH)D (Berridge, 2015). Estudos mostraram que as complicações cardiovasculares decorrentes do mau controle glicêmico de pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2 podem ser agravadas em situações de deficiência da vitamina D (Gondim et al., 2016) e Mg (DiNicolantonio; O’Keefe; Wilson, 2018). Ainda, a 1,25(OH)D estimula a absorção de Mg no intestino (Deng et al., 2013; Medalle; Waterhouse; Hahn, 1976; Pludowski et al., 2018). Por outro lado, o Mg por ser fundamental nas etapas de hidroxilação para conversão da vitamina D à sua forma ativa atua indiretamente como cofator da proteína ligadora de cálcio dependente da vitamina D (calbindina) (Uwitonze; Razzaque, 2018), além de estimular a atividade da enzima 25-hidroxilase responsável pela primeira hidroxilação da vitamina e síntese da 25(OH)D (Grüdtner; Weingrill; Fernandes, 1997). Assim sendo, o processo de ativação da vitamina D, e sua atividade na absorção do cálcio são influenciados pelo teor corporal de Mg (Reddy; Edwards, 2017).

O Ca é o íon mais comum no ser humano com múltiplas funções (Jaiswal, 2001), a sobrecarga de cálcio melhorou a secreção de insulina apenas em indivíduos com diabetes (Fujita et al., 1978), sendo necessária uma adequada concentração de cálcio disponível para que o mesmo consiga exercer sua função na secreção da insulina (Draznin, 1998; Fujita et al. 1978). Estudo recente mostrou que a deficiência de cálcio

aumentou as chances para o desenvolvimento da diabetes *mellitus* tipo 2 (Zhai et al., 2023), devido ao seu papel crucial no controle da secreção de insulina pelas células β pancreática eletricamente excitável (Gilon et al., 2014).

Dessa forma, a homeostase entre as reservas corporais de micronutrientes é essencial para o adequado controle glicêmico, bem como redução da resistência à insulina em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, ainda a presença de variações genéticas pode comprometer a atividade de micronutrientes específicos, a exemplo dos SNPs no VDR que comprometem a atividade da 1,25(OH)D e, conseqüentemente, o controle metabólico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2. Estes aspectos implicam na necessidade do desenvolvimento de estudos que possam associar a presença de variações genéticas com o controle metabólico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 e de estabelecer padrões da reserva corporal de micronutrientes, que possam estar associados ao melhor controle glicêmico e menor resistência à insulina nessa população.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Verificar a associação da presença de polimorfismos genéticos de nucleotídeos únicos, haplótipos no gene do receptor de vitamina D, e padrões da reserva corporal de micronutrientes com marcadores do controle glicêmico, lipídico e perfil inflamatório de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2.

3.2 Objetivos específicos

Objetivo específico 1 – Reunir evidências a respeito da relação entre a presença de polimorfismos VDR com marcadores do controle glicêmico, perfis lipídico e inflamatório de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2.

Objetivo específico 2 – Avaliar os SNPs e haplótipos no gene do VDR e suas associações com os marcadores de controle glicêmico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2.

Objetivo específico 3 - Estabelecer padrões de reserva corporal de micronutrientes em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 e sua associação com marcadores do controle glicêmico e resistência à insulina em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Objetivo específico 1

Para atender ao objetivo 1 foi desenvolvida uma revisão sistemática com meta-análise registrada na plataforma internacional *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO) (número de registro: CRD42021268152) seguindo as recomendações do *Meta-analysis of Observational Studies in Epidemiology* (MOOSE) (Stroup et al., 2000).

A pergunta de pesquisa foi norteada conforme o anagrama PECOS (Tabela 1). Assim a questão a ser respondida foi: “a presença de SNPs no VDR se associa aos controles glicêmico, lipídico e inflamatório em indivíduos adultos e idosos com diabetes mellitus tipo 2?”

Tabela 1. Anagrama PECOS: elementos foram usados para definir os critérios de elegibilidade.

Anagrama	Item	Descrição
P	População	Indivíduos com diabetes tipo 2.
E	Exposição	Os SNPs no gene VDR.
C	Comparador	Indivíduos com diabetes tipo 2 sem SNPs no VDR.
O	Desfecho	Marcadores do controle glicêmico, perfil lipídico e inflamatório (%HbA1c, glicose de jejum, CT, LDL-c, VLDL-c, HDL-c, TAG, IL-6, e TNF-alfa).

Legenda: SNPs, single nucleotide polymorphisms; VDR, vitamin D receptor; CT, colesterol total; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; HDL-c, Lipoproteína de alta densidade; VLDL, lipoproteína de muito baixa densidade; TAG, triacilglicerol; IL-6 interleucina-6; TNF-alfa, fator de necrose tumoral alfa.

4.1.1 Estratégia de busca

A busca sistemática foi realizada em julho de 2021 e atualizada em outubro de 2023 nas bases de dados MEDLINE (via PubMed), EMBASE e SCOPUS, e na literatura cinzenta: Google acadêmico. As listas de referência dos estudos incluídos foram analisadas para identificar estudos com potencial para atender aos critérios de inclusão.

A busca foi delimitada para estudos observacionais publicados na versão completa, sem restrição de idiomas. Estudos não publicados em inglês foram traduzidos usando serviços de tradução profissional, se necessário. Os termos usados para a estratégia de busca foram: “*Vitamin D receptor*”; “*Receptors, calcitriol*”; “*Polymorphisms*”; “*Glycemic Control*”; “*Metabolic Syndrome*”; “*Lipid*”; “*Lipid Metabolism*”; *Cytokines*; “*Inflammation Mediators*”; “*Inflammation*”; “*Diabetes Mellitus, Type 2*”, combinados utilizando os marcadores booleanos AND e/ou OR.

No site Google acadêmico foi utilizada a estratégia de busca: *"vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "glycemic control" AND "lipid metabolism disorders" AND "inflammation mediators" AND "diabetes mellitus, type 2"*.

Na base de dados PUBMED foram utilizadas oito combinações dos termos MESHs e os marcadores booleanos AND ou OR, sendo:

- 1) (*"vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "glycemic control" AND "diabetes mellitus, type 2"*)
- 2) (*"vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "lipid metabolism disorders" AND "diabetes mellitus, type 2"*)
- 3) (*"vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "metabolic syndrome" AND "diabetes mellitus, type 2"*)
- 4) (*"vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "lipid" AND "diabetes mellitus, type 2"*)
- 5) (*"vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "lipid metabolism" AND "diabetes mellitus, type 2"*)
- 6) (*"vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "citokines" AND "diabetes mellitus, type 2"*)
- 7) (*"vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND polymorphism OR snp AND "inflammation mediators" AND "diabetes mellitus, type 2"*)
- 8) (*"vitamin d receptor" OR "receptors calcitriol" AND polymorphism OR snp AND "inflammation" AND "diabetes mellitus, type 2"*)

Na base de dados EMBASE foram utilizadas as seguintes combinações:

- 1) (*'vitamin d receptor' OR 'calcitriol receptor' AND polymorphism OR snp AND 'glycemic control' AND 'non insulin dependent diabetes mellitus '*
- 2) (*'vitamin d receptor' OR 'calcitriol receptor' AND polymorphism OR snp AND inflammation AND 'non insulin dependent diabetes mellitus '*
- 3) (*'vitamin d receptor' OR 'calcitriol receptor' AND polymorphism OR snp AND 'lipid metabolism' AND 'non insulin dependent diabetes mellitus '*
- 4) (*'vitamin d receptor' OR 'calcitriol receptor' AND polymorphism OR snp AND lipid AND 'non insulin dependent diabetes mellitus '*
- 5) (*'vitamin d receptor' OR 'calcitriol receptor' AND polymorphism OR snp AND 'metabolic syndrome x' AND 'non insulin dependent diabetes mellitus '*

Na base de dados SCOPUS foram utilizadas as seguintes combinações:

- 1) "vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "lipid metabolism disorders" AND "diabetes *mellitus*, type 2"
- 2) "vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "citokines" AND "diabetes *mellitus*, type 2"
- 3) "vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "glycemic control" AND "diabetes *mellitus*, type 2"
- 4) "vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "inflammation mediator" AND "diabetes *mellitus*, type 2"
- 5) "vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "inflammation" AND "diabetes *mellitus*, type 2"
- 6) "vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "lipid" AND "diabetes *mellitus*, type 2"
- 7) "vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "metabolic syndrome" AND "diabetes *mellitus*, type 2"
- 8) "vitamin d receptor" OR "receptors, calcitriol" AND "polymorphism" OR "snp" AND "metabolism lipidic" AND "diabetes *mellitus*, type 2"

A lista dos estudos identificados nas bases de dados foi checada para a exclusão dos duplicados usando o editor de planilhas Microsoft Excel.

4.1.2 Critérios de elegibilidade

Foram incluídos estudos observacionais desenvolvidos com indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, que compararam os valores de marcadores glicêmicos, lipídicos e inflamatórios de acordo com os genótipos de SNPs no gene VDR (homozigoto e heterozigoto versus selvagem).

Excluimos ensaios clínicos, relatos de casos, séries de casos, estudos *in vitro*, atas de conferências, resumos de reuniões científicas, editoriais e cartas ao editor que não apresentassem os dados originais. Também foram excluídos os estudos que incluíam mulheres grávidas e pacientes pediátricos. A lista de estudos identificados na pesquisa na base de dados foi verificada para exclusão dos duplicados utilizando o editor de folhas de cálculo Microsoft Excel.

4.1.3 Seleção dos estudos e extração dos dados

Após a checagem da lista dos estudos retomados em cada base de dados, os duplicados foram identificados e excluídos. A seleção dos estudos foi realizada de maneira independente por dois avaliadores (RKFS e ROP) em duas etapas: leitura de título e resumo e leitura do texto completo. As divergências entre os avaliadores foram sanadas por um terceiro avaliador (AMOS).

O fortalecimento da notificação de estudos de associação genética *Strengthening the reporting of genetic association studies* (STREGA) (Little et al., 2009) - uma extensão da declaração STROBE – foi utilizado para orientar os itens a serem extraídos considerando o que deve ser apresentado em estudos observacionais que avaliam a associação entre doenças e genes. Nós extraímos as informações a respeito das características dos estudos (objetivo e desenho do estudo), população (país, idade, sexo, tempo de diagnóstico e uso de medicamentos), a prevalência dos SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236) e ApaI (rs7975232) no VDR, técnicas de genotipagem, equilíbrio de Hardy-Weinberg, replicação, seleção dos participantes, lógica para as escolhas das variantes, dados antropométricos e laboratoriais (%HbA1c, glicose de jejum, HOMA-IR, colesterol total (CT), LDL, lipoproteína de alta densidade – HDL, Triacilglicerol (TAG), IL6 e TNF- α).

Para avaliar o nível de concordância entre os avaliadores nas etapas de seleção dos estudos e extração dos dados, o coeficiente Cohen's kappa foi utilizado, considerando a faixa de < 0 a 1, sendo < 0 = nenhum acordo, 0 - 0,20 = pobre concordância, 0,21 - 0,40 = acordo justo, 0,41 – 0,60 = acordo moderado, 0,61- 0,80 = acordo substancial, e 0,81 – 1 acordo mais que perfeito (Landis; Koch, 1977).

4.1.4 Avaliação da qualidade metodológica

A avaliação da qualidade metodológica foi desenvolvida usando a Escala de Avaliação de Qualidade de Estudos Caso-controle de Newcastle-Ottawa (Wells et al., 2021), de maneira independente por dois avaliadores (RKFS e ROP). Os estudos foram avaliados quanto à seleção dos participantes, comparabilidade dos casos, controle e exposição. Na seleção dos participantes foram observados os seguintes aspectos: 1) definição adequada de casos e controle, 2) representatividade dos casos, 3) seleção dos controles e 4) definição dos controles. No item comparabilidade a análise estatística ajustada para idade foi considerada. No item exposição foi avaliado: 1) padrão ouro para a obtenção dos dados, 2) os mesmos métodos utilizados em ambos os grupos e 3) a taxa de não resposta.

O estudo foi considerado como de alta qualidade metodológica quando obteve quatro estrelas para o item seleção, uma estrela para o item comparabilidade e três estrelas para o item exposição.

4.2 Objetivos específicos 2 e 3

4.2.1 Casuística

Foi realizado um estudo observacional, transversal, realizado com indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 que apresentassem idade entre 19 e 59 anos, de ambos os sexos, residentes no estado de Sergipe, Brasil. Os participantes foram recrutados em Unidades Básicas de Saúde e por livre demanda após divulgação da pesquisa em mídias digitais e na comunidade. Foram excluídos indivíduos que faziam uso de tabaco e álcool de maneira frequente, de suplementos vitamínicos-minerais e/ou de medicações que alterassem o metabolismo dos micronutrientes avaliados nos três meses antecedentes à data da coleta de dados e, que apresentassem outras doenças crônicas não transmissíveis, como câncer, artrite reumatoide, doença renal crônica e da tireoide, além da presença de doenças inflamatórias agudas ou infecções autorrelatadas.

Na intenção de identificar os SNPs e seus haplótipos no VDR, o cálculo amostral foi realizado conforme fórmula de Miot, (2011) para variáveis quantitativas, baseado na prevalência do genótipo polimórfico para o SNP FokI (rs2228570) de menor prevalência no estudo de Schuch et al. (2013), o qual foi desenvolvido com brasileiros com síndrome metabólica e mostrou a prevalência de 13% do genótipo polimórfico nessa amostra, considerando erro de 5% e perda amostral de 20%, sendo um total de 174 indivíduos considerado adequado para o desenvolvimento desse estudo.

Para avaliar a associação do padrão da reserva corporal de micronutrientes com o controle glicêmico e resistência à insulina, um total de 114 indivíduos foi considerado o tamanho amostral com satisfatório poder estatístico (poder de 0,94) e erros alfa e beta de 0,05, conforme desfecho esperado de *odds ratio* OR= 4,319 para o %HbA1c (Li et al., 2018). O software *G-power* 3.1.9.7 foi utilizado para estimar o poder estatístico da amostra.

Informações socioeconômicas, de estilo de vida e história clínica foram obtidas por meio da aplicação de um questionário estruturado (Apêndice A). As medidas antropométricas de peso corporal, estatura e circunferência da cintura (CC) foram obtidas.

Também foi avaliada a composição corporal por meio da impedância bioelétrica para obtenção do percentual de gordura corporal. Os indivíduos foram avaliados quanto às concentrações séricas de 25(OH)D e plasmáticas de Zn, Mg, Ca e K, dos marcadores do controle glicêmico (glicemia de jejum e %HbA1c), dos hormônios insulina, peptídeo C e do paratormônio (PTH), e quanto aos valores de HOMA-IR, HOMA%B e HOMA%S. Além disso, foram identificados os SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410) e TaqI (rs723613) no gene do VDR e avaliados os possíveis haplótipos.

4.2.2 Medidas antropométricas e de composição corporal

O peso e altura foram aferidos de acordo com os métodos padronizados pelo Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional (SISVAN) (Brasil, 2011). O peso foi medido com auxílio de uma balança digital (Welmy®, modelo W 200/5, São Paulo, Brasil), com capacidade máxima de 200 kg e precisão de 0,05 Kg, e a altura com um estadiômetro portátil (Altuxata®, Minas Gerais, Brasil), com campo de uso variando de 0,35 até 2,13 m, com escala bilateral em milímetros (escala de 1 mm).

O peso e altura foram aferidos para o cálculo do IMC, sendo classificados de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) (WHO, 2000) (Tabela 2).

Tabela 2. Classificação do estado nutricional de indivíduos adultos segundo IMC.

IMC (Kg/m ²)	Classificação
< 18,5	Baixo peso
≥ 18,5 < 25,0	Peso normal
≥ 25,0 < 30,0	Sobrepeso
≥ 30	Obesidade

Fonte: (WHO, 2000).

A CC foi mensurada utilizando uma fita métrica não extensível (Cescorf®, Porto Alegre, Brasil), posicionada no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca e classificada de acordo com a OMS (WHO, 2011) (Tabela 3).

Tabela 3. Classificação do risco cardiovascular segundo valores de circunferência da cintura para homens e mulheres.

Classificação do risco cardiovascular	Circunferência da cintura (cm)	
	Homens	Mulheres
Risco aumentado	≥ 94 cm	≥ 80 cm
Risco substancialmente aumentado	≥ 102 cm	≥ 88 cm

Fonte: (World Health Organization, 2000).

O percentual de gordura corporal (% gordura corporal) foi mensurado por meio de impedância bioelétrica tetrapolar (Bioimpedance Analyzer BIA 310, Biodynamics Corporation, Shoreline, WA, USA), conforme orientações do fabricante. A análise foi feita com o indivíduo deitado, em decúbito dorsal, com pernas e braços afastados do corpo. Após a limpeza da pele, dois eletrodos (um distal e um proximal) foram colocados no pé direito, um na base do dedo médio e outro entre os maléolos medial e lateral da tíbia, e na mão direita, na base do dedo médio e outro acima da linha da articulação do punho, coincidindo com o processo estilóide. Os participantes foram orientados a não praticarem exercícios físicos extenuantes, tampouco consumir café, chocolate e chás na véspera do exame. Mulheres em período menstrual tiveram o exame realizado em outro momento. Indivíduos com % gordura corporal maior que 30% foram considerados com excesso de gordura (Lohman, 1992).

4.2.3 Coleta de amostras biológicas

Os participantes foram orientados ao jejum noturno de 10 horas para a colheita de 15 mL de sangue que foram fracionados em tubos contendo *ethylenediaminetetraacetic acid* – EDTA para determinação do %HbA1c e genotipagem dos SNPs Fok1 (rs2228570), BsmI (rs1544410) e TaqI (rs731236) no gene do VDR; em tubos sem anticoagulantes para avaliação das concentrações séricas de 25(OH)D, PTH, glicose em jejum, insulina e peptídeo C, e em tubos desmineralizados contendo o anticoagulante citrato de sódio a 30% para análises do Zn, Mg, Ca e K no plasma.

Todo o material utilizado (vidrarias, plásticos, ponteiras, tubos, etc.) para análises dos minerais foram desmineralizados em banho de ácido nítrico a 20 %, por no mínimo 12 horas, e enxaguados 10 vezes com água deionizada, como forma de controle de contaminação (Morte et al., 2012). Para as demais análises foram utilizados materiais estéreis.

4.2.4 Avaliação das concentrações de micronutrientes no plasma

A concentração dos minerais Zn (202.548nm), Mg (279.553nm), Ca (211.276nm) e K (766.491nm) no plasma foi determinada por meio da técnica de espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (*Inductively Coupled Plasma - Optical*

Emission Spectrometry – ICP-OES) com configuração axial (modelo ES-720, Agilent, Mulgrave, Austrália).

As amostras foram digeridas por duas horas a 150 °C em bloco digestor com temperatura controlada, equipado com frascos e tampas de politetrafluoroetileno (PTFE) (modelo TE007-A, TECNAL, São Paulo, SP, Brasil), num processo de digestão de 2 h utilizando 0,5 mL da amostra, 2 mL de ácido nítrico puro e 3 mL de água ultrapura (18,2 MΩ cm, fonte Gehaka, Master All). Após a digestão, as amostras foram diluídas em água ultrapura para um volume final de 15 mL. Foram preparados brancos das amostras para cada digestão sob as mesmas condições das análises citadas (Castro et al., 2009).

Foram efetuados testes de adição e recuperação em duas amostras a quatro níveis de concentração, por adição de 5, 50, 500 e 1000 mg/L de Ca, Mg, K e Zn. Neste trabalho, a exatidão do método analítico foi avaliada por meio de testes de adição e recuperação em três níveis de concentrações para cada elemento. Os percentuais de recuperação encontraram-se entre $87,0 \pm 0,8$ e $119 \pm 2,1\%$, assegurando uma boa exatidão do método proposto. A precisão, expressa em desvio padrão relativo (*Relative Standard Deviation*, RSD), foi avaliada pela repetibilidade de um conjunto de medições e os valores encontrados foram melhores que 10% ($n = 3$) (Santos et al. 2021).

As análises foram realizadas em triplicata, sendo obtidas três leituras de cada triplicata. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) dos micronutrientes foram calculados para assegurar a validade do método (Silva et al., 2002; Skoog; Holler; Nieman, 2002), sendo que os valores de LD e LQ para análise de Zn foram 0,004 e 0,013 µg/dL; para Mg, 0,001 e 0,005 mg/dL; para Ca, 0,774 e 2,555 mg/L; e para K, 0,033 e 0,111 mEq/L, respectivamente.

Os dados para todos os minerais foram obtidos em miligramas por litro e convertidos para as respectivas unidades de medidas utilizadas nos pontos de corte utilizados como referências: Mg > 2,07 mg/dL (Rosanoff et al., 2022); Zn desejável entre 70 – 110 µg/dL (Gibson, 2005); K desejável entre 4 – 5 mEq/L (School, 2004) e Ca > 41,9 mg/L (Deng et al., 2008).

4.2.5 Avaliação da concentração sérica de 25(OH)D e PTH

As concentrações séricas de 25(OH)D e PTH foram determinadas pelo método quimioluminescência, utilizando o equipamento DXI800 – Beckman Coulter®, com kits do mesmo fabricante. Valores de 25(OH)D ≥ 30 ng/mL foram utilizados como pontos de

corde para classificar os indivíduos com concentrações suficientes de 25(OH)D; entre 20 e 29 ng/mL como insuficientes e < 20 ng/mL como deficientes (Holick et al., 2011) e PTH maior que 65 pg/mL caracterizou o hiperparatireoidismo secundário (Khundmiri; Murray; Lederer, 2016).

4.2.6 Avaliação dos marcadores bioquímicos do controle glicêmico

O %HbA1c foi medido por inibição imunoturbidimétrica e a glicemia de jejum avaliada por método colorimétrico enzimático, utilizando kits comerciais (Labtest®, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). Valores de %HbA1c $\geq 7\%$ e glicemia de jejum ≥ 130 mg/dL foram considerados como inadequado controle glicêmico (Elsayed et al., 2023).

As concentrações séricas de insulina e peptídeo C foram medidas por quimioluminescência em analisador de imunoensaios Architect i1000SR (Abbott®, Abbott Park, IL, EUA), utilizando kits comerciais (Abbott®, Abbott Park, IL, EUA).

O HOMA-IR foi utilizado para avaliar a resistência à insulina, com base nas concentrações séricas de peptídeo-C e glicose de jejum. Os cálculos foram feitos com a calculadora HOMA (*University of Oxford*, Reino Unido) baseada no modelo de HOMA atualizado (HOMA2) (Levy; Matthews; Hermans, 1998). A resistência à insulina foi estabelecida quando valores de HOMA-IR foram maiores que 2,71 (Geloneze et al., 2009). Os valores de HOMA%B e HOMA%S foram utilizados apenas nas análises estatística, sem definição de classificação.

4.2.7 Extração do DNA, Genotipagem e Identificação dos haplótipos

A extração de DNA foi realizada com o kit *PureLink™ – Genomic DNA Mini Kit* (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. A quantificação da concentração e qualidade de DNA foi realizada por meio de leitura em espectrofotômetro (Nanodrop®) e os resultados foram obtidos em ng/μL. O DNA foi considerado intacto e de boa qualidade quando a relação das absorbâncias se apresentava entre 1,8 e 2,0. A genotipagem dos participantes foi realizada pelo sistema *TaqMan SNP Genotyping Assays* (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA), o qual é baseado na análise de ponto final da reação de polimerase em tempo real (qRT-PCR), utilizando iniciadores e sondas específicas para o SNP. Para a análise foram utilizadas

placas de 48 poços em equipamento StepOne System[®] (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA).

O volume final de cada reação foi de 25µL por poço, sendo 13,75µL referente ao mix de reação e 11,25 µL referente a amostra diluída em água nanopura autoclavada para concentração final de 20 ng/µL. A reação iniciou-se com a ativação enzimática a 95° C por 10 minutos, em seguida PCR de 40 ciclos, que consiste no processo de desnaturação do DNA a uma temperatura de 92° C por 15 segundos, seguido do anelamento do início das duas fitas simples, servindo de iniciador na sequência de DNA a ser amplificada e posteriormente reação de extensão realizada a 60° C por 1 minuto. Os materiais utilizados para a análise de DNA foram estéreis e DNA *free*.

O cálculo de equilíbrio de Hardy-Weinberg (Stern, 1943) e o Lewontin's D' ($|D'|$) (Lewontin, 1988) e r^2 foram aplicados para avaliar o equilíbrio entre as frequências genotípicas e o desequilíbrio de ligação utilizando SNPstats tools (Solé et al. 2006).

Os haplótipos foram identificados utilizando o SHEsisPlus (Shi; He, 2005), uma atualização do SHEsis (Shen et al., 2016), plataforma online desenvolvida para inferência de haplótipos e testes de associação. Alelos com frequência acima de 1% e com forte desequilíbrio foram inseridos no modelo de predição de haplótipos (Shen et al., 2016).

O SHEsisPlus utiliza um algoritmo de maximização da expectativa de partição-ligação-combinação-subdivisão (*Partition-Ligation Combination-Subdivision EM* - PL-CSEM) que estima de maneira eficiente os haplótipos construídos a partir de um número de *loci* bialélicos ou multialélicos em indivíduos diplóides (Li et al., 2009). Esse algoritmo funciona em etapas de combinação e subdivisão, na primeira etapa combinam-se aleatoriamente alguns alelos para reduzir o total de cada *locus* multialélico por meio do algoritmo de Maximização da Expectativa (*Maximizing Expectations*, EM). Na segunda etapa constroem-se os haplótipos com os novos alelos, por meio de uma abordagem hierárquica ascendente (Li et al., 2009; Shi; He, 2005). Os passos de subdivisão e combinação são repetidos até que todos os alelos regressem ao estado inicial. Para cada conjunto de dados, estimam-se as frequências dos haplótipos 10 vezes, podendo ser combinadas de diferentes formas, e calculam-se os índices de desempenho para comparação, e a solução final é a que tem a máxima verossimilhança (Li et al., 2009; Shi; He, 2005).

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O STATA versão 14 foi utilizado para realizar a metanálise. O tamanho de efeito foi reportado usando a diferença de padronizada das médias (*Standardized Difference of Means*, SMD) com um intervalo de confiança (IC) de 95%. Os tamanhos de efeito de 0,2, 0,5 e 0,8 foram considerados pequenos, médio e grande efeito (Cohen, 2013), respectivamente. Um modelo de efeitos aleatórios foi usado para agrupar os resultados usando *2-tailed* com um nível de significância de 0,05. As médias e os desvios padrão foram extraídos dos estudos. Os dados apresentados em intervalos de confiança foram usados para calcular a variância e obter o desvio padrão (DP) (Hozo; Djulbegovic; Hozo, 2005).

A heterogeneidade foi investigada usando o teste *Cochran Q* com um ponto de corte de significância de 10% (Cochran, 1954) e quantificado o índice I^2 [$100\% \times (Q - df)/Q$] (Higgins et al., 2003) da seguinte forma: 0%, não heterogeneidade entre os estudos; < 50%, baixa heterogeneidade; 50–75%, heterogeneidade moderada; > 75%, alta heterogeneidade (Higgins; Thompson, 2002). Gráficos de floresta foram usados para apresentar os resultados significativos das estimativas combinadas.

No estudo observacional, foi inicialmente realizada a análise descritiva dos dados, sendo as variáveis categóricas apresentadas em frequência absoluta (n) e relativa (%), e as variáveis contínuas em média e desvio padrão ou em mediana (percentil 25-75), conforme a distribuição dos dados analisada pelo teste Kolmogorov-Smirnov (Kolmogorov; Smirnov, 1933).

O cálculo de equilíbrio de Hardy-Weinberg foi avaliado pelo teste de Qui-quadrado (Stern, 1943), e Lewontin's D' ($|D'|$) (Lewontin, 1988) e r^2 testados, considerada forte correlação entre os SNPs quando os valores foram maiores que 0,7 (Lewontin, 1988; Wall; Pritchard, 2003). Modelos de regressão logística binária foram testados considerando como variáveis preditoras o alelo para T para o SNP FokI (rs2228570), C para o TaqI (rs731236) e G para o BsmI (rs1544410), e os haplótipos. Como variáveis dependentes foram utilizadas o %HbA1c $\geq 7\%$, glicose de jejum $\geq 130\text{mg/dL}$ (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2023) e HOMA-IR $\geq 2,71$ (Geloneze et al., 2009). Sexo, idade, IMC e tempo de diagnóstico foram considerados variáveis de ajuste. Teste exato de Fisher foi aplicado e $p < 0,05$ foi considerado significativo. O SHEsisPlus foi utilizado para aplicação dos modelos de regressão logística binária (Shi e He, 2005).

Para identificação dos padrões de reserva corporal de micronutrientes, os dados foram inicialmente padronizados devido à variabilidade nas unidades de medida dos valores referência dos micronutrientes avaliados. A padronização foi feita para uma

escala que variou de -1 a +1, utilizando a fórmula de padronização de z-score ($z = (x - \mu) / \sigma$), na qual z é o valor padronizado, x o valor original, μ é a média dos valores originais e σ é o desvio padrão dos valores originais (Kreyszig; Kreyszig; Norminton, 2011).

O padrão de reserva de nutrientes na circulação foi estabelecido utilizando a análise de componentes principais, a partir dos dados de z-score. O número de fatores foi selecionado usando o critério de Kaiser (autovalor >1) e análise do *scree plot* por meio do gráfico de autovalores que explica a variância total associada a cada valor (Ledesma; Valero-Mora; Macbeth, 2015). Os testes de esfericidade de Bartlett e Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) foram aplicados para identificar o nível de confiança da análise fatorial. $P < 0,05$ no teste de Bartlett e $p > 0,50$ no teste KMO mostraram adequada análise fatorial (Kaiser, 1974).

As cargas fatoriais foram analisadas pelo método *varimax* de rotação ortogonal. As cargas fatoriais $\geq 0,25$ indicaram correlação direta com o padrão e $\leq -0,25$ indicaram correlação inversa com o padrão (Cunha; Almeida; Pereira, 2010).

Adicionalmente, os padrões de reservas corporais de micronutrientes identificados foram distribuídos em quartis e inseridos em modelos de regressão logística binária, considerando os seguintes valores de risco para variáveis dependentes: glicemia de jejum $\geq 130\text{mg/dL}$, %HbA1c $\geq 7\%$, e HOMA-IR $\geq 2,71$. Os modelos foram ajustados para idade, tempo de diagnóstico e IMC. O ajuste do modelo foi verificado por meio do teste de Hosmer e Lemeshow (Hosmer; Lemeshow, 1980).

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* SPSS *Statistic* versão 28. Valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

6. ASPECTOS ÉTICOS

Os indivíduos leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O estudo foi aprovado pelo comitê de Ética e Pesquisa da UFS sob parecer número 3.012.056.

7. RESULTADOS

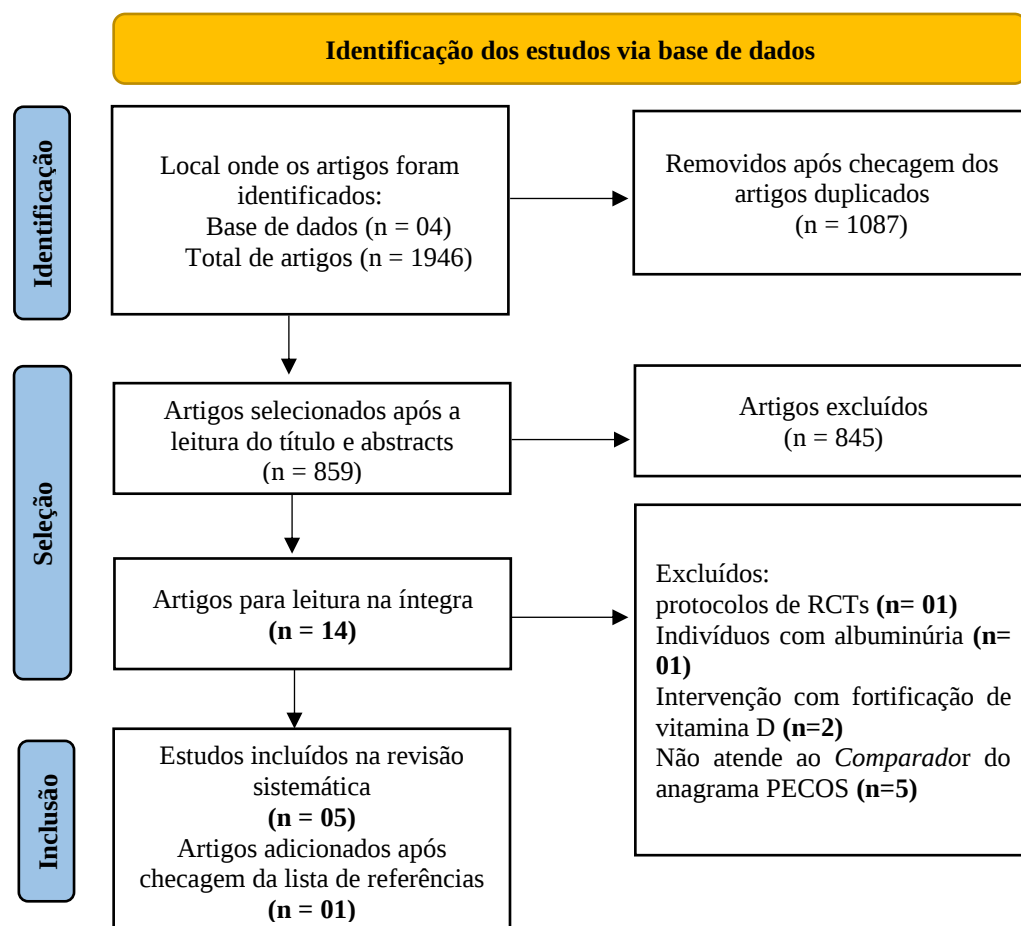
7.1 Polimorfismos no gene do receptor de vitamina D, controle metabólico e inflamatório de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2: uma meta análise de estudos observacionais

Um total de 1946 estudos foram identificados nas bases de dados, sendo avaliados 859 estudos, após a exclusão de 1087 estudos duplicados. Após a leitura do título e do resumo, foram seleccionados 14 estudos para leitura integral, tendo sido seleccionados cinco. Um estudo foi incluído após a verificação da lista de referências dos estudos incluídos (Bid et al., 2009).

Assim, seis estudos caso-controle foram incluídos nesta revisão sistemática, tendo sido avaliados os dados genotípicos dos indivíduos com diabetes tipo 2 (grupo caso) (Angel et al., 2016; Bid et al., 2009; Hossein-nezhad et al., 2009; Mackawy e Badawi, 2014; Nam et al., 2021; Safar et al., 2018). O diagrama de fluxo do PRISMA 36 apresenta as fases de pesquisa e seleção dos estudos incluídos nesta revisão sistemática.

O fluxograma do PRISMA (Page et al., 2021) apresenta as fases de busca e seleção dos estudos incluídos nesta revisão sistemática (figura 4).

Figura 4. Fluxograma apresentando as fases de busca e seleção dos estudos incluídos nesta revisão sistemática de acordo com o PRISMA.



O coeficiente kappa de Cohen apresentou concordância moderada entre os avaliadores na fase de leitura do título e do resumo (Kappa de Cohen = 0,59) e concordância substancial na fase de leitura completa (Kappa de Cohen = 0,69).

7.1.1 Características dos estudos

No total, 1.198 indivíduos com diabetes tipo 2 vivendo na Coréia (Nam et al., 2021), Irã (Hosseini-nezhad et al., 2009), Chile (Angel et al., 2016), Emirados Árabes (Safar et al., 2018), Egito (Mackawy; Badawi, 2014) e Índia (Bid et al., 2009) foram avaliados nos seis estudos incluídos nesta revisão sistemática. Cinco estudos agruparam a população de acordo com o sexo: 53,09% (n = 583) mulheres e 46,91% (n = 515) homens (Angel et al., 2016; Hosseini-nezhad et al., 2009; Mackawy; Badawi, 2014; Nam et al., 2021; Safar et al., 2018). Um estudo não informou o sexo dos participantes (Bid et al., 2009). A média de idade variou de $47,39 \pm 6,01$ a $62,6 \pm 10,6$ anos, e o tempo de diagnóstico do diabetes de $5,00 \pm 5,70$ a $14,7 \pm 7,5$ anos (Bid et al., 2009; Hosseini-nezhad et al., 2009; Nam et al., 2021). A raça da população não foi apresentada nos estudos incluídos.

O controle glicêmico foi avaliado com base nas concentrações de glicemia de jejum (Angel et al., 2016; Bid et al., 2009; Mackawy; Badawi, 2014; Nam et al., 2021) e %HbA1c (Hosseini-nezhad et al., 2009; Mackawy; Badawi, 2014; Nam et al., 2021; Safar et al., 2018a), o perfil lipídico de acordo com colesterol total (Angel et al., 2016; Bid et al., 2009; Mackawy; Badawi, 2014; Nam et al., 2021; Safar et al., 2018), TAG (Angel et al., 2016; Bid et al., 2009; Mackawy; Badawi, 2014; Nam et al., 2021; Safar et al., 2018), concentrações de LDL-c (Bid et al., 2009; Mackawy; Badawi, 2014; Nam et al., 2021; Safar et al., 2018) e HDL-c (Angel et al., 2016; Bid et al., 2009; Mackawy; Badawi, 2014; Nam et al., 2021; Safar et al., 2018) e resistência à insulina com base nos valores HOMA-IR (Angel et al., 2016; Hosseini-nezhad et al., 2009; Mackawy; Badawi, 2014; Nam et al., 2021). O marcador inflamatório IL-6 foi avaliado em apenas um estudo (Mackawy; Badawi, 2014).

As principais características da população avaliada nos estudos incluídos estão apresentadas na tabela 4.

Tabela 4. Características gerais da população avaliada nos estudos incluídos na revisão sistemática.

Autor (ano)	País	DM2 (n)	Sexo F/M (n)	Idade (anos)	Tempo de diagnóstico (anos)	IMC (Kg/m ²)	Glicemia de jejum (mg/dL)	%HbA1c	CT (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	TAG (mg/dL)
(Nam et al., 2021)	Coréia	506	240/266	62,6 ± 10,6	14,7 ± 7,5	25,1 ± 3,5	145,1 ± 55,4	7,6 ± 1,4	170,3 ± 33,7	96,5 ± 28,3	45,5 ± 11,9	158,4 ± 100,8
(Safar et al., 2018)	Emirados Árabes	264	130/134	60,5 ± 11,59	NP	32,12 ± 5,93	NP	7,48 ± 1,36	159,7 ± 61,48 [¥]	84,3 ± 44,08 [¥]	47,95 ± 23,59 [¥]	160,32 ± 186,9 [¥]
(Angel et al., 2016)	Chile	160	102/58	61,7 ± 11,5	NP	31,0 ± 5,6	143,1 ± 88,1	NP	195,7 ± 46,1	NP	33,6 ± 10,5	147,2 ± 65,2
(Mackawy e Badawi, 2014)	Egito	63	27/36	47,39 ± 6,01	NP	30,04 ± 2,94	138,86 ± 7,91	11,37 ± 2,46	288,55 ± 69,04	228,22 ± 22,03	43 ± 4,43	177,80 ± 32,44
(Hosseinezhad et al., 2009)	Irã	105	84/21	55 ± 10	5,58 ± 4,25	28,99 ± 4,28	NP	7,4 ± 1,8	NP	NP	NP	NP
(Bid et al., 2009)	Índia	100	NP	49,32 ± 10,97	5,00 ± 5,70	24,26 ± 4,30	174,30 ± 79,44	NP	225,13 ± 33,10	160,80 ± 30,41	42,60 ± 3,50	115,00 ± 14,10

Legenda: NP, não apresentado; CT, colesterol total; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; TAG, triacilglicerol.

¥ Valores obtidos em in mmol/L e convertidos para mg/dL usando a calculadora online. Disponível em: <https://www.omnicalculator.com/health/cholesterol-units>.

A genotipagem foi realizada por análise de polimorfismos de fragmentos de restrição utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR-RFLP). Os SNPs identificados foram FokI (rs2228570) (TT), BsmI (rs1544410) (GG), TaqI (rs731236) (CC) e ApaI (rs7975232) (CC). Os SNPs mais prevalentes foram, respectivamente, FokI (rs2228570) (cinco estudos [Bid et al., 2009; Hossein-nezhad et al., 2009; Mackway et al., 2014; Angel et al., 2016; Safar et al., 2018]), BsmI (rs1544410) (quatro estudos [Bid et al., 2009; Mackawy e Badawi, 2014; Nam et al., 2021; Safar et al., 2018]) e TaqI (rs731236) (dois estudos [Bid et al., 2009; Safar et al., 2018]). O SNP ApaI (rs7975232) foi avaliado em um estudo (Nam et al., 2021). Em todos os estudos, os SNPs estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A frequência dos SNPs encontrados está exposta na tabela 5.

Na análise individual, o SNP FokI (rs2228570) foi associado a valores mais elevados de marcadores de controle glicêmico, perfil lipídico e marcadores inflamatórios, enquanto os SNPs BsmI (rs1544410) e TaqI (rs731236) foram associados a valores mais elevados de marcadores do perfil lipídico. O SNP ApaI (rs7975232) não foi associado a aumento nos marcadores avaliados. Os principais resultados dos estudos são apresentados na Tabela 6.

Tabela 5. Frequência dos genótipos dos estudos incluídos nesta revisão sistemática.

Autor (ano)	SNP frequência n (%)			
	Fokl (rs2228570)	Bsml (rs1544410)	TaqI (rs731236)	Apal (rs7975232)
Nam et al., (2021)	-- -- -- --	Total: 506 (100) AA: 10 (2.0) AG: 52 (10.3) GG: 444 (87.7)	-- -- --	Total: 506 (100) AA: 23 (4.5) AC: 237 (46.8) CC: 246 (48.6)
Safar et al., (2018)	Total: 281 (100) CC: 20 (7.66) CT: 94 (36.01) TT: 147 (56.33)	Total: 263 (100) AA: 67 (25.47) AG: 118 (44.87) GG: 78 (29.66)	Total: 262 (100) TT: 108 (41.22) TC: 111 (42.37) CC: 43 (16.41)	-- -- --
Angel et al., (2016)	Total: 160 (100) CC: 24 (15) CT: 96 (60) TT: 40 (25)	-- -- -- --	-- -- -- --	-- -- -- --
Mackway et al., (2014)	Total: 67 (100) CC: 27 (40.29) CT: 17 (25.37) TT: 23 (34.32)	Total: 67 (100) AA: 42 (62.68) AG: 17 (35.37) GG: 8 (11.94)	-- -- -- --	-- -- -- --
Hosseini-nezhad et al., (2009)	Total: 120 (100) CC: 74 (71.42) CT: 24 (22.85) TT: 7 (5.71)	-- -- -- --	-- -- -- --	-- -- -- --
Bid et al., (2009)	Total: 100 (100) CC: 2 (2) CT: 60 (60) TT: 38 (38)	Total: 100 (100) AA: 30 (30) AG: 52 (52) GG: 18 (18)	Total: 100 (100) TT: 36 (36) TC: 49 (49) CC: 15 (15)	-- -- -- --

Legenda: Fokl (rs2228570) C>T; Bsml (rs1544410) A>G; TaqI (rs731236) T>C e Apal (rs7975232) A>C.

Tabela 6. Principais resultados da relação entre polimorfismos genéticos no gene do receptor da vitamina D e marcadores metabólicos nesta revisão sistemática.

Genótipo	Autor	Principais resultados
FokI rs 2228570		
TT	(Hosseini-nezhad et al., 2009) (Mackawy e Badawi, 2014)	Associado com maior %HbA1c e HOMA-IR Associado com maior TAG, LDL, IL-6 e menor HDL
CT	(Hosseini-nezhad et al., 2009) (Angel et al., 2016) (Mackawy e Badawi, 2014)	Associado com maior %HbA1c Associado com maior TAG e HOMA-IR Associado com maior CT
BsmI rs1544410		
AG	(Safar et al., 2018)	Associado com maior LDL
TaqI rs731236		
CC	(Safar et al., 2018)	Associado com maior CT e LDL
CT	(Safar et al., 2018)	Associado com maior CT e LDL

Legenda: CT colesterol total; TAG triacilglicerol; LDL-c lipoproteína de baixa densidade; HDL lipoproteína de alta densidade; HOMA-IR avaliação do modelo homeostático para resistência à insulina.

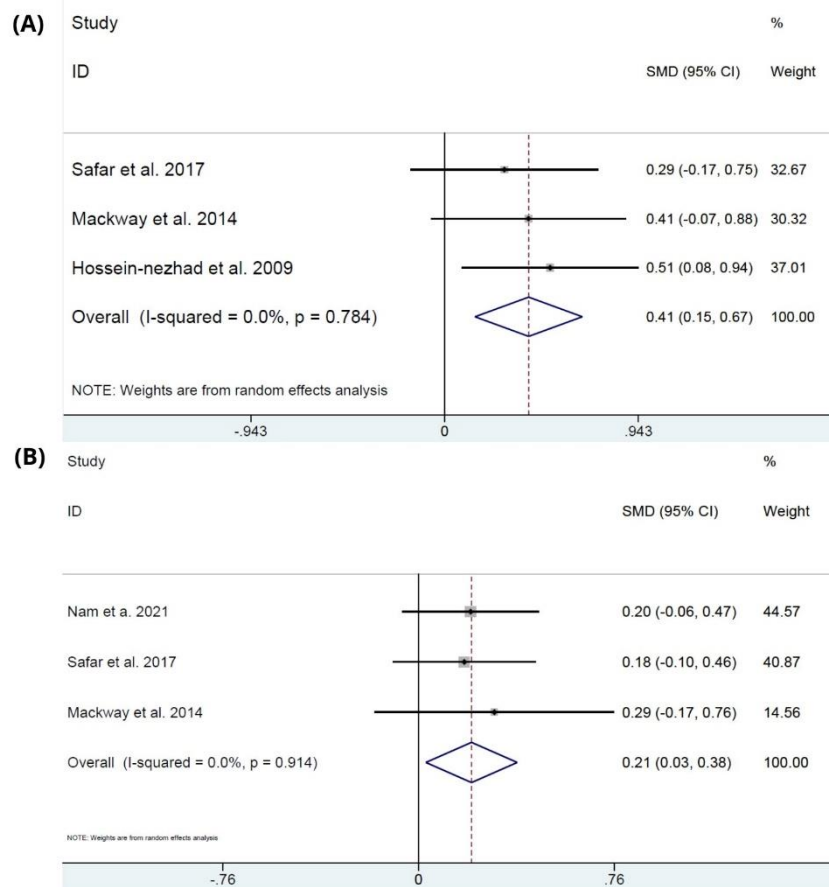
7.1.2 Meta análise

Para avaliar a relação entre os genótipos e biomarcadores do controle glicêmico e perfil lipídico, a análise foi realizada agrupando os indivíduos em dois grupos: homozigotos e heterozigotos para os SNPs avaliados *versus* selvagem.

A meta-análise mostrou que os genótipos CT e TT do SNP FokI (rs2228570) foram associados a maiores valores de %HbA1c quando comparados ao genótipo selvagem (CC) (MD: $8,52 \pm 1,88\%$ vs $7,65 \pm 1,54\%$, respectivamente) (SMD = 0,41, IC 95% (0,15 – 0,67), $p = 0,002$), considerando estudos homogêneos e tamanho de efeito pequeno (Hosseini-nezhad et al., 2009; Mackawy; Badawi, 2014; Safar et al., 2018) (figura 5), mas não foram associados a diferenças na glicemia de jejum, valores de HOMA-IR e concentrações de CT, TAG, HDL, LDL.

Os genótipos GG e AG do SNP BsmI (rs1544410) foram associados a valores mais elevados de TAG quando comparados ao genótipo selvagem (AA) (MD: $165,68 \pm 106,13$ mg/dL vs $150,91 \pm 155,55$ mg/dL, respectivamente) (SMD = 0,21, 95% CI (0,03– 0,38), $p = 0,023$), considerando estudos homogêneos e tamanho de efeito pequeno (Mackawy e Badawi, 2014; Nam et al., 2021; Safar et al., 2018) (Figura 5), mas não foram associados com diferenças de glicemia de jejum, valores de HOMA-IR, %HbA1c e concentrações de CT, HDL-c, LDL-c.

Figura 5. Meta-análise da relação entre o SNP FokI e aumento do %HbA1c (A), e SNP BsmI e aumento das concentrações de triacilglicerol (B) em indivíduos com diabetes tipo 2.



$p < 0,05$ foi considerado significativo.

Legenda: (A) meta-análise da relação entre o SNP FokI no gene VDR e aumento dos níveis de %HbA1c em indivíduos com diabetes tipo 2 ($p = 0,002$); (B) meta-análise da relação entre a presença de SNP BsmI e concentrações aumentadas de triacilglicerol em indivíduos com diabetes tipo 2, ($p = 0,023$).

O estudo que avaliou o SNP Apal (rs7975232) não foi incluído na meta-análise devido à insuficiência de dados (apenas um estudo). O SNP Taql (rs731236) não foi associado aos desfechos metabólicos. A tabela 7 mostra os resultados da meta-análise para os SNPs FokI (rs2228570) e BsmI (rs1544410) e Taql (rs731236).

1 **Tabela 7.** Meta análise da relação entre a presença dos SNPs FokI (rs2228570), BsmI (Rs1544410), e ApaI (rs7975232) no aumento de marcadores do controle glicêmico, perfil lipídico
2 e inflamatório em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2.

Variáveis	Estudos (n)	Autor (ano)	População (n)	SMD (95% CI)	I ² (%)	p
FokI rs2228570						
Glicose de jejum (mg/dL)	5	Bid et al. (2009); Mackway; Badawi, (2014); Angel et al. (2016); Hossein-nezhad et al. (2009); (Safar <i>et al.</i> , 2018)	713	0.63 (0.373–0.047)	13.8	0.128
HbA1c (%)	3	Mackway; Badwai (2014); Safar et al. (2018); Hossein-nezhad et al. (2009)	453	0.409 (0.148–0.670)	0.0	0.002
CT (mg/dL)	5	Bid et al. (2009); Mackway; Badawi (2014), Angel et al. (2016); Safar et al. (2018); Hossein-nezhad et al. (2009)	713	0.633 (0.205–1.471)	92.5	0.139
TAG (mg/dL)	4	Bid et al. (2009); Mackway; Badawi (2014); Angel et al. (2016); Safar et al. (2018)	608	0.331 (0.127–0.789)	76.3	0.156
HDL (mg/dL)	4	Bid et al. (2009); Mackway; Badawi (2014); Angel et al. (2016); Safar et al. (2018)	608	0.231 (0.285–0.748)	81.4	0.380
LDL (mg/dL)	3	Bid et al. (2009); Mackway; Badawi (2014); Safar et al. (2018)	448	0.935 (2.166–0.296)	95.0	0.137
HOMA-IR	3	Mackway; Badawi (2014); Angel et al. (2016); Hossein-nezhad et al. (2009)	352	0.045 (0.673–0.763)	87.0	0.902
BsmI rs1544410						
Glicose de jejum (mg/dL)	3	Mackway; Badawi (2014); Nam et al. (2021); Safar et al. (2018)	857	0.179 (-0.166–0.524)	70.5	0.309
HbA1c (%)	3	Mackway; Badawi (2014); Nam et al. (2021); Safar et al. (2018)	351	0.048 (0.323–0.419)	74.5	0.799
CT (mg/dL)	3	Mackway; Badawi (2014); Nam et al. (2021); Safar et al. (2018)	351	0.035 (-0.143–0.212)	0.0	0.701
TAG (mg/dL)	3	Mackway; Badawi (2014); Nam et al. (2021); Safar et al. (2018)	351	0.206 (0.028–0.384)	0.0	0.023
HDL	3	Mackway; Badawi, (2014); Nam et al. (2021); Safar et al. (2018)	351	0.246 (-0.382–0.875)	91.1	0.442
LDL	3	Mackway e Badawi, (2014); Nam et al. (2021); Safar et al. (2018)	351	0.004 (-0.233–0.241)	39.2	0.975

HOMA-IR	2	Mackway; Badawi, (2014); Nam et al. (2021)	351	0.025 (-0.205–0.256)	0.0	0.830
TaqI rs731236						
Glicose de jejum (mg/dL)	2	Bid et al. (2009); Safar et al. (2018)	283	0.206 (0.050–0.462)	0.0	0.115
CT (mg/dL)	2	Bid et al. (2009); Safar et al. (2018)	283	0.722 (0.381–1.826)	93.7	0.199
TAG (mg/dL)	2	Bid et al. (2009); Safar et al. (2018)	283	0.104 (0.151–0.359)	0.0	0.424
HDL (mg/dL)	2	Bid et al. (2009); Safar et al. (2018)	283	0.058 (0.351–0.235)	22.5	0.699
LDL (mg/dL)	2	Bid et al. (2009); Safar et al. (2018)	283	0.781 (0.384–1.945)	94.3	0.189

3 *P* value < 0.05 foi considerado significativo.
4 SMD, diferença padronizada de média (*standardised mean difference*); CT cholesterol total; LDL, lipoproteína de baixa densidade (*low-density lipoprotein cholesterol*); HDL,
5 lipoproteína de alta densidade (*high-density lipoprotein cholesterol*); TAG, triacilglicerol.
6 FokI rs2228570 – comparado FF (selvagem) vs *Ff* + *ff*. BsmI 1544410 – comparado BB + Bb vs bb (selvagem); TaqI rs731236 – comparado TT + Tt vs tt (selvagem).

7.1.3 Avaliação da qualidade metodológica

Todos os estudos incluíram casos e grupo controle corretamente definidos e foram avaliados usando métodos padrão-ouro. A comparabilidade entre os grupos foi satisfatória em três estudos (Angel et al., 2016; Mackawy; Badawi, 2014; Nam et al., 2021). A idade média foi significativamente diferente entre os grupos em um estudo (Safar et al., 2018).

Em dois estudos, uma avaliação de comparabilidade não foi realizada (Bid et al., 2009; Hossein-nezhad et al., 2009). Além disso, os resultados relatados não foram afetados pela taxa de não resposta, pois foi a mesma para ambos os grupos. A tabela 8 apresenta os resultados da avaliação do risco de viés dos estudos incluídos na revisão sistemática.

Tabela 8. Avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos nesta revisão sistemática de acordo com a Escala de Avaliação de qualidade de estudos caso- controle de Newcastle-Ottawa.

Autor (ano)	Seleção	Comparabilidade	Exposição
(Nam et al., 2021)	★ ★	★	★ ★ ★
(Safar et al., 2018)	★ ★ ★ ★	--	★ ★ ★
(Angel et al., 2016)	★ ★ ★ ★	★	★ ★ ★
(Mackawy; Badawi, 2014)	★ ★ ★ ★	★	★ ★ ★
(Bid et al., 2009)	★	--	★ ★ ★
(Hossein-nezhad et al., 2009)	★ ★	--	★ ★ ★

7.2 SNPs e haplótipos no gene do VDR, e padrão da reserva corporal de micronutrientes em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2

7.2.1 Característica da população

Um total de 160 indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 participaram do estudo. A maioria era do sexo feminino (66,9%). A mediana de idade foi de 49,0 anos (percentil 25-75: 44,0 – 54,5 anos). A obesidade caracterizada pelo IMC ≥ 30 kg/m² e % massa gorda maior que 30% foi observada em 42,8% e 65,2 % dos avaliados, respectivamente.

A maioria dos indivíduos avaliados apresentou inadequado controle glicêmico, observado pela prevalência de 63,5% de indivíduos com %HbA1 $\geq 7\%$ e 60,0% com glicose de jejum ≥ 130 mg/dL. A resistência à insulina foi observada em 43% dos indivíduos (HOMA-IR $\geq 2,71$). Adicionalmente, a deficiência de vitamina D, Zn, Mg e Ca foi observada em 42,1%, 49,1%, 100% e 28,1% dos participantes, respectivamente.

Enquanto, o excesso de K foi observado em 98,2% dos indivíduos avaliados. As características antropométricas e bioquímicas da população estudada estão apresentadas na tabela 9.

Tabela 9. Características antropométricas e bioquímicas dos indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2.

Variáveis	Valores
Sexo	
Feminino n (%)	107 (66,90)
Masculino n (%)	53 (33,10)
Idade (anos)	49,00 (44,00 – 54,50)
P.A.S (mmHg)	124,00 (118,00 – 138,00)
P.A.D (mmHg)	80,00 (75,50 – 88,00)
Peso (kg)	79,22 ± 18,300
IMC (kg/m ²)	29,48 (25,74 – 34,02)
≥30 kg/m ²	68 (42,8)
CC (cm)	99,69 ± 14,13
Massa gorda (kg)	28,11
Massa gorda (%)	34,50 (27,45 – 40,75)
≥30%	101 (65,2)
Glicose sérica de jejum (mg/dL)	153,00 (110,58 – 239,50)
≥130mg/dL	96 (60,0)
Insulina sérica de jejum (uU/mL)	12,77
%HbA1c	7,70 (6,30 – 9,90)
≥7%	101 (63,5)
Peptídeo C (ng/mL)	2,70 (1,90 – 3,30)
HOMA2 %B	60,20 (29,35 – 121,75)
HOMA2 %S	42,90 (30,35 – 56,40)
HOMA2 IR	2,33 (1,77 – 3,29)
>2,71	68 (43,0)
25(OH)D (ng/mL)	31,60 (26,60 – 39,35)
< 30,0 ng/mL	48 (42,1%)
PTH (pg/mL)	33,00 (26,00 – 36,50)
< 65,0	151 (97,4)
≥65,0	4 (2,6)
Zinco plasmático (µg/dL)	70.88 (52.23 – 107.72)
< 70,0 µg/dL	56 (49.1)
Magnésio plasmático (mg/dL)	0.54 (0.49 – 0.61)
< 2,07 mg/dL	114 (100)
Cálcio plasmático (mg/L)	52.73 (38.61 – 73.32)
< 41,9 mg/L	32 (28.1)
Potássio plasmático (mEq/L)	6.76 ± 1.17
< 4,0 mEq/L	2 (1.8)
>5,0 mEq/L	112 (98.2)

Dados apresentados em média e desvio padrão ($X \pm DP$), mediana (percentil 25 – 75) ou frequências [n (%)]. N total= 160. IMC e HbA1c (%) avaliados em 159 indivíduos e % massa gorda avaliado em 156 indivíduos. P.A.S (mmHg) e P.A.D (mmHg) n= 153; 25(OH)D n= 117; PTH (n=155). Valores de referência desejável: 25(OH)D ≥ 30 mg/dL (Holick, 2017); Mg $\geq 2,07$ mg/dL (Rosanoff et al., 2022); Zn: 70 – 110 µg/dL (Gibson, 2005); K: 4 – 5 mEq/L (School, 2004) e Ca $\geq 41,9$ mg/L (Deng et al., 2008). PTH: < 65 pg/mL (Khundmiri, Murray e Lederer, 2016); 25(OH)D, Mg, Zn, K e Ca (n=114).

Legenda: IMC, Índice de Massa Corporal; CC, circunferência da cintura; %HbA1c, percentual de hemoglobina glicada; HOMA-IR, Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance; PTH, paratormônio; 25(OH)D, 25 hidroxivitamina D; P.A.S, pressão arterial sistólica; P.A.D, pressão arterial diastólica; HOMA %B, %S e IR, modelo de avaliação da homeostase (Homeostasis Model Assessment - HOMA) para função das células beta, sensibilidade e resistência à insulina.

7.2.2 Associação entre a presença dos SNPs FokI (rs2228570), TaqI (rs731236) e BsmI (rs1544410), e haplótipos no gene do VDR e marcadores do controle glicêmico de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2

Os SNPs FokI (rs2228570), TaqI (rs731236) e BsmI (rs1544410) foram identificados em 160 indivíduos. A frequência do alelo T para o SNP FokI (rs2228570) foi de 33%, do alelo G para o SNP BsmI (rs1544410) foi de 38% e do alelo C para o SNP TaqI (rs731236) 66%. O teste de Hardy-Weinberg não mostrou desequilíbrio entre a frequência dos alelos para os três SNPs identificados. A frequência dos alelos e genótipos para os SNPs identificados está apresentada na tabela 10.

Tabela 10. Frequência alélica e dos genótipos dos polimorfismos identificados nos indivíduos com diabetes mellitus tipo 2.

Genótipo	N	%	Hardy-Weinberg*
FokI (rs2228570)			
C/C	74	46	0,29
C/T	65	41	
T/T	21	13	
C	213	67	
T	107	33	
TaqI (rs731236)			
T/T	20	12	0,60
T/C	68	42	
C/C	72	45	
T	108	34	
C	212	66	
BsmI (rs1544410)			
A/A	65	41	0,18
A/G	67	42	
G/G	27	17	
A	197	62	
G	121	38	

*Significância da diferença entre as frequências dos alelos (Hardy-Weinberg: Teste Qui-quadrado) <0,05. FokI (rs2228570) e TaqI (rs731236) (n=160); BsmI (rs1544410) (n= 159).

Avaliando a presença dos alelos para os SNPs de maneira isolada, foi possível observar que o alelo T para o SNP FokI (rs2228570) e C para o TaqI (rs731236) não contribuíram significativamente para o inadequado controle glicêmico de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2, porém o alelo G para o BsmI (rs1544410) aumentou as chances de elevar o %HbA1c acima de 7% (OR: 2.071, 95% IC: 1.015-4.223, p = 0,045), em análise ajustada por sexo, idade IMC e tempo de diagnóstico (Tabela 11).

Tabela 11. Efeito dos alelos T para o SNP FokI (rs2228570), C para TaqI (rs731236) e G para o BsmI (rs1544410) nos marcadores do controle glicêmico de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2.

Alelo	%HbA1c ≥ 7%	Glicose de jejum	HOMA-IR ≥ 2,71
-------	-------------	------------------	----------------

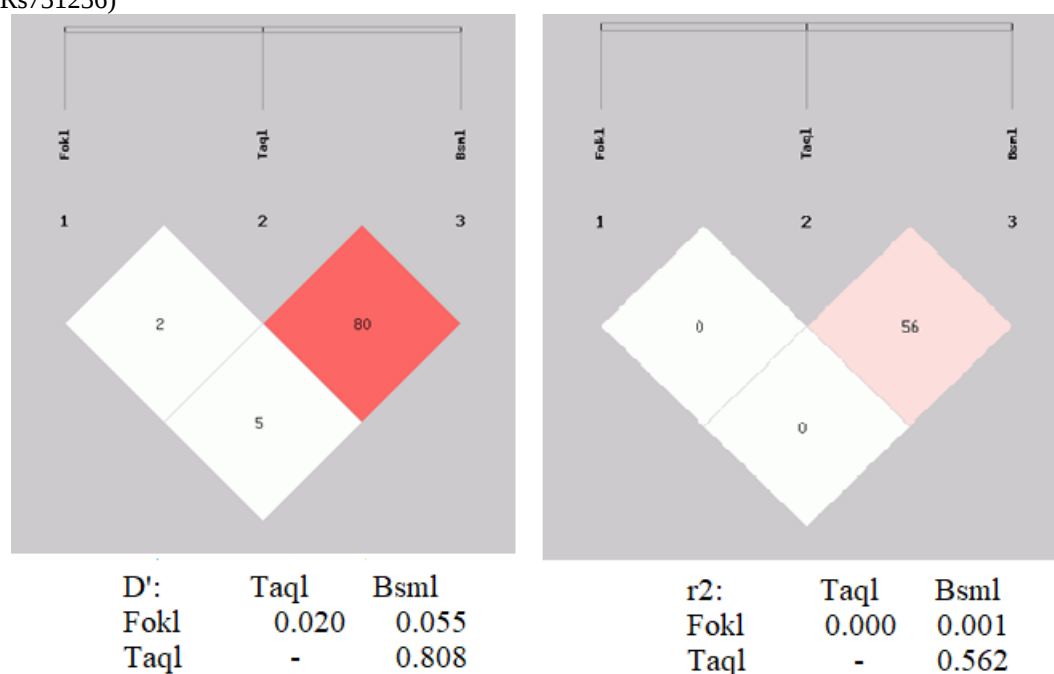
$\geq 130 \text{ mg/dL}$						
	OR (95% IC)	P valor	OR (95% IC)	P valor	OR (95% IC)	P valor
FokI (rs2228570)						
T	0,759 (0,242-0,2376)	0,636	0,718 (0,227-2,265)	0,572	0,363 (0,124-1,064)	0,650
TaqI (rs731236)						
C	1,625 (0,802-3,295)	0,178	1,116 (0,555-2,244)	0,759	1,893 (0,938-3,607)	0,076
BsmI (rs1544410)						
G	2,071 (1,015-4,223)	0,045	1,500 (0,738-3,048)	0,262	1,417 (0,721-2,788)	0,312

Modelos de regressão binária logística, ajustados para sexo, idade, IMC e tempo de diagnóstico. Significância $p < 0,05$.

Legenda: Odds ratio, OR; Intervalo de confiança 95%, 95%IC; Modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina - Homeostasis Model Assessment of insulin resistance, HOMA-IR.

A análise de desequilíbrio de ligação (LD) e o r^2 mostraram desequilíbrio de ligação e forte correlação entre os SNPs BsmI (rs1544410) e TaqI (rs731236) ($r^2=0.562$) (Figura 6).

Figura 6. Análise de desequilíbrio de ligação (LD) e o r^2 entre os SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410) e TaqI (Rs731236)



Um total de seis combinações de haplótipos com prevalência maior que 1% foram permitidas em 159 indivíduos com frequência acumulativa variando de 0,3721 a 1 (tabela 12).

Tabela 12. Frequência dos haplótipos			
FokI (rs2228570)	TaqI (rs731236)	BsmI (rs1544410)	Frequência
T	T	A	0.3721
C	T	A	0.2125
T	C	G	0.198

C	C	G	0.1055
T	T	G	0.0679
T	C	A	0.0277

Legenda: FokI (rs2228570) e TaqI (rs731236) avaliados em 160 indivíduos. BsmI (rs1544410) avaliado em 159 indivíduos.

Os haplótipos identificados não contribuíram para o inadequado controle glicêmico dos indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, avaliados em modelo de regressão binária logística ajustados para o sexo, idade, IMC e tempo de diagnóstico (Tabela 13).

Tabela 13. Modelos de regressão binária logística entre os haplótipos FokI (rs2228570), TaqI (rs731236) BsmI (rs1544410) no gene do VDR e %HbA1c, glicose de jejum e HOMA-IR nos indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2.

Haplotype	Glicose de jejum (mg/dL)			%HbA1c			HOMA-IR		
	OR	95%IC	p	OR	95%IC	p	OR	95%IC	p
CTA	1.15	0.683-1.936	0.692	0.711	0.441-1.148	0.176	1.114	0.656-1.89	0.789
TTA	0.932	0.58-1.496	0.809	1.004	0.595-1.692	1	0.762	0.472-1.228	0.271
TCG	0.865	0.512-1.462	0.592	2.818	0.93-8.539	0.067	1.050	0.613-1.799	0.891
CCG	1.464	0.58-3.699	0.502	1.086	0.63-1.873	0.784	2.788	0.92-8.445	0.068
TCA	1.344	0.33-5.474	0.745	--	--	--	--	--	--
TTG	0.881	0.36-2.156	0.82	--	--	--	0.764	0.312-1.873	0.641

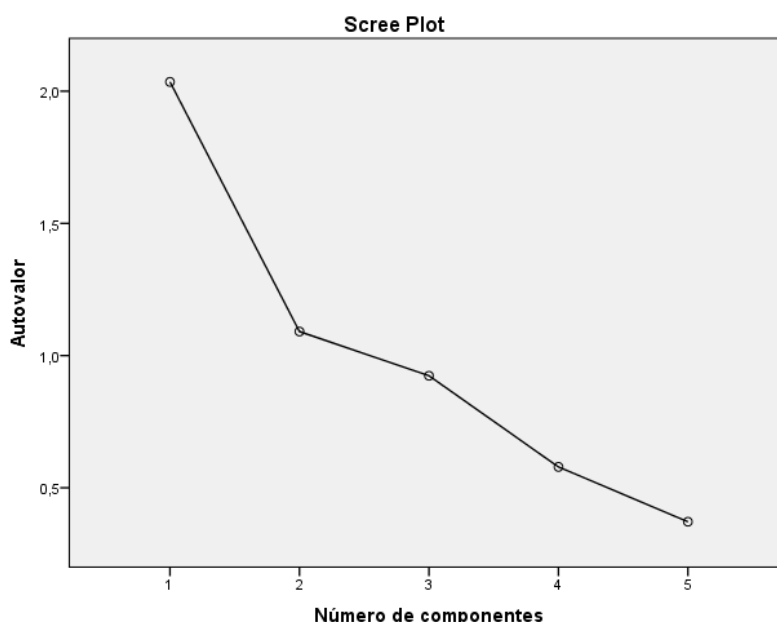
Regressão logística binária ajustada para sexo, idade, Índice de Massa Corporal e tempo de diagnóstico da diabetes mellitus tipo 2. Pós teste exato de Fisher $p < 0,05$ considerado significativo; OR, odds ratio; 95% IC, Intervalo de confiança de 95%.

Legenda: Modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina - *Homeostasis Model Assessment of insulin resistance*, HOMA IR; --, associações não estabelecidas.

7.2.3 Associação entre o padrão da reserva corporal de micronutrientes, controle glicêmico e resistência à insulina em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2

O padrão da reserva corporal de micronutrientes foi estabelecido em 114 indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2. Foram identificados dois padrões de reserva corporal de micronutrientes por meio da análise de componentes principais, explicando um total de 62,52% da variância (Figura 7).

Figura 7. *Scree plot* dos padrões de reserva corporal de micronutrientes identificados. Teste de Bartlett, p valor= 0,00. Teste KMO, p valor = 0,562.



O Padrão 1 explica 40,70% da variância, sendo que a carga fatorial é positivamente correlacionada com o Zn, Mg, Ca e K do plasma, enquanto o Padrão 2 explica 21,81% da variância e a carga fatorial é positivamente correlacionada com 25(OH)D e Zn, e inversamente correlacionada com o K. A carga fatorial atribuída aos componentes dos padrões identificados está apresentada na tabela 14.

Tabela 14. Cargas fatoriais dos padrões da reserva corporal de micronutrientes dos indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2.

Micronutrientes	Padrão 1	Padrão 2
25(OH)D	0,023	0,937
Magnésio	0,776	0,104
Zinco	0,533	0,279
Cálcio	0,812	-0,038
Potássio	0,699	-0,351

Carga fatorial $<-0,250$ ou $> 0,250$ (Cunha, Almeida e Pereira, 2010). Kaiser-Meyer-Olkin $p= 0,562$. Teste de Bartlett $p=0,00$.

A avaliação dos padrões de micronutrientes circulantes por quartis revelou que o quartil mais baixo do Padrão 1 tinha 4,32 vezes mais probabilidades ($p = 0,019$) de

resistência à insulina, conforme avaliado pelo HOMA-IR, em comparação com o quartil mais alto. Da mesma forma, o quartil mais baixo do Padrão 2 tinha 3,97 vezes mais probabilidades ($p = 0,038$) de um aumento da %HbA1c em comparação com o quartil mais elevado. Não foram encontradas associações entre os quartis dos Padrões 1 e 2 e as variáveis de resultado nos outros modelos testados (Tabela 15).

Tabela 15. Associação entre o padrão da reserva corporal de micronutrientes e marcadores do controle glicêmico e resistência à insulina em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2.

Quartis	Glicemia de jejum			%HbA1c			HOMA-IR		
	OR (EXP)	IC95%	p-valor*	OR (EXP)	IC95%	p-valor*	OR (EXP)	IC95%	p-valor*
Padrão 1									
Q1	3,091	0,943 - 10,129	0,062	2,338	0,728 - 7,515	0,154	4,319	1,270 - 14,685	0,019
Q2	1,712	0,560 - 5,234	0,346	2,807	0,890 - 8,858	0,078	2,958	0,897 - 9,752	0,075
Q3	1,905	0,616 - 5,892	0,263	2,603	0,819 - 8,271	0,105	1,873	0,556 - 6,321	0,312
Q4	1 (Ref)			1 (Ref)			1 (Ref)		
Padrão 2									
Q1	3,395	0,932 - 12,362	0,064	3,970	1,081 - 14,580	0,038	1,715	0,515 - 5,711	0,380
Q2	2,036	0,614 - 6,747	0,245	3,176	0,934 - 10,799	0,064	1,290	0,419 - 3,967	0,657
Q3	1,193	0,380 - 3,752	0,762	2,167	0,674 - 6,969	0,194	0,162	0,162 - 1,694	0,280
Q4	1 (Ref)			1 (Ref)			1 (Ref)		

Modelo de regressão logística binária ajustado para sexo, índice de massa corporal e tempo de diagnóstico. * Significância $p < 0,05$. Valores de risco para as variáveis dependentes: Glicemia de jejum ≥ 130 mg/dL, HOMA-IR $> 2,71$ e %HbA1c $\geq 7\%$. Glicemia de jejum e HOMA-IR foram analisados em 114 indivíduos e %HbA1c em 113 indivíduos. $p < 0,05$ foi considerado como significância estatística. Abreviações: OR: Razão de chance; IC: intervalo de confiança; %HbA1c: percentual de hemoglobina glicada; HOMA-IR: modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina; Q: quartil.

8. DISCUSSÃO

A metanálise mostrou que os SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236) e ApaI (rs7975232) no gene do VDR foram estudados e relacionados com desfechos metabólicos em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, sendo que apenas os SNPs FokI (rs2228570) e BsmI (rs1544410) foram associados a concentrações mais elevadas de HbA1c e TAG, respectivamente. No estudo observacional, a partir dos SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410) e TaqI (rs731236) foram estabelecidos seis blocos de haplótipos. Apesar de o alelo G para o SNP BsmI (rs1544410) contribuir para o inadequado controle glicêmico aumentando as chances de elevar o %HbA1c, quando inseridos nos haplótipos essa associação não foi observada. O controle glicêmico também foi associado ao padrão de reserva corporal de micronutrientes, como observado pela associação entre os menores quartis do padrão explicado por 25(OH)D, Zn, Mg, Ca e K e maiores valores de %HbA1c e HOMA-IR.

Nossos resultados corroboram a importância dos fatores ambientais, como dieta, nos desfechos da doença não transmissível, estando em consonância com estudo que propôs que os fatores ambientais contribuem com 70 a 90% dos riscos de doenças (Rappaport; Smith, 2010).

A interação entre fatores ambientais e genéticos pode ser observada quando avaliada a atividade da vitamina D em processos de síntese, secreção e ação da insulina em mecanismos dependentes da ativação do VDR e atividade transcricional do mesmo, podendo explicar, em parte a menor secreção de insulina em indivíduos com deficiência de vitamina D (Al-Daghri et al., 2013; Hetta et al., 2019; Ogunkolade et al., 2002; Ozfirat e Chowdhury, 2010).

A 1,25(OH)D ligada ao VDR contribui para a secreção e ação da insulina pela modulação dos canais de cálcio nas células beta, e modulação do conteúdo de cálcio nas células musculares, o que causa a defosforilação do transportador de glicose 4 (GLUT-4) (Contreras-Bolívar et al., 2021). Os estudos incluídos na metanálise, e o estudo observacional que avaliou a presença dos SNPs no gene do VDR e os haplótipos, não avaliaram a relação entre os SNPs, os haplótipos e os valores de 25(OH)D, no entanto, o padrão da reserva corporal de micronutrientes fortemente explicado pelas concentrações inadequadas de 25(OH)D foi considerado fator de risco para o aumento do %HbA1c.

Em estudos de aspecto genético, a homogeneidade da população tem um efeito significativo nos resultados. Nesse sentido, a prevalência de SNPs no gene VDR está

associada à raça dos indivíduos (Zhong et al., 2015), como observado maior prevalência dos SNPs FokI (rs2228570) e ApaI (rs7975232) em indivíduos asiáticos, e dos SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410), ApaI (rs7975232) e TaqI (rs731236) em caucasianos e africanos (Uitterlinden et al., 2004). Na metanálise, o SNPs FokI (rs2228570) foi o mais estudado, e juntamente com o BsmI (rs1544410), os mais prevalentes entre os estudos, no entanto, a raça da população não foi informada.

Os indivíduos dos estudos incluídos na meta-análise, e os indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 selecionados para o estudo observacional apresentaram controle glicêmico não satisfatório, observado pelos valores médios do %HbA1c. Mesmo na meta-análise, o SNP FokI (rs2228570) foi associado a concentrações de %HbA1c mais altas, corroborando a ideia de que o FokI (rs2228570) pode ser considerado importante fator de risco para aumento das concentrações de %HbA1c em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (Hosseini-nezhad et al., 2009). No entanto, no estudo observacional, tal associação não foi estabelecida.

O SNP FokI (rs2228570) está relacionado à síntese reduzida de RNA mensageiro (mRNA) (Ogunkolade et al., 2002) e produz uma proteína mais curta (423 aminoácidos), porém com maior atividade transcricional. Contrariamente, a atividade do VDR é dependente do tecido no qual está expresso (Bertocchini et al., 2018). O gene VDR está presente nas células beta pancreáticas (Wang; Zhu; DeLuca, 2012) e nessa célula, a menor atividade da proteína VDR atribuída ao SNP FokI (rs2228570) modifica as propriedades funcionais do receptor, diminuindo a resposta nuclear em 1,25(OH)D (Nahas-Neto et al., 2018) e consequentemente, a capacidade das células beta em converter pró-insulina em insulina (Zhong et al., 2015).

Apesar de não ter sido observado na metanálise mudanças do perfil inflamatório com a presença do SNP FokI (rs2228570), um estudo reportou associação entre o FokI (rs2228570) com a resistência periférica à insulina nos tecidos musculoesquelético e adiposo (Wu et al., 2020). A relação entre VDR e resistência à insulina é explicada pela ação do VDR na diminuição da resposta inflamatória, interagindo diretamente com o inibidor da proteína do IKK β , inibindo a translocação nuclear p65 e suprimindo a transcrição do NF- κ B (Chen et al., 2013).

Na metanálise, o SNP BsmI (rs1544410) no gene VDR foi associado com maiores concentrações de TAG, enquanto nos indivíduos avaliados no estudo observacional esse SNP se associou ao aumento do %HbA1c. Da mesma forma, em mulheres adultas caucasianas com deficiência ou insuficiência de vitamina D, a presença de SNP BsmI

(rs1544410) foi relacionada ao aumento das concentrações de TAG (Karonova et al., 2018).

Outros estudos que avaliaram a relação entre o SNP BsmI (rs1544410) com o inadequado controle lipídico em indivíduos com diabetes tipo mellitus 2 são controversos (Bid et al., 2009; Nam et al., 2021; Zakaria et al., 2021). No entanto, o SNP BsmI (rs1544410) tem sido associado à obesidade e resistência à insulina, aumentando o risco para o desenvolvimento da diabetes mellitus tipo 2 (Khan et al., 2019; Zhang et al., 2016).

A relação entre o BsmI (rs1544410) com a obesidade, resistência à insulina e mudanças no perfil lipídico é explicada pelo comprometimento da ligação da 1,25(OH)D ao VDR (Gholami et al., 2024). A 1,25(OH)D ativa o VDR em células adiposas, o que aumenta o cálcio intracelular e diminui a concentração de adenosina monofosfato cíclico (cAMP), reduzindo a expressão gênica de lipase sensível ao hormônio, demonstrada em ratos (He et al., 2011). Ainda, o VDR regula as enzimas de expressão gênica do processo de lipogênese, como ácido graxo sintase (*Fatty Acid Synthase*, FAS), proteína de ligação de ácido graxo (FABP) e PPAR- γ , além de regular a lipoproteína lipase (LPL) (Faghfour et al., 2020; Javier; Anguita-ruiz, 2018).

A meta-análise não mostrou associação entre os SNPs Apal (rs7975232) e TaqI (rs731236) com mudanças nos parâmetros metabólicos avaliados, bem como do SNP taqI (rs731236) no estudo observacional. Uma possível explicação é a posição do SNP Apal (rs7975232) no íntron 8, que permite criar splicing alternativo incluindo um éxon no RNA não codificante (Annalora et al., 2019; Uitterlinden et al., 2004).

O SNP FokI (rs2228570) não está em desequilíbrio de ligação com outros SNPs no gene VDR. Portanto, pode ser um fator independente para a manifestação do fenótipo (Bertocchini et al., 2018). Por outro lado, a localização dos SNPs BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236) e Apal (rs7975232) em uma região regulada (3'UTR) no gene VDR contribuiu para o desenvolvimento de haplótipos BsmI+TaqI+Apal com importantes efeitos biológicos, e resultam em uma tradução diferente do mRNA (Razi et al., 2018; Uitterlinden et al., 2004).

Considerando a frequência de 1% identificamos seis blocos de haplótipos dos SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410) e TaqI (rs731236) em 160 indivíduos com diabetes mellitus tipo 2. No entanto, esses haplótipos não contribuíram significativamente para o inadequado controle glicêmico dessa população. Esses achados podem ser explicados pela miscigenação racial da população avaliada, uma vez que as associações

dos SNPs e consequentemente, dos haplótipos variam conforme a raça, bem como pela interação com fatores ambientais como a reserva corporal de 25(OH)D.

Em outro estudo, os SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410) e os haplótipos (Taq + ApaI) no gene VDR foram associados a maior suscetibilidade ao diabetes mellitus tipo 2 nos Emirados, mas não ao aumento das concentrações de LDL, em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 da mesma etnia (Safar et al., 2018). Além disso, o SNP TaqI (rs731236) isoladamente não contribuiu para o desenvolvimento de nefropatia diabética em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2, porém ao associar-se com os haplótipos TaqI + BsmI essa contribuição foi significativa (Razi et al., 2018).

Separadamente, a deficiência ou insuficiência de 25(OH)D, juntamente com as deficiências de Zn e Ca no estudo observacional, alinha-se com os resultados de outros estudos envolvendo indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (Chutia; Lynrah 2015; Hassan et al., 2016; Farooq et al., 2020; Hasanato, 2020). Aumento no %HbA1c foi associado à deficiência de Zn (Farooq et al., 2020) e a concentrações mais baixas de 25(OH)D no soro (Santos et al., 2018), enquanto concentrações de Ca sérico (Hassan et al., 2016) foram inversamente correlacionados com %HbA1c em adultos com diabetes mellitus tipo 2. Em adição, foi observada manutenção da homeostase do metabolismo do Ca nos indivíduos incluídos no estudo observacional, a qual foi avaliada pelas concentrações plasmáticas de Ca e adequada secreção de PTH na população.

A prevalência de 100% de deficiência de Mg foi observada na população avaliada no estudo observacional. A deficiência de Mg em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 foi associada a valores mais elevados de %HbA1c (Zahra et al. 2021). Além disso, em nosso estudo, o excesso de K foi reportado em 98,2% da população e semelhante aos nossos resultados, foi demonstrado que os indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 e resistência à insulina têm concentrações mais elevadas de K (Kim et al. 2015).

A vitamina D, o Zn, Mg, Ca e K interagem em mecanismos que favorecem o controle glicêmico. A vitamina D e o Zn modulam a atividade do gene da insulina contribuindo para a síntese do hormônio (Bertocchini et al., 2018; Chausmer, 1998; Huang, 2014; Vardatsikos; Pandey; Srivastava, 2013). Adicionalmente, a vitamina D interage na conversão da molécula de pró-insulina em insulina no pâncreas (Morró et al., 2020), e o Zn, por meio do transportador de zinco Znt8, se transloca para o interior das vesículas de insulina fazendo com que moléculas de insulina sejam armazenadas em forma de cristais de zinco, deixando-as mais estáveis estruturalmente (Chausmer, 1998). Desta forma, estes micronutrientes contribuem para a síntese e secreção da insulina, captação da glicose

circulante e consequentemente redução dos valores de %HbA1c e da resistência à insulina (Chausmer, 1998; Ozcaliskan Ilkay et al., 2019; Palacios et al., 2020; Pittas et al., 2007).

Revisão sistemática mostrou associação entre menores concentrações de 25(OH)D e aumento do %HbA1c em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (Santos et al., 2018). Complementando os achados, uma meta análise mostrou que a suplementação com vitamina D ou análogos é uma terapia adjuvante que reduz a progressão da doença (Gupta et al., 2019). Ligada ao seu receptor, a 1,25(OH)D atua no controle do influxo de Ca para a célula, o que contribui para exocitose dos grânulos de insulina e consequente secreção do hormônio pelas células beta pancreáticas (Mauricio; Palomer; Gonza, 2008; Pittas et al., 2007; Vondra; Hampl, 2021).

Concentrações adequadas de Ca e K são essenciais para a secreção da insulina (Saad, 2002), uma vez que o fechamento dos canais de K sensível a ATP leva a despolarização da membrana, o que ativa os canais de Ca dependentes de voltagem, desencadeando a exocitose da insulina após o aumento do Ca intracelular (Berridge, 2015, 2017; Szymczak-Pajor; Drzewoski; Śliwińska, 2020; Zeitz et al., 2003). Por outro lado, a elevada concentração de K pode levar a hiperpolarização da membrana, reduzindo o influxo de cálcio para o interior da célula comprometendo a secreção da insulina (Ekmekcioglu et al., 2016).

Adicionalmente, a concentração de K pode ser influenciada pelo uso de diuréticos tiazidas destacando a necessidade de avaliação desse micronutriente considerando o uso dessa classe de medicamentos em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (Coregliano-Ring; Goia-Nishide; Rangel, 2022).

Ainda, no estudo observacional foi observada associação entre menor quartil do padrão da reserva corporal de micronutrientes explicado por Zn, Mg, Ca e K com aumento do HOMA-IR. Esse achado pode ser explicado pela atividade antioxidante e anti-inflamatória dos mesmos, o que contribui para a ligação da insulina ao receptor e fosforilação dos seus substratos (Chausmer, 1998; Jomova et al., 2022; Prasad, 2009). A redução do estresse oxidativo e da inflamação de baixo grau, frequentemente observados nesta população, é um fator que deve ser buscado na diabetes *mellitus* tipo 2 no intuito de favorecer a ligação da insulina ao receptor e para a fosforilação dos seus substratos (Chausmer 1998; Prasad 2009; Jomova et al. 2022). Ainda, o Mg contribui para o controle glicêmico por favorecer a fosforilação dos receptores de insulina e translocação do GLUT4, aumentando a captação de glicose circulante pelos tecidos periféricos (Morakinyo; Samuel; Adekunbi, 2018).

No estudo observacional mostramos que indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 que se enquadraram nos quartis inferiores das reservas corporais de micronutrientes, conforme determinado pelas concentrações de 25 (OH) D, Zn, Mg, Ca + e K, estavam mais propensos ao inadequado controle glicêmico e resistência à insulina. Estudo anterior envolvendo a mesma população indicou que a ingestão dietética insuficiente de Mg, Zn, Ca e K estava ligada a uma maior probabilidade de %HbA1c elevada (Brandão-Lima et al. 2018).

Considerando os aspectos discutidos aqui, a dieta, exposição solar, concentrações de 25(OH)D3 e demais micronutrientes são aspectos importantes para o controle metabólico em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 e devem ser avaliados em estudos que investigam fatores genéticos. Na metanálise, a heterogeneidade, o número de estudos incluídos e o pequeno tamanho da amostra podem explicar a ausência de associações entre os SNPs Taql (rs731236) e Apal (rs7975232) com as variáveis analisadas. Porém a boa qualidade metodológica dos estudos incluídos respalda os resultados encontrados.

Ademais, este estudo apresenta-se como pioneiro na identificação de padrões de reserva corporal de micronutrientes e suas associações com marcadores do controle glicêmico em amostra de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 com satisfatório poder estatístico, e serve como subsídio para o desenvolvimento de outros estudos da mesma natureza em diferentes populações, bem como para ensaios clínicos randomizados que considerem os padrões da reserva corporal de micronutrientes na tomada de decisão da estratégia nutricional para controle glicêmico de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, apesar de os desfechos não terem sido avaliados considerando o uso de medicamentos e classe dos antidiabéticos orais utilizada pela população estudada, o que é uma limitação do presente estudo.

9. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os SNPs FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410), TaqI (rs731236) e ApaI (rs7975232) são os mais avaliados em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, sendo os SNPs FokI (rs2228570) e BsmI (rs1544410) os mais frequentes. Porém, apenas os SNPs FokI (rs2228570) e o BsmI (rs1544410) no gene VDR foram associados ao aumento das concentrações de %HbA1c e TAG, respectivamente, em estudos com boa qualidade metodológica incluídos na metanálise.

A presença do alelo G para o SNP BsmI (rs1544410) é um fator que aumenta as chances de elevação dos %HbA1c para mais que 7%, independente do sexo, idade, IMC e tempo de diagnóstico. No entanto, o haplótipo FokI+TaqI+BsmI não foi um fator de risco para o inadequado controle glicêmico dos indivíduos avaliados.

Dois padrões de reserva corporal de micronutrientes foram identificados e o menor quartil de padrão explicado por Mg, Zn, Ca e K foi associado com maior chance de aumento do HOMA-IR, ao mesmo tempo que menor quartil de padrão explicado por 25(OH)D e Zn foi associado a maior chance de elevar %HbA1c, independentemente da idade, IMC e tempo de diagnóstico.

A caracterização genética de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2, e considerando a sinergia entre os micronutrientes, a identificação dos padrões da reserva corporal de micronutrientes são estratégias importantes para um diagnóstico do estado nutricional de indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 de forma mais precisa, e serve como subsídio para adoção de estratégia clínica nutricional individualizada que objetiva melhorar o controle glicêmico nessa população. Em adição, norteia novos ensaios clínicos randomizados que considerem características individuais e padrões da reserva corporal de micronutrientes no desenvolvimento de estratégias nutricionais de controle metabólico em indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2.

REFERÊNCIAS

- AL-DAGHRI, N. M. et al. Hypovitaminosis D associations with adverse metabolic parameters are accentuated in patients with Type 2 diabetes mellitus: A body mass index-independent role of adiponectin? **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 36, n. 1, p. 1–6, 2013.
- ALKHEDAIDE, A. Q.; MERGANI, A.; ALDHAHRANI, A. A.; SABRY, A.; SOLIMAN, M. M.; NASSAN, M. A.; ISMAIL, T. A. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus in Taif population: a case-control study. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2024.
- ADA, AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Introduction: Standards of medical care in diabetes 2019. **Diabetes Care**. American Diabetes Association Inc. 2019.
- ANGEL, B.; LERA, L.; SÁNCHEZ, H.; OYARZÚN, A.; ALBALA, C. FokI polymorphism in vitamin D receptor gene: Differential expression of TNF α in peripheral mononuclear cells of type 2 diabetic subjects. **Meta Gene**, v. 7, p. 1–6, 2016.
- ANNALORA, A. J.; JOZIC, M.; MARCUS, C. B.; IVERSEN, P. L. Alternative splicing of the vitamin D receptor modulates target gene expression and promotes ligand-independent functions. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 364, n. 2018, p. 55–67, 2019.
- ARANOW, C. Vitamin D and the Immune System. **Journal of Investigative Medicine**. 59, 881 – 886. 2011.
- ATTIA, J. R. et al. The effect of zinc supplementation on glucose homeostasis: a randomised double-blind placebo-controlled trial. **Acta Diabetologica**, v. 59, n. 7, p. 965–975, 2022.
- BAJAJ, H. S.; AL-JABRI, B.; VERMA, S. Glucagon-like peptide-1 receptor agonists and cardiovascular protection in type 2 diabetes: A pathophysiology-based review of clinical implications. **Current Opinion in Cardiology**, 2018.
- BERRIDGE, M. J. Vitamin D cell signalling in health and disease. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 460, n. 1, p. 53–71. 2015.
- _____. Vitamin D deficiency and diabetes. **Biochemical Journal**, v. 474, n. 8, p. 1321–1332. 2017.
- BERTOCCINI, L. et al. The vitamin D receptor functional variant rs2228570 (C>T) does not associate with type 2 diabetes mellitus. **Endocrine Research**, v. 42, n. 4, p. 331–335, 2017.
- _____. Variability in genes regulating vitamin D metabolism is associated with vitamin D levels in type 2 diabetes. v. 9, n. 79, p. 34911–34918, 2018.
- BID, H.; KONWAR, R.; AGGARWAL, C.; GAUTAM, S.; SAXENA, M.; NAYAK, V.; BANERJEE, M. Vitamin D receptor (FokI, BsmI and TaqI) gene polymorphisms and type 2 diabetes mellitus: AA North Indian study. **Indian Journal of Medical Sciences**, v. 63, n. 5, p. 187–194, 2009.
- BILOUS, R.; DONNELLY, R. Handbook of Diabetes, 4th Edition, Excerpt #10: Management of Type 2 Diabetes. <http://www.diabetesincontrol.com/handbook-of-diabetes-4th-edition-excerpt-10-management-of-type-2-diabetes/>, n. 4, 2010.

- BOLAND, B. B.; RHODES, C. J.; GRIMSBY, J. S. The dynamic plasticity of insulin production in β -cells. **Molecular Metabolism**, v. 6, n. 9, p. 958–973, 2017.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA. **Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde. Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica**. 2011.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE E AMBIENTE. DEPARTAMENTO DE ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA E VIGILÂNCIA DE DOENÇAS NÃO TRANSMISSÍVEIS. **Vigitel Brasil 2023: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2023**. v. 1. 2023
- CASTRO, J. T.; SANTOS, E. C.; SANTOS, W. P. C.; COSTA, L. M.; KORN, M.; NÓBREGA, J. A.; KORN, M. G. A. A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 78, n. 4–5, p. 1378–1382. 2009.
- CHAGAS, C. E. A.; BORGES, M. C.; MARTINI, L. A.; ROGERO, M. M. Focus on vitamin D, inflammation and type 2 diabetes. **Nutrients**. 2012.
- CHATTERJEE, S.; KHUNTI, K.; DAVIES, M. J. Type 2 diabetes. **The Lancet**. 2017.
- CHAUSMER, A. B. Zinc, insulin and diabetes. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 17, n. 2, p. 109–115. 1998.
- CHEN, Y.; ZHANG, J.; GE, X.; DU, J.; DEB, D. K.; LI, Y. C. Vitamin D receptor inhibits nuclear factor κ b activation by interacting with I κ B kinase β protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 27, p. 19450–19458, 5. 2013.
- CHRISTAKOS, S.; VELDURTHY, V.; PATEL, N.; WEI, R. Intestinal Regulation of Calcium: Vitamin D and Bone Physiology. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. v. 1033. p. 3–12. 2017.
- CHUTIA, H.; LYNRAH, K. G. Association of Serum Magnesium Deficiency with Insulin Resistance in Type 2 Diabetes Mellitus. **Journal of Laboratory Physicians**, v. 7, n. 02, p. 075–078, 2015.
- CIMINI, F. A.; BARCHETTA, I.; CAROTTI, S.; BERTOCCINI, L.; BARONI, M. G.; VESPASIANI-GENTILUCCI, U.; CAVALLO, M.-G.; MORINI, S. Relationship between adipose tissue dysfunction, vitamin D deficiency and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 23, n. 19, p. 3407, 2017.
- COCHRAN, W. G. The Combination of Estimates from Different Experiments. **Biometrics**, v. 10, n. 1, p. 101. 1954.
- COHEN, J. **Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences**. Routledge, 2013.
- CONTRERAS-BOLÍVAR, V.; GARCÍA-FONTANA, B.; GARCÍA-FONTANA, C.; MUÑOZ-TORRES, M. Mechanisms involved in the relationship between vitamin D and insulin resistance: impact on clinical practice. **Nutrients**. 1;13(10):3491. 2021.

- COREGLIANO-RING, L.; GOIA-NISHIDE, K.; RANGEL, É. B. Hypokalemia in Diabetes Mellitus Setting. **Medicina (Kaunas)**. 16;58(3):431. 2022.
- CUNHA, D. B.; ALMEIDA, R. M. V. R. DE; PEREIRA, R. A. A comparison of three statistical methods applied in the identification of eating patterns. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26, n. 11, p. 2138–2148. 2010.
- CZECH, M. P. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. **Nature Medicine**, 11;23(7):804-814. 2017.
- DELUCA, H. F. Mechanism of Action and Metabolic Fate of Vitamin D. **Vitamins & Hormones**. p. 315–367. 1967.
- DENG, B.; ZHU, P.; WANG, Y.; FENG, J.; LI, X.; XU, X.; LU, H.; XU, Q. Determination of free calcium and calcium-containing species in human plasma by capillary electrophoresis-inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 15, p. 5721–5726. 2008.
- DENG, X.; SONG, Y.; MANSON, J. A. E.; SIGNORELLO, L. B.; ZHANG, S. M.; SHRUBSOLE, M. J.; NESS, R. M.; SEIDNER, D. L.; DAI, Q. Magnesium, vitamin D status and mortality: Results from US National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001 to 2006 and NHANES III. **BMC Medicine**, v. 11, n. 1, 2013.
- DINICOLANTONIO, J. J.; O'KEEFE, J. H.; WILSON, W. Subclinical magnesium deficiency: A principal driver of cardiovascular disease and a public health crisis. **Open Heart**, v. 5, n. 1, 2018.
- DONG, J.; WONG, S. L.; LAU, C. W.; LEE, H. K.; NG, C. F.; ZHANG, L.; YAO, X.; CHEN, Z. Y.; VANHOUTTE, P. M.; HUANG, Y. Calcitriol protects renovascular function in hypertension by down-regulating angiotensin II type 1 receptors and reducing oxidative stress. **European Heart Journal**, v. 33, n. 23, p. 2980–2990. 2012.
- DRAZNIN, BORIS. Intracellular calcium, insulin secretion, and action. **The American Journal of Medicine**. v 85. p. 44-58. 1988.
- DUBEY, P.; THAKUR, V.; CHATTOPADHYAY, M. Role of minerals and trace elements in diabetes and insulin resistance. **Nutrients**. 23;12(6):1864. 2020.
- EKMEKCIOGLU, C.; ELMADFA, I.; MEYER, A. L.; MOESLINGER, T. The role of dietary potassium in hypertension and diabetes. **Journal of Physiology and Biochemistry**. 72(1):93-106. 2016.
- ELSAYED, N. A.; ALEPPO, G.; ARODA, V. R.; BANNURU, R. R.; BROWN, F. M.; BRUEMMER, D.; COLLINS, B. S.; HILLIARD, M. E.; ISAACS, D.; JOHNSON, E. L.; KAHAN, S.; KHUNTI, K.; KOSIBOROD, M.; et al. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2023. **Diabetes Care**, v. 46, p. S19–S40. 2023.
- ELSAYED, N. A.; ALEPPO, G.; ARODA, V. R.; BANNURU, R. R.; BROWN, F. M.; BRUEMMER, D.; COLLINS, B. S.; HILLIARD, M. E.; ISAACS, D.; JOHNSON, E. L.; KAHAN, S.; KHUNTI, K.; LEON, J.; et al. 6. Glycemic Targets: Standards of Care in Diabetes—2023. **Diabetes Care**, v. 46, p. S97–S110. 2023.
- FAGHFOURI, A. H.; FAGHFURI, E.; MALEKI, V.; PAYAHOO, L.; BALMORAL, A.; KHAJE BISHAK, Y. A comprehensive insight into the potential roles of VDR gene polymorphism in obesity: a systematic review. **Archives of Physiology and Biochemistry**, v. 0, n. 0, p. 1–13, 2020.

FAROOQ, D.; ALAMRI, A.; ALWHAHABI, B.; METWALLY, A.; KAREEM, K. The status of zinc in type 2 diabetic patients and its association with glycemic control. **Journal of Family and Community Medicine**, v. 27, n. 1, p. 29–36. 2020.

FERRANNINI, E. Insulin Resistance versus Insulin Deficiency in Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: Problems and Prospects. **Endocrine Reviews**, v. 19, n. 4, p. 477–490. 1998.

FUJITA, TAKUO; SAKAGAMI, YOSHIYUKI; TOMITA, TATEO; OKAMOTO, YUKIHARU; OKU, HIROKO. Insulin Secretion after Oral Calcium Load. **Endocrinologia Japonica**. V. 15; p. 645-648. 1978.

GANT, C. M.; SOEDAMAH-MUTHU, S. S.; BINNENMARS, S. H.; ID, S. J. L. B.; NAVIS, G.; LAVERMAN, G. D. Higher Dietary Magnesium Intake and Higher Magnesium Status Are Associated with Lower Prevalence of Coronary Heart Disease in Patients with Type 2 Diabetes. **Nutrients**.10, 307; p. 1–12. 2018.

GELONEZE, B.; VASQUES, A. C. J.; STABE, C. F. C.; PAREJA, J. C.; LIMA ROSADO, L. E. F. P. DE; QUEIROZ, E. C. DE; TAMBASCIA, M. A. Índices HOMA1-IR e HOMA2-IR para identificação de resistência à insulina e síndrome metabólica - Estudo Brasileiro de Síndrome Metabólica (BRAMS). **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 53, n. 2, p. 281–287, 2009.

GHOLAMI, A.; MONTAZERI-NAJAFABADY, N.; KARIMZADEH, I.; DABBAGHMANESH, M. H.; TALEI, E. The effect of BsmI (rs1544410) single nucleotide polymorphism of vitamin D receptor (VDR) on insulin resistance in healthy children and adolescents: a cross-sectional study. **BMC Pediatrics**, v. 24, n. 1, p. 54. 2024.

GIBSON, R. S. **Principles of Nutritional Assessment**. 2. ed. New York: OXFORD USA II, 2005.

GILON, PATRICK; CHAE, HEE-YOUNG; RUTTER, GUY A.; RAVIER, MAGALIE A. Calcium signaling in pancreatic β -cells in health and in Type 2 diabetes. **Cell Calcium**. v. 56. p. 340-361. 2014.

GOLTZMAN, D. Functions of vitamin D in bone. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 149, n. 4, p. 305–312, 2018.

GONDIM, F.; CARIBÉ, A.; VASCONCELOS, K.; SEGUNDO, A. D.; BANDEIRA, F. Vitamin D deficiency is associated with severity of acute coronary syndrome in patients with type 2 diabetes and high rates of sun exposure. **Clinical Medicine Insights: Endocrinology and Diabetes**, v. 9, p. 37–41, 2016.

GRILLO, A.; SALVI, L.; CORUZZI, P.; SALVI, P.; PARATI, G. Sodium intake and hypertension. **Nutrients**, v. 11, n. 9. 2019.

GRÖBER, U.; HOLICK, M. F. Diabetes Prevention: Vitamin D Supplementation May Not Provide Any Protection If There Is No Evidence of Deficiency! p. 3–7, 2019.

GRUDET, C.; WOLKOWITZ, O. M.; MELLON, S. H.; MALM, J.; REUS, V. I.; BRUNDIN, L.; NIER, B. M.; DHABHAR, F. S.; HOUGH, C. M.; WESTRIN, Å.; LINDQVIST, D. Vitamin D and inflammation in major depressive disorder. **Journal of Affective Disorders**, v. 267, p. 33–41. 2020.

GRÜDTNER, V. S.; WEINGRILL, P.; FERNANDES, L. A. Absorption aspects of calcium and vitamin D metabolism. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 37, n. 3, p. 143–151, 1997.

- GRUDTNER, V. S.; WEINGRILL, P.; FERNANDES, A. L. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Revista Brasileira de Reumatologia**, 1997.
- GUPTA, S.; GOYAL, P.; FEINN, R. S.; MATTANA, J. Role of Vitamin D and Its Analogues in Diabetic Nephropathy: A Meta-analysis. **American Journal of the Medical Sciences**, v. 357, n. 3, p. 223–229. 2019.
- HAEUSLER, R. A.; HARTIL, K.; VAITHEESVARAN, B.; ARRIETA-CRUZ, I.; KNIGHT, C. M.; COOK, J. R.; KAMMOUN, H. L.; FEBBRAIO, M. A.; GUTIERREZ-JUAREZ, R.; KURLAND, I. J.; ACCILI, D. Integrated control of hepatic lipogenesis versus glucose production requires FoxO transcription factors. **Nature Communications**, v. 5t. 2014.
- HAN, F. F.; LV, Y. L.; GONG, L. L.; LIU, H.; WAN, Z. R.; LIU, L. H. VDR Gene variation and insulin resistance related diseases. **Lipids in Health and Disease**, v. 16, n. 1, p. 1–12, 2017.
- HASSAN, S. A. ELR.; ELSHEIKH, W. A. R.; RAHMAN, N. I. A.; ELBAGIR, N. M. Serum Calcium Levels in Correlation with Glycated Hemoglobin in Type 2 Diabetic Sudanese Patients. **Advances in Diabetes and Metabolism**, v. 4, n. 4, p. 59–64. 2016.
- HE, Y.-H.; SONG, Y.; LIAO, X.-L.; WANG, L.; LI, G.; ALIMA; LI, Y.; SUN, C.-H. The Calcium-Sensing Receptor Affects Fat Accumulation via Effects on Antilipolytic Pathways in Adipose Tissue of Rats Fed Low-Calcium Diets. **The Journal of Nutrition**, v. 141, n. 11, p. 1938–1946. 2011.
- HIGGINS, J. P. T.; THOMPSON, S. G. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. **Statistics in Medicine**, v. 21, n. 11, p. 1539–1558, 2002.
- HIGGINS, J. P.; THOMPSON, S. G.; DEEKS, J. J.; ALTMAN, D. G. Measuring inconsistency in meta-analyses. **BMJ**, v. 327, n. 7414, p. 557–560. 2003.
- HOLICK, M. F. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**. 2017.
- 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. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 96, n. 7, p. 1911–1930, 2011.
- HOLICK, M. F.; MACLAUGHLIN, J. A.; DOPPELT, S. H. Regulation of cutaneous previtamin D3 photosynthesis in man: skin pigment is not an essential regulator. **Science**. v. 211, p. 590–593, 1981.
- HOLMAN, G. D.; SANDOVAL, I. V. Moving the insulin-regulated glucose transporter GLUT4 into and out of storage. **Trends in Cell Biology**, v. 11, n. 4, p. 173–179. 2001.
- HOSMER, D. W.; LEMESBOW, S. Goodness of fit tests for the multiple logistic regression model. **Communications in Statistics - Theory and Methods**, v. 9, n. 10, p. 1043–1069, 1980.
- HOSSEIN-NEZHAD, A.; MIRZAEI, K.; SHABANI, P.; NAJMAFSHAR, A. Association of VDR gene polymorphism with insulin resistance in diabetic patient. **Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders**. v. 54, n. 21, p. 143–150, 2009.

HOZO, S. P.; DJULBEGOVIC, B.; HOZO, I. Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample. **BMC Medical Research Methodology**, v. 5, n. 1, p. 13, 20 dez. 2005.

HUANG, L. Zinc and its transporters, pancreatic β -cells, and insulin metabolism. Em: **Vitamins and Hormones**. Academic Press Inc., 2014. v. 95p. 365–390.

HUTCHINSON, M. S.; FIGENSCHAU, Y.; ALMÅS, B.; NJØLSTAD, I.; JORDE, R. Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels in Subjects with Reduced Glucose Tolerance and Type 2 Diabetes - The Tromsø OGTT-Study. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 81, n. 5, 2013.

IDF. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. Brussels, Belgium, 2022. Disponível em: <<https://www.diabetesatlas.org>>

JAVIER, F.; ANGUITA-RUIZ, A. Genetic Factors and Molecular Mechanisms of Vitamin D and Obesity Relationship. **Annals of Nutrition and Metabolism**. 2018;73(2). p. 89–99, 2018.

JAISWAL, J.K. Calcium – how and why? *Journal of biosciences*. 26, p. 357 – 363. 2001.

JIA, J.; DING, H.; YANG, K.; MAO, L.; ZHAO, H.; ZHAN, Y.; SHEN, C. Vitamin D Receptor Genetic Polymorphism Is Significantly Associated with Risk of Type 2 Diabetes Mellitus in Chinese Han Population. **Archives of Medical Research**, p. 1–8, 2015.

JOMOVA, K.; MAKOVA, M.; ALOMAR, S. Y.; ALWASEL, S. H.; NEPOVIMOVA, E.; KUCA, K.; RHODES, C. J.; VALKO, M. Essential metals in health and disease. **Chemico-Biological Interactions**. 367. 1. 2022.

JOMOVA, K.; VALKO, M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. **Toxicology**, 283. p: 65–87. 2011.

JUDSON, R.; STEPHENS, J. C.; WINDEMUTH, A. The predictive power of haplotypes in clinical response. **Pharmacogenomics**, v. 1, n. 1, p. 15–26. 2000.

KAHN, S. E.; HULL, R. L.; UTZSCHNEIDER, K. M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 840–846. 2006.

KAISER, H. F. An index of factorial simplicity. **Psychometrika**, v. 39, n. 1, p. 31–36. 1974.

KAMEI, Y.; KAWADA, T.; KAZUKI, R.; ONO, T.; KATO, S.; SUGIMOTO, E. Vitamin D Receptor Gene Expression Is Up-Regulated by 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ in 3T3-L1 Preadipocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 193, n. 3, p. 948–955. 1993.

KARONOVA, T.; GRINEVA, E.; BELYAEVA, O.; BYSTROVA, A.; JUDE, E. B.; ANDREEVA, A.; KOSTAREVA, A.; PLUDOWSKI, P. Relationship between vitamin D status and vitamin D receptor gene polymorphisms with markers of metabolic syndrome among adults. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, p. 1–7, 2018.

KEN-DROR, G.; HUMPHRIES, S. E.; DRENOS, F. The Use of Haplotypes in the Identification of Interaction between SNPs. **Human Heredity**, v. 75, n. 1, p. 44–51, 2013.

KHALID, M.; PETROIANU, G.; ADEM, A. Advanced Glycation End Products and Diabetes Mellitus: Mechanisms and Perspectives. **Biomolecules**. 4;12(4):542. 2022.

- KHAN, A.; KHAN, S.; AMAN, A.; ALI, Y.; JAMAL, M.; RAHMAN, B.; AHMAD, M.; AASIM, M.; JALIL, F.; SHAH, A. A. Association of VDR gene variant (rs1544410) with type 2 diabetes in a Pakistani cohort. **Balkan Journal of Medical Genetics**, v. 22, n. 2, p. 59–64, 2019.
- KHUNDMIRI, S. J.; MURRAY, R. D.; LEDERER, E. PTH and Vitamin D. **Comprehensive Physiology**. p. 561–601. 2006.
- KIM, K. N.; OH, S. Y.; HONG, Y. C. Associations of serum calcium levels and dietary calcium intake with incident type 2 diabetes over 10 years: The Korean Genome and Epidemiology Study (KoGES). **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 10, n. 1, p. 1–7, 2018.
- KOLMOGOROV, A.; SMIRNOV, N. Sulla determinazione empirica di una legge di distribuzione. **Giornale dell'Istituto Italiano degli Attuari**, v. 4, n. 1–2, p. 83–91, 1933.
- KREYSZIG, E.; KREYSZIG, H.; NORMINTON, E. J. **Erwin Kreyszig Advanced Engineering Mathematics**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.ieee.org>.
- LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. An application of hierarchical kappa-type statistics in the assessment of majority agreement among multiple observers. **Biometrics**, v. 33, n. 2, p. 363–74. 1977.
- LANGENBERG, C.; LOTTA, L. A. Genomic insights into the causes of type 2 diabetes. **The Lancet**, v. 391, n. 10138, p. 2463–2474, 2018.
- LEBOVITZ, H. E. Insulin resistance: definition and consequences. v. 109, 2001.
- LEDESMA, R. D.; VALERO-MORA, P.; MACBETH, G. The Scree Test and the Number of Factors: a Dynamic Graphics Approach. **The Spanish Journal of Psychology**, v. 18, p. E11. 2015.
- LEE, SOOJA; CLARK, SAMUEL A., GILL, RAJBIR K., CHRISTAKOS, SYLVIA. 1,25 dihydroxyvitamin D3 and pancreatic beta-cell function: vitamin D receptors, gene expression, and insulin secretion. **Endocrinology**. v. 134, n. 4, p. 1602–1610, 1994.
- LEVY, J. C.; MATTHEWS, D. R.; HERMANS, M. P. Correct Homeostasis Model Assessment (HOMA) Evaluation Uses the Computer Program. **Diabetes Care**, v. 21, n. 12, p. 2191–2192. 1998.
- LEWONTIN, R. C. On measures of gametic disequilibrium. **Genetics**, v. 120, n. 3, p. 849–852. 1988.
- LI, X.; LIU, Y.; ZHENG, Y.; WANG, P.; ZHANG, Y. The Effect of Vitamin D Supplementation on Glycemic Control in Type 2 Diabetes Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 375. 2018.
- LI, Y. et al. AMPK Phosphorylates and Inhibits SREBP Activity to Attenuate Hepatic Steatosis and Atherosclerosis in Diet-Induced Insulin-Resistant Mice. **Cell Metabolism**, v. 13, n. 4, p. 376–388. 2011.
- LI, Z.; ZHANG, Z.; HE, Z.; TANG, W.; LI, T.; ZENG, Z.; HE, L.; SHI, Y. A partition-ligation-combination-subdivision EM algorithm for haplotype inference with multiallelic markers: update of the SHEsis (<http://analysis.bio-x.cn>). **Cell Research**, v. 19, n. 4, p. 519–523. 2009.

- LITTLE, J. et al. STrengthening the REporting of Genetic Association Studies (STREGA)--an extension of the STROBE statement. **Genetic epidemiology**, v. 33, n. 7, p. 581–98. 2009.
- LIU, M.; DUDLEY, S. C. Magnesium, oxidative stress, inflammation, and cardiovascular disease. **Antioxidant**. 23;9(10):907. 2020.
- LIU, Y.; GUO, X.; HUANG, S.-Y.; GONG, L.; CUI, J.-H.; SHEN, H.-W.; YE, X.-H.; HE, X.-F. Evaluation of association studies and a systematic review and meta-analysis of VDR polymorphisms in type 2 diabetes mellitus risk. **Medicine**, v. 100, n. 28, p. e25934. 2021.
- LOHMAN, TIMOTHY G. **Advances in body composition assessment**. [s.l.] Champaign, Ill.: Human Kinetics Publishers, 1992.
- LUND, A.; BAGGER, JONATAN I.; CHRISTENSEN, M.; KNOP, F. K.; VILSBØLL, T. Glucagon and Type 2 Diabetes: The Return of the Alpha Cell. **Current Diabetes Reports**, v. 14, n. 12, p. 1–7, 2014.
- LUND, A.; VILSBØLL, T.; BAGGER, J. I.; HOLST, J. J.; KNOP, F. K. The separate and combined impact of the intestinal hormones, GIP, GLP-1, and GLP-2, on glucagon secretion in type 2 diabetes. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**. 300(6): E1038-46. 2011.
- MACKAWY, A. M. H.; BADAWI, M. E. H. Association of vitamin D and vitamin D receptor gene polymorphisms with chronic inflammation, insulin resistance and metabolic syndrome components in type 2 diabetic Egyptian patients. **Meta Gene**, v. 2, p. 540–556, 2014.
- MACLAUGHLIN, J.; HOLICK, M. F.; INVEST, J. C. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. **Journal of Clinical Investigation**. v. 76, n. 4, p. 1536–1538, 1985.
- MALIK, R.; FAROOQ, R.; MEHTA, P.; ISHAQ, S.; DIN, I. Association of Vitamin D Receptor Gene Polymorphism in Patients with Type 2 Diabetes in the Kashmir Valley. **Canadian Journal of Diabetes**, p. 1–6, 2017.
- MARIAM, W.; GARG, S.; SINGH, M. M.; KONER, B. C.; ANURADHA, S.; BASU, S. Vitamin D status, determinants and relationship with biochemical profile in women with Type 2 Diabetes Mellitus in Delhi, India. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 13, n. 2, p. 1517–1521. 2019.
- MASTROTOTARO, L.; RODEN, M. Insulin resistance and insulin sensitizing agents. **Metabolism**, v. 125, p. 154892, 2021.
- MATTOS TEIXEIRA, T. DE; COSTA, C. L. DA. Papel da vitamina D nos lúpus eritematoso sistêmico. **Revista de Nutricao**, v. 25, n. 4, p. 531–538, 2012.
- MAURICIO, D.; PALOMER, X.; GONZA, J. M. Role of vitamin D in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. p. 185–197, 2008.
- MEDALLE, R.; WATERHOUSE, C.; HAHN, T. J. Vitamin D resistance in magnesium deficiency. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 29, n. 8, p. 854–858, 1976.
- MIOT, H. A. Tamanho da amostra em estudos clínicos e experimentais. v. 96, n. 4, p. 275–278, 2011.

- MITRI, J.; MURARU, M. D.; PITTAS, A. G. Vitamin D and type 2 diabetes: A systematic review. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, n. 9, p. 1005–1015, 2011.
- MORAKINYO, A. O.; SAMUEL, T. A.; ADEKUNBI, D. A. Magnesium upregulates insulin receptor and glucose transporter-4 in streptozotocin-nicotinamide-induced type-2 diabetic rats. **Endocrine Regulations**, v. 52, n. 1, p. 6–16, 2018.
- MORRÓ, M. et al. Vitamin D Receptor Overexpression in β -Cells Ameliorates Diabetes in Mice. **Diabetes**, v. 69, n. 5, p. 927–939, 2020.
- MORTE, E. S. DA B.; BARBOSA, I. DOS S.; SANTOS, E. C.; NÓBREGA, J. A.; KORN, M. DAS G. A. Axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry for monitoring tin concentration in canned tomato sauce samples. **Food Chemistry**, v. 131, n. 1, p. 348–352, 2012.
- NAHAS-NETO, J.; CANGUSSU, L. M.; ORSATTI, C. L.; BUELONI-DIAS, F. N.; POLONI, P. F.; SCHMITT, E. B.; NAHAS, E. A. P. Effect of isolated vitamin D supplementation on bone turnover markers in younger postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Osteoporosis International**, v. 29, n. 5, p. 1125–1133, 2018.
- NAM, S. W.; CHOI, J.; JEON, H. J.; OH, T. K.; LEE, D. H. The associations between vitamin d receptor bsmi and apai polymorphisms and obesity in korean patients with type 2 diabetes mellitus. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 14, p. 557–564, 2021.
- NEELANKAL JOHN, A.; JIANG, F. X. An overview of type 2 diabetes and importance of vitamin D3-vitamin D receptor interaction in pancreatic β -cells. **Journal of Diabetes and its Complications**. 32(4):429-443. 2018.
- NILSON, E. A. F.; SANTIN, C.; AQUINO, D.; BRITO, D. Custos atribuíveis a obesidade, hipertensão e diabetes no Sistema Único de Saúde, Brasil, **Rev Panam Salud Publica**. 2018. p. 1–7, 2020.
- NORTON, L.; SHANNON, C.; GASTALDELLI, A.; DEFRONZO, R. A. Insulin: The master regulator of glucose metabolism. **Metabolism**, v. 129, p. 155142. 2022.
- OGUNKOLADE, B.; BOUCHER, B. J.; PRAHL, J. M.; BUSTIN, S. A.; BURRIN, J. M.; NOONAN, K.; NORTH, B. V.; MANNAN, N.; MCDERMOTT, M. F.; DELUCA, H. F.; HITMAN, G. A. Vitamin D Receptor (VDR) mRNA and VDR Protein Levels in Relation to Vitamin D Status, Insulin Secretory Capacity, and VDR Genotype in Bangladeshi Asians. **Diabetes**. v. 51 (7):2294-300, 2002.
- ORTLEPP, J. R.; LAUSCHER, J.; HOFFMANN, R.; HANRATH, P.; JOOST, H. G. The vitamin D receptor gene variant is associated with the prevalence of Type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. **Diabetic Medicine**, v. 18, n. 10, p. 842–845, 2001.
- OZCALISKAN ILKAY, H.; SAHIN, H.; TANRIVERDI, F.; SAMUR, G. Association Between Magnesium Status, Dietary Magnesium Intake, and Metabolic Control in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 38, n. 1, p. 31–39, 2019.
- PAGE, M. J. et al. PRISMA 2020 explanation and elaboration: updated guidance and exemplars for reporting systematic reviews. **BMJ**, p. n160. 2021.

- PALACIOS, C.; PÉREZ, C. M.; GONZÁLEZ-SEPÚLVEDA, L.; CORSINO, L.; ALBRECHT, S. S.; SIEGA-RIZ, A. M.; DURAZO-ARVIZU, R. A.; CASAGRANDE, S.; SOTRES-ALVAREZ, D.; AVILÉS-SANTA, M. L. Vitamin D, Calcium, Magnesium, and Potassium Consumption and Markers of Glucose Metabolism in the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos. **Journal of the American College of Nutrition**, 41(1): 20–29. 2020.
- PFEFFER, P. E.; LU, H.; MANN, E. H.; CHEN, Y. H.; HO, T. R.; COUSINS, D. J.; CORRIGAN, C.; KELLY, F. J.; MUDWAY, I. S.; HAWRYLOWICZ, C. M. Effects of Vitamin D on inflammatory and oxidative stress responses of human bronchial epithelial cells exposed to particulate matter. **PLoS ONE**, v. 13, n. 8. 2018.
- PITTAS, A. G.; LAU, J.; HU, F. B.; DAWSON-HUGHES, B. Review: The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 92(6):2017-29. 2007.
- PLUDOWSKI, P. et al. Vitamin D supplementation guidelines. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 175, p. 125–135, 2018.
- PLUDOWSKI, P.; GRANT, W. B.; KONSTANTYNOWICZ, J.; HOLICK, M. F. Editorial: Classic and Pleiotropic Actions of Vitamin D. v. 10, p. 1–5, 2019.
- PRASAD, A. S. Zinc: Role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**. 12(6):646-52.2009.
- PRASAD, A. S.; BECK, F. W.; BAO, B.; FITZGERALD, J. T.; SNELL, D. C.; STEINBERG, J. D.; CARDOZO, L. J. Zinc supplementation decreases incidence of infections in the elderly: effect of zinc on generation of cytokines and oxidative stress 1-3. **American Journal of Clinical Nutrition**. 85(3):837-44. 2007.
- RAPPAPORT, S. M.; SMITH, M. T. Environment and disease risks. **Science**. 330(6003):460-1. 2010.
- RAZI, F.; MESHKANI, M. A.; ZARRABI, F.; SADR, M.; ASGARBEIK, S.; BANDARIAN, F.; FOROUZANFAR, K.; AMOLI, M. M. Haplotypes in vitamin D receptor gene encode risk in diabetic nephropathy. **Gene**, v. 683, n. 30, p. 149–152, 2018.
- REDDY, P.; EDWARDS, L. R. Magnesium Supplementation in Vitamin D Deficiency. **American Journal of Therapeutics**, v. 9, p. 1, 2017.
- REHMAN, K.; SAJID, M.; AKASH, H.; LIAQAT, A.; KAMAL, S.; QADIR, M. I.; RASUL, A. Role of Interleukin-6 in Development of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes Mellitus. **Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression**. 27(3):229-236. 2017.
- REISBERG, S.; ILJASENKO, T.; LÄLL, K.; FISCHER, K.; VILO, J. Comparing distributions of polygenic risk scores of type 2 diabetes and coronary heart disease within different populations. **PLoS ONE**, v. 12, n. 7, p. 1–9, 2017.
- ROSANOFF, A. et al. Recommendation on an updated standardization of serum magnesium reference ranges. **European Journal of Nutrition**, 61(7):3697-3706, 2022.
- SAAD, M. J. A. Vias de Sinalização da Insulina. v. 46, p. 419–425, 2002.
- SAFAR, H. AL; CHEHADEH, S. E. H.; ABDEL-WARETH, L.; HAQ, A.; JELINEK, H. F.; ELGHAZALI, G.; ANOUTI, F. AL. Vitamin D receptor gene polymorphisms

among Emirati patients with type 2 diabetes mellitus. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 175, p. 119–124, 2018.

SAKURAI, Y.; KUBOTA, N.; YAMAUCHI, T.; KADOWAKI, T. Role of insulin resistance in mafld. **International Journal of Molecular Science**. 16;22(8):4156. 2021.

SANTOS, C. F. DA S. et al. Magnesium Status and Dietary Patterns Associated with Glycemic Control in Individuals with Type 2 Diabetes Mellitus. **Biological Trace Element Research**, v. 201, n. 11, p. 5152–5161. 2023.

SANTOS, R. K. F.; BRANDÃO-LIMA, P. N.; TETE, R. M. D. D.; FREIRE, A. R. S.; PIRES, L. V. Vitamin D ratio and glycaemic control in individuals with type 2 diabetes mellitus: A systematic review. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 34, n. 3, p. 1–11, 2018.

SBD. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. 2023. **Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes - 2023**. Brasília.: [s.n.]. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/>. Acesso em: 14 de fevereiro de 2024.

SCHILLINGER, D.; BULLOCK, A.; POWELL, C.; FUKAGAWA, N. K.; GREENLEE, M. C.; TOWNE, J.; GONZALVO, J. D.; LOPATA, A. M.; COOK, J. W.; HERMAN, W. H. The National Clinical Care Commission Report to Congress: Leveraging Federal Policies and Programs for Population-Level Diabetes Prevention and Control: Recommendations From the National Clinical Care Commission. **Diabetes Care**, v. 46, n. 2, p. e24–e38. 2023.

SCHOOL, A K. case records of the massachusetts general hospital Laboratory Reference Values. **The New England Journal of Medicine**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.nejm.org>.

SCHUCH, N. J.; GARCIA, V. C.; VÍVOLO, S. R. G. F.; MARTINI, L. A. Relationship between Vitamin D Receptor gene polymorphisms and the components of metabolic syndrome. **Nutrition Journal**, v. 12, n. 1, p. 1–7, 2013.

SHAO, R.; LIAO, X.; LAN, Y.; ZHANG, H.; JIAO, L.; DU, Q.; HAN, D.; AI, Q.; MAI, K.; WAN, M. Vitamin D regulates insulin pathway and glucose metabolism in zebrafish (*Danio rerio*). **The FASEB Journal**, v. 36, n. 5, 27. 2022.

SHEN, J.; LI, Z.; CHEN, J.; SONG, Z.; ZHOU, Z.; SHI, Y. SHEsisPlus, a toolset for genetic studies on polyploid species. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 24095. 2016.

SHENNAN, K. I. J.; TAYLOR, N. A.; JERMANY, J. L.; MATTHEWS, G.; DOCHERTY, K. Differences in pH Optima and Calcium Requirements for Maturation of the Prohormone Convertases PC2 and PC3 Indicates Different Intracellular Locations for These Events. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 3, p. 1402–1407.1995.

SHI, Y. Y.; HE, L. SHEsis, a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction, and genetic association at polymorphism loci. **Cell Research**, v. 15, n. 2, p. 97–98. 2005.

SILVA, F. V.; TREVIZAN, L. C.; SILVA, C. S.; RITA NOGUEIRA, A. A.; NOBREGA, J. A. Evaluation of inductively coupled plasma optical emission spectrometers with axially and radially viewed configurations. **Spectrochimica Acta Part B**.15. 12: 1905-1913. 2002

SKOOG, F. V.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre.

- SOLÉ, XAVIER; GUINÓ, ELISABET; VALLS, JOAN; INIESTA, RAQUEL; MORENO, VICTOR. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. **Bioinformatics**. v. 1;22(15):1928-9. 2006.
- STEINER, D. F.; TERRIS, S.; CHAN, S. J.; RUBENSTEIN, A. H. Chemical and biological aspects of insulin and proinsulin. **Acta medica Scandinavica. Supplementum**, v. 601, p. 55–107, 1976.
- STERN, C. The Hardy-Weinberg Law. **Science**, v. 97, n. 2510, p. 137–138, 5 fev. 1943.
- STROUP, D. F.; BERLIN, J. A.; MORTON, S. C.; OLKIN, I.; WILLIAMSON, G. D.; RENNIE, D.; MOHER, D.; BECKER, B. J.; SIPE, T. A.; THACKER, S. B. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group. **JAMA**, v. 283, n. 15, p. 2008–12. 2000.
- STUMVOLL, M.; GOLDSTEIN, B. J.; HAEFTEN, T. W. VAN. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. **The Lancet**, v. 365, n. 9467, p. 1333–1346. 2005.
- SZYMCZAK-PAJOR, I.; DRZEWOSKI, J.; ŚLIWIŃSKA, A. The molecular mechanisms by which vitamin d prevents insulin resistance and associated disorders. **International Journal of Molecular Science**. 11;21(18):6644. 2020.
- TOKARZ, V. L.; MACDONALD, P. E.; KLIP, A. The cell biology of systemic insulin function. v. 217, n. 7, p. 2273–2289, 2018.
- TRAVERS, M. E.; MCCARTHY, M. I. Type 2 diabetes and obesity: Genomics and the clinic. **Human Genetics**, v. 130, n. 1, p. 41–58, 2011.
- UITTERLINDEN, A. G.; FANG, Y.; MEURS, J. B. J. VAN; POLS, H. A. P.; LEEUWEN, J. P. T. M. VAN. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. **Gene**, v. 338, n. 2, p. 143–156. 2004.
- UWITONZE, A. M.; RAZZAQUE, M. S. Role of Magnesium in Vitamin D Activation and Function. **The Journal of the American Osteopathic Association**, v. 118, n. 3, p. 181, 2018.
- VALDÉS-RAMOS, R.; -LÓPEZ, G.; LAURA, A.; BEATRIZ, M.-C.; AND BENÍTEZ-ARCINIEGA, E.; DONAJÍ, A. Vitamins and Type 2 Diabetes Mellitus. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets**. 15(1): 54–63. 2015.
- VARDATSIKOS, G.; PANDEY, N. R.; SRIVASTAVA, A. K. Insulino-mimetic and anti-diabetic effects of zinc. **Journal of Inorganic Biochemistry**. 2013.
- VILAS-BOAS, E. A.; ALMEIDA, D. C.; ROMA, L. P.; ORTIS, F.; CARPINELLI, A. R. Lipotoxicity and β -cell failure in type 2 diabetes: Oxidative stress linked to NADPH oxidase and ER stress. **Cells**. 2021.
- VONDRA, K.; HAMPL, R. Vitamin D and new insights into pathophysiology of type 2 diabetes. **Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation**. 1;42(2):203-208. 2021.
- WALL, J. D.; PRITCHARD, J. K. Haplotype blocks and linkage disequilibrium in the human genome. **Nature Reviews Genetics**, v. 4, n. 8, p. 587–597, 1 ago. 2003.
- WANG, Q.; XI, B.; REILLY, K. H.; LIU, M.; FU, M. Quantitative assessment of the associations between four polymorphisms (FokI, ApaI, BsmI, TaqI) of vitamin D

receptor gene and risk of diabetes mellitus. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 10, p. 9405–9414, 2012.

WANG, Y.; ZHU, J.; DELUCA, H. F. Where is the vitamin D receptor? **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 523, n. 1, p. 123–133, 2012.

WELLS, GA; B SHEA; D O'CONNELL; J PETERSON; WELCH, V; M LOSOS; P TUGWELL. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses.

https://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp, 2021.

WEISBERG, S. P.; MCCANN, D.; DESAI, M.; ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R. L.; FERRANTE, A. W. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 12, p. 1796–1808. 2003.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Waist Circumference and Waist–Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation: Ginebra, 8-11, 2011. n. 1, p. 8–11, 2011.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION, W. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **World Health Organization - Technical Report Series**, v. 894, 2000.

WU, H.; HARTIG, S. M.; YORK, R. B.; YANG, F.; MOORE, D. D. Vitamin D Receptor Activation in Liver Resistance in Mice. v. 71, n. 5, p. 1559–1574, 2020.

XU, Y.; LOU, Y.; KONG, J. VDR regulates energy metabolism by modulating remodeling in adipose tissue. **European Journal of Pharmacology**, v. 865. 2019.

YAMADA, S.; SHIMIZU, M.; YAMAMOTO, K. Vitamin D Receptor. Em: **Vitamin D and Rickets**. Basel: KARGER, 2003. v. 6p. 50–68.

YAN, X.; WEI, Y.; WANG, D.; ZHAO, J.; ZHU, K.; LIU, Y.; TAO, H. Four common vitamin D receptor polymorphisms and coronary artery disease susceptibility: A trial sequential analysis. **PLoS ONE**, v. 17, n. 10. 2022.

YASSIN, M. M.; MASOUD, A. E. R. D.; YASIN, M. M. Serum vitamin D status in type 2 diabetic patients from Gaza Strip. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 13, n. 3, p. 1865–1870, 2019.

YEUNG, S. M.; OOSTERWIJK, M. M.; POELSTRA, M.; GANT, C. M.; ROTMANS, J. I.; HOORN, E. J.; VOGT, L.; NAVIS, G.; BAKKER, S. J.; BORST, M. H. DE; LAVERMAN, G. D. Low Urinary Potassium Excretion Is Associated with Higher Risk of All-Cause Mortality in Patients with Type 2 Diabetes: Results of the Dutch Diabetes and Lifestyle Cohort Twente (DIALECT). **The Journal of Nutrition**, v. 152, n. 12, p. 2856–2864. 2022.

ZAHRA, H.; BERRICHE, O.; MIZOURI, R.; BOUKHAYATIA, F.; KHIARI, M.; GAMOUDI, A.; LAHMAR, I.; AMOR, N. BEN; MAHJOUR, F.; ZAYET, S.; JAMOSSI, H. Plasmatic magnesium deficiency in 101 outpatients living with type 2 diabetes mellitus. **Clinics and Practice**, v. 11, n. 4, p. 791–800. 2021.

ZAKARIA, W. N. A.; YUNUS, N. M.; YAACOB, N. M.; OMAR, J.; WAN MOHAMED, W. M. I.; SIRAJUDEEN, K. N. S.; TUAN ISMAIL, T. S. Association between vitamin d receptor polymorphisms (Bsmi and foki) and glycemic control among patients with type 2 diabetes. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 4, p. 1–18, 2021.

ZEITZ, U.; WEBER, K.; SOEGIARTO, D. W.; WOLF, E.; BALLING, R.; ERBEN, R. G. Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor. **The FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 17, n. 3, p. 509–511, 2003.

ZHANG, H.; JIANG, Y.; SHI, N.; LU, Y. Q. Serum vitamin D levels and acute kidney injury: a systemic review and meta-analysis. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1. 2022.

ZHANG, Y.; XIA, W.; LU, P.; YUAN, H. The Association between VDR Gene Polymorphisms and Diabetic Retinopathy Susceptibility: A Systematic Review and Meta-Analysis. **BioMed Research International**, v. 2016, 2016.

ZHONG, X.; DU, Y.; LEI, Y.; LIU, N.; GUO, Y.; PAN, T. Effects of vitamin D receptor gene polymorphism and clinical characteristics on risk of diabetic retinopathy in Han Chinese type 2 diabetes patients. **Gene**, v. 566, n. 2, p. 212–216, 2015.

APÊNDICE A. QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO E DE ANAMNESE NUTRICIONAL

Data de aplicação: ____/____/____

Aplicado por: _____

1. DADOS PESSOAIS

Nome: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Naturalidade: _____

Estado civil: _____ Profissão: _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____

Telefone residencial: () _____ Celular: () _____

E-mail: _____

Raça (auto declarada): () Negro () Pardo () Branco () Índio

Sexo: () Masculino () Feminino

2. DADOS SOCIOECONÔMICOS

Escolaridade: _____

Renda familiar (salário mínimo): () 1 a 3 () 4 a 7 () 8 a 9 () > 10

Total de moradores na residência: _____

3. ANAMNESE CLÍNICA

Diagnóstico médico: _____ Tempo de diagnóstico: _____

Faz uso de insulina: () sim () não. Tempo? _____

Qual tipo: _____ Posologia: _____

Glicemia: _____

Tratamentos adotados

Dieta Dieta + Insulina Dieta + Hipoglicemiante oral

Outros: _____

Sintomas recorrentes

() Náuseas () Vômito () Polifagia () Poliúria () Polidipsia () Constipação

() Diarreia () Flatulência () Azia

Pressão Arterial: _____X_____ mmHg

Faz uso de medicamentos: () sim () não. Tempo? _____

Quais? _____

Faz uso de suplementos alimentares: () sim () não.

Quais? _____

Presença de doenças: () sim () não. Quais?

() Diabetes () Hipertensão () Obesidade () Doença cardiovascular () Problemas

circulatórios () Hipercolesterolemia () Gastrite () Câncer () Disfunções tireoidianas

() Artrite reumatoide () Doença renal crônica () Processo infeccioso () Processo inflamatório agudo

Outras:

Histórico Familiar:

() Diabetes () Hipertensão () Obesidade () Doença cardiovascular () Gastrite

() Problemas circulatórios () Hipercolesterolemia () Refluxo () Úlcera () Câncer

() Doença tireoidiana () Depressão

Outras:

Informações adicionais: _____

4. ESTILO DE VIDA

Fumante: () sim () não. Há quanto tempo? _____

Ex fumante: () sim () não. Há quanto tempo parou? _____

Alcoolismo: () sim () não. Quanto? _____ Frequência: _____

Atividade física: () sim () não. Frequência: _____ Tipo: _____

Duração: _____

5. ANTROPOMETRIA

Peso (kg): _____ Estatura (m): _____ IMC (kg/m²): _____

CC (cm): _____ %G: _____ Peso de Gordura (kg): _____

% Massa Magra: _____ Peso de Massa Magra (kg): _____

TMB (kcal): _____ Água total (litros): _____

Resistência (ohms): _____ Reatância (ohms): _____

Avaliador: _____ Data: ____/____/____

Participante: _____

RECORDATÓRIO 24 HORAS

Horário / Local

Alimentos Consumidos

Medidas caseiras

Energia Total: _____

ANEXO 1. ARTIGO PUBLICADO EM PERIÓDICO QUALIS A1 MEDICINA CAPES.

Para atender ao objetivo 3 um artigo foi publicado na revista Biometals, Qualis A1 em medicina.

> [Biometals](#). 2024 Jan 10. doi: 10.1007/s10534-023-00568-9. Online ahead of print.

Association between circulating micronutrient pattern, glycemic control, and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus

Ramara Kadija Fonseca Santos ^{1 2}, Silvânio Silvério Lopes da Costa ³, Samir Hipólito Dos Santos ⁴, Vivianne de Sousa Rocha ⁵, Ana Mara de Oliveira E Silva ^{1 6}, Liliâne Viana Pires ^{7 8}

Affiliations + expand

PMID: 38197982 DOI: [10.1007/s10534-023-00568-9](#)

ANEXO 2. COMPROVANTE SUBMISSÃO ARTIGO QUALIS A1 MEDICINA
CAPES

20-Dec-2023

Dear Dr. Silva:

Thank you for submitting your manuscript titled "Association among vitamin D receptor gene polymorphisms, metabolic control, and inflammatory markers in type 2 diabetes: A systematic review and meta-analyses" by Fonseca Santos, Ramara; Pereira, Raquel; Nascimento Brandão Lima, Paula; Martins-Filho, Paulo Ricardo; dos Santos Melo, Caroline; Pires, Liliame; Silva, Ana Mara. The online submission process has been successfully completed. The manuscript will now undergo review.

The following manuscript ID has been assigned to your submission: NUTR-REV-537-MA-12-2023.

Please reference this ID in all future correspondence regarding this work. If your e-mail address or other contact details change while the manuscript is being considered, please update your user information by logging in to the manuscript tracking site at <https://mc.manuscriptcentral.com/nutr-rev>.

You may view the status of your manuscript at any time by logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/nutr-rev> and checking the Author Center.

The time you took to prepare this submission is sincerely appreciated. We are pleased to have the opportunity to review it.

OXFORD
UNIVERSITY PRESS

Nutrition Reviews

Home

Author

Review

Author Dashboard

Author Dashboard

1 Submitted Manuscripts

2 Manuscripts with Decisions

2 Manuscripts I Have Co-Authored

Start New Submission

5 Most Recent E-mails

Submitted Manuscripts

STATUS	ID	TITLE	CREATED	SUBMITTED
Contact Journal	NUTR-REV-537-MA-12-2023	Association among vitamin D receptor gene polymorphisms, metabolic control, and inflammatory markers in type 2 diabetes: A systematic review and meta-analyses	20-Dec-2023	20-Dec-2023
View Submission				
Cover Letter				
Under Review				