

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NAS DIFERENTES ESTAÇÕES  
DO ANO SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE 25-HIDROXIVITAMINA D EM UMA  
POPULAÇÃO DE POLICIAIS MILITARES DA CIDADE DE PORTO ALEGRE -  
BRASIL**

TIAGO OSELAME FONTANIVE

**Porto Alegre**

**2017**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NAS DIFERENTES ESTAÇÕES  
DO ANO SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE 25-HIDROXIVITAMINA D EM UMA  
POPULAÇÃO DE POLICIAIS MILITARES DA CIDADE DE PORTO ALEGRE -  
BRASIL**

TIAGO OSELAME FONTANIVE

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr. Tania Weber  
Furlanetto

Tese apresentada como requisito parcial  
para obtenção de Doutor em Medicina:  
Ciências Médicas, da Universidade  
Federal do Rio Grande do Sul, Programa  
de PósGraduação em Medicina: Ciências  
Médicas.

**Porto Alegre**

**2017**

## **Agradecimentos**

Agradeço à Deus e espíritos de luz por me guiar, iluminar a minha mente e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades.

Agradeço à Major Nidea Dick, uma amizade que se criou, sem o seu apoio e dedicação este trabalho não poderia ter sido realizado nas instalações da Academia da Brigada Militar, minha gratidão à esta pessoa que está sempre disposta a ajudar as pessoas.

Agradeço ao senhor diretor comandante da Academia da Brigada Militar de Porto Alegre e seus efetivos, servidores militares, senhor comandante do Batalhão de Operações especiais (BOE) e seu efetivo, senhor comandante do CRB e seu efetivo, senhor comandante do departamento de Ensino da Brigada Militar e seu efetivo, senhor comandante do departamento de saúde e seu efetivo, e aos alunos do Curso Superior de Polícia Militar (CSPM), que prontamente se disponibilizaram a participar desta pesquisa e auxiliar no que foi preciso.

Agradeço à Mariana Silva e Vani dos Santos Laranjeira, pelo auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço ao meu companheiro Vinícius, que esteve comigo em todos os momentos, dando muito apoio e sempre me estimulando na busca do crescimento pessoal e profissional.

Agradeço aos meus pais e irmãos pela presença em minha vida.

Agradeço à todos os parceiros, Marcelo de Paula Corrêa, Rita Alves e seus bolsistas, pelo auxílio e ensinamentos na área da meteorologia.

Minha gratidão eterna à Dra. Tania W. Furlanetto, pela sua paciência e compreensão em entender a minha rotina de trabalho, me recebendo em sua casa inúmeras vezes, por me estimular e incentivar. Minha admiração por esta ilustre pessoa que és.

## RESUMO

### Base teórica

A deficiência da Vitamina D é um problema mundial, e têm sido associada com inúmeras doenças. Este hormônio pode ser obtido através da alimentação e através da produção na pele pela exposição à radiação ultravioleta B (R-UVB), sendo que a principal fonte é a exposição aos R-UVB.

### Objetivo

Nossos objetivos foram avaliar a prevalência de deficiência da vitamina D de acordo com a estação do ano e seus fatores associados em adultos jovens e saudáveis, na cidade de Porto Alegre, RS, Brasil.

### Métodos

Policiais militares de Porto Alegre, foram convidados a participar do estudo, amostras de sangue foram coletadas no primeiro dia de cada estação, refletindo desta forma a estação que antecedeu a coleta, para dosagem de 25(OH)D<sub>3</sub>, e PTH plasmáticos, cálcio total, creatinina e albumina no soro foram determinadas no outono. A UV-R foi mensurada a partir da radiação solar por meio de um radiômetro, calculando-se as doses diárias para eritema (D-Ery) e para resposta fotobiológica para síntese da vitamina D na pele humana (D-VitD).

### Resultados

Nossos resultados mostraram uma variação sazonal de 25(OH)D<sub>3</sub> (P = 0.000) nos indivíduos estudados, sendo fortemente influenciada pela média da R-UV nos 30 e 45 dias que antecederam as coletas, demonstrando o importante papel da R-UV na produção da vitamina D. A prevalência de 25(OH)D<sub>3</sub> abaixo de 20ng/mL variou com as estações (p=0.000), tendo sido nula ou baixa no final do verão e primavera, no entanto, essa prevalência aumentou no final do outono (22%) e inverno (8.7%). Já

a prevalência de  $25(\text{OH})\text{D}_3 < 30\text{ng/mL}$  foi alta em todas as estações do ano: inverno (70%), primavera (68%), verão (44%) e especialmente no outono(88%). O único fator associado de modo independente aos níveis de  $25(\text{OH})\text{D}_3$  foi a quantidade de UV-R no período que antecedeu a coleta.

### **Conclusão**

A prevalência de deficiência de vitamina variou de acordo com a estação, em adultos jovens do sexo masculino, na região sul do Brasil, e o único fator associado de modo independente aos níveis de  $25(\text{OH})\text{D}_3$  foi a quantidade de R-UV no período que antecedeu a coleta.

Palavras chave: Vitamina D, Deficiência de Vitamina D, Radiação ultravioleta, Radiação ultravioleta B.

## **ABSTRACT**

### **Background**

Vitamin D deficiency is a worldwide problem, and has been associated with various diseases. This steroid can be obtained by food intake or by skin production, when exposed to UVB-R.

### **Objective**

Our aims were to evaluate the prevalence of vitamin D deficiency according to the season and its associated factors in young adults, in Porto Alegre, RS, Brazil.

### **Methods**

Young men were invited to participate, blood samples were collected on the first day of each season for 25(OH)D<sub>3</sub> measurement, and PTH (parathyroid hormone) in plasma, total calcium, creatinine, and albumin in serum were determined in the autumn. UV-R was measured from solar radiation by means of a radiometer, calculating daily doses for erythema (D-Ery) and for photobiological response to vitamin D synthesis in human skin (D-VitD).

### **Results**

Our results have shown a seasonal variation of 25(OH) D<sub>3</sub>(P=0.000) in young and healthy men, living in a semitropical region, who were strongly influenced by the mean UV-R in the 30 and 45 days previous, demonstrating the important role of UV-R-induced skin production of vitamin D. The prevalence of 25(OH)D<sub>3</sub> below 20ng/mL varied with the seasons (p=0.000), having been nil or low in late summer and spring. However, this prevalence increased in late autumn (22%) and winter (8.7%). The prevalence of 25(OH)D<sub>3</sub><30ng/mL was high in all seasons of the year: winter (70%), spring (68%), summer (44%) and especially in autumn (88%).

### **Conclusions**

The prevalence of vitamin deficiency varied according to the season, in young and healthy male adults, in Southern Brazil, and the only factor independently associated with 25(OH)D<sub>3</sub> levels was the amount of UV-R in the period prior to collection.

Keywords: Vitamin D, vitamin D deficiency, ultraviolet rays, ultraviolet B



## LISTA DE TABELAS

**Artigo:**

**Tabela 1** - Características clínicas dos participantes.

**Tabela 2** - Fatores associados com as concentrações plasmáticas de 25(OH)D<sub>3</sub>, modelo multivariado.

## LISTA DE FIGURAS

### Corpo da tese:

**Figura 1** - Estratégia de busca de referência bibliográfica sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo. Texto em itálico indicam os artigos que foram incluídos na revisão de acordo com os critérios de inclusão. Este é o resultado da busca da combinação das palavras-chaves

**Figura 2** - Espectro eletromagnético para a produção de vitamina D3 e formação de eritema da pele.

**Figura 3** - Marco conceitual da síntese de vitamina D.

### Artigo:

**Figura 1** - Média da concentração plasmática de 25(OH)D<sub>3</sub> mudou no final das estações (p = 0.000).

**Figura 2** - Prevalência da vitamina 25(OH)D<sub>3</sub> <20 ng/mL e <30ng/mL nas estações.

**Figura 3** - Valores médios das doses diárias da radiação UV ponderadas para resposta biológica para formação do eritema (barras pretas) e para a síntese de vitamina D (barras cinzas) durante as diferentes estações do ano.

**Figura 4** - Correlação entre a média das concentrações plasmáticas de 25(OH)D<sub>3</sub> no final das estações e média da radiação ultravioleta tipo B para síntese de vitamina D (UV-vitamina D), 30 (A), 45 (B) e 90 (C) dias antes da coleta das amostras de sangue.

**Figura 5** - Correlação inversa entre as concentrações de PTH e 25(OH)D<sub>3</sub> no final do outono.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

R-UV: Radiação ultravioleta

R-UVB: Radiação ultravioleta tipo B

R-UVA: Radiação ultravioleta tipo A

BCC: Carcinoma de pele basocelular

SCC: Carcinoma de pele espinocelular

7-DHC: 7-deidrocolesterol

25(OH)D3: 25-hidroxivitamina D3

PTH: hormônio da paratireoide

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>16</b>
2.1 Estratégia para localizar e selecionar as informações	16
2.2 Síntese de vitamina D	17
2.3 Fontes de vitamina D	19
2.4 Metabolismo da vitamina D	20
2.5 Hipovitaminose D e fatores de risco	21
2.6 Vitamina D e pele	23
2.7 Efeitos da R-UV na síntese da vitamina D	24
<b>3. MARCO CONCEITUAL</b>	<b>27</b>
<b>4. JUSTIFICATIVA</b>	<b>28</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>29</b>
5.1 Objetivo Geral	29
5.2 Objetivos Específicos	29
<b>6. MÉTODOS</b>	<b>30</b>
6.1 População em Estudo	30
6.2 Critérios de inclusão e exclusão	31
6.2.1 Critérios de inclusão	31
6.2.2 Critérios de exclusão	31
6.3 Delineamento da pesquisa	32
6.4 Fator em estudo	32

<b>6.5 Desfecho</b>	<b>32</b>
<b>6.6 Confundidores potenciais</b>	<b>32</b>
<b>6.7 Avaliação antropométrica</b>	<b>33</b>
<b>6.8 Radiação ultravioleta</b>	<b>33</b>
<b>6.9 Análise laboratorial</b>	<b>34</b>
<b>6.10 Locais de realização do projeto</b>	<b>35</b>
<b>6.10.1 Coleta dos dados e amostra</b>	<b>35</b>
<b>6.10.2 Dosagem de 25(OH)D<sup>3</sup></b>	<b>36</b>
<b>6.10.3 Coleta das amostras</b>	<b>36</b>
<b>6.11 Cálculo do tamanho da amostra</b>	<b>36</b>
<b>6.12 Análise estatística</b>	<b>37</b>
<b>7. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS</b>	<b>39</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>40</b>
<b>9. ARTIGO</b>	<b>48</b>
<b>10. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>74</b>
<b>11. PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	<b>75</b>
<b>12. ANEXOS</b>	<b>76</b>
<b>12.1 ANEXO I (TCLE)</b>	<b>76</b>
<b>12.2 ANEXO II</b>	<b>78</b>
<b>12.3 ANEXO III</b>	<b>79</b>
<b>12.3 ANEXO IV (STROBE CHECKLIST)</b>	<b>80</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A deficiência de vitamina D é um problema de saúde global que aflige mais de um bilhão de crianças e adultos em todo o mundo. Estudos recentes têm associado a deficiência de vitamina D com inúmeras doenças agudas e crônicas, incluindo pré-eclâmpsia, doenças autoimunes, doenças infecciosas, doenças cardiovasculares, diferentes tipos de cânceres, diabetes tipo 2 e problemas neurológicos [1].

A vitamina D pode ser obtida pela alimentação ou irradiação cutânea. A radiação ultravioleta tipo B (UVB, 280-315 nm) é a parte do espectro da radiação ultravioleta solar (R-UV, 290-400 nm) capaz de induzir a síntese de vitamina D na pele, e acredita-se que ela seja responsável por mais de 90% da produção de vitamina D endógena [2,3]. No entanto, a exposição à radiação ultravioleta solar (R-UV) é o fator de risco ambiental mais importante para o desenvolvimento dos carcinomas de pele basocelular (BCC) e espinocelular (SCC) [4,5]. Apesar disso, a exposição ao sol tem sido recomendada a fim de evitar a insuficiência da vitamina D.

Diversos fatores contribuem para a síntese cutânea da Vitamina D, como o conteúdo de 7-DHC na pele, a energia dos fótons que dependem do comprimento de onda da R-UVB [6], a pigmentação da pele [7,8] o uso de filtros solares, que suprime consideravelmente a fotólise de 7-DHC [9-11], a latitude geográfica e estação do ano e hora do dia [12,13], condições meteorológicas, dieta e o tempo de exposição aos R-UVB [7,12], e a idade [14]. Estudos realizados em países de média e baixa latitude mostraram que a deficiência de vitamina D é um fenômeno que também ocorre em regiões ensolaradas, transformando a carência de vitamina D

na população em um problema de saúde mundial [15], justificando a importância da melhor compreensão da produção desta vitamina induzida pela R-UVB em regiões de baixas e médias latitudes. Estudos realizados na cidade de São Paulo, Brasil mostraram redução da 25-hidroxivitamina D e aumento do PTH em indivíduos idosos, conforme a estação do ano [16,17], no entanto, não há estudo avaliando como se comporta a vitamina D sérica em indivíduos jovens e saudáveis no sul do Brasil, nas diferentes estações do ano.

Em função disso, nesse estudo, realizado em Porto Alegre, cidade com clima subtropical úmido [18], localizada a uma latitude de 30° 1'40" LS e 51° 13'43" LW e uma altitude média de 10 metros acima do nível do mar foram avaliados prospectivamente as variações sazonais nos níveis séricos de 25(OH)D<sub>3</sub> e fatores que poderiam interferir na sua síntese, em uma população de adultos jovens.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Estratégia para localizar e selecionar as informações**

Esta revisão da literatura está focada nos aspectos relacionados à síntese de vitamina D na pele, mediada pela exposição à radiação ultravioleta (R-UV), e os fatores associados. A estratégia de busca envolveu as seguintes bases de dados: Ovid MEDLINE/Pubmed, LILACS, SciELO, uma busca eletrônica da literatura foi realizada desde o início do banco de dados até o ano de 2017. Foram utilizadas buscas combinando os termos MeSH: Vitamin D/biosynthesis, Vitamin D/radiation effects, Vitamin D/deficiency. Como critério de elegibilidade, inclusão e exclusão dos artigos, foram incluídos todos os estudos originais em inglês, português e espanhol, nesta revisão. Os estudos foram incluídos se fossem estudos que envolvessem a avaliação da síntese da vitamina D por exposição à R-UV e sua sazonalidade e fatores associados. Foram excluídos estudos de revisões sistemáticas, capítulos de livros, procedimentos de conferência, correspondências e comentários dos autores, conforme demonstrado na figura 1.



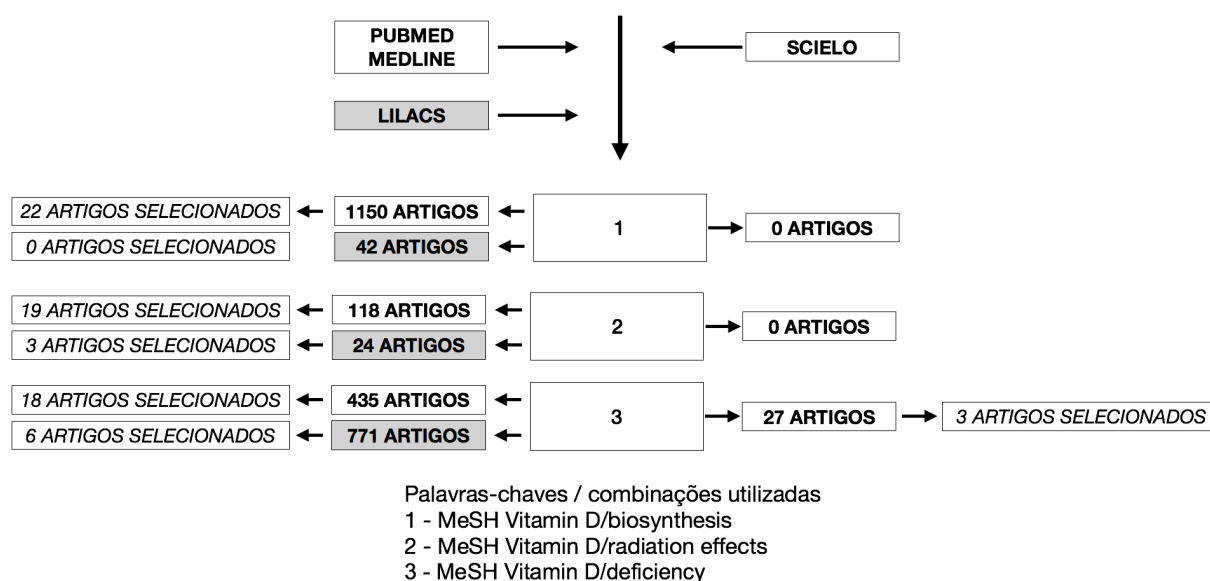


Figura 1. Estratégia de busca de referência bibliográfica sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo. Texto em *itálico* indicam os artigos que foram incluídos na revisão de acordo com os critérios de inclusão. Este é o resultado da busca da combinação das palavras-chaves.

## 2.2 Síntese de vitamina D

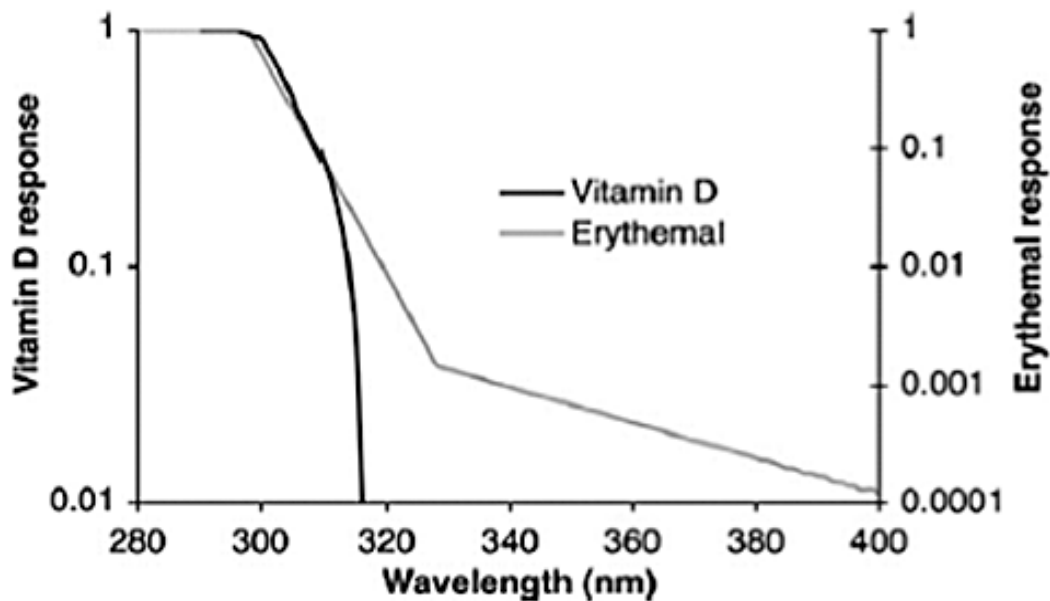
A principal fonte de vitamina D3 para a maioria dos seres humanos é a exposição da pele à luz solar ultravioleta tipo B (R-UVB), que pode contribuir com mais de 90% das concentrações séricas desta vitamina [19]. Estudos demonstram que o espectro capaz de produzir a pré-vitamina D3 na pele dos seres humanos abrange comprimentos de ondas entre 260 a 315nm[20]. A reação fotoquímica com a máxima eficácia espectral ocorre em cerca de 297nm e resulta na formação da pré-vitamina D3 a partir de 7-deidrocolesterol (pró-vitamina D ou 7-DHC) nas camadas basais e suprabasais da pele [21].

A eficácia da R-UVB na formação da pré-vitamina D3 na pele é influenciada por diferentes cromóforos, ou seja, diferentes estruturas alvos, tais como a melanina, o ácido desoxirribonucleico (DNA), ácido ribonucleico, proteínas e o 7-DHC [21].

Dependendo da temperatura e do tempo, a pré-vitamina D3 sofre, então, isomerização não enzimática para formar a vitamina D3 (colecalfiferol, calciol). Após a formação cutânea ou a absorção intestinal, a vitamina D é metabolizada, no fígado, a 25(OH)vitamina D. Nas mitocôndrias e nos microsomas dos túbulos contorcidos proximais do rim a enzima 1 $\alpha$ -hidroxilase (1 $\alpha$ -OHase) converte 25(OH)D em 1,25 dihidroxivitamina D [1,25 (OH)<sub>2</sub> D] ou calcitriol, a forma biologicamente ativa desta vitamina (Deluca, 2004). O receptor de vitamina D se liga a 1,25 dihidroxivitamina D o qual interage com o núcleo da célula alvo e media ações biológicas desta vitamina [21].

A regulação da expressão gênica promovida por calcitriol é mediada pelo receptor de vitamina D (RVD) e ocorre dentro de horas. Em contraste, as respostas não genômicas de calcitriol são provavelmente mediadas por um RVD específico ligado à membrana, e ocorrem dentro de segundos a minutos. Os efeitos não genômicos de calcitriol incluem mudanças rápidas do metabolismo do fosfoinositol, aumento nos níveis de cálcio intracelular, estímulo no transporte intestinal de cálcio e fosfato, elevação dos níveis de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), e ativação da proteína quinase C (PKC) [22].

Conforme mostra a figura 2, a síntese da vitamina D3 está estritamente limitada ao espectro UVB e não pode ocorrer na região UVA (>320nm).



Adaptado de Lehmann & Meurer, 2010.

Figura 2. Espectro eletromagnético para a produção de vitamina D3 e formação de eritema da pele.

### 2.3 Fontes de vitamina D

As fontes de vitamina D incluem alimentos, suplementos e radiação ultravioleta. A ingestão de vitamina D a partir de alimentos naturais é bastante limitada, pois poucos alimentos contêm vitamina D, como peixes gordurosos, cogumelos, gema de ovo e fígado. Alimentos ou suplementos enriquecidos com vitamina D contribuem para o fornecimento de vitamina D em países onde a fortificação e uso suplementar é comum.

No entanto, a luz solar é o principal determinante do nível de vitamina D, e, portanto, existem diversos fatores que podem influenciar na síntese cutânea da vitamina D3, dentre eles pode-se citar, o conteúdo de 7-DHC na pele (a concentração cutânea de 7-DHC é regulado, principalmente pela atividade da enzima DHC- $\Delta$ 7-reductase, que catalisa a conversão de colesterol em 7-DHC e vice-versa) [23], a

energia dos fótons que dependem do comprimento de onda da R-UVB [24], a pigmentação da pele [7] e o uso de filtros solares, que suprime consideravelmente a fotólise de 7-DHC [9,10], latitude geográfica e estação do ano e hora do dia [12], a temperatura, a qual regula a conversão de pré-vitamina D<sub>3</sub>, e o tempo de exposição aos R-UVB, já que doses mais elevadas levariam a conversão de pré-vitamina D<sub>3</sub> a isômeros inativos, tais como lumisterol, taquisterol e toxisterol (Holick, 2004), e de vitamina D<sub>3</sub> para suprasterol e 5,6-trans-vitamina D<sub>3</sub> [25,12] e idade, pois existem dados que sugerem uma relação inversa entre a concentração de 7-DHC na epiderme com a idade [14]. Todos estes fatores contribuem para os níveis de vitamina D circulante.

Níveis séricos de 25(OH)D<sub>3</sub> são considerados como o biomarcador da suficiência de vitamina D. As duas formas de vitamina D (D<sub>3</sub> e D<sub>2</sub>) são biologicamente inativas, e requerem, portanto, ativação no fígado e nos rins. Depois de se ligar a proteínas de transporte, em particular, a proteína de ligação da vitamina D, a vitamina D é transportada para o fígado onde ela é enzimaticamente hidroxilada em 25-hidroxivitamina D [21]. Cerca de 10 a 15% da 25(OH)D<sub>3</sub> é ligada na albumina. Estudos demonstram que, quando a albumina está baixa, os níveis séricos de 25(OH)D<sub>3</sub> também encontram-se reduzidos e com menor hiperparatireoidismo secundário nos pacientes com deficiência de vitamina D [26].

## **2.4 Metabolismo da vitamina D**

O metabolismo da vitamina D está ligado ao controle endócrino da homeostase do cálcio e do fosfato, envolvendo as glândulas paratireoide. O principal local de controle do metabolismo da vitamina D é a síntese renal de 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>, que responde às necessidades de cálcio e fosfato do organismo. A hipocalcemia estimula

as glândulas paratireoides a liberarem o hormônio da paratireóide (PTH) que, por sua vez, aumenta a atividade da 1-hidroxilase renal (25-hidroxicolecalciferol-1hidroxilase) e, conseqüentemente, o nível de 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> circulante. Contudo, o seu efeito mais imediato é a mobilização de cálcio dos ossos pelo PTH [27]. Desta forma, níveis baixos de cálcio ou fosfato estimulam a produção de 1,25 (OH)<sub>2</sub> D, na forma de uma retroalimentação positiva. O PTH tende a subir quando 25(OH)D<sub>3</sub> está baixa, gerando aumento na 1,25 (OH)<sub>2</sub> D. A diminuição do cálcio é também um estímulo indireto para aumento da 1,25 (OH)<sub>2</sub> D, através do aumento do PTH. O fosfato age de um modo direto. Por sua vez, 1,25 (OH)<sub>2</sub> D exerce retroalimentação negativa sobre o PTH [28,27].

Ao avaliar os níveis de cálcio, é importante a avaliação dos níveis de sódio, pois estudos demonstram que a molécula NHE3 (*sodium-hydrogen exchanger 3*), além de ser responsável pela absorção de sódio no organismo humano, também possui papel na regulação dos níveis de cálcio. Quando o corpo tenta excretar o excesso de sódio de uma dieta rica em sal, o cálcio também é eliminado pela urina [29].

## **2.5 Hipovitaminose D e fatores de risco**

A deficiência de vitamina D é uma condição altamente prevalente. Estudos sugerem que em média um bilhão de pessoas apresentam níveis insuficientes de vitamina D [30].

Enquanto a associação entre a deficiência de vitamina D com a doença osteomuscular é bem descrita, uma nova visão sobre o papel desta vitamina nas doenças cardiovasculares, metabolismo neuroendócrino, câncer e diabetes está sendo pesquisada [31,2].

Há receptores de vitamina D em praticamente todos os tecidos, como cérebro, ilhotas pancreáticas, osso, musculatura esquelética, rins, intestino, pele, paratireoide, hipófise, mama, linfócitos e monócitos o que pode explicar a relação causal entre deficiência de vitamina D e surgimento de doenças [32-34,27].

Diferentes estudos observacionais mostram que a prevalência de hipertensão está inversamente associada com os níveis da vitamina D [35-37].

Outros estudos observacionais sugerem que a deficiência de vitamina D pode estar associada com uma maior incidência de doenças autoimunes, como a esclerose múltipla e o diabetes mellitus tipo 1, sugerindo propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras da vitamina D [38,39].

Recentemente estudos têm sugerido o envolvimento da vitamina D na saúde mental e função cognitiva. A depressão também tem sido associada com a deficiência de vitamina D. O sistema nervoso central também possui receptores para a vitamina D, assim como as enzimas necessárias para a hidroxilação desta vitamina foram identificados no tecido cerebral, tornando possível a sua relação com o estresse, distúrbios do humor e cognitivos, com funções na amígdala do sistema límbico, um centro de controle de emoções e comportamentos [40-43]. Outro mecanismo possível para a vitamina D causar depressão são os altos níveis do hormônio da paratireoide (PTH), sendo que o hiperparatiroidismo está frequentemente associado com depressão [44].

A deficiência de vitamina D tem sido relacionada, também, a diferentes tipos de tumores, entre eles, cólon, mama, ovário e próstata [45-48]. A vitamina D pode reduzir o risco de câncer colo-retal através da regulação da progressão e diferenciação e inibição da angiogênese [49,50].

## 2.6 Vitamina D e pele

Estudos experimentais indicam que cerca de 50% da pré-vitamina D3 pode ser isomerizada a vitamina D3 dentro de 2,5 horas na pele. Este fato explica o rápido aumento dos níveis séricos da vitamina D3, logo após a exposição aos R-UVB. Dentro de 12-24 horas após a exposição à R-UVB, as concentrações circulantes de vitamina D3 estão nos seus níveis máximos ([51]).

A exposição solar é fundamental para a síntese da vitamina D3, no entanto, também está associada a dano ao DNA, fotoenvelhecimento e risco aumentado do desenvolvimento do câncer de pele [52].

A classificação mais conhecida para os tipos de pele foi proposta por Fitzpatrick em 1976. Segundo esta classificação, a pele humana pode ser classificada em seis tipos de acordo com o fototipo e etnia, variando do tipo I (pele mais branca) ao tipo VI (pele negra) [53].

Em indivíduos de pele clara, a síntese máxima de vitamina D3 ocorre em poucos minutos de exposição ao sol de verão. As sínteses máximas de vitamina D3 são geradas em doses UV suberitemogênicas e exposições mais longas não acrescentam benefícios na formação de vitamina D3, somente aumentam o risco da fotoexposição excessiva, podendo causar danos ao DNA. Assim, a síntese da vitamina D3 por exposição solar não pode ser dissociada do fotodano agudo e crônico, incluindo a fotocarcinogênese [52].

Como a exposição à luz solar não causa intoxicação por vitamina D, a preocupação é definir o tempo necessário para formação do eritema, que é a irritação

e vermelhidão leves da pele 24 horas após a exposição, denominado de dose de eritema mínimo (MED) [54]. O comprimento de onda capaz de provocar o efeito eritema está na faixa entre 290 e 297nm [55,54]. Portanto, um limite de segurança deve ser colocado para não causar risco de câncer. A MED varia de acordo com o tipo de pele, pois quantidades maiores de melanina competem com a 7-DHC pela absorção da luz [54]. Por este mecanismo, pessoas de pele escura produzem menos vitamina D do que as de pele clara. Estudos demonstram que uma maior concentração de melanina na pele exige 10 a 50 vezes mais exposição à luz solar para produzir a mesma quantidade de vitamina D, em relação às pessoas de pele clara [7,2,27].

Quando 6 a 10% da pele do corpo sofre um eritema, equivale à ingestão de 600-1000 UI de vitamina D. Estudo com 45 mulheres institucionalizadas que receberam 02/01 MED, três vezes por semana, por 12 semanas, demonstrou o aumento da 25-hidroxitamina D média de 12ng/mL para 29,6ng/mL [24].

## **2.7 Efeitos da R-UV na síntese da vitamina D**

Ao estudar os efeitos fotobiológicos da R-UV, é importante considerar a influência da presença ou ausência de nuvens, a concentração de ozônio, as estações do ano, a hora do dia e a latitude. A ausência de nuvens, baixa concentração de ozônio, verão, ao meio dia e estar perto do equador implica maior intensidade de radiação UV [16].

Maeda *et al.* avaliaram as variações de 25(OH)D<sub>3</sub> durante o inverno e verão em uma população de idosos na cidade de São Paulo, Brasil. Neste estudo o valor médio de 25(OH)D<sub>3</sub> para todos os grupos foi de 78,9 ± 30,9 nmol/L durante o inverno e 91,6 ± 31,7 nmol/L no verão (p = 0,005). No inverno as médias de 25OHD no soro não foram diferentes entre homens e mulheres (81,2 ± 30,1 nmol/L vs 76,7 ± 31,8 nmol/L, respectivamente), e 19,2% dos indivíduos apresentaram valores <50 nmol/L. No



verão, foi observado um aumento apenas para os homens ( $107,6 \pm 31,4$  nmol/L) em comparação com as mulheres ( $76,7 \pm 24,0$  nmol/L), e 6,5% apresentaram valores  $<50$  nmol/L. Um decréscimo significativo no PTH no verão em relação ao inverno foi descrito, com os níveis de PTH mostrando uma relação com as concentrações de  $25(\text{OH})\text{D}_3$  apenas no inverno. Neste estudo ao avaliar indivíduos brancos (fototipo de I-III) foi observado um aumento significativo na  $25(\text{OH})\text{D}_3$  sérica média no verão, o que não foi observado em indivíduos de grupos étnicos com pele mais escura (asiáticos, nativos brasileiros e negros). Um aumento nos valores de  $25(\text{OH})\text{D}_3$  no verão foi observado nas faixas etárias de 51-60 e 61-70 anos de idade ( $p < 0,05$ ), mas não na faixa etária a partir de 71 anos de idade [17].

Outro estudo realizado em uma população de 250 indivíduos idosos na cidade de São Paulo/SP demonstrou a variação sazonal dos níveis de  $25(\text{OH})\text{D}_3$  de acordo com a incidência de R-UV, correlacionando com os níveis de PTH e cálcio total. Neste estudo foi evidenciada uma diferença significativa na incidência de R-UV e nos níveis séricos médios de  $25(\text{OH})\text{D}_3$  de acordo com a estação do ano ( $p < 0,001$ ), com maior R-UV no verão e menor no inverno, enquanto que os níveis máximos de  $25(\text{OH})\text{D}_3$  ocorreram no outono e os mínimos na primavera, com valores médios de  $67,2$  nmol/L e  $29,1$  nmol/L, respectivamente. Nesta população,  $25(\text{OH})$ vitamina D  $<20$ ng/mL foi observada em 15,4% dos indivíduos e  $25(\text{OH})$ vitamina D  $<30$ ng/mL foi observada em 41,9%. O hiperparatiroidismo secundário foi evidenciado em 55% dos participantes do estudo. No entanto, este estudo foi realizado em pacientes idosos, sendo que esta população já apresenta uma diminuição na síntese desta vitamina [16].

Estudos realizados em países de baixa latitude têm mostrado que este é um fenômeno que também ocorre em regiões ensolaradas, transformando a deficiência de vitamina D em uma preocupação mundial de saúde [56,6]. A área de estudo

compreende o município de Porto Alegre, capital do Estado do Rio Grande do Sul, localizada a 30° 1'40" LS e 51° 13'43" LW com área de 496.684km<sup>2</sup> e uma altitude média de 10 metros acima do nível do mar. O clima é subtropical úmido. A pluviosidade média anual no município é de 112 mm e a temperatura média é de 19,5°C [18].

Assim como a exposição aos raios ultravioletas solares é essencial para a formação da vitamina D, a sua falta é um dos principais fatores de risco para a hipovitaminose D [54]

Desta forma, este estudo avaliou a associação da radiação solar com os níveis séricos de 25(OH)D<sub>3</sub> em uma população de homens adultos jovens e saudáveis do município de Porto Alegre – Rio Grande do Sul durante as quatro diferentes estações do ano (primavera, verão, outono e inverno).

### 3. MARCO CONCEITUAL

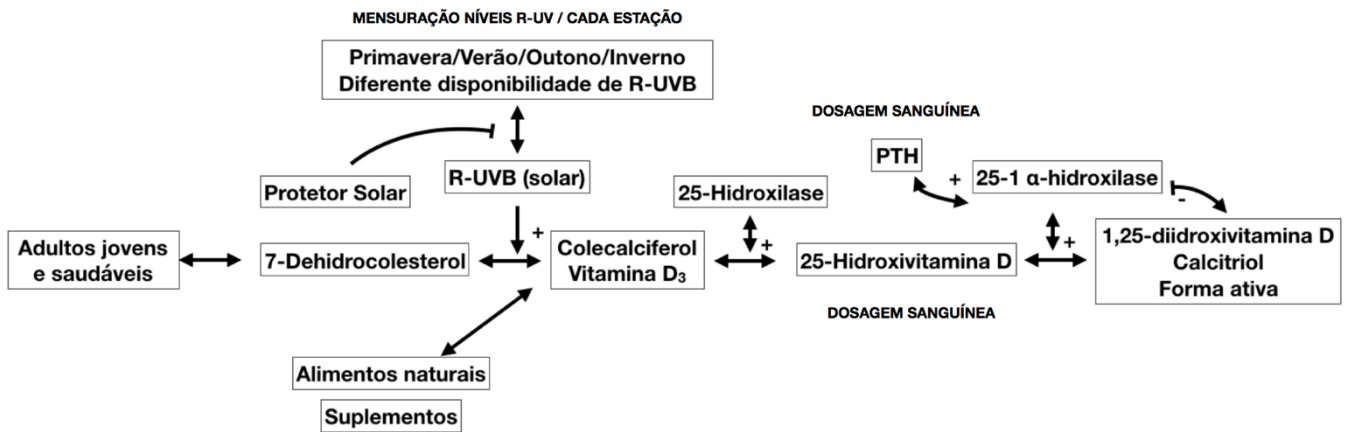


Figura 3. Marco conceitual da síntese de vitamina D e do estudo.

#### **4. JUSTIFICATIVA**

Estudos anteriores mostraram uma variação sazonal dos níveis séricos de 25(OH)D<sub>3</sub>, no entanto, a relação direta entre a radiação ultravioleta e a formação de vitamina D tem sido pouco explorada [16,57-59]. No Rio Grande do Sul, devido às suas características climáticas, um estudo que avalie os efeitos da radiação ultravioleta sobre os níveis séricos 25(OH)D<sub>3</sub> é de extrema importância, pois até o momento não existem esses dados. Assim, são necessários estudos que avaliem a associação das variações da R-UV e outras condições com hipovitaminose D na população de adultos jovens e saudáveis.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo Geral**

Estudar a associação entre a radiação solar e os níveis séricos de vitamina D em uma população de policiais militares do município de Porto Alegre – Rio Grande do Sul durante as diferentes estações do ano.

### **5.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar se há associação dos níveis séricos de 25(OH)D<sub>3</sub> com os níveis de R-UVB, nas diferentes estações do ano, com correção para os seguintes potenciais confundidores: IMC, porcentagem de gordura no corpo, fototipo e uso de filtros solares.
- Estudar os fatores potencialmente associados ao PTH sérico (fototipo, Cálcio total sérico, albumina, 25(OH)D<sub>3</sub> e creatinina).

## **6. MÉTODOS**

### **6.1 População em Estudo**

Policiais Militares (PM) da cidade de Porto Alegre que atenderam aos critérios de inclusão deste estudo foram convidados a participar, constituindo uma amostra de conveniência. Foram explicados os objetivos da pesquisa. Todos que concordaram em participar e não apresentaram critério de exclusão, receberam o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Após terem concordado em dar o seu consentimento por escrito, foram incluídos no projeto. Após, foi realizada a avaliação antropométrica e histórico, e a coleta de sangue venoso periférico para medida da 25(OH)D<sub>3</sub>, cálcio total, creatinina e albumina no soro, esta coleta foi realizada em 4 momentos, no início de cada estação do ano primavera, verão, outono e inverno, a medida de PTH foi realizado na última coleta.

Os policiais deste estudo, durante o período de coleta eram alunos do curso de formação de oficiais da Brigada Militar (CFO) que prestam concurso para a carreira militar. Esta população foi elegida para o estudo, por representar uma amostra homogênea, já que todos apresentavam exposições diárias ao ar livre, de forma controlada, constituído de atividades regulares, tais como atividades físicas, instrução de armas de fogo nas linhas de tiro aberta, além de realizar serviços de guarda e patrulhamento. Todos faziam o uso de uniforme, conforme era publicado diariamente no boletim interno da academia da polícia. O uniforme é utilizado de acordo com as diferentes estações do ano, principalmente diferenciados no inverno e verão, constituído muitas vezes pelo uso de camiseta branca com manga comprida no inverno e curta no verão, calça comprida e bermuda, conforme temperatura e instrução. Para as atividades físicas, utilizam abrigo, camiseta de manga curta e

bermuda. Observamos que durante o estudo, mesmo em dias frios do inverno e outono, os sujeitos faziam o uso de bermuda e camiseta de manga curta, tênis com meia curta.

## **6.2 Critérios de inclusão e exclusão**

### **6.2.1 Critérios de inclusão**

Foram incluídos no estudo indivíduos:

- Indivíduos do sexo masculino com idade  $\geq 18$  anos e  $\leq 55$  anos.
- Residir na cidade de Porto Alegre/RS;
- Concordância em participar do estudo, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

### **6.2.2 Critérios de exclusão**

Foram excluídos do estudo indivíduos que apresentaram uma das seguintes situações:

- Estar realizando suplementação de vitamina D;
- Índice de massa corporal (IMC)  $\geq 39$  Kg/m<sup>2</sup>;
- Viagem para fora da região sul do Brasil ou exterior nos últimos 3 meses que antecederem a coleta;
- Uso de medicação anticonvulsivante, glicocorticoides tópicos e orais, medicação para HIV, antifúngicos;
- Ter realizado cirurgia bariátrica;

- Doença hepática conhecida; síndrome de má absorção conhecida; doenças conhecidas que pudessem interferir na síntese de Vitamina D (sarcoidose, tuberculose, histoplasmose, paracoccidioidomicose e beriliose).

### **6.3 Delineamento da pesquisa**

Trata-se de um estudo de quatro cortes transversais, realizado durante o período de 21/06/2014 a 21/06/2015.

### **6.4 Fator em estudo**

UVB nas quatro estações do ano.

### **6.5 Desfecho**

25(OH)D<sub>3</sub> no soro.

### **6.6 Confundidores potenciais**

- Fototipo;
- Ingestão de cálcio e sódio;
- Uso de filtro solar;
- Percentual de gordura corporal;
- IMC;
- Idade.



## 6.7 Avaliação antropométrica

Incluiu peso, altura e porcentagem de gordura corporal.

Para avaliação do percentual de gordura foi realizada mensuração com o uso de plicômetro em sete dobras cutâneas (tórax, axilar média, tríceps, subescapular, abdominal, supra ilíaca e coxa), conforme descrito por Jackson & Pollock (1978).

## 6.8 Radiação ultravioleta

A R-UV foi mensurada a partir da radiação solar por meio de um radiômetro calibrado, Modelo 501 da empresa Solarlight (<https://solarlight.com/product/uvb-biometer-model-501-radiometer/>). Este instrumento possui uma resposta espectral normalizada para a unidade de 297nm, que simula a resposta da pele à formação do eritema (McKinlay e Diffey, 1987). As irradiâncias [ $Wm^{-2}$ ], ponderadas pela resposta fotobiológica para formação do eritema, foram coletadas em intervalos de 1 segundo, e a média destes valores foi registrada a cada 10 minutos. O equipamento é estabilizado a uma temperatura de 25°C a fim de evitar mudanças na resposta espectral e na sensibilidade às variações nas condições ambientais. A partir das medidas foram determinadas as doses diárias acumuladas (D-Ery) [ $Jm^{-2}$ ]. Para tanto, as irradiâncias foram integradas entre as 07 e 17h (hora local) de modo a se avaliar a quantidade de R-UV acumulada em exposições cotidianas. As médias das medições realizadas, assim como seus respectivos desvios, em cada estação do ano foram utilizadas como estimativas sazonais de exposição à R-UV.

A partir das D-Ery calculou-se as doses de R-UV ponderadas pela resposta fotobiológica para síntese da vitamina D na pele humana (D-VitD). Como essa resposta fotobiológica depende, quase que exclusivamente da R-UVB, utiliza-se um fator de conversão baseado no conteúdo de total ozônio e na posição do sol (McKenzie, et al., 2011) para determiná-la. Esse fator de conversão visa representar os processos de atenuação da R-UVB causados por ambos os parâmetros meteorológicos.

Também foram avaliados os tempos de exposição necessários para provocar eritema e para a síntese de 1000 UI de vitamina D. No caso do eritema, o tempo de exposição dependem exclusivamente do fototipo, representados pela DEM. No caso da síntese de vitamina D, além do fototipo, há dependência da área corporal de exposição. Nesse estudo, estimou-se a produção de 1000 UI de vitamina D em indivíduos de fototipo II, expondo rosto, mãos e braços (27% da área do corpo exposta) (Fioletov, et al., 2009; McKenzie, et al., 2011).

## **6.9 Análise laboratorial**

Amostras de sangue em jejum foram colhidas para mensurar os níveis de PTH, cálcio total, creatinina e albumina. Soro e plasma foram separados e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ , até as dosagens, realizadas em um mesmo ensaio. Cálcio, creatinina e albumina foram medidos por método de rotina do HCPA. O PTH foi medido pelo método automatizado por quimioluminescência ARCHITECT (AbbottDiagnostics, Wiesbaden, Alemanha), sendo que as mesmas foram dosadas no serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

A determinação da 25(OH)D<sup>3</sup> em amostras de plasma foi realizada a partir de técnica de precipitação de proteínas plasmáticas. Para tal, 100 µL de plasma foram adicionados de 200 µL de acetonitrila contendo padrão interno D6-25(OH)D<sup>3</sup> 20 ng mL<sup>-1</sup>. Após homogeneização e centrifugação 15 µL do sobrenadante foi injetado no sistema UHPLC-MS/MS TSQ Quantum Access da Thermo Scientific com fonte de ionização química à pressão atmosférica (APCI). A análise empregou uma coluna Acquity C18 (150 x 2,1 mm, 1,7 µm), mantida a 40 °C. A fase móvel foi composta por mistura de água com ácido fórmico 0,1% (v/v) e metanol (20:80, v/v), com eluição isocrática a 0,25 mL min<sup>-1</sup>. A ionização foi realizada em modo positivo, com voltagem na corona de 7 kV, gás nebulizador nitrogênio com fluxo de 60 Arb, gás auxiliar nitrogênio com fluxo de 5 Arb, gás de colisão argônio, temperatura do vaporizador 390 °C e temperatura de capilar 202 °C. A aquisição foi realizada no modo MRM através da transição m/z 401→365 para quantificação e m/z 401→159 e 401→105 para qualificação da 25-OHD<sub>3</sub> em/z 407→371 para quantificação e m/z 407→105 e 407→91 para qualificação do padrão interno. A cada lote de amostras foram inseridos calibradores no intervalo de 5 a 100 ng mL<sup>-1</sup> e controles comerciais Chromsystem® 25(OH)D<sub>3</sub> nível I e nível II.

Pontos de corte para Deficiência de vitamina D abaixo de 20 ng/mL de 25(OH)D<sub>3</sub>, conforme o instituto de Medicina dos EUA ou < 30ng/mL, conforme Holick e col, 2011.

## **6.10 Locais de realização do projeto**

### **6.10.1 Coleta dos dados e amostra**

A coleta de dados, história clínica, assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, assim como a coleta de sangue venoso foram realizadas no Ambulatório da Academia da Brigada Militar de Porto Alegre/RS, localizada na Av. Coronel Aparício Borges, 1001, Porto Alegre – Rio Grande do Sul.

O sangue coletado foi transportado até os locais de realização das dosagens acondicionado de forma a preservar a sua integridade e estabilidade, bem como a segurança do pesquisador que transportou as amostras coletadas. As embalagens utilizadas para acondicionar as amostras foram utilizadas exclusivamente para finalidade de transporte e constituídas de material apropriado, conforme demonstrado na resolução RDC – Nº 20, de 10 de abril de 2014 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

### **6.10.2 Dosagem de 25(OH)D<sup>3</sup>**

Esta avaliação foi realizada no Laboratório de Toxicologia da Universidade Feevale, localizado na ERS-239, Novo Hamburgo – Rio Grande do Sul.

### **6.10.3 Coleta das amostras**

As coletas de sangue foram realizadas ao final das quatro estações do ano.

Logo após, as amostras foram centrifugadas a 1.200 r.p.m. durante 10 min, a 4°C. O soro foi armazenado a -70°C até o momento da análise.

## **6.11 Cálculo do tamanho da amostra**

O cálculo da amostra foi baseado no estudo de Saraiva *et al.* (2005) esperando encontrar uma diferença entre as médias da 25(OH)D sérica entre as quatro estações

de 10nm/L, considerando um poder de 80% com alfa de 1% e perda de 5%, o N foi calculado em 70 indivíduos, inicialmente, para compensar perdas de até 10 indivíduos por corte transversal. Para o cálculo foi utilizado o *software* Winpepi v.11.1.

## **6.12 Análise estatística**

A distribuição dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov.

A diferença entre as médias dos níveis séricos da 25(OH)D3 nas quatro estações do ano e seus fatores associados foram avaliados pelo método de Equações de Estimativas Generalizadas (GEE) Generalized Linear Models. As diferenças entre duas medias foram analisadas pelo teste post hoc de Bonferroni. As doses diárias de R-UV ponderadas pela resposta fotobiológica para o eritema e para a síntese de vitamina D foram comparadas por análise de variância e as diferenças entre duas medias foram analisadas pelo teste post hoc de Tukey HSD. As diferenças entre a prevalência de deficiência de vitamina D foram calculados by the likelihood ratio chi square test, and multiple pairwise comparisons were made by the Bonferroni test.

Os fatores associados aos níveis séricos de PTH foram avaliados por testes de correlação, Pearson ou Spearman, conforme a distribuição dos dados, e pela comparação entre as médias, com análise de variância, paramétrica ou não, conforme o caso. Os fatores potencialmente associados ao PTH (fototipo, cálcio sérico, albumina, 25(OH)D3 e creatinina) com  $p \leq 0,2$  foram incluídos em um modelo de análise multivariada, para determinar os fatores que se associavam de modo independente ao PTH. Todas as análises foram feitas no programa SPSS, exceto os cálculos das diferenças entre prevalências que foram feitas no programa WINPEPI versão 11.65.



## **7. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

Todos os indivíduos participantes desta pesquisa foram esclarecidos em relação ao estudo e somente participaram do estudo após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo I).

A retirada de uma amostra de sangue venoso não requer procedimento especial e envolve riscos mínimos para os pacientes. Uma vez que foram colhidas informações a partir de questionários específicos (Anexo II), além de dosagens séricas, foi garantido aos participantes o sigilo em relação às informações obtidas e uso absolutamente restrito para fins de pesquisa científica.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) sob número 14-0173.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Holick, M.F.: The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord* 18(2), 153-165 (2017). doi:10.1007/s11154-017-9424-1
2. Holick, M.F.: Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 79(3), 362-371 (2004).
3. Bouillon, R., Eelen, G., Verlinden, L., Mathieu, C., Carmeliet, G., Verstuyf, A.: Vitamin D and cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 102(1-5), 156-162 (2006). doi:10.1016/j.jsbmb.2006.09.014
4. Gandini, S., Sera, F., Cattaruzza, M.S., Pasquini, P., Zanetti, R., Masini, C., Boyle, P., Melchi, C.F.: Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. *Eur J Cancer* 41(14), 2040-2059 (2005). doi:10.1016/j.ejca.2005.03.034
5. Armstrong, B.K., Cust, A.E.: Sun exposure and skin cancer, and the puzzle of cutaneous melanoma: A perspective on Fears et al. Mathematical models of age and ultraviolet effects on the incidence of skin cancer among whites in the United States. *American Journal of Epidemiology* 1977; 105: 420-427. *Cancer Epidemiol* 48, 147-156 (2017). doi:10.1016/j.canep.2017.04.004
6. Chen, T.C., Chimeh, F., Lu, Z., Mathieu, J., Person, K.S., Zhang, A., Kohn, N., Martinello, S., Berkowitz, R., Holick, M.F.: Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D. *Arch Biochem Biophys* 460(2), 213-217 (2007). doi:10.1016/j.abb.2006.12.017



7. Clemens, T.L., Adams, J.S., Henderson, S.L., Holick, M.F.: Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. *Lancet* 1(8263), 74-76 (1982).
8. Wacker, M., Holick, M.F.: Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermatoendocrinol* 5(1), 51-108 (2013). doi:10.4161/derm.24494
9. Matsuoka, L.Y., Ide, L., Wortsman, J., MacLaughlin, J.A., Holick, M.F.: Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. *J Clin Endocrinol Metab* 64(6), 1165-1168 (1987). doi:10.1210/jcem-64-6-1165
10. Matsuoka, L.Y., Wortsman, J., Hanifan, N., Holick, M.F.: Chronic sunscreen use decreases circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. A preliminary study. *Arch Dermatol* 124(12), 1802-1804 (1988).
11. Godar, D.E., Pope, S.J., Grant, W.B., Holick, M.F.: Solar UV doses of young Americans and vitamin D3 production. *Environ Health Perspect* 120(1), 139-143 (2012). doi:10.1289/ehp.1003195
12. Webb, A.R., DeCosta, B.R., Holick, M.F.: Sunlight regulates the cutaneous production of vitamin D3 by causing its photodegradation. *J Clin Endocrinol Metab* 68(5), 882-887 (1989). doi:10.1210/jcem-68-5-882
13. Correa Mde, P.: Solar ultraviolet radiation: properties, characteristics and amounts observed in Brazil and South America. *An Bras Dermatol* 90(3), 297-313 (2015). doi:10.1590/abd1806-4841.20154089
14. MacLaughlin, J., Holick, M.F.: Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest* 76(4), 1536-1538 (1985). doi:10.1172/JCI112134
15. Bouillon, R.: How much vitamin D is needed for healthy bones? *J Intern Med* 282(5), 461-464 (2017). doi:10.1111/joim.12677

16. Saraiva, G.L., Cendoroglo, M.S., Ramos, L.R., Araujo, L.M., Vieira, J.G., Kunii, I., Hayashi, L.F., Correa, M.P., Lazaretti-Castro, M.: Influence of ultraviolet radiation on the production of 25 hydroxyvitamin D in the elderly population in the city of Sao Paulo (23 degrees 34'S), Brazil. *Osteoporos Int* 16(12), 1649-1654 (2005). doi:10.1007/s00198-005-1895-3
17. Maeda, S.S., Kunii, I.S., Hayashi, L.F., Lazaretti-Castro, M.: Increases in summer serum 25-hydroxyvitamin D (25OHD) concentrations in elderly subjects in Sao Paulo, Brazil vary with age, gender and ethnicity. *BMC Endocr Disord* 10, 12 (2010). doi:10.1186/1472-6823-10-12
18. Pacheco, S.F., T.: Vermelho da Fauna Ameaçada de Extinção no Rio Grande do Sul. *Edipucrs*, (2003)
19. Holick, M.F.: Vitamin D: A millenium perspective. *J Cell Biochem* 88(2), 296-307 (2003). doi:10.1002/jcb.10338
20. Sayre, R.M., Dowdy, J.C., Shepherd, J.G.: Variability of pre-vitamin D3 effectiveness of UV appliances for skin tanning. *J Steroid Biochem Mol Biol* 121(1-2), 331-333 (2010). doi:10.1016/j.jsbmb.2010.04.003
21. Lee, J.E.: Vitamin D and Colorectal Cancer Prevention: A Review of Epidemiologic Studies. *Curr Nutr Rep* 2(1), 27-36 (2013).
22. Levine, B.S., Singer, F.R., Bryce, G.F., Mallon, J.P., Miller, O.N., Coburn, J.W.: Pharmacokinetics and biologic effects of calcitriol in normal humans. *J Lab Clin Med* 105(2), 239-246 (1985).
23. Bonjour, J.P., Trechsel, U., Granzer, E., Klopffer, G., Muller, K., Scholler, D.: The increase in skin 7-dehydrocholesterol induced by an hypocholesterolemic agent is associated with elevated 25-hydroxyvitamin D3 plasma level. *Pflugers A* 410(1-2), 165-168 (1987).

24. Chandra, P., Wolfenden, L.L., Ziegler, T.R., Tian, J., Luo, M., Stecenko, A.A., Chen, T.C., Holick, M.F., Tangpricha, V.: Treatment of vitamin D deficiency with UV light in patients with malabsorption syndromes: a case series. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 23(5), 179-185 (2007). doi:10.1111/j.1600-0781.2007.00302.x
25. Holick, M.F., MacLaughlin, J.A., Doppelt, S.H.: Regulation of cutaneous previtamin D<sub>3</sub> photosynthesis in man: skin pigment is not an essential regulator. *Science* 211(4482), 590-593 (1981).
26. Premaor, M.O., Alves, G.V., Crossetti, L.B., Furlanetto, T.W.: Hyperparathyroidism secondary to hypovitaminosis D in hypoalbuminemic is less intense than in normoalbuminemic patients: a prevalence study in medical inpatients in southern Brazil. *Endocrine* 24(1), 47-53 (2004). doi:10.1385/ENDO:24:1:047
27. 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., Endocrine, S.: Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 96(7), 1911-1930 (2011). doi:10.1210/jc.2011-0385
28. Levine, M.A.: Normal mineral homeostasis. Interplay of parathyroid hormone and vitamin D. *Endocr Dev* 6, 14-33 (2003).
29. Pan, W., Borovac, J., Spicer, Z., Hoenderop, J.G., Bindels, R.J., Shull, G.E., Doschak, M.R., Cordat, E., Alexander, R.T.: The epithelial sodium/proton exchanger, NHE3, is necessary for renal and intestinal calcium (re)absorption. *Am J Physiol Renal Physiol* 302(8), F943-956 (2012). doi:10.1152/ajprenal.00504.2010

30. Holick, M.F.: Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 357(3), 266-281 (2007).  
doi:10.1056/NEJMra070553
31. Ganji, V., Milone, C., Cody, M.M., McCarty, F., Wang, Y.T.: Serum vitamin D concentrations are related to depression in young adult US population: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Int Arch Med* 3, 29 (2010).  
doi:10.1186/1755-7682-3-29
32. Lips, P.: Which circulating level of 25-hydroxyvitamin D is appropriate? *J Steroid Biochem Mol Biol* 89-90(1-5), 611-614 (2004). doi:10.1016/j.jsbmb.2004.03.040
33. Bandeira, F., Griz, L., Dreyer, P., Eufrazino, C., Bandeira, C., Freese, E.: Vitamin D deficiency: A global perspective. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 50(4), 640-646 (2006).
34. Schuch, N., Garcia, V. & Martini, L.: Vitamina D e doenças endocrinometabólicas. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia* 53(5), 625-633 (2009).
35. Forman, J.P., Giovannucci, E., Holmes, M.D., Bischoff-Ferrari, H.A., Tworoger, S.S., Willett, W.C., Curhan, G.C.: Plasma 25-hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension. *Hypertension* 49(5), 1063-1069 (2007).  
doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.087288
36. Scragg, R., Sowers, M., Bell, C.: Serum 25-hydroxyvitamin D, ethnicity, and blood pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Hypertens* 20(7), 713-719 (2007). doi:10.1016/j.amjhyper.2007.01.017
37. Schmitz, K.J., Skinner, H.G., Bautista, L.E., Fingerlin, T.E., Langefeld, C.D., Hicks, P.J., Haffner, S.M., Bryer-Ash, M., Wagenknecht, L.E., Bowden, D.W., Norris, J.M., Engelman, C.D.: Association of 25-hydroxyvitamin D with blood pressure in predominantly 25-hydroxyvitamin D deficient Hispanic and African Americans. *Am J Hypertens* 22(8), 867-870 (2009). doi:10.1038/ajh.2009.88

38. Munger, K.L., Levin, L.I., Hollis, B.W., Howard, N.S., Ascherio, A.: Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 296(23), 2832-2838 (2006). doi:10.1001/jama.296.23.2832
39. Hypponen, E., Laara, E., Reunanen, A., Jarvelin, M.R., Virtanen, S.M.: Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 358(9292), 1500-1503 (2001). doi:10.1016/S0140-6736(01)06580-1
40. Thacher, T.D., Clarke, B.L.: Vitamin D insufficiency. *Mayo Clin Proc* 86(1), 50-60 (2011). doi:10.4065/mcp.2010.0567
41. Oudshoorn, C., Mattace-Raso, F.U., van der Velde, N., Colin, E.M., van der Cammen, T.J.: Higher serum vitamin D3 levels are associated with better cognitive test performance in patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 25(6), 539-543 (2008). doi:10.1159/000134382
42. Prufer, K., Veenstra, T.D., Jirikowski, G.F., Kumar, R.: Distribution of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor immunoreactivity in the rat brain and spinal cord. *J Chem Neuroanat* 16(2), 135-145 (1999).
43. Eyles, D.W., Smith, S., Kinobe, R., Hewison, M., McGrath, J.J.: Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. *J Chem Neuroanat* 29(1), 21-30 (2005). doi:10.1016/j.jchemneu.2004.08.006
44. Hoogendijk, W.J., Lips, P., Dik, M.G., Deeg, D.J., Beekman, A.T., Penninx, B.W.: Depression is associated with decreased 25-hydroxyvitamin D and increased parathyroid hormone levels in older adults. *Arch Gen Psychiatry* 65(5), 508-512 (2008). doi:10.1001/archpsyc.65.5.508
45. Gorham, E.D., Garland, C.F., Garland, F.C.: Acid haze air pollution and breast and colon cancer mortality in 20 Canadian cities. *Can J Public Health* 80(2), 96-100 (1989).

46. Schwartz, G.G., Hulka, B.S.: Is vitamin D deficiency a risk factor for prostate cancer? (Hypothesis). *Anticancer Res* 10(5A), 1307-1311 (1990).
47. Garland, C.F., Garland, F.C., Gorham, E.D., Lipkin, M., Newmark, H., Mohr, S.B., Holick, M.F.: The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Health* 96(2), 252-261 (2006). doi:10.2105/AJPH.2004.045260
48. Colston, K.W.: Vitamin D and breast cancer risk. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 22(4), 587-599 (2008). doi:10.1016/j.beem.2008.08.002
49. Iseki, K., Tatsuta, M., Uehara, H., Iishi, H., Yano, H., Sakai, N., Ishiguro, S.: Inhibition of angiogenesis as a mechanism for inhibition by 1 $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> of colon carcinogenesis induced by azoxymethane in Wistar rats. *Int J Cancer* 81(5), 730-733 (1999).
50. Lamprecht, S.A., Lipkin, M.: Cellular mechanisms of calcium and vitamin D in the inhibition of colorectal carcinogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 952, 73-87 (2001).
51. Lehmann, B., Meurer, M.: Vitamin D metabolism. *Dermatol Ther* 23(1), 2-12 (2010). doi:10.1111/j.1529-8019.2009.01286.x
52. Wolpowitz, D., Gilchrist, B.A.: The vitamin D questions: how much do you need and how should you get it? *J Am Acad Dermatol* 54(2), 301-317 (2006). doi:10.1016/j.jaad.2005.11.1057
53. Roberts, W.E.: Skin type classification systems old and new. *Dermatol Clin* 27(4), 529-533, viii (2009). doi:10.1016/j.det.2009.08.006
54. Zhang, R., Naughton, D.P.: Vitamin D in health and disease: current perspectives. *Nutr J* 9, 65 (2010). doi:10.1186/1475-2891-9-65
55. Tejasvi, T., Sharma, V.K., Kaur, J.: Determination of minimal erythral dose for narrow band-ultraviolet B radiation in north Indian patients: comparison of visual

and Deraspectrometer readings. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 73(2), 97-99 (2007).

56. Kimlin, M.G., Olds, W.J., Moore, M.R.: Location and vitamin D synthesis: is the hypothesis validated by geophysical data? *J Photochem Photobiol B* 86(3), 234-239 (2007). doi:10.1016/j.jphotobiol.2006.10.004
57. Lips, P., Duong, T., Oleksik, A., Black, D., Cummings, S., Cox, D., Nickelsen, T.: A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: baseline data from the multiple outcomes of raloxifene evaluation clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab* 86(3), 1212-1221 (2001). doi:10.1210/jcem.86.3.7327
58. Inderjeeth, C.A., Nicklason, F., Al-Lahham, Y., Greenaway, T.M., Jones, G., Parameswaran, V.V., David, R.: Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism: clinical and biochemical associations in older non-institutionalised Southern Tasmanians. *Aust N Z J Med* 30(2), 209-214 (2000).
59. Oliveri, M.B., Mautalen, C., Bustamante, L., Gomez Garcia, V.: Serum levels of 25-hydroxyvitamin D in a year of residence on the Antarctic continent. *Eur J Clin Nutr* 48(6), 397-401 (1994).

## **9. ARTIGO**

### **The prevalence of vitamin D deficiency changes according to the season among young men in Southern Brazil**

#### **Authors**

Tiago Oselame Fontanive<sup>1</sup>, Nidea Rita Michels Dick, Mariana Costa Silva<sup>1</sup>, Vani dos Santos Laranjeira<sup>1</sup>, Marina Venzon Antunes<sup>2</sup>, Rafael Linden<sup>2</sup>, Marcelo de Paula Corrêa<sup>3</sup>, Rita de Cássia Marques Alves<sup>4</sup>, Tania Weber Furlanetto<sup>1</sup>

#### **Affiliations**

<sup>1</sup>Postgraduate Program in Medicine: Medical Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>2</sup>Laboratory of Toxicological Analysis, Feevale University

<sup>3</sup>Natural Resources Institute, Federal University of Itajubá, Itajubá, MG, Brazil

<sup>4</sup>State Center for Remote Sensing and Meteorology Research, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, Brazil

Corresponding author

Tania Weber Furlanetto, MD, PhD

Rua Ramiro Barcelos 2350/700, Porto Alegre, RS, Brazil, 90035-003

Phone: 00 55 51 3359.8152

E-mail: [taniafurlanetto@gmail.com](mailto:taniafurlanetto@gmail.com)

Running Head

Vitamin D and season in South Brazil



## **ABSTRACT**

### **Purpose**

Vitamin D deficiency has been associated with several diseases. This steroid can be obtained by food intake or by skin production, when exposed to ultraviolet radiation (UV-R). Our aims were to evaluate the prevalence of vitamin D deficiency according to the season and its associated factors in young and healthy male adults, in Porto Alegre, RS, Brazil.

### **Methods**

Blood samples were collected on the first day of each season for 25(OH)D<sub>3</sub> measurement, and parathyroid hormone, total calcium, creatinine, and albumin were determined in the autumn. UV-R was measured from solar radiation by means of a radiometer, calculating daily doses for erythema (D-Ery) and for photobiological response to vitamin D synthesis in human skin (D-VitD).

### **Results**

There was a seasonal variation of 25(OH) D<sub>3</sub> ( $p=0.000$ ), which was strongly influenced by the mean UV-R in the 30 and 45 days previous. No other factors associated to 25(OH) D<sub>3</sub> were identified. The prevalence of 25(OH)D<sub>3</sub> below 20ng/mL varied with the seasons ( $p=0.000$ ), having been nil or low in late summer and spring. However, this prevalence increased in late autumn (22%) and winter (8.7%). The prevalence of 25(OH)D<sub>3</sub> <30ng/mL was high in all seasons of the year: winter (70%), spring (68%), summer (44%) and especially in autumn (88%).

### **Conclusions**

The prevalence of vitamin deficiency varied according to the season, in young and healthy male adults, in Southern Brazil, and the only factor independently associated with 25(OH)D<sub>3</sub> levels was the amount of UV-R in the period prior to collection.

**Keywords:** Vitamin D, vitamin D deficiency, ultraviolet rays, ultraviolet B

## INTRODUCTION

Vitamin D deficiency is a worldwide problem, and has been associated with several diseases [1]. This steroid can be obtained by food intake or by skin production, when exposed to ultraviolet B radiation (UVB, 280-315 nm). UVB is part of the ultraviolet radiation spectrum (UV-R, 100-400 nm), and induces skin synthesis of vitamin D in men [2,3]. Several factors are associated with the ability of the skin to produce vitamin D, such as the 7-dehydrocholesterol (7-DHC) content of the skin, photons of energy, which depend on the wavelength of the UV-R [4], skin pigmentation [5,6], sunblock use [7,8], latitude, season of the year, time of the day [9,10], weather conditions, length of exposure [11,9], and age [12]. Vitamin D deficiency has been observed in sunny regions of the Earth [13], as in elderly outpatients in São Paulo, SP, Brazil (23° 32'1.5828" S and 46° 37' 31.0440" W, in the semitropical region of the southern hemisphere [14,15], so our aims were to evaluate its prevalence according to the season and its associated factors in young adults, in Porto Alegre, RS, Brazil (30° 1'40" S and 51° 13'43" W).

## METHODS

### *Ethics statement*

The study was approved by the Research Ethics Committee of the Clinicas Hospital of Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil (No. 14-0173). Participants were

included after written informed consent.

### *Population sample*

Male military police officers of the Academy of IPBM of Porto Alegre/RS, aged  $\geq 18$  years to  $\leq 55$  years were invited to participate. The exclusion criteria were body mass index (BMI)  $\geq 39$  Kg/m<sup>2</sup>, travel to another Brazilian state or country within the last 3 months, use of vitamin D supplements, diuretics, anticonvulsants, oral or topical glucocorticoids, anti-HIV or antifungal medications, a history of bariatric surgery, and known diseases, which could interfere with vitamin D metabolism, such as liver disease, malabsorption, sarcoidosis, tuberculosis, histoplasmosis, paracoccidioidomycosis, and berylliosis.

Experimental design: four cross-sectional studies.

### *Logistics*

In the first interview, participants were evaluated by a trained healthcare professional, who measured weight, height, and body fat content, and answered a questionnaire about:

- Current tobacco use: yes or no.
- Alcohol Intake: frequent or not, according to their own evaluation
- Use of medical drugs: yes or no.
- Sunblock use: yes (the anatomical region was described) or no.
- Known diseases: yes (which one) or no.
- Phototype: they were classified according to Fitzpatrick (I-VI), and divided into 3 groups: 1 = I and II, 2 = III and IV, and 3 = V and VI.
- Use of vitamin D supplements: yes or no.

### *Biochemical data*

Blood samples were collected on the first day of each season for 25(OH)D<sub>3</sub> measurement, reflecting the previous season. In the autumn season, blood was collected after overnight fasting, in order to measure PTH in plasma, and total calcium, creatinine, and albumin in serum. Serum and plasma were separated and kept at -70°C until the measurement of total calcium, creatinine, and albumin, by routine assays. Intact PTH was measured by chemiluminescence (ARCHITECT, Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Germany) with intra-assay variation of 4.1%. All of the samples were measured in the same assay.

Plasma concentrations of 25(OH)D<sub>3</sub> were measured by LC-MS/MS after protein precipitation. Briefly, 100µL aliquot of plasma was transferred to a 2mL polypropylene tube with 200µL of acetonitrile added, containing the internal standard D6-25(OH)D<sub>3</sub> at 20ng/mL, followed by 1 minute of Vortex mixing. After 15 minutes of centrifugation at 12,000g, an aliquot of 15µL of supernatant was injected into an Ultimate 3000 XRS UHPLC system (Thermo Scientific, San Jose, USA). Separation was performed in an Acquity C18 column (150 × 2.6 mm, p.d. 1.7 µm) from Waters (Milford, USA), maintained at 40°C. The mobile phase consisted of a mixture of formic acid 0.1% in water and methanol (20:80, v/v), eluted at a flow rate of 0.25mL min<sup>-1</sup>. Detection was performed in a TSQ Quantum Access triple quadrupole mass spectrometer (Thermo Scientific, San Jose, USA) with an atmospheric-pressure chemical ionisation (APCI) probe. The MS settings were: positive ionisation mode, corona discharge needle voltage 7 kV; sheath gas, nitrogen at a flow rate of 60 arbitrary units; auxiliary gas, nitrogen at a flow rate of 5 arbitrary units; collision gas, argon; vaporiser temperature, 390°C; and ion transfer capillary temperature, 202°C. The scan time was set to 0.3 seconds per transition. The following transitions were used for MRM acquisition: m/z 401 → 365 (quantitation), 401 → 159, and 401 → 105 (qualification) for 25(OH)D<sub>3</sub>; and m/z 407 → 371 (quantitation), and m/z 407 → 105, and 401 → 91 (qualification) of internal

standard. The method was linear from 5.0 to 100.0 ng mL<sup>-1</sup> ( $r=0.999$ ). Accuracy and imprecision were acceptable with an accuracy of between 90.7 and 103.4%, and within and between assay coefficients of variation in the range of 2.8-7.5% and 3.9-7.8%, respectively. Daily calibration curves were included in all of the analytical batches. Commercial quality control samples from Chromsystem® (Munich, Germany) were processed every 20 samples.

Two 25(OH)D cut-off points were used to define vitamin D deficiency: <20ng/mL and <30ng/mL [16,17].

#### *Ultraviolet radiation*

UV-R was measured from solar radiation using a calibrated radiometer, Model 501 from the company Solarlight (<https://solarlight.com/product/uvb-biometer-model-501-radiometer/>). This instrument has a normalised spectral response for the 297nm unit, which simulates skin response to the formation of erythema [18] The irradiances [ $Wm^{-2}$ ], weighted by the photobiological response to erythema formation, were collected at 1 second intervals, and the mean of these values was recorded every 10 minutes. The equipment was stabilised at a temperature of 25°C in order to prevent changes in spectral response and in sensitivity to variations in the ambient conditions. From the measurements, the accumulated daily doses (D-Ery) [ $Jm^{-2}$ ] were determined. For this, the irradiances were integrated between 07:00 am and 5:00 pm (local time) in order to evaluate the amount of UV-R accumulated in daily exposures. The means of the measurements conducted, as well as their respective deviations, in each season of the year were used as seasonal estimates of UV-R exposure.

From the D-Ery, we calculated the UV-R doses, weighted by the photobiological response for vitamin D synthesis in human skin (D-VitD). Since this photobiological

response depends almost exclusively on UVB-R, a conversion factor based on the total ozone content and the position of the sun [19] was used to determine it. This conversion factor aims to represent the UVB-R attenuation processes caused by both meteorological parameters.

The exposure times required to cause erythema and for the synthesis of 1,000 IU of vitamin D were also evaluated. In the case of erythema, the exposure time depends exclusively on the phototype, represented by the Minimal Erythematous Dose (MED). In the case of vitamin D synthesis, in addition to the phototype, there is dependence on the body area exposed. In this study, vitamin D synthesis was considered in individuals with phototype II, exposing the face, hands and arms (27% of the body area exposed) [20,19].

#### *Statistical analysis*

The distribution of data was evaluated by the Kolmogorov-Smirnov test. The differences between mean plasma 25(OH)D<sub>3</sub> levels in the 4 seasons and their associated factors were evaluated by the Generalised Estimating Equation method, adjusted to multiple comparisons by the Bonferroni test. The daily doses of UV-R weighted by the photobiological response to erythema and to vitamin D synthesis were compared by one-way analysis of variance (ANOVA), adjusted for multiple comparisons by the Tukey HSD test. Differences between the prevalences of vitamin D in the seasons were calculated by the likelihood-ratio chi-square test, adjusted for multiple pairwise comparisons by the Bonferroni test.

Factors potentially associated with serum PTH levels, phototype, serum calcium, albumin, creatinine levels, and 25(OH)D<sub>3</sub> were evaluated by Pearson or Spearman correlation tests, and parametric or non-parametric ANOVA, according to data distribution. Factors with  $p \leq 0.2$  were included in the multivariate linear regression model to determine

which factors were independently associated with PTH. All analyses were made in the SPSS (Statistical Package for Social Studies) software, version 18.0, except for the analysis of prevalences of vitamin D deficiency, which were conducted in the WINPEPI software, version 11.65.

## RESULTS

One hundred and ten men were invited to participate and 71 accepted. Three were excluded: 1 for use of a vitamin D supplement, and 2 for having a BMI  $\geq 39 \text{Kg/m}^2$ . 69 men, 66 (3 were excluded for travelling), 64 (1 suffered a gunshot wound and 1 gave up participating), and 60 (4 gave up participating) were included in the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, and 4<sup>th</sup> evaluations, respectively. Clinical characteristics of the participants are shown in table 1.

Table 1: Clinical characteristics of the participants.

	Mean $\pm$ SD or n	n
Age (years)	34.3 $\pm$ 6.8	69
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	25.2 $\pm$ 2.5	69
Body fat content (%)	17.8 $\pm$ 3.2	62
Phototype*	1: 35, 2: 31, and 3: 3	69
Use of sunscreen	2	69
Smoking	4	69
Frequent alcohol intake	0	69
Chronic use of medicinal drugs	7	69
Known diseases	3	69

Phototype\*: 1 = Fitzpatrick phototype I + II;

2 = Fitzpatrick phototype III + IV; 3 = Fitzpatrick phototype V + VI.

Data is shown as mean  $\pm$  SD or number (n)

### Plasma 25(OH)D<sub>3</sub> levels

The mean plasma 25(OH)D<sub>3</sub> levels were different at the end of the seasons (p=0.000), 27.2 ± 6.6ng/mL (n=69), 28.9 ± 6.1ng/mL (n=66), 31.7 ± 6.4ng/mL (n=64), and 23.3 ± 5.2ng/mL (n=60), in winter, spring, summer, and autumn respectively. Pairwise comparisons were all different (p=0.000), adjusted by the Bonferroni test, except at the end of summer and spring (p=0.139). This data is shown in Figure 1.

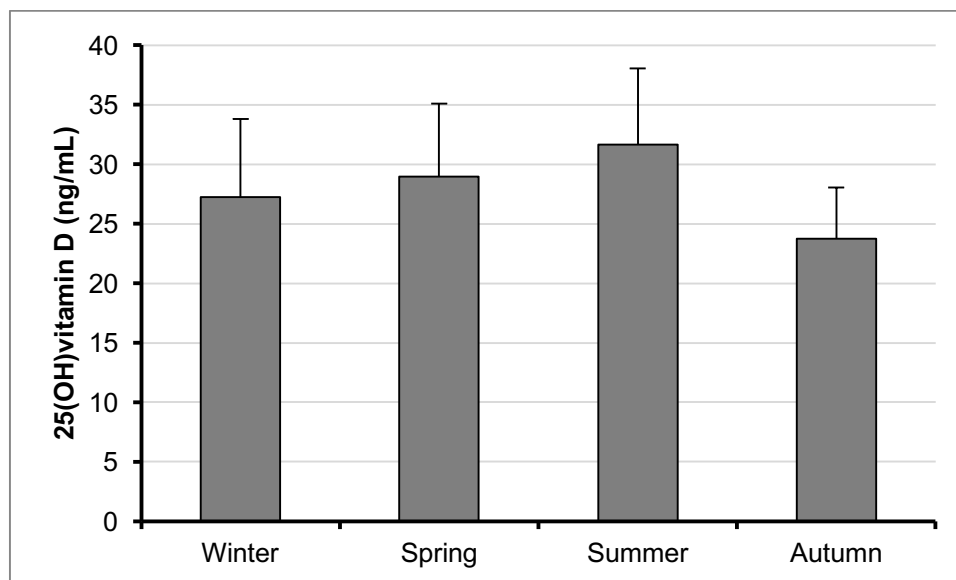


Figure 1. Mean plasma 25(OH) vitamin D<sub>3</sub> levels [25(OH)D<sub>3</sub>] changed at the end of the seasons (p=0.000). Pairwise comparisons were all different (p=0.000), except between spring and summer (p=0.139), adjusted by the Bonferroni test for multiple comparisons.

Mean serum albumin, total calcium, PTH, and creatinine levels were 4.41.3g/dL (65), 8.92.3 mg/dL (65), 59.222.8 pg/mL(59), and 1.030.24mg/dL (58) respectively, in autumn



The prevalence of 25(OH)D<sub>3</sub> <20ng/mL changed with the seasons (p=0.000) and it was 8.7% (n=6), 1.5% (n=1), zero and 21.7% (n=13), respectively, at the end of winter, spring, summer, and autumn. The pairwise comparison of prevalences, adjusted by the Bonferroni test for multiple comparisons, was similar at the end of winter and spring (p=0.283), at the end of winter and autumn (p=0.227), and at the end of spring and summer (p=1); and it was higher at the end of winter, when compared to the end of summer (p=0.026); it was also higher at the end of autumn, when compared to spring (p=0.001) and summer (p=0.000). The prevalence of 25(OH)D<sub>3</sub> <30ng/mL changed with the seasons (p=0.000), and it was 69.6% (n=48), 68.2% (n=45), 43.8% (n=28), and 88.4% (n=53), respectively, at the end of winter, spring, summer, and autumn. The pairwise comparison of prevalences, by the Bonferroni test for multiple comparisons, was similar at the end of winter and spring (p=1.000), and at the end of winter and autumn (p=0.05); it was higher at the end of winter, when compared to the end of summer (p=0.015), at the end of spring, when compared to summer (p=0.029), and at the end of autumn, when compared to spring (p=0.033) and summer (p=0.000). This data is shown in Figure 2.

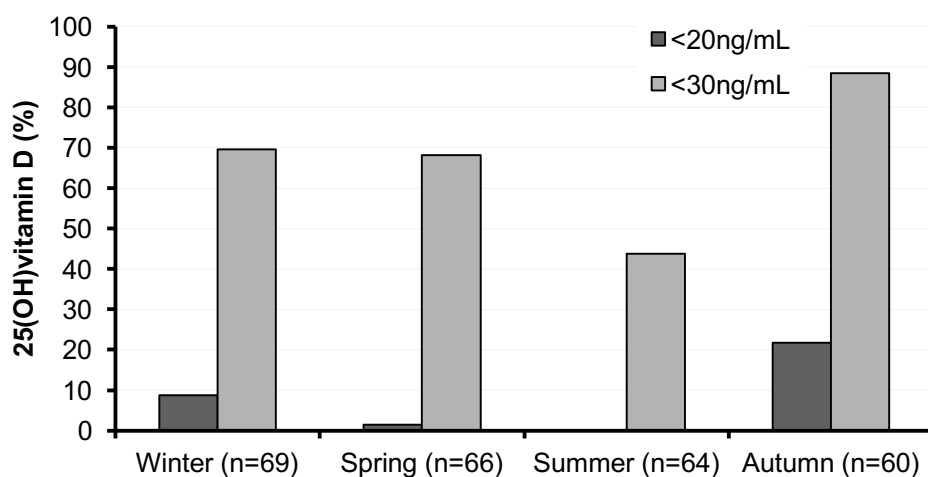


Figure 2: The prevalences of vitamin 25(OH)D<sub>3</sub> <20 ng/mL and <30 ng/mL, at the end of each season, were different for both cut-off points (p=0.000) by the likelihood-ratio

chi-square test. The prevalence of vitamin 25(OH)D<sub>3</sub> <20 ng/mL was similar in autumn and winter (p=0.227), spring and summer (p=1.000), and winter and spring (p=0.285); it was higher in winter, when compared to summer (p=0.026), and in autumn, when compared to spring (p=0.001) and summer (p=0.000). The prevalence of vitamin 25(OH)D<sub>3</sub> <30 ng/mL was similar in winter and spring (p=1.000), and winter and autumn (p=0.050); it was higher in autumn, when compared to spring (p=0.033) and summer (p=0.000); it was also higher in winter, when compared to summer (p=0.015), and in spring, when compared to summer (p=0.029). Multiple pairwise comparisons were adjusted by the Bonferroni test.

#### *Measurement of UV-R*

The mean D-vitD varied over the 4 seasons (p~0.000), and it was 913.3 (383.9), 1937.8 (934.0), 1945.9 (1180.0), and 903.6 (507.2) Jm<sup>-2</sup>, at the end of winter, spring, summer, and autumn respectively. Pairwise comparisons showed higher D-vitD in spring, when compared to winter (p=0.000) and autumn (p=0.000); and in summer, when compared to winter (p=0.000) and autumn (p=0.000); winter and autumn (p=1.000), and spring and summer (p=1.000), had similar weighted ultraviolet radiation for the photobiological response for vitamin D production. The mean D-Ery also varied seasonally (p=0.000), and it was 1522.5 (684.4), 3661.0 (1822.2), 4666.5 (1601.7), and 1568.7 (969.1) Jm<sup>-2</sup>, at the end of winter, spring, summer, and autumn respectively; pairwise comparisons showed higher erythema-inducing radiation in spring, when compared to winter (p=0.000) and autumn (p=0.000); and in summer, when compared to winter (p=0.000), spring (p=0.000) and autumn (p=0.000); winter and autumn had similar weighted ultraviolet radiation for the development of erythema (p=0.998) (Figure 3).

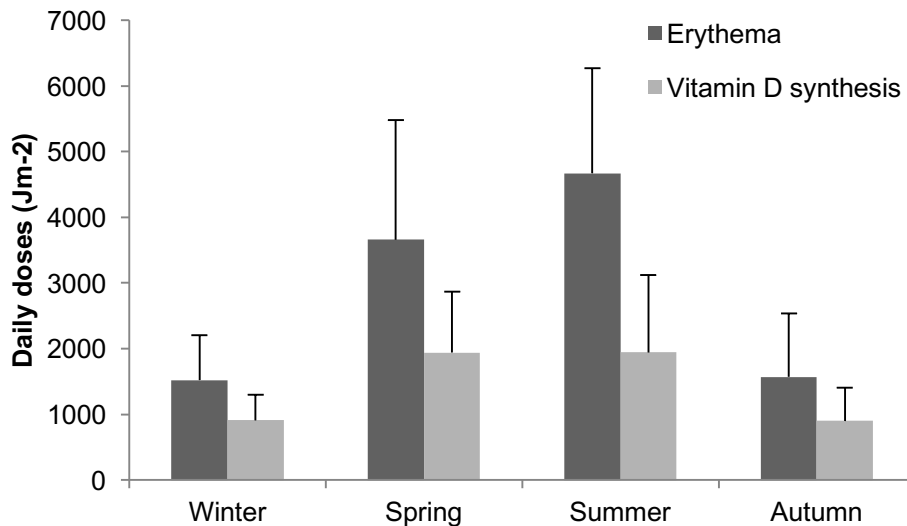


Figure 3. Mean values of daily doses of UV radiation weighted by biological responses for erythema (black bars) and for vitamin D synthesis (grey bars) during the different seasons of the year. The data is shown as mean  $\pm$  SD. The mean erythema doses differed between the seasons ( $p=0.000$ ), and all pairwise comparisons of any two seasons showed that the mean ultraviolet radiation (UV) levels were different ( $p=0.000$ ), except when comparing levels in autumn and winter ( $p=0.998$ ), by the Tukey HSD test. The mean vitamin D producing levels of UV were significantly different between the seasons ( $p=0.000$ ), all of the pairwise comparisons were different ( $p=0.000$ ), except when comparing levels in spring x summer ( $p=1$ ) and autumn x winter ( $p=1$ ), by the Tukey HSD test.

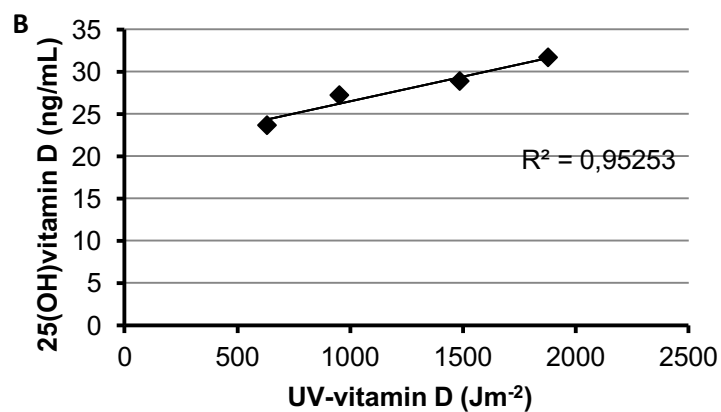
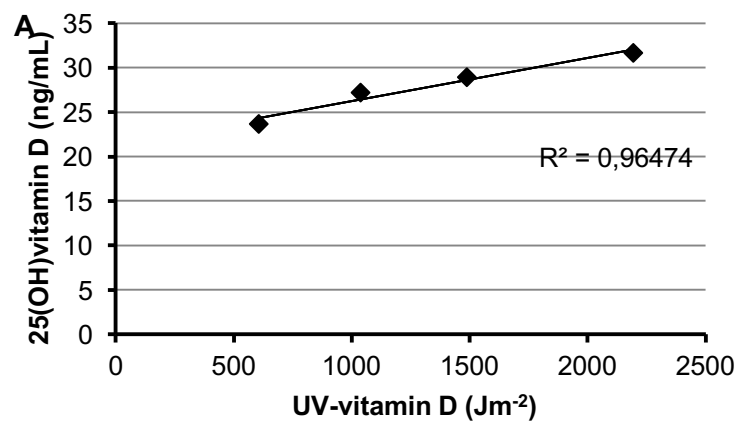
In assessing the weighted UV-R levels for the photobiological response required to induce erythema and the dose required for Vitamin D synthesis, the data suggests that the amount of UVB-R for Vitamin D synthesis is below D-Ery (Figure 3).

The means of D-VitD, expressed in  $\text{Jm}^{-2}$ , respectively, in the 30, 45 and 90 days preceding the collections were  $1038.5 \pm 301.8$ ,  $950.1 \pm 165.9$ ,  $626.1 \pm 406.6$ , in winter,  $1488.4 \pm 1016.2$ ,  $1485.8 \pm 1328.7$ ,  $1036.7 \pm 584.5$ , in spring,  $2192.2 \pm 492.5$ ,  $1876.0$

$\pm 521.4$ ,  $2326.9 \pm 1057.9$ , in summer and  $606.7 \pm 285.5$ ,  $630.9 \pm 294.9$ ,  $1779.3 \pm 102.7$ , in autumn.

### Factors associated with 25(OH)D<sub>3</sub>

There was a strong correlation between the mean plasma 25(OH)D<sub>3</sub> levels at the end of each season and the mean UV-R in the 30 ( $r=0.97$ ;  $p=0.000$ ), and 45 ( $r=0.94$ ) days previous. The correlation with the mean UV-R in the 90 days ( $r=0.2745$ ) previous was weak. This data is shown in Figure 4.



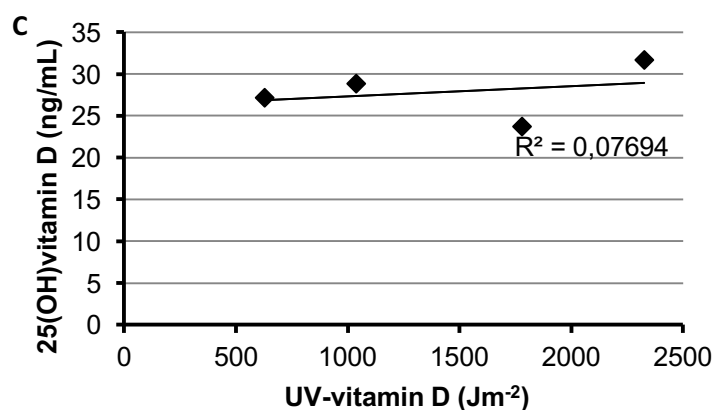


Figure 4: Correlation between the mean plasma 25(OH)D<sub>3</sub> levels at the end of each season and mean ultraviolet B radiation weighted to vitamin D (UV- vitamin D) 30 (A), 45 (B) and 90 (C) days before blood sampling.

There was no association between plasma 25(OH)D<sub>3</sub> levels and BMI (p=0.207), body fat content (0.064), phototypes (group 1: p=0.473; group 2: p=0.847). In a multivariate regression model including the mean UVB in the 30 days before and body fat content, only the mean UV-R in the 30 days before was independently associated with plasma 25(OH)D<sub>3</sub> levels. This data is shown in Table 2.

Table 2. Factors associated with plasma 25(OH)D<sub>3</sub> levels, multivariate model.

Parameter	B	p
Intercept	26.146	0.000
Mean UVB in the 30 days previous	0.004	0.000
Body fat content	-0.212	0.097

Dependent variable: 25(OH)D<sub>3</sub>

Model (intercept), UVB 30 days previous, body fat content

The PTH and 25(OH)D<sub>3</sub> levels were inversely correlated ( $r=-0.308$ ,  $p=0.019$ ), as shown in Figure 5. The PTH levels were positively correlated with body fat content ( $r=0.266$ ,  $p=0.05$ ), and there was no association with PTH levels and BMI ( $r=0.163$ ,  $p=0.217$ ), age ( $r=0.156$ ,  $p=0.238$ ), and calcium levels ( $r=-0.171$ ,  $p=0.312$ ).

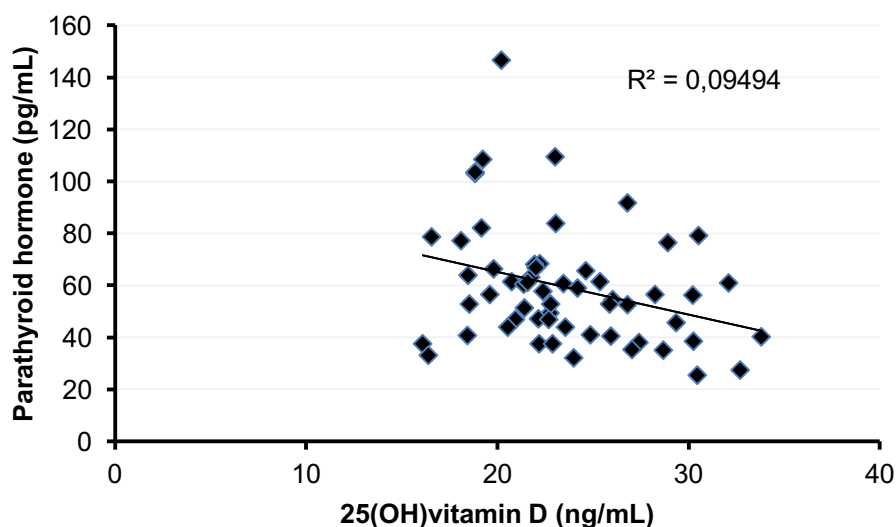


Figure 5. Inverse correlation between PTH and 25(OH)D<sub>3</sub> levels at the end of autumn.

## DISCUSSION

Our results have shown a seasonal variation of 25(OH)D<sub>3</sub> in young and healthy men, living in a semitropical region, which was strongly influenced by the mean UV-R in the 30 and 45 days previous. This data is in line with two other studies in Brazil, which showed seasonal variation of vitamin D in the elderly. Maeda *et al.* observed a decrease in the mean 25(OH)D<sub>3</sub> in winter, as compared to summer, in São Paulo, SP, Brazil. 25(OH)D<sub>3</sub> was <50nmol/L in 19.2% and 6.5% of subjects, respectively, in winter and summer. An increase in serum levels of 25(OH)D<sub>3</sub> in the summer was observed in the 51-60 and 61-70 age groups ( $p < 0.05$ ), but not in the  $\geq 71$  years' age group [14]. Another study conducted by Saraiva *et al.* in a population of 250 elderly individuals in

São Paulo, SP, Brazil, showed a seasonal variation of 25(OH)D<sub>3</sub> according to the incidence of UV-R, correlating with the overall PTH and calcium levels. In this study, a significant difference was observed in the incidence of UV-R and in the mean serum levels of 25(OH)D<sub>3</sub> according to the season of the year ( $p < 0.001$ ), with higher UV-R in the summer and lower in the winter, whereas the maximum levels of 25(OH)D<sub>3</sub> occurred in autumn and the minimum levels in spring [15]. However, both studies evaluated 25(OH)D<sub>3</sub> levels in elderly individuals, which have been shown to have a decreased ability to synthesize vitamin D [12].

In our study, the mean levels of 25(OH)D<sub>3</sub> were higher in summer and spring, yet in winter and autumn, these levels were lower. This data is in accordance with the UV-R levels detected in summer and spring, which were higher than those measured in autumn and winter. Even though we expected lower levels in late spring in the semitropical climate, our UV-R data is consistent with the 25(OH)D<sub>3</sub> measurements. Thus, climatic variability might explain these findings. The prevalence of 25(OH)D<sub>3</sub> <20ng/mL was 8.7% (n=6), 1.5% (n=1), zero and 21.7% (n=13), in winter, spring, summer and autumn respectively. These prevalences were lower than those observed by Saraiva et al. in São Paulo, Brazil, which were 33% in summer, 37.7% in autumn, 66% in winter and 69% in spring, among elderly individuals [15]. In another study, which also evaluated elderly individuals in the city of São Paulo, serum levels of 25(OH)D<sub>3</sub> were <20ng/mL in 19.2% and 6.5%, in winter and summer respectively [14]. The data is similar to what we observed during the period of reduced UV-R availability, but the prevalence was higher among the elderly in the summer, which could be explained by the reduced ability of the elderly to synthesise vitamin D in the skin [12] or that the individuals in our sample were involved in more outdoor activities. Ingestion of vitamin D could also alter the results, however, little vitamin D is present in foods

other than oily fish [21]).

A surprising aspect of our study was the high prevalence of 25(OH)D<sub>3</sub> <30ng/mL, which ranged from 43.8% in the summer to 88.4% in the autumn, considering the recommendation that levels above 30ng/mL be the most adequate for health [1]. As subjects were healthy and had normal albumin, serum levels of 25(OH)D<sub>3</sub> were not low because of inflammation [22] or hypoalbuminaemia [23]. Genetic factors could be implicated, not related to the phototype, since we did not find any association between serum levels of 25(OH)D<sub>3</sub> and phototype. Genetic factors appear to contribute 70% to the seasonal variation of 25(OH)D<sub>3</sub> serum levels; a study, conducted among 510 adult male twins, showed that in the winter, concentrations of 25(OH)D<sub>3</sub> are strongly influenced by genetic factors. In the summer however, environmental factors are more associated with the variations in the serum levels of this vitamin [24]. In addition, several human studies have associated various polymorphisms with the status of vitamin D [25].

Our results suggest that even in sunny countries such as ours, a large number of the population may present with inadequate levels of Vitamin D during all seasons of the year. In Australia, where skin cancer is highly prevalent due to the intensity of solar radiation, a high prevalence of vitamin D deficiency has been demonstrated, even with the high availability of UVB [26,27].

In addition to UVB-R indices, other factors may have interfered with vitamin D serum levels, such as wearing clothing, time spent outdoors, which is more likely during holidays, which usually occur in the summer [5,7,8]. In relation to the importance of the area of the body that is exposed to UVB-R, some studies have irradiated different areas of the body, reporting an increase in vitamin D concentrations with an increase in the body areas exposed [28-31]. Matsuoka et al. suggested that the Vitamin D



response after exposure to UVB-R reaches a plateau when more than 33% of the body area is irradiated [28]. Vähävihi et al. had already found a similar increase in vitamin D, when irradiating three different areas of the body, after exposure of the entire body and after exposure of only the head and arms [30]. In a more recent study, a positive association was also found between 25(OH)D<sub>3</sub> levels and the body area exposed [31].

In a study conducted by Boghet al., 60 participants were randomised for exposure to 1 *Standard Erythema Dose* (SED) of UVB-R of ~88% of the body area at intervals of: once a week (n=15), every two weeks (n=14) or every four weeks (n=12). The control (n=14) underwent no such treatment. Vitamin D was measured at baseline, every four weeks prior to exposure and 2 days after the last exposure to UVB-R and the study was conducted over 16 weeks. It was found that a biweekly treatment was sufficient to maintain the volunteer's circulating levels of 25(OH)D<sub>3</sub>, while the weekly regimen significantly increased their levels and significantly reduced levels were observed in the monthly regimen and in the control [32].

In our study, upon assessing the weighted UV-R levels for the photobiological response, the Minimum Erythema Dose (MED) required to induce erythema and the dose required for the synthesis of 1,000 IU of Vitamin D in individuals with phototype II, exposing 27% of the body area, the data suggests that the amount of UVB-R for Vitamin D synthesis is below the MED (Figure 4). This data suggests that the time of exposure to the sun is shorter than the time required for the formation of erythema on the skin, which is in line with results described previously[33].

There are several factors that influence the amount of solar UVB-R that reaches the Earth's surface, including the first-order dispersion of solar rays by the atmosphere, air attenuation, absorption by molecular oxygen and ozone, and the line structure in the solar spectrum [34-36]. Ozone in the atmosphere is very efficient at

absorbing UVB-R. When the sun is farthest from the zenith, the optical path increases, resulting in a higher absorption of UVB-R by ozone and a greater scattering by molecules, which decreases the amount reaching the Earth's surface [5,34-36]. This also explains why less vitamin D is produced in the skin during sun exposure before 9:00 a.m. and after 3:00 p.m. [5].

In our study, there was no association between the use of sunscreen, phototype and levels of 25(OH)D<sub>3</sub>, although it has been suggested that an individual of phototype VI requires at least 5-10 times more sun exposure than a person of phototype II for the synthesis of vitamin D, and sunscreens efficiently absorb UVB-R, thereby decreasing vitamin D production [5]. These results could be explained by the low number of individuals reporting sunscreen use, and phototypes V or VI. Also, there was no association between the levels of 25(OH)D<sub>3</sub> and the percentage of fat, which could have been due to the small sample, as low vitamin D levels have been consistently reported in obesity [37,38,39,37]. However, PTH levels were inversely proportional to 25(OH)D<sub>3</sub> levels, and were positively associated with % of fat.

Strengths of this work: prospective collection, measurements performed on the same individuals in the 4 cross sections, over a period of 12 months.

Weaknesses of this work: UV-R measurements were not performed individually and there was no assessment of dietary factors, which could contribute to individual variability in 25(OH)D<sub>3</sub> serum levels.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no competing interests.

#### FUNDING

This study was funded by the Fund for Research and Events (FIPE) of the

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, and TWF is recipient of a research fellowship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasilia, DF, Brazil.

## ETHICAL APPROVAL

All procedures performed in our study were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. The study was approved by the local standing-committee on ethical practice and written voluntary consent was obtained in all cases.

## CONCLUSION

In our study, we observed a seasonal variation of 25(OH)D<sub>3</sub> levels in young and healthy males in Southern Brazil. The prevalence of 25(OH)D<sub>3</sub> below 20ng/mL in late summer and spring was nil or low, however, this prevalence increased in late autumn and winter. The prevalence of 25(OH)D<sub>3</sub> <30ng/mL was high during all seasons of the year, especially in the autumn. The only factor independently associated with 25(OH)D<sub>3</sub> serum levels was the amount of UV-R during the period prior to collection.

## REFERENCES

1. Holick, M.F.: The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord* **18**(2), 153-165 (2017). doi:10.1007/s11154-017-9424-1
2. Holick, M.F.: Vitamin D: A millenium perspective. *J Cell Biochem* **88**(2), 296-307

- (2003). doi:10.1002/jcb.10338
3. Bouillon, R., Eelen, G., Verlinden, L., Mathieu, C., Carmeliet, G., Verstuyf, A.: Vitamin D and cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* **102**(1-5), 156-162 (2006). doi:10.1016/j.jsbmb.2006.09.014
  4. Chen, T.C., Chimeh, F., Lu, Z., Mathieu, J., Person, K.S., Zhang, A., Kohn, N., Martinello, S., Berkowitz, R., Holick, M.F.: Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D. *Arch Biochem Biophys* **460**(2), 213-217 (2007). doi:10.1016/j.abb.2006.12.017
  5. Wacker, M., Holick, M.F.: Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermatoendocrinol* **5**(1), 51-108 (2013). doi:10.4161/derm.24494
  6. Clemens, T.L., Adams, J.S., Henderson, S.L., Holick, M.F.: Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. *Lancet* **1**(8263), 74-76 (1982).
  7. Matsuoka, L.Y., Wortsman, J., Hanifan, N., Holick, M.F.: Chronic sunscreen use decreases circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. A preliminary study. *Arch Dermatol* **124**(12), 1802-1804 (1988).
  8. Godar, D.E., Pope, S.J., Grant, W.B., Holick, M.F.: Solar UV doses of you Americans and vitamin D3 production. *Environ Health Perspect* **120**(1), 139-143 (2012). doi:10.1289/ehp.1003195
  9. Webb, A.R., DeCosta, B.R., Holick, M.F.: Sunlight regulates the cutaneous production of vitamin D3 by causing its photodegradation. *J Clin Endocrinol Metab* **68**(5), 882-887 (1989). doi:10.1210/jcem-68-5-882
  10. Correa Mde, P.: Solar ultraviolet radiation: properties, characteristics and amounts observed in Brazil and South America. *An Bras Dermatol* **90**(3), 297-313 (2015). doi:10.1590/abd1806-4841.20154089

11. 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* **211**(4482), 590-593 (1981).
12. MacLaughlin, J., Holick, M.F.: Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest* **76**(4), 1536-1538 (1985). doi:10.1172/JCI112134
13. Bouillon, R.: How much vitamin D is needed for healthy bones? *J Intern Med* **282**(5), 461-464 (2017). doi:10.1111/joim.12677
14. Maeda, S.S., Kunii, I.S., Hayashi, L.F., Lazaretti-Castro, M.: Increases in summer serum 25-hydroxyvitamin D (25OHD) concentrations in elderly subjects in Sao Paulo, Brazil vary with age, gender and ethnicity. *BMC Endocr Disord* **10**, 12 (2010). doi:10.1186/1472-6823-10-12
15. Saraiva, G.L., Cendoroglo, M.S., Ramos, L.R., Araujo, L.M., Vieira, J.G., Kunii, I., Hayashi, L.F., Correa, M.P., Lazaretti-Castro, M.: Influence of ultraviolet radiation on the production of 25 hydroxyvitamin D in the elderly population in the city of Sao Paulo (23 degrees 34'S), Brazil. *Osteoporos Int* **16**(12), 1654 (2005). doi:10.1007/s00198-005-1895-3
16. : In: Ross, A.C., Taylor, C.L., Yaktine, A.L., Del Valle, H.B. (eds.) *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. Washington (DC) (2011)
17. 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., Endocrine, S.: Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* **96**(7), 1911-1930 (2011). doi:10.1210/jc.2011-0385

18. MCKINLAY, A.F.D., B.L.A: Reference action spectrum for ultraviolet-induced erythema in human skin. *CIE J.* **6**, 17-22 (1987).
19. McKenzie, R.L., Aucamp, P.J., Bais, A.F., Bjorn, L.O., Ilyas, M., Madronich, S.: Ozone depletion and climate change: impacts on UV radiation. *Photochem Photobiol Sci* **10**(2), 182-198 (2011). doi:10.1039/c0pp90034f
20. Fioletov, V.E., McArthur, L.J., Mathews, T.W., Marrett, L.: On the relationship between erythemal and vitamin D action spectrum weighted ultraviolet radiation. *J Photochem Photobiol B* **95**(1), 9-16 (2009). doi:10.1016/j.jphotobiol.2008.11.014
21. Wimalawansa, S.J.: Vitamin D in the new millennium. *Curr Osteoporos Rep* **10**(1), 4-15 (2012). doi:10.1007/s11914-011-0094-8
22. Silva, M.C., Furlanetto, T.W.: Intestinal absorption of vitamin D: a systematic review. *Nutr Rev* (2017). doi:10.1093/nutrit/nux034
23. Premaor, M.O., Alves, G.V., Crossetti, L.B., Furlanetto, T.W.: Hyperparathyroidism secondary to hypovitaminosis D in hypoalbuminemic is less intense than in normoalbuminemic patients: a prevalence study in medical inpatient southern Brazil. *Endocrine* **24**(1), 47-53 (2004). doi:10.1385/ENDO:24:1:0
24. Karohl, C., Su, S., Kumari, M., Tangpricha, V., Veledar, E., Vaccarino, V., Raggi, P.: Heritability and seasonal variability of vitamin D concentrations in male twins. *Am J Clin Nutr* **92**(6), 1393-1398 (2010). doi:10.3945/ajcn.2010.30176
25. Bahrami, A., Sadeghnia, H.R., Tabatabaeizadeh, S.A., Bahrami-Taghanaki, H., Behboodi, N., Esmaeili, H., Ferns, G.A., Mobarhan, M.G., Avan, A.: Genetic and epigenetic factors influencing vitamin D status. *J Cell Physiol* (2017). doi:10.1002/jcp.26216
26. Boyages, S., Bilinski, K.: Seasonal reduction in vitamin D level persists into spring

- in NSW Australia: implications for monitoring and replacement therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)* **77**(4), 515-523 (2012). doi:10.1111/j.1365-2265.2012.04398.x
27. Tran, B., Armstrong, B.K., McGeechan, K., Ebeling, P.R., English, D.R., Kimlin, M.G., Lucas, R., van der Pols, J.C., Venn, A., GebSKI, V., Whiteman, D.C., Webb, P.M., Neale, R.E.: Predicting vitamin D deficiency in older Australian adults. *Clin Endocrinol (Oxf)* **79**(5), 631-640 (2013). doi:10.1111/cen.12203
28. Matsuoka, L.Y., Wortsman, J., Hollis, B.W.: Use of topical sunscreen for the evaluation of regional synthesis of vitamin D<sub>3</sub>. *J Am Acad Dermatol* **22**(5 Pt 1), 772-775 (1990).
29. Barth, J., Gerlach, B., Knuschke, P., Lehmann, B.: Serum 25(OH)D<sub>3</sub> and ultraviolet exposure of residents in an old people's home in Germany. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* **9**(5), 229-231 (1992).
30. Vahavihu, K., Ylianttila, L., Kautiainen, H., Viljakainen, H., Lamberg-Allardt, C., Hasan, T., Tuohimaa, P., Reunala, T., Snellman, E.: Narrowband ultraviolet B course improves vitamin D balance in women in winter. *Br J Dermatol* **162**(4), 848-853 (2010). doi:10.1111/j.1365-2133.2010.09629.x
31. Bogh, M.K., Schmedes, A.V., Philipsen, P.A., Thieden, E., Wulf, H.C.: Interdependence between body surface area and ultraviolet B dose in vitamin D production: a randomized controlled trial. *Br J Dermatol* **164**(1), 163-169 (2011). doi:10.1111/j.1365-2133.2010.10082.x
32. Bogh, M.K., Schmedes, A.V., Philipsen, P.A., Thieden, E., Wulf, H.C.: A small suberythemal ultraviolet B dose every second week is sufficient to maintain summer vitamin D levels: a randomized controlled trial. *Br J Dermatol* **166**(2), 430-433 (2012). doi:10.1111/j.1365-2133.2011.10697.x
33. de Paula Correa, M., Ceballos, J.C.: Solar ultraviolet radiation measurements in

- one of the most populous cities of the world: aspects related to skin cancer cases and vitamin D availability. *Photochem Photobiol* **86**(2), 438-444 (2010). doi:10.1111/j.1751-1097.2009.00659.x
34. Manicourt, D.H., Devogelaer, J.P.: Urban tropospheric ozone increases the prevalence of vitamin D deficiency among Belgian postmenopausal women with outdoor activities during summer. *J Clin Endocrinol Metab* **93**(10), 3893-3899 (2008). doi:10.1210/jc.2007-2663
35. Moan, J., Dahlback, A., Porojnicu, A.C.: At what time should one go out in the sun? *Adv Exp Med Biol* **624**, 86-88 (2008). doi:10.1007/978-0-387-77574-6\_7
36. Seckmeyer, G., Glandorf, M., Wichers, C., McKenzie, R., Henriques, D., Carvalho, F., Webb, A., Siani, A.M., Bais, A., Kjeldstad, B., Brogniez, C., Werle, P., Koskela, T., Lakkala, K., Grobner, J., Slaper, H., denOuter, P., Feister, U.: Europe's darker atmosphere in the UV-B. *Photochem Photobiol Sci* **7**(8), 925-930 (2008). doi:10.1039/b804109a
37. Callegari, E.T., Garland, S.M., Gorelik, A., Reavley, N.J., Wark, J.D.: Predictors and correlates of serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in young women: results from the Safe-D study. *Br J Nutr* **118**(4), 263-272 (2012). doi:10.1017/S0007114517002021
38. Daly, R.M., Gagnon, C., Lu, Z.X., Magliano, D.J., Dunstan, D.W., Sikaris, K.A., Zimmet, P.Z., Ebeling, P.R., Shaw, J.E.: Prevalence of vitamin D deficiency and its determinants in Australian adults aged 25 years and older: a national, population-based study. *Clin Endocrinol (Oxf)* **77**(1), 26-35 (2012). doi:10.1111/j.1365-2265.2011.04320.x
39. Blum, M., Dolnikowski, G., Seyoum, E., Harris, S.S., Booth, S.L., Peterson, J., Saltzman, E., Dawson-Hughes, B.: Vitamin D(3) in fat tissue. *Endocrine* **33**(1),



90-94 (2008). doi:10.1007/s12020-008-9051-4

## 10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em nosso estudo realizamos uma coleta prospectiva, com medidas realizadas nos mesmos indivíduos nos 4 cortes transversais, em um período de 12 meses. Observamos que na região estudada existe uma variação sazonal dos níveis de 25(OH)D<sub>3</sub>, nessa amostra de indivíduos jovens e ativos, a prevalência de 25(OH)D<sub>3</sub> abaixo de 20ng/mL no final do verão e primavera foi nula ou baixa, no entanto, essa prevalência aumentou no final do outono e inverno. Já a prevalência de 25(OH)D<sub>3</sub> abaixo de 30ng/mL foi elevada em todas as estações do ano. O único fator associado de modo independente aos níveis séricos de 25(OH)D<sub>3</sub> foi a quantidade de UVB no período que antecedeu a coleta.

O presente estudo foi submetido para publicação no periódico *International Journal of Basic and Clinical Endocrinology (Endocrine)* com fator de impacto de 3.131 (2016), estando aguardando a avaliação pelos pares (ANEXO III).

## **11. PERSPECTIVAS FUTURAS**

Novos estudos devem ser realizados com medidas individuais da R-UV, e com avaliação dos fatores genéticos e dietéticos que poderiam contribuir para a variabilidade individual nos níveis séricos de 25(OH)D<sub>3</sub>.

## 12. ANEXOS

### 12.1 ANEXO I (TCLE)

#### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Prezado Sr:

Você está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa "***Influência da radiação ultravioleta nas diferentes estações do ano sobre os níveis séricos de 25-hidroxitamina D em uma população de policiais militares da cidade de Porto Alegre – Brasil***".

#### **Objetivos do projeto de pesquisa:**

O objetivo deste estudo é avaliar se o sol exerce uma influência na produção da vitamina D na região de Porto Alegre durante as diferentes estações do ano, já que a principal fonte desta vitamina é a exposição da pele à luz solar. Durante o verão existe uma maior incidência da radiação emitida pelo sol, enquanto que no inverno esta incidência é menor.

As fontes de vitamina D incluem alimentos, suplementos e exposição solar. A ingestão de vitamina D a partir de alimentos naturais é limitada, pois poucos alimentos contêm vitamina D, como peixes gordurosos, cogumelos, gema de ovo e fígado. A deficiência de vitamina D é uma condição altamente prevalente, podendo estar associada por exemplo com doenças ósseas.

#### **Procedimentos do estudo:**

Para sabermos se em nossa região existe uma influência das estações sobre a produção da vitamina D, caso aceite, realizaremos um questionário a fim de coletar informações quanto ao uso de medicações e possíveis doenças, questionário de alimentos que são consumidos pelo senhor, e uma coleta de sangue ao início de cada estação do ano (10 mL de sangue) em quatro visitas. Os horários para coleta serão conciliados de acordo com a sua disponibilidade, em cada visita você deverá dispor em média de 15 minutos do seu tempo.

A coleta de sangue será realizada por profissional capacitado para esta atividade. Os materiais serão todos descartáveis e a coleta será realizada na própria clínica. Com a amostra de sangue, faremos a dosagem dos níveis séricos de 25(OH)D, PTH, cálcio, creatinina, albumina.

#### **Benefícios, riscos e/ou desconfortos associados à participação no estudo**

A sua participação no estudo não trará benefícios diretos, porém contribuirá para o aumento do conhecimento sobre o assunto estudado e os resultados poderão auxiliar a realização de estudos futuros. Além disso, não são conhecidos riscos associados ao procedimento de coleta de sangue, podendo ocorrer eventualmente um certo desconforto no momento da coleta e a formação de um hematoma (roxo) que em dias desaparece.

#### **Voluntariedade:**

O Sr. é livre para decidir por participar ou não do estudo, caso opte ao longo do estudo, também, poderá desistir das coletas restantes não implicando em nenhum tipo de prejuízo para o senhor. Todas as informações obtidas estarão à sua disposição se assim desejar e o senhor será informado e orientado caso tenha deficiência de vitamina D.

**Ressarcimento:**

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação no estudo e o senhor não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

**Confidencialidade dos dados:**

Todos os resultados referentes à pesquisa serão utilizados para fins exclusivos de pesquisa, sendo resguardada sua total confidencialidade.

**Esclarecimentos e contatos:**

O pesquisador responsável por este Projeto é a Dra. Tania Weber Furlanetto, tendo como pesquisador participante o Tiago O. Fontanive. Caso tenhas dúvidas, as mesmas poderão ser esclarecidas antes e durante a pesquisa. Poderás entrar em contato pelo telefone 3359.8152 (serviço de endocrinologia do HCPA). O Comitê de Ética em Pesquisa poderá ser contatado para esclarecimento de dúvidas, através do telefone 51 3359-7640, das 8h às 17h, de segunda à sexta-feira.

Este termo será elaborado em duas vias, sendo uma delas entregue ao senhor e a outra mantida pelo grupo de pesquisa.

Nome do participante \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Nome do pesquisador \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Local e data: \_\_\_\_\_

## 12.2 ANEXO II

Nome:

Data de nascimento:

Idade:

Fototipo: ( ) FTZ I-II ( ) FTZ III-IV ( ) FTZ V-VI

Profissão:

Reside em Porto Alegre: ( ) Sim ( ) Não

Histórico Familiar de doenças:

Doenças associadas:

Peso e altura:

IMC:

Etilismo: ( ) Não ( ) Sim

Tabagismo: ( ) Não ( ) Sim

Exercício Físico: ( ) Não ( ) Sim

Medicamentos em uso:

Faz o uso diário de filtro solar ( ) Sim ( ) Não ( ) Mãos ( ) Colo ( ) Rosto

Suplemento de Vitamina D? ( ) Sim ( ) Não

Observações:

## 12.3 ANEXO III

Dear Dr Furlanetto,

Thank you for submitting your manuscript, The prevalence of vitamin D deficiency changes according to the season among young men in Southern Brazil, to Endocrine.

The submission id is: ENDO-D-17-01094  
Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript.

Your username is: taniafurlanetto  
If you forgot your password, you can click the 'Send Login Details' link on the EM Login page  
at <http://endo.edmgr.com/>

Should you require any further assistance please feel free to e-mail the Editorial Office by clicking on "Contact Us" in the menu bar at the top of the screen.

With kind regards,  
Springer Journals Editorial Office  
Endocrine

### 12.3 ANEXO IV (STROBE CHECKLIST)

Itens essenciais que devem ser descritos em estudos observacionais, segundo a declaração *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology* (STROBE), 2007.

Item	Página
Título e resumo	48-49
Introdução	50
Contexto/Justificativa	50
Objetivos	50
Métodos	51
Desenho do estudo	51
Contexto ( <i>setting</i> )	51
Participantes	51
Variáveis	51
Métodos estatísticos	54
Resultados	55
Participantes	55
Dados descritivos	55
Desfecho	55
Resultados principais	55-62
Discussão	62
Resultados principais	62
Limitações	66
Interpretação	67
Generalização	67
Outras informações, financiamento	66