

GIOVANNA KAUSSINIS JORGE

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA D NO  
SANGUE E LÁGRIMA EM PACIENTES COM DIABETES  
MELLITUS TIPO II PELO MÉTODO DE  
ELETROQUIMILUMINESCÊNCIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como exigência parcial para obtenção do título de  
Bacharel em Farmácia, ao Instituto de Ciências  
Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da  
Universidade Federal de São Paulo – Campus  
Diadema.

Orientador: Prof. Dr Fernando Luiz  
Affonso Fonseca.

DIADEMA

2021

Jorge, Giovanna

**Avaliação da concentração de Vitamina D no sangue e lágrima em  
pacientes com diabetes mellitus tipo II pelo método de eletroquimiluminescência**

/ Giovanna Kaussinis Jorge. --

Diadema, 2021.

29f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) –  
Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema, 2021.

Orientador: Prof. Dr Fernando Luiz Affonso Fonseca

1. Vitamina D. 2. Diabetes mellitus tipo 2. 3. Lágrima I. Título.

GIOVANNA KAUSSINIS JORGE

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE  
VITAMINA D NO SANGUE E LÁGRIMA EM  
PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO II  
PELO MÉTODO DE  
ELETROQUIMILUMINESCÊNCIA**

**A Banca Examinadora é composta por:**

---

\_\_\_Prof. Dr. Fernando Luiz Affonso Fonseca

Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - Campus Diadema

1° Titular Presidente

---

\_\_ Prof. Dr. Edimar Cristiano Pereira

Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - Campus Diadema

2º Titular

---

\_\_ Drª. Thais Moura Gáscon

Faculdade de Medicina do ABC

3º Titular

## **DEDICATÓRIA**

Gostaria de dedicar este trabalho a minha família e aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado, principalmente durante o período da graduação.

Dedico principalmente aos meus pais, Mauro e Erlaine, que nunca mediram esforços para me proporcionar as melhores condições de estudo e educação, fazendo o possível e o impossível para que eu tivesse uma ótima qualidade de vida e muito amor e carinho, sempre me apoiando e incentivando.

Dedico ao meu noivo, Thiago, que me auxiliou e apoiou ao longo do processo, me incentivando a não desistir.

E por fim, dedico aos meus amigos da graduação, amigos de infância e amigos do trabalho que são pessoas essenciais na minha vida e me apoiam muito.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pois Ele nunca deixou faltar nada em minha vida e sempre me proporcionou muitas oportunidades, agradeço também á Deus pelas pessoas que me cercam, por serem tão maravilhosas.

Agradeço os meus pais, por todo o suporte e amor que sempre me deram.

Agradeço os meus amigos por toda a parceria e carinho.

Agradeço ao Professor Dr. Fernando pela oportunidade, pela sua atenção, orientação e paciência.

“O mundo é de quem nasce para conquista-lo e não de quem sonha que pode conquista-lo.”

Frida Kahlo

## RESUMO

A vitamina D é um hormônio esteroide, no ser humano pode ser obtida através da dieta ou é sintetizada pela pele. O caminho clássico da sua conversão é iniciado a partir da exposição à luz UV. Essas duas formas de obtenção da vitamina D, resultam em duas formas principais que são a vitamina D2 e a vitamina D3.

Estudos vem demonstrando que a vitamina D tem um papel importante na regulação de uma ampla variedade de processos patológicos e psicológicos, incluindo o crescimento celular, migração, resposta imunomodulatória e diferenciação.

Níveis baixos de vitamina D estão associados a diversas patologias como: diabetes, osteoporose, doença cardíaca, hipertensão, dentre outras. Em diversos estudos níveis baixos de concentração sérica de vitamina D foram detectados em pessoas com diabetes tipo 1 e tipo 2 e níveis reduzidos de proteína de ligação de vitamina D sérica também foram associados a diabetes

Diversos estudos examinaram a presença de vitamina D3 sintetizada e metabolizada nos olhos, esses estudos mostraram a expressão e a funcionalidade dessa vitamina D3 em diversas barreiras oculares de humanos, insinuando que a vitamina D3 possa ser importante para a função da barreira ocular e para o sistema imunológico ocular. Sugerindo que as glândulas lacrimais excretem metabólitos de vitamina D no fluido lacrimal

Identificar uma nova forma de avaliar a concentração de vitamina D por meio de outra matriz biológica, como a lágrima e verificar se os resultados de análise podem ser correlacionados com os resultados de análise da matriz biológica de análise mais convencional que é o plasma sanguíneo é de extrema importância para obtenção de avanços científicos.

**Palavras chave:** Vitamina D, diabetes mellitus tipo 2, vitamina D na lágrima, concentração de vitamina D, lágrima.

## ABSTRACT

Vitamin D is a steroid hormone, for humans can be obtained by diet or synthesized in the skin. The classic pathway of this conversion begins with UV light exposure. These two forms to obtain vitamin D resulted in two main forms which was: Vitamin D2 and Vitamin D3.

Studies have been shown that Vitamin D plays an important role at the regulation of a wide range of pathological and physiological processes, including cell growth, migration, immune response modulation, and differentiation.

Lower concentration levels of vitamin D are associated a many pathology as: diabetes, osteoporosis, heart disease, hypertension, and others. In many studies' low serum vitamin D concentration levels have been detected in those with type 1 and type 2 diabetes, reduced serum vitamin D binding protein levels are also associated with diabetes.

Very few studies have examined the presence of vitamin D3 synthesizing and metabolizing in the eyes, this study shows the expression and functionality of vitamin D3 system in several human ocular barriers, intimating that vitamin D3 may be important to the ocular barrier function and ocular immune system. Suggesting that the lacrimal glands excretes vitamin D metabolites into the lacrimal fluid.

Identify new ways to analyze the concentration of vitamin D through another biological matrix as fluid lacrimal and verifying whether the analysis results can be correlated with the analysis of the more conventional biological analysis matrix, which is the blood plasma, is extremely important to obtain scientific advances.

**Keywords:** Vitamin D, diabetes mellitus type 2, vitamin D in teardrop, concentration of vitamin D, tear.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados da idade, do gênero, do tempo em que são diabéticos e se utilizam ou não suplementação com vitamina D, dos voluntários do estudo.....	26
Tabela 2: Dados bioquímicos de glicose, hemoglobina glicada, ferritina, cálcio e creatinina. Valores expressos em mediana, valores máximos, mínimos, média e desvio padrão.....	31
Tabela 3: Dados da idade e das concentrações de vitamina D no sangue, saliva e lágrima dos participantes do estudo. Valores expressos em mediana, valores máximos, mínimos, média e desvio padrão .....	32

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1: Representação gráfica da quantidade de voluntários por gênero (masculino e feminino).....	24
Gráfico 2: Representação gráfica da quantidade de voluntários por faixa de idade.....	25
Gráfico 3: Representação gráfica da quantidade de voluntários por idade exata.....	25
Gráfico 4: Dados de coleta de Vitamina D no sangue dos voluntários em ng/mL.....	27
Gráfico 5: Dados de coleta de Vitamina D na lágrima dos voluntários em ng/mL.....	28
Gráfico 6: Dados de coleta de Vitamina D na saliva dos voluntários em ng/mL.....	28
Gráfico 7: Dados de coleta de glicose no sangue dos voluntários em mg/dL.....	29
Gráfico 8: Dados de coleta de glicose na lágrima dos voluntários em mg/dL.....	30
Gráfico 9: Representação gráfica das concentrações de vitamina D em três matrizes biológicas diferentes, sangue, saliva e lágrima. Valores expressos em média±DP. Teste ANOVA de uma via, *p<0,05 vs Vitamina D no sangue.....	33
Figura 1: Representação gráfica das concentrações de glicose (A), ferritina (B) e cálcio (C) nas diferentes matrizes biológicas estudadas, sangue, saliva e lágrima. Valores expressos em média±DP. Teste ANOVA de uma via. *p,0,05.....	33
Figura 2: Representação gráfica da análise de correlação de Pearson entre as concentrações de vitamina D (U/L) no sangue vs na saliva* (A), das concentrações da vitamina	

D no sangue vs na lágrima (B) e das concentrações de vitamina D na saliva vs na lágrima\* (C).

Teste de correlação de Pearson, \* $p < 0,05$ .....34

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

VDR: Receptor de Vitamina D.

Vacutainer: Tubos utilizados para coleta de sangue a vácuo.

EDTA: Ácido etilenodiamino tetra – acético, utilizado como agente anticoagulante em coletas de sangue.

## SUMÁRIO

### Sumário

DEDICATÓRIA.....	5
AGRADECIMENTOS.....	6
1. INTRODUÇÃO .....	17
2. OBJETIVO .....	20
Objetivo Geral .....	20
Objetivo Específico .....	20
3. METODOLOGIA.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	24
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	38

## 1. INTRODUÇÃO

Vitamina D ou calciferol é o nome genérico para um grupo de esteroides, composto de duas maiores formas, que são a vitamina D2 (ergocalciferol) e a vitamina D3 (colecalfiferol). Ambas as formas compartilham de metabolismo idêntico, porém a primeira é proveniente de fontes dietéticas e a segunda é obtida pela irradiação cutânea. A Vitamina D é produzida nos humanos através da ação da radiação UV, na parte subcutânea da pele, o 7 dehidrocolesterol (7-DHC) é transformado em pré - vitamina D3, posteriormente há uma conversão térmica de 25 hidroxicolecalciferol (25(OH)D3)<sup>9</sup>. As características da vitamina D são semelhantes às de um hormônio. (GRANT W et al, 2003)

A vitamina D tem uma série de efeitos extra no esqueleto, estudos tem mostrado que a vitamina D desempenha um papel fundamental na preservação da função de células das ilhotas. O pâncreas endócrino é um alvo receptor de vitamina D (VDR), ele melhora tanto a sensibilidade a insulina quanto a síntese de insulina, níveis baixos de vitamina D são constantemente associados a um risco elevado de diabetes mellitus tipo 2.

Quase todas as células do sistema imune expressam o receptor de vitamina D (VDR), células da linhagem de monócitos podem também produzir vitamina D local. A vitamina D tem um papel desde a resposta imune inata estendendo-se até a eliminação de patógenos.

VDR também está presente em linfócitos T onde ele atua como inibidor de ativação de linfócito T. A vitamina D suprime a inflamação mediada por células T e aumenta os efeitos das células T reguladoras anti-inflamatórias.

Por isso 1,25(OH) 2D tem um efeito estimulador sobre o sistema imunológico nativo (compreendendo principalmente monócitos/macrófagos), embora tenha efeito regulatório

negativo sobre o sistema imunológico adaptativo (compreendendo principalmente a dependência de células T helper).

Esses mecanismos explicam como a deficiência de vitamina D é associada com um aumento no risco de infecções. ( S.K.SINGH et al, 2020)

Baixos níveis de 25 – hidroxivitamina D (25(OH)D) contribuem para muitas condições, dentre elas osteomalácia, osteoporose, quedas e fraturas. Muitos estudos em humanos mostraram uma relação inversa entre vitamina D e doenças crônicas associadas a inflamação crônica, incluindo diabetes mellitus, hipertensão, doença cardíaca, esclerose múltipla, esquizofrenia e artrite reumatoide. Em certos órgãos, a vitamina D pode estar relacionada com o desenvolvimento de várias doenças, por exemplo, nos olhos, os níveis de vitamina D, influenciam o desenvolvimento de patologias, como miopia, degeneração macular relacionada a idade (DMRI), retinopatia diabética. (GRANT W et al, 2003)

O diabetes mellitus tipo 2 se desenvolve principalmente a partir de defeitos patogênicos nos mecanismos de secreção de insulina e na ação hepática e periférica da insulina. A consequência da interrupção do metabolismo normal da glicose envolve uma série de órgãos e seus sistemas de funcionamentos e por fim se manifesta na hiperglicemia. Concentrações cronicamente elevadas de glicose no sangue determinam a progressão da doença, exacerbando ainda mais a resistência à insulina e causando exaustão das células beta, além de diminuir a sua capacidade de resposta a glicose. A disfunção secretora das células beta é caracterizada pela falta da fase inicial de secreção de insulina induzida por glicose e a insuficiência e fase tardia da secreção retardada. Níveis glicêmicos em pacientes com diabetes mellitus do tipo 2 estão diretamente relacionados ao risco de desenvolvimento de complicações microvasculares e macrovasculares, sendo a principal causa da morbidade e mortalidade associadas a esta doença. O objetivo do tratamento é diminuir o risco e retardar a progressão dessas complicações, melhorando o controle glicêmico. Os agentes antidiabéticos orais atuais, usados como

monoterapia ou em combinação, incluem segretagogos de insulina tradicionais, sensibilizadores de insulina e inibidores de absorção de carboidratos. Uma maior compreensão da fisiopatologia da diabetes tipo 2 e descobertas recentes sobre a significância da relação entre as refeições e a glicemia e todo o controle glicêmico estão expandindo as opções terapêuticas para tratar essa doença, (DANIEL PORTE JR, 2001)

Numerosos estudos foram publicados descrevendo as ações não clássicas da vitamina D, um deles, descobriu a partir de pesquisas feitas em laboratório, que a córnea é capaz de ativar e metabolizar a vitamina D e que também, metabólitos da vitamina D estão presentes no fluido lacrimal, provavelmente desempenhando um papel importante na manutenção da córnea, embora ainda a fonte de vitamina D na lágrima ainda seja pouco conhecida.( Yanping Lin et al, 2012)

## **2. OBJETIVO**

### **Objetivo Geral**

Este trabalho tem como objetivo demonstrar que a lágrima e a saliva podem ser utilizadas como amostras biológicas alternativas para avaliação laboratorial da concentração de Vitamina D em indivíduos com diabetes mellitus do tipo II e indivíduos saudáveis (controle) mediante comparação com amostra de sangue venoso.

### **Objetivo Específico**

- Determinar a concentração de vitamina D pelo método eletroquimiluminescência na lágrima, saliva e sangue venoso.
- Correlacionar a concentração de Vitamina D presente na lágrima e na saliva com sangue venoso

## **3. METODOLOGIA**

### **3.1 Aspectos éticos e locais de pesquisa**

Esse projeto de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo. Uma vez aprovado, todos os voluntários foram informados sobre o projeto de pesquisa e foram convidados a participar após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O Projeto teve envolvimento da Universidade Federal de São Paulo Campus Diadema, da Universidade Federal de Medicina do ABC e da UBS do Município de São Bernardo do Campo. As amostras biológicas foram processadas no laboratório multidisciplinar da Universidade de Medicina do ABC.

### **3.2 Voluntários do Estudo**

Foram selecionados 16 voluntários da UBS do Município de São Bernardo do Campo baseados nos critérios de inclusão e exclusão, conforme detalhado a seguir:

Critérios de Inclusão:

- Apresentar Diabetes mellitus tipo II;
- Ambos os sexos;
- Faixa etária: 21 aos 60 anos.

Critérios de Exclusão:

- Apresentar comorbidades sorológicas como: HIV, hepatite C, lúpus, citomegalovírus (CMV), entre outras.
- Mulheres em pós menopausa;
- Doenças mentais;
- Tabagismo;
- Alcoolismo;
- Dependência Química;
- $IMC \geq 30$

Foram selecionados 30 voluntários sadios como grupo de controle, na faixa etária de 21 a 60 anos.

### **3.3 Protocolo de Estudo**

A coleta das amostras biológicas (lágrima, saliva e sangue) foram realizadas de uma única vez, de forma concomitante e depois o paciente foi dispensado.

Os dados coletados foram referentes a idade, peso, altura, tempo de doença (DMII), outras patologias presentes, uso de suplementos de vitamina D e outras informações relevantes.

### **3.4. Coleta das amostras biológicas**

As amostras de sangue venoso, lágrima e saliva foram coletadas concomitantemente e em jejum de no mínimo 3 horas.

O sangue venoso foi coletado utilizando tubos do tipo Vacutainer sem e com EDTA – anticoagulante.

As amostras de lágrima foram coletadas por intermédio de fitas teste da marca Ophtalmos, utilizadas no teste de Shirmer (Schirmer tear test – STT). Esse método de avaliação analisa se o olho produz quantidade de lágrima suficiente para se manter lubrificado.

As amostras de saliva foram coletadas utilizando salivette, um método de estimulação e coleta de saliva.

### **3.5. Avaliação laboratorial das amostras biológicas**

Os parâmetros laboratoriais do sangue, da saliva e da lágrima, foram analisados em um analisador bioquímico automatizado modelo Cobas® e411, pelo método de eletroquimioluminescência.

### **3.6. Análise Estatística**

A análise dos dados foi realizada por meio do programa Stata 11.0, foi considerado um nível de significância de 5% e o poder do teste superior a 95%.

Para a obtenção de médias, desvio padrão, medianas e para o teste de correlação (Pearson, Concordância de Lin, Concordância de Bland & Altman) para avaliar a correlação entre os parâmetros bioquímicos analisados no soro/plasma, lágrima e saliva foi utilizada a estatística.

### **3.7. Análise crítica de desconfortos e riscos**

Nessa pesquisa não há previsão de riscos ou desconfortos aos participantes, todos os exames são de fácil execução, foram realizados por profissionais treinados, com o uso de materiais limpos e esterilizados quando necessário, que tomaram todos os cuidados necessários, visando a redução de possíveis desconfortos e insegurança dos pacientes. Além disso, os voluntários da pesquisa, foram avaliados no dia pré-agendado para atendimento médico de rotina, não sendo necessário um retorno dedicado do paciente para realização da pesquisa.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram coletados dados de 16 voluntários sendo 9 voluntários do gênero feminino (56,25%) e 7 voluntários do gênero masculino (43,75%) (Gráfico 1). Dentre esses 16 voluntários, todos são maiores de 18 anos e 3 possuem idade até 30 anos, 5 possuem idade de 31 a 40 anos, 2 possuem idade de 41 a 49 anos e 6 são maiores de 50 anos, mas não passam de 61 anos de idade. (Gráfico 2 e 3). Sendo a média das idades de 44,5 anos.

*Gráfico 1: Representação gráfica da quantidade de voluntários por gênero (masculino e feminino).*

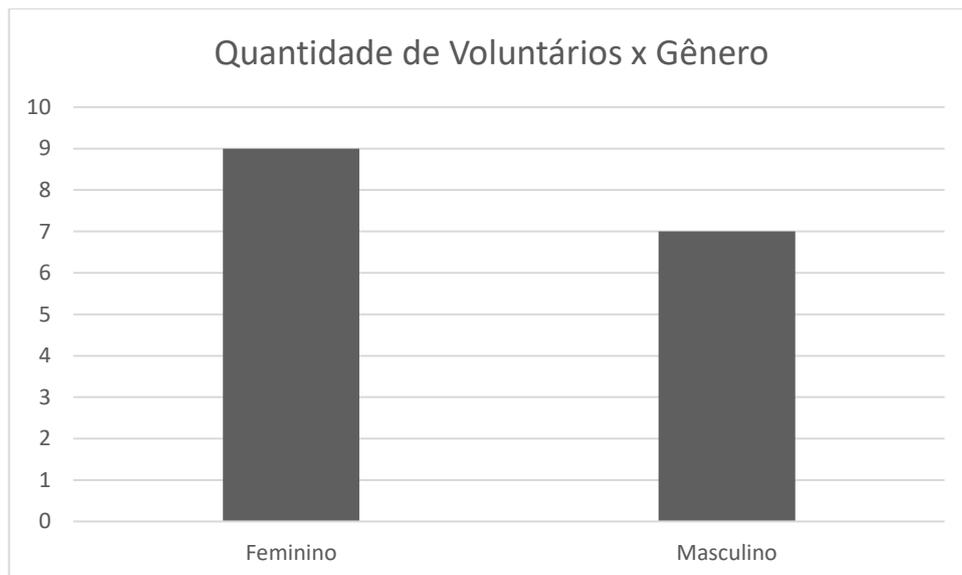


Gráfico 2: Representação gráfica da quantidade de voluntários por faixa de idade

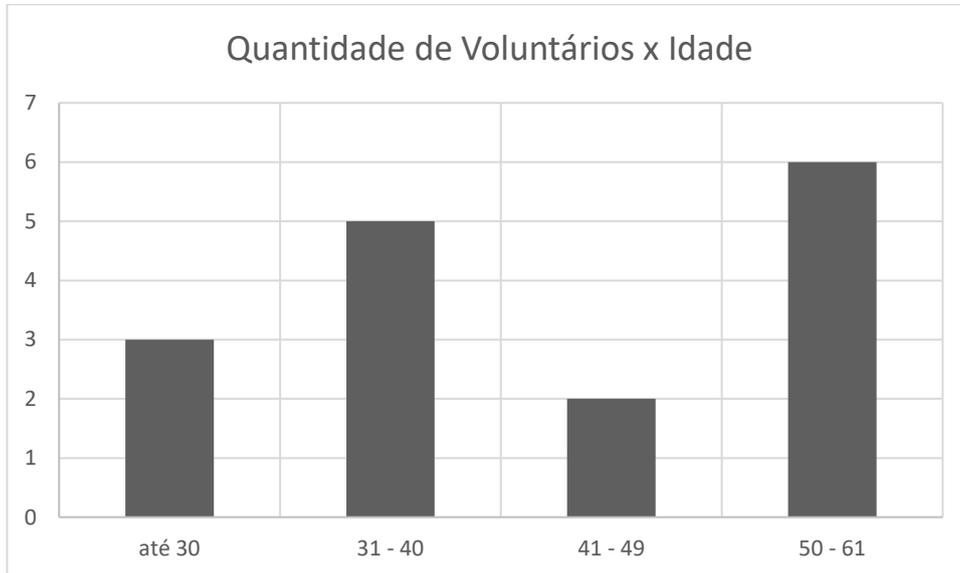
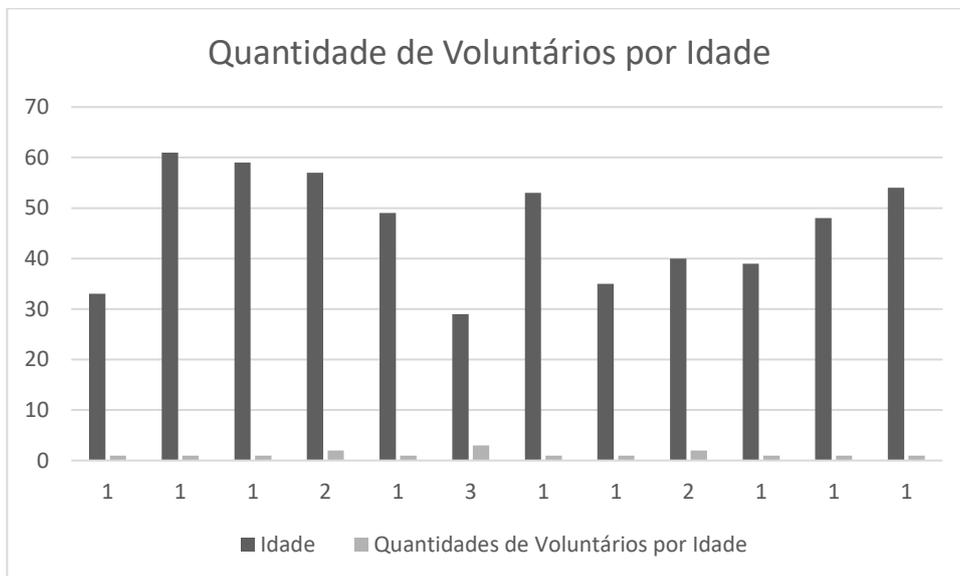


Gráfico 3: Representação gráfica da quantidade de voluntários por idade exata.



Dos 16 voluntários do estudo, 6 voluntários declararam ser diabéticos (Diabetes mellitus tipo II), indicando 37,5% dos voluntários e 1 voluntário declarou ser diabético, indicando 6,25% (Diabetes tipo I), e os outros 9 voluntários não são diabéticos, que representam 56,25% dos voluntários. Sendo que desses 7 voluntários que possuem diabetes, somente 4 realizam suplementação com vitamina D. (Tabela 1)

*Tabela 1: Dados da idade, do gênero, do tempo em que são diabéticos e se utilizam ou não suplementação com vitamina D, dos voluntários do estudo.*

<b>Voluntário</b>	<b>Gênero</b>	<b>Diabético Tempo</b>	<b>Utiliza Suplemento de Vitamina D</b>
<b>2</b>	F	14 anos	Sim
<b>3</b>	F	20 anos	Sim
<b>5</b>	M	20 anos	Não
<b>6</b>	F	20 anos	Não
<b>7</b>	M	Recente – Tipo I	Não
<b>14</b>	F	3 anos	Sim
<b>16</b>	F	4 anos	Sim

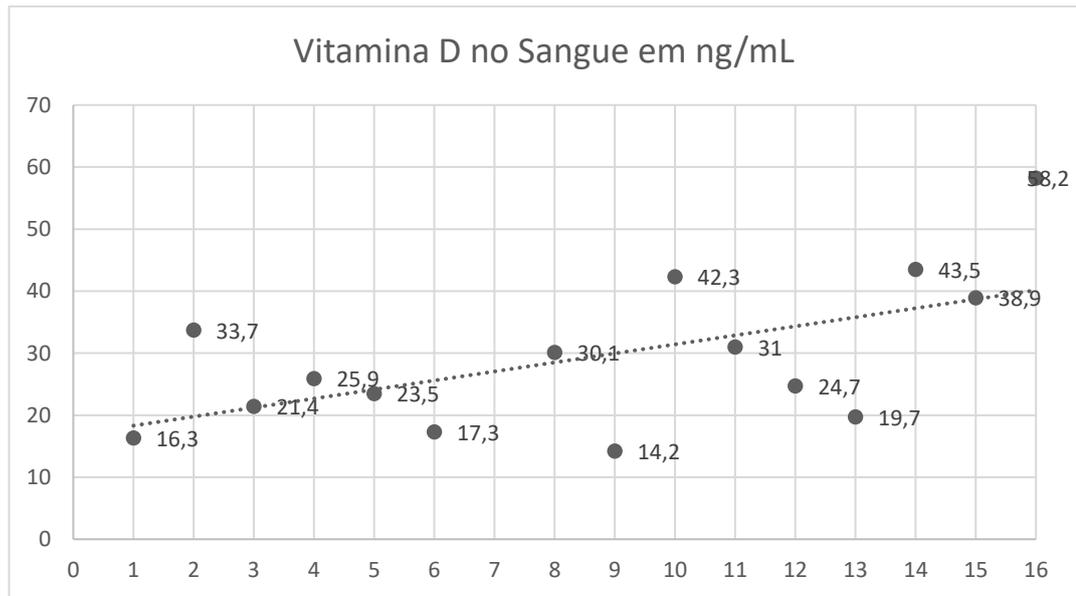
Os demais voluntários, que não possuem diabetes, que totalizam 9 voluntários, não realizam suplementação com vitamina D.

Neste estudo foram avaliadas as concentrações séricas de glicose, hemoglobina glicada, ferritina, cálcio, vitamina D e creatinina dos voluntários. E foram realizadas coletas em amostras de sangue venoso, lágrima e saliva dos 16 voluntários, os resultados obtidos foram:

De acordo com a literatura os valores de referência, para vitamina D no sangue, são mínimos de 20ng/mL e máximo de 100 ng/mL (Institute of Medicine, 2011) sendo que, valores menores do que 10 ng/mL são muito baixos e com risco de evoluir com defeito na mineralização

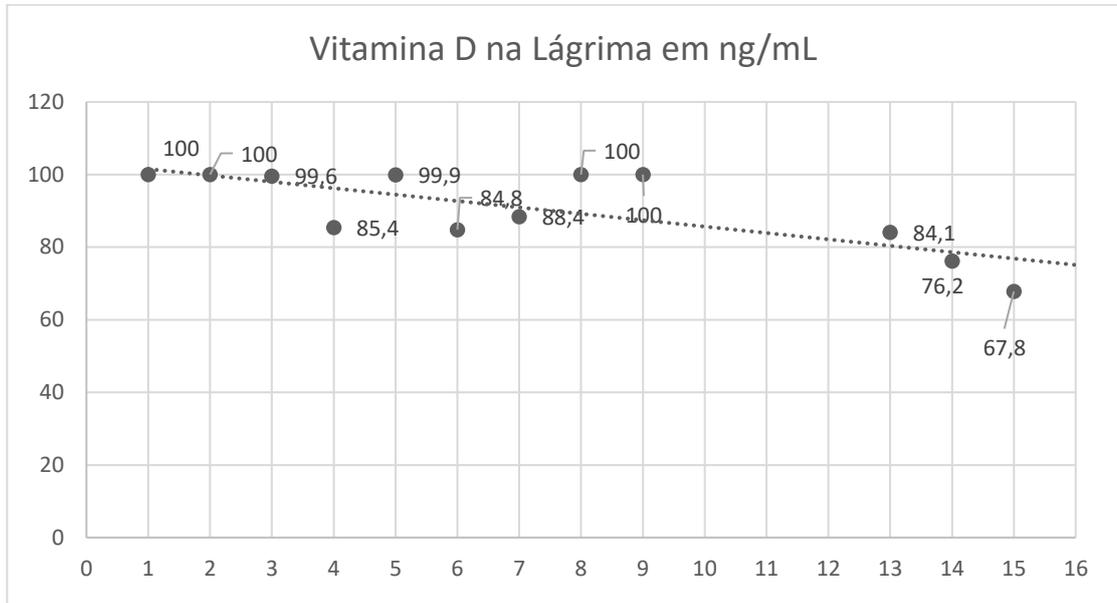
óssea, que é a osteomalácia, e raquitismo. E níveis acima de 100 ng/mL são considerados elevados com risco de hipercalcemia e intoxicação. (Gráfico 4)

Gráfico 4: Dados de coleta de Vitamina D no sangue dos voluntários em ng/mL.



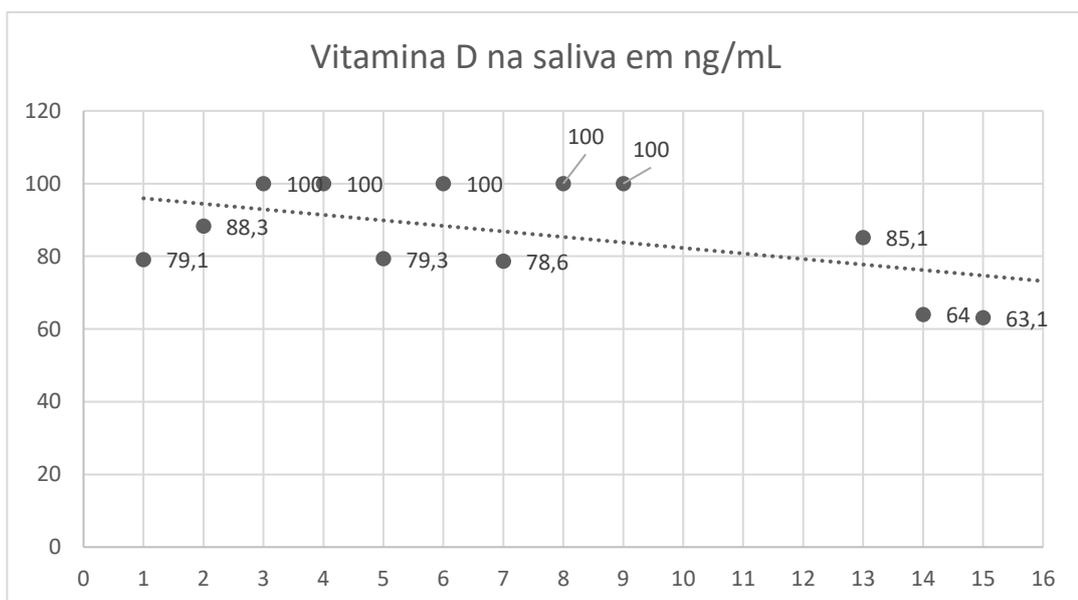
De acordo com a literatura os valores de referência, para vitamina D na lágrima, são mínimos de 20ng/mL e máximo de 100 ng/mL. (Institute of Medicine, 2011) (Gráfico 5)

Gráfico 5: Dados de coleta de Vitamina D na lágrima dos voluntários em ng/mL.



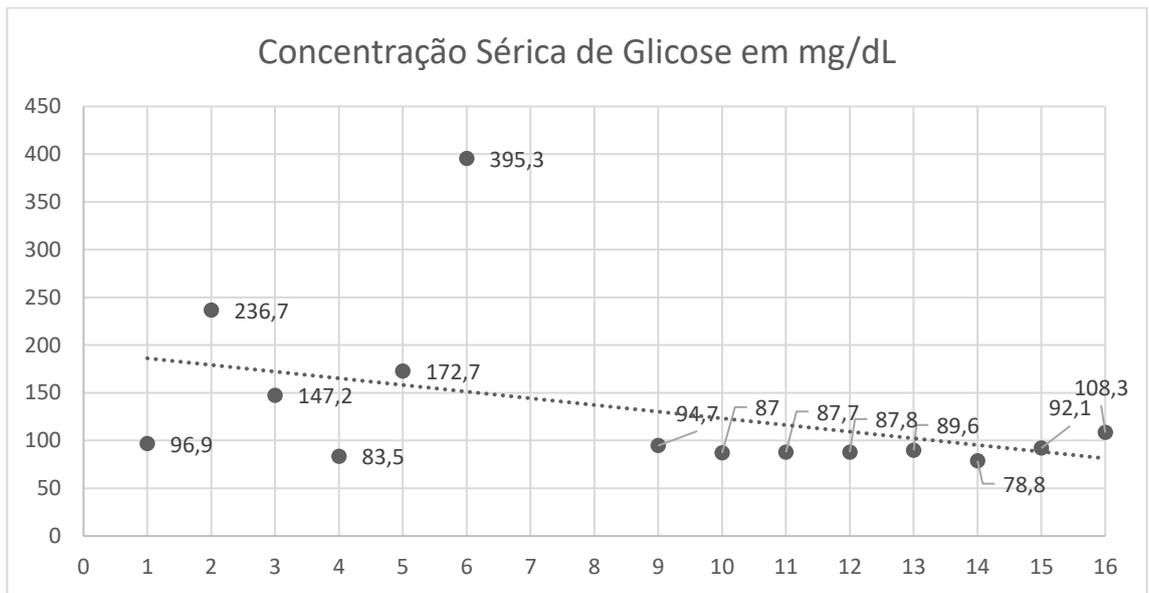
De acordo com a literatura os valores de referência, para vitamina D na saliva, são mínimos de 20ng/mL e máximo de 100 ng/mL. (Gráfico 6)

Gráfico 6: Dados de coleta de Vitamina D na saliva dos voluntários em ng/mL.



De acordo com a literatura os valores de referência (Consenso Brasileiro de Diabetes) para a glicose no sangue, são: <110\* normal, >110 e <126\* valores de glicemia de jejum alterados, <126\* tolerância a glicose diminuída e  $\geq 126$ \* indica um quadro de diabetes mellitus (Gráfico 7) \*valores em mg/dL de glicose plasmática para diagnóstico de diabetes mellitus.

Gráfico 7: Dados de coleta de glicose no sangue dos voluntários em mg/dL.

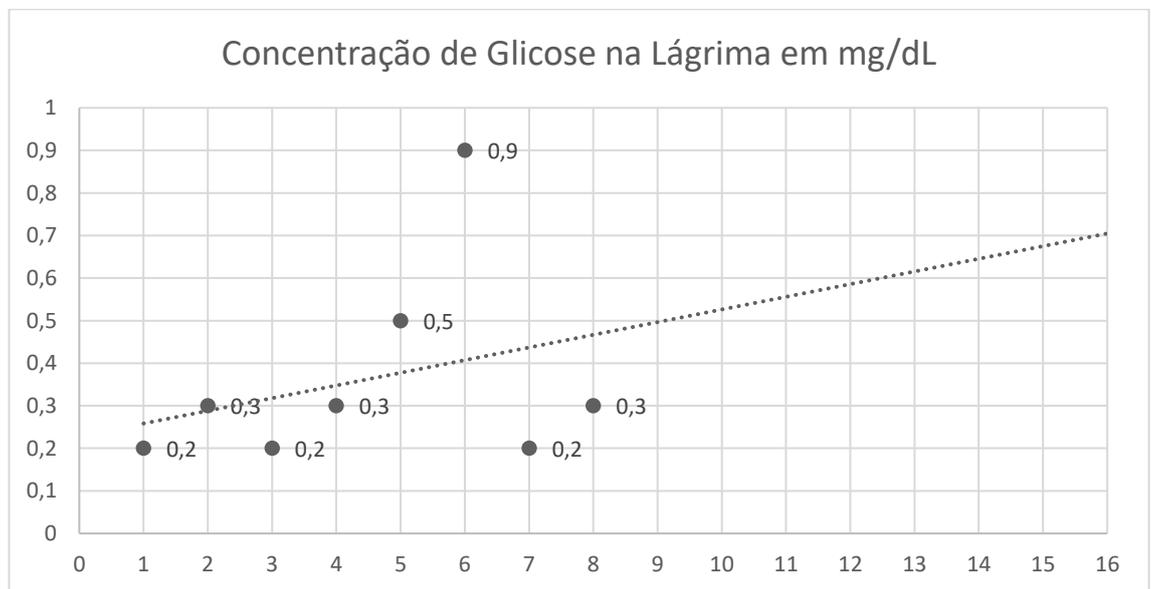


Nota-se que os voluntários 2,3,5 e 6 apresentaram valores de concentração de glicose sérica muito acima de 126 mg/dL, valor que de acordo com a literatura é considerado um diagnóstico de diabetes mellitus. Esse estudo não se aprofunda no tratamento realizado pelos voluntários especificamente para diabetes mellitus, porém esses valores altos de concentração sérica de glicose, possivelmente indicam uma falta de tratamento ou um tratamento que não esteja sendo seguido corretamente. O voluntário de número 16, apresentou uma concentração sérica de glicose de 108,3 mg/dL um valor próximo de 110 mg/dL, ou seja, próximo da faixa de valor de glicemia alterada, esse voluntário afirmou ter diabetes mellitus do tipo 2, esse valor de concentração sérica de glicose pode indicar que o paciente esteja seguindo corretamente o tratamento indicado.

O voluntário de número 14 afirmou possuir o diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 e apresentou um valor de concentração sérica de glicose dentro da normalidade, sendo 78,8 mg/dL o que indica que possivelmente o paciente esteja seguindo corretamente o tratamento a ele designado.

Foram obtidos dados de coleta de glicose na lágrima dos voluntários (Gráfico 8)

Gráfico 8: Dados de coleta de glicose na lágrima dos voluntários em mg/dL.



A partir dos dados obtidos com a coleta de sangue dos voluntários, observa-se que os voluntários 1,6,9 e 13 apresentaram valores de vitamina D abaixo do mínimo: 16,3 ng/mL, 17,3 ng/mL, 14,2 ng/mL e 19,7 ng/mL respectivamente. Porém esses mesmos voluntários apresentaram altos valores de vitamina D nas outras amostras que foram coletadas (lágrima e saliva). Desses voluntários, apenas o de número 6 apresenta diabetes mellitus do tipo 2 e nenhum voluntário realiza suplementação com vitamina D.

Conforme citado anteriormente, neste estudo foram avaliadas as concentrações séricas de glicose, hemoglobina glicada, ferritina, cálcio, vitamina D e creatinina dos voluntários.

Sendo que para as quantificações de cálcio, ferritina, glicose e vitamina D, foram avaliadas três diferentes matrizes biológicas, sendo elas: sangue, saliva e lágrima e os resultados podem ser encontrados nas tabelas 2 e 3:

*Tabela 2: Dados bioquímicos de glicose, hemoglobina glicada, ferritina, cálcio e creatinina. Valores expressos em mediana, valores máximos, mínimos, média e desvio padrão.*

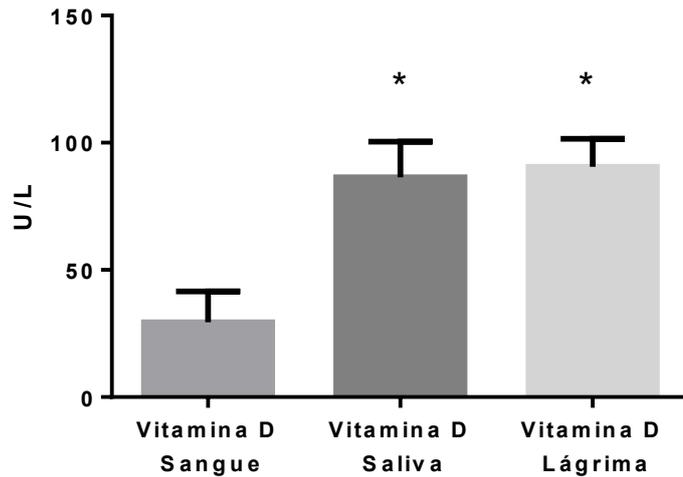
	Glicose (mg/dL)	Hemoglobina Glicada (%)	Ferritina (ng/mL)	Calcio (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
<b>Min</b>	78,8	5,2	21,6	9,1	0,70
<b>Mediana</b>	93,4	5,9	139,0	9,5	0,90
<b>Max</b>	395,3	11,8	328,0	10,3	1,0
<b>média</b>	132,7	7,3	150,6	9,5	0,89
<b>DP</b>	87,6	2,5	95,4	0,4	0,08

*Tabela 3: Dados da idade e das concentrações de vitamina D no sangue, saliva e lágrima dos participantes do estudo. Valores expressos em mediana, valores máximos, mínimos, média e desvio padrão*

	Idade	Vitamina D (U/L) Sangue	Vitamina D (U/L) Saliva	Vitamina D (U/L) Lágrima
Min	29	14,20	63,10	67,80
Mediana	44	25,90	86,70	94,00
Max	61	58,20	100,0	100,0
Média	44,5	29,38	86,46	90,52
DP	11,56	12,20	13,95	11,10

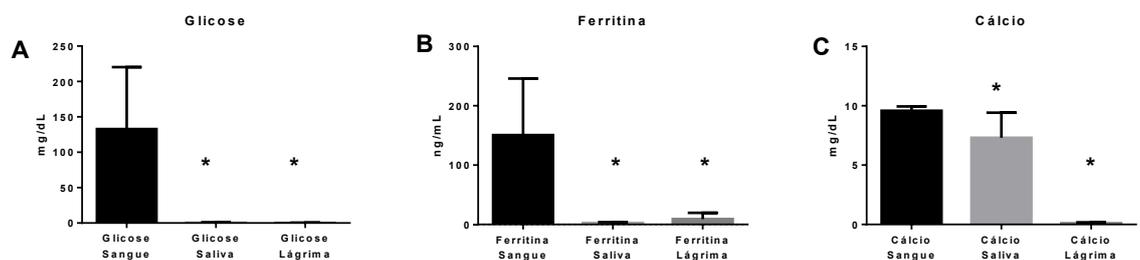
As concentrações de vitamina D nas diferentes matrizes biológicas foram avaliadas e demonstradas no gráfico abaixo (Gráfico 9). Pode-se observar maior concentração de vitamina D na saliva e na lágrima quando em comparação com os níveis dessa vitamina no sangue

Gráfico 9: Representação gráfica das concentrações de vitamina D em três matrizes biológicas diferentes, sangue, saliva e lágrima. Valores expressos em média±DP. Teste ANOVA de uma via, \* $p < 0,05$  vs Vitamina D no sangue.



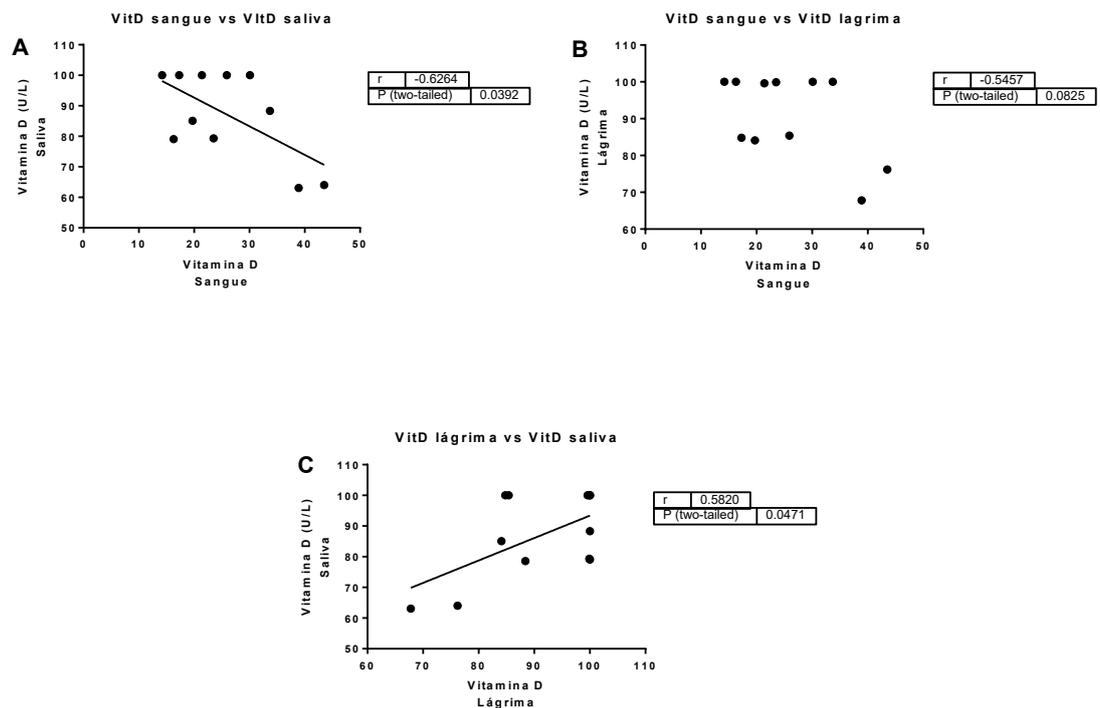
A mesma comparação foi feita, referente as concentrações de glicose, ferritina e cálcio nas três matrizes biológicas. Para essa avaliação foi constatado que as concentrações de glicose (A), ferritina (B) e cálcio (C) no sangue, são maiores do que as observadas na saliva e na lágrima (Figura 1).

Figura 1: Representação gráfica das concentrações de glicose (A), ferritina (B) e cálcio (C) nas diferentes matrizes biológicas estudadas, sangue, saliva e lágrima. Valores expressos em média±DP. Teste ANOVA de uma via. \* $p < 0,05$ .



Para avaliar se há correlação entre os níveis de vitamina D no sangue, lágrima e saliva foi realizado o teste de correlação de Pearson. Foi verificada uma correlação negativa entre as concentrações de vitamina D na saliva e no sangue **(A)** ( $r= 0,6264$ ,  $p=0,0392$ ) e uma correlação positiva entre os níveis de vitamina D na saliva e na lágrima **(C)** ( $r= 0,5820$ ,  $p <0,0471$ ). Não houve correlação entre a concentração de vitamina D no sangue e na lágrima. **(B)**.(Figura 2).

Figura 2: Representação gráfica da análise de correlação de Pearson entre as concentrações de vitamina D (U/L) no sangue vs na saliva\* (A), das concentrações da vitamina D no sangue vs na lágrima (B) e das concentrações de vitamina D na saliva vs na lágrima\* (C). Teste de correlação de Pearson, \* $p < 0,05$ .



Os olhos são, depois da pele, o único maior órgão, que é diretamente exposto á luz solar. A primeira fonte de vitamina D3 em humanos é através a mediação da luz ultravioleta B (UV-B) da luz solar, que converte 7- dehidrocolesterol a vitamina D3. A vitamina D3 por sua vez , é hidroxilada na posição 25 pelo citocromo p-450 contendo enzimas resultando na produção da

25 (OH) – vitamina D3 (25(OH)D3). A 25(OH)D3 então é convertida a 1 $\alpha$ , 25-dihidroxitaminaD3 (1,25(OH)2D3 pela 1 $\alpha$ -hidroxilase. (Yanpin Lin et al, 2012)

A 25(OH)D3 também pode ser convertida a 24R,25-dihidroxitaminaD3 (24,25(OH)2D3) pela enzima 24-hidroxilase. Em indivíduos que não são regularmente expostos á luz solar, a dieta e/ ou a suplementação de vitamina D3 são as principais fontes de vitamina D. Vitamina D2 (ergocalciferol) não é produzida por humanos, mas pode ser encontrada em plantas, leveduras e suplementos e também pode ser uma fonte dietética de vitamina D. É metabolizada pelo mesmo caminho que a vitamina D3 e sua forma ativa, 1,25(OH)2D2 é um agonista efetivo para o receptor de vitamina D. (Yanpin Lin et al, 2012)

Pesquisadores demonstraram em seu laboratório que o epitélio da córnea que é diretamente exposto ao sol da mesma maneira que a pele e as vezes até mais do que a pele, possui os componentes enzimáticos e a capacidade de gerar e ativar a vitamina D. O VDR, CYP24A1, CYP27B1, e cinco metabólitos da vitamina D foram detectados na córnea e no segmento anterior. 1,25(OH) 2D3 foi encontrada para inibir a neovascularização e modular a angiogênese, respostas inflamatórias, degeneração macular relacionada a idade, miopia, retinopatia diabética e atividade antitumoral no retinoblastoma. (Xiaowen Lu et al, 2015)

Outro estudou demonstrou que a presença das proteínas megalina e cubilina nas glândulas lacrimais e nas glândulas harderianas em animais de teste, podem estar envolvidas com a secreção isquêmica de vitamina D no fluido lacrimal, esse estudo também demonstrou a presença dos componentes envolvidos com o processo de síntese de vitamina D e os metabólitos dentro das células da córnea, e encontrou a presença de megalina e cubilina em vários tipos de células de barreira ocular. A diminuição da síntese de megalina e cubilina em ratos sem o

receptor de vitamina D (VDR) está aparentemente associada á secreção de vitamina D, o que destaca a hipótese de que a megalina e a cubilina estão envolvidas na via metabólica da secreção da vitamina D nas lágrimas pelos ductos celulares. (Xiaowen Lu et al, 2015)

A expressão da megalina e da cubilina nas células da barreira ocular também indica a importância desses receptores no metabolismo da vitamina D. Adicionalmente, a megalina é expressa em diferentes tecidos e a expressão da cubilina é mais evidente nas células da barreira ocular. (Xiaowen Lu et al, 2015)

Estudos *in vivo* realizados com camundongos diabéticos, em que foi projetado para mostrar os efeitos da retirada do receptor VDR de vitamina D e a deficiência de vitamina D na cicatrização de feridas epiteliais da córnea desses camundongos mostrou que, baixos níveis de vitamina D podem exacerbar doenças oftálmicas preexistentes, como o diabetes. Uma vez que camundongos diabéticos sem o receptor VDR e com deficiência de vitamina D (diabéticos por 8 semanas e 20 semanas, respectivamente) tiveram taxas de cura mais lentas do que camundongos diabéticos do tipo selvagem. Esses mesmos camundongos também mostraram densidade nervosa significativamente diminuída. Taxas de cicatrização de feridas e densidades nervosas reduzidas não foram totalmente resgatadas por uma dieta suplementar rica em cálcio, lactose e fosfato, o que levou a concluir que a falta do receptor VDR e a deficiência da vitamina D reduzem significativamente a cicatrização de feridas epiteliais da córnea e a densidade nervosa em camundongos diabéticos. E como a dieta suplementar não resgatou a cicatrização de feridas ou a densidade nervosa, esses efeitos provavelmente não estão relacionados especificamente a hipocalcemia. ( Xiaowen Lu et al, 2020)

Outro estudo realizado com 136 pacientes, incluindo 87 com catarata senil e 49 com catarata diabética, que se submeteram a cirurgia de catarata no período de janeiro a novembro de 2017, mostrou que não foi observada correlação entre as concentrações de 25(OH)D no humor aquoso e no sêrum. As concentrações de 25(OH)D no humor aquoso foram

significativamente maiores nos pacientes diabéticos do que nos pacientes com catarata senil. E os resultados desse estudo sugerem que os níveis de vitamina D em pacientes com problemas oculares devem ser estudados e devem incluir medições dos níveis de vitamina D no humor aquoso. (Min-Chul Cho et al, 2020).

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

É possível determinar a concentração de vitamina D na lágrima e no sangue em pacientes com diabetes mellitus tipo II pelo método de eletroquimiluminescência porém não é possível correlacionar os níveis de vitamina D obtidos nas amostras dos mesmos pacientes.

Foram obtidos níveis maiores de vitamina D na lágrima dos voluntários em comparação com os níveis obtidos no plasma. O que indica um benefício para estudos futuros que envolvam doenças relacionadas a superfície ocular.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. S.K.SINGH, RUJUL JAIN, SHIPRA SINGH. Vitamin D deficiency in patients with diabetes and COVID-19 infection. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, 2020.
2. KARAN RAZDAN, KULDEEP SINGH, DILPREET SINGH. Vitamin D Levels and Covid – 19 Susceptibility: Is there any Correlation?. **Medicine in Drug Discovery**, 2020.
3. MONIQUE RESENDE COSTA MACHADO, SAINT CLAIR GOMES JUNIOR, LIZANKA PAOLA FIGUEIREDO MARINHEIRO. Vitamina D e *diabetes mellitus*, suas epidemias e o envelhecimento. O que há de novo?. **Reprodução e Climatério**, 2014.
4. GRANT W, STRANGE R, GARLAND C. Sunshine is good medicine. The health benefits of ultraviolet-B induced vitamin D production. **Journal of cosmetic dermatology**. 2003; 2(2):86–98.
5. S.K.SINGH, RUJUL JAIN, SHIPRA SINGHA. Vitamin D deficiency in patients with diabetes and COVID-19 infection. **Diabetes & metabolic syndrome: clinical research & reviews**.2020.
6. XIAOWEN LU, RODOLFO A.ELIZONDO,RIKKE NIELSEN,ERIK I. CHRISTENSEN, JUN YANG, BRUCE D.HAMMOCK, MITCHELL A. WATSKY. Vitamin D in tear fluid. **Investigative ophthalmology & visual science**. 2015. PMID: 26348637.

7. YU TSUN LAI, RENATO GALÃO CERQUINHO, MATHEUS MOREIRA PEREZ, BEATRIZ DA COSTA AGUIAR ALVES, EDIMAR CRISTIANO PEREIRA, LIGIA AJAIME AZZALIS, VIRGINIA BERLANGA CAMPOS JUNQUEIRA, LISMEIA RAIMUNDO SOARES, FERNANDO LUIZ AFFONSO FONSECA. Determination of vitamin D in tears of healthy individuals by the electrochemiluminescence method. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**.2019.
8. JAWAHER A. ALSALEM, DEEPALI PATEL, RADHIKA SUSARLA, MIGUEL COCA-PRADOS, ROSEMARY BLAND, ELIZABETH A. WALKER, SAAEHA RAUZ, GRAHAM R. WALLACE. Characterization of vitamin D production by human ocular barrier cells. **Investigative ophthalmology & visual science**. 2014. PMID: 24576880.
9. MIN-CHUL CHO, ROCK-BUM KIM, JA-YOUNG AHN, WOONG- SUN YOO, SEONG – JAE KIM. Aqueous humor and serum 25- Hydroxyvitamin D levels in patients with cataracts. **BMC Ophthalmology**. 2020. PMID: 31906919.
10. XIAOWEN LU, SARAH VICK, ZHONG CHEN, JIE CHEN, MITCHELL A. WATSKY. Effects of vitamin D receptor knockout and vitamin D deficiency on corneal epithelial wound healing and nerve density in diabetic mice. **American diabetes association**. 2020. PMDI: 32139594.
11. DANIEL PORTE JR. Clinical importance of insulin secretion and its interaction with insulin resistance in the treatment of type 2 diabetes mellitus and its complications. **Diabetes/Metabolism research and reviews**. 2001. DOI: 10.1002

12. YANPING LIN, JOHN L UBELS, MARK P. SCHOTANUS, ZHAOHONG YIN, VICTORINA PINTEA, BRUCE D. HAMMOCK, MITCHELL A. WATSKY. Enhancement of vitamin D metabolites in the eye following vitamin D3 supplementation and UV-B irradiation. **Curr Eyes Res.** 2012. PMID: 22632164
  
13. Consenso Brasileiro de Diabetes. [acesso em 24 julho 2021]. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/consenso\\_bras\\_diabetes.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/consenso_bras_diabetes.pdf)
  
14. MICHAEL F.HOLICK, NEIL C.BINKLEY, HEIKE A.BISCHOFF- FERRARI, CATHERINE M. GORDON, DAVID A. HANLEY, ROBERT P.HEANEY, M.HASSAN MURAD, CONNIE M. WEAVER. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an endocrine society clinical practice guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.**2011.
  
15. IOM (Institute of Medicine) 2011 Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington DC: The National Academies Press.