



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

NÍVEIS PLASMÁTICOS DE PIVKA-II EM PACIENTES
COM HEPATITE AUTOIMUNE

Michelle de Oliveira Torres Sundell

Campinas, 2011



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Ciências Médicas

NÍVEIS PLASMÁTICOS DE PIVKA-II EM PACIENTES
COM HEPATITE AUTOIMUNE

Michelle de Oliveira Torres Sundell

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP para obtenção de título de Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente, área de concentração Saúde da Criança e do Adolescente. Sob orientação do Prof. Dr. Gabriel Hessel.

Campinas, 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
ROSANA EVANGELISTA PODEROSO – CRB8/6652
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

S72n Sundell, Michelle de Oliveira Torres, 1980 -
Níveis plasmáticos de pivka-II em pacientes com
hepatite autoimune. / Michelle de Oliveira Torres Sundell.
-- Campinas, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: Gabriel Hessel
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hepatite auto-imune. 2. Avaliação nutricional. 3.
Vitamina K. 4. Ingestão de alimentos. 5. Composição
corporal. I. Hessel, Gabriel. II. Universidade Estadual
de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III.
Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Plasma levels of pivka-II in patients with autoimmune hepatitis

Palavras-chave em inglês:

Hepatitis, autoimmune

Nutritional assessment

Vitamin K

Eating

Body composition

Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente

Titulação: Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente

Banca examinadora:

Gabriel Hessel [Orientador]

Júlia Laura Delbue Bernardi

Denise Aparecida Gonçalves de Oliveira

Data da defesa: 31-08-2011

Programa de Pós-Graduação: Faculdade de Ciências Médicas

Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado

Aluna Michelle de Oliveira Torres Sundell

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Hessel

Membros:	
Professor Doutor Gabriel Hessel	
Professora Doutora Júlia Laura Delbué Bernardi	
Professora Doutora Denise Aparecida Gonçalves de Oliveira	

Curso de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 31/08/2011

DEDICATÓRIA

*Ao meu amado esposo Philip pelo carinho,
incentivo e apoio para a realização deste
trabalho.*

Jag älskar dig!

AGRADECIMENTOS

A **Deus** pela concretização de mais um sonho e pelas pessoas maravilhosas que Ele colocou em meu caminho.

Ao **Dr. Gabriel Hessel** pela orientação na realização desta pesquisa, pela grande oportunidade de aprendizado, pelas palavras de sabedoria, pelos valiosos momentos de leitura, discussões e pelas sugestões apresentadas.

À **Dra. Elza Cotrim Soares** por abrir as portas do Laboratório de Hepatologia do Gastrocentro para a realização das análises.

À **Dra. Maria Marluce dos Santos Vilela** pela autorização na utilização dos equipamentos do Laboratório de Imunologia.

À bióloga **Natalícia Hifumi Hara** por todas as orientações nas análises e me acolher no Laboratório de Hepatologia com toda atenção.

À técnica em laboratório **Maria Cristina Fernandes Alvim** pelo auxílio nos procedimentos laboratoriais e por me acompanhar nas análises.

Ao **Dr. André Moreno Morcillo** pelo empréstimo da bioimpedância elétrica.

À **Dra. Lilia Freire Rodrigues de Souza Li** pela ajuda na seleção dos pacientes do Ambulatório de Adolescentes para o grupo controle.

Ao **Ronald Giarola** pelo tempo de estágio e ensino do método ELISA.

Aos **colegas** do mestrado pela companhia no decorrer da jornada.

À nutricionista **Dra. Margareth Lopes Galvão Saron** pelo incentivo ao crescimento da minha vida acadêmica e pela amizade ao longo destes anos.

À **minha família** pelo suporte necessário e presença em minha vida, principalmente minha querida mãe com todo o seu amor, cuidado e carinho.

À **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de mestrado.

À **FAEPEX** (Fundo de Apoio ao Ensino, à Pesquisa e Extensão) pelo apoio financeiro a esta pesquisa.

À **Cleide Aparecida Moreira Silva** do Serviço de Estatística da Câmara de Pesquisa da FCM, pela ajuda nas análises estatísticas apresentadas nesse estudo.

Aos **voluntários** em especial, porque sem eles nada seria possível.

E a **todos** que contribuíram de forma direta ou indireta, para a realização dessa pesquisa.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu. Há tempo de nascer e tempo de morrer; tempo de plantar e tempo de arrancar o que se plantou. Tempo de matar e tempo de curar; tempo de derrubar e tempo de edificar. Tempo de chorar e tempo de rir; tempo de prantear e tempo de dançar. Tempo de espalhar pedras e tempo de ajuntar pedras; tempo de abraçar e tempo de afastar-se de abraçar. Tempo de buscar e tempo de perder; tempo de guardar e tempo de lançar fora. Tempo de rasgar e tempo de coser; tempo de estar calado e tempo de falar. Tempo de amar e tempo de odiar; tempo de guerra e tempo de paz.”

Eclesiastes 3, 1-8

RESUMO	xxxix
ABSTRACT	xxxv
1. REVISÃO DA LITERATURA.....	39
1.1 Hepatite autoimune	41
1.2 Vitamina K.....	43
1.3 Sistema de coagulação	51
1.4 Protein Induced by Vitamin K Absence-PIVKA.....	53
1.5 Avaliação do estado nutricional.....	54
2. OBJETIVOS.....	57
2.1 Geral.....	59
2.2 Específicos	59
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	61
3.1 Casuística	63
3.1.1 Formação do grupo controle.....	64
3.2 Métodos	64
3.2.1 Classificação pelo método de Child-Pugh.....	64
3.2.2 Classificação quanto à presença ou ausência de colestase	65
3.2.3 Exames laboratoriais	65
3.2.4 Coleta de sangue.....	66
3.2.5 Determinação dos níveis plasmáticos de PIVKA-II.....	66
3.2.6 Avaliação antropométrica.....	68
3.2.7 Índices antropométricos	68

3.2.8	Medidas de composição corporal	68
3.2.9	Dobras cutâneas.....	70
3.2.10	Bioimpedância elétrica.....	70
3.2.11	Avaliação da ingestão alimentar.....	71
3.2.12	Análise estatística.....	72
4.	RESULTADOS.....	75
4.1	Dados da população	77
4.2	Dados clínicos.....	78
4.3	Medicamentos.....	79
4.4	Exames laboratoriais.....	80
4.5	Avaliação antropométrica.....	84
4.6	Avaliação da ingestão alimentar	86
4.7	Caso clínico.....	88
5.	DISCUSSÃO.....	91
6.	CONCLUSÕES.....	103
7.	REFERÊNCIAS.....	107
8.	ANEXOS.....	125
	ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	127
	ANEXO 2 – SISTEMA DE ESCORE PARA O DIAGNÓSTICO DE HAI.....	129
	ANEXO 3 – VALORES DE REFERÊNCIA ADOTADOS PELO LABORATÓRIO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNICAMP	131
9.	APÊNDICES.....	135
	APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – I.....	137
	APÊNDICE 2- DIÁRIO ALIMENTAR DE TRÊS DIAS	138

APÊNDICE 3 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – II...	142
APÊNDICE 4 - FICHA PARA COLETA DE DADOS.....	143
APÊNDICE 5 – Tabela 6.....	147
APÊNDICE 6 – Tabela 7.....	148
APÊNDICE 7 – Tabela 9.....	149
APÊNDICE 8 – Tabela 10.....	150

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Teor de filoquinona em hortaliças e óleos.....	44
Tabela 2 – Teor de filoquinona e menaquinona (MK ₄) em carnes.....	45
Tabela 3 – Recomendações nutricionais de vitamina K (µg/dia) para lactentes, crianças, adolescentes e adultos de acordo com o IOM (2001).....	51
Tabela 4 – Classificação de Child-Pugh.....	65
Tabela 5 – Distribuição dos pacientes com HAI conforme o sexo e o tipo da doença	77
Tabela 6 – Discriminação e porcentagem das doenças extra-hepáticas apresentadas pelos pacientes com HAI.	147
Tabela 7 – Discriminação e porcentagem das doenças hepato-gastrointestinais.	148
Tabela 8 – Esquema terapêutico imunossupressor dos pacientes com HAI.	79
Tabela 9 – Medicamentos prescritos aos pacientes com HAI devido às doenças concomitantes.	149
Tabela 10 – Vitaminas e minerais prescritos aos pacientes com HAI	150
Tabela 11 – Comparação dos exames laboratoriais do grupo HAI e controle	81
Tabela 12 – Resultados dos exames complementares dos pacientes com HAI (n=29)	83
Tabela 13 – Índices antropométricos dos pacientes com HAI, gênero masculino (n=7) e feminino (n=22), em escore Z calculado pelo programa AntroPlus da WHO (2007)	84
Tabela 14 – Distribuição da %GC pela bioimpedância elétrica, MLG e ACT nos pacientes com HAI (n=29)	85
Tabela 15 – Comparação da PIVKA-II com as variáveis IMC/I, % GC-BIA, CB e PCT nos pacientes com HAI (n=29)	86

Tabela 16 – Média da ingestão energética de acordo com a faixa etária no gênero masculino e feminino e a média da recomendação para o grupo pelo IOM (2005).	87
Tabela 17 – Distribuição percentual de carboidrato, proteína e lipídio no gênero masculino e feminino (n=28).	88

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A/I	Altura para Idade
AI	<i>Adequate Intake</i>
ACT	Água Corporal Total
ALB	Albumina
ALT	Alanina Aminotransferase
ANA	Anticorpos Antinucleares
anti-LC-1	Anticitosol Hepático Tipo 1
anti-LKM1	Anticorpo Antimicrosomal Fígado/Rim Tipo 1
anti-SLA/LP	Antígeno Hepático Solúvel/Antifígado-Pâncreas
AP	Atividade de Protrombina
AST	Aspartato Aminotransferase
BD	Bilirrubina Direta
BI	Bilirrubina Indireta
BT	Bilirrubina Total
CB	Circunferência do Braço
cm	Centímetros
CMB	Circunferência Muscular do Braço
COL	Colesterol Total
DCP	<i>Des-Gamma-Carboxy (Abnormal) Prothrombin</i>
DCSE	Dobra Cutânea Subescapular
DCT	Dobra a Cutânea Tricipital
DEXA	<i>Dual Energy X-Ray Absorptiometry</i>
DRI	<i>Dietary Reference Intakes</i>
EAR	<i>Estimated Average Requirement</i>
EER	<i>Estimated Energy Requeriments</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FALC	Fosfatase Alcalina

FCM	Faculdade de Ciências Médicas
FNB	<i>Food and Nutrition Board</i>
GC	Gordura Corporal
GGT	Gama-glutamyltransferase
Gla	Ácido Gama-Carboxiglutâmico
Glu	Ácido Glutâmico
HAI	Hepatite Autoimune
HC	Hospital de Clínicas
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HMG	Hemograma Completo
IAIHG	<i>International Autoimmune Hepatitis Group</i>
IMC	Índice de Massa Corporal
IMC/I	IMC para Idade
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
ISI	Índice de Sensibilidade Internacional
K ₁	Filoquinona
K ₂	Menaquinona
K ₃	Menadiona
Kcal	Quilocalorias
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
mL	Mililitro
MLG	Massa Livre de Gordura
MS	Ministério da Saúde
NCHS	<i>National Center for Health Statistics</i>
P/A	Peso por Altura
P/I	Peso por Idade
PIVKA-II	<i>Protein Induced by Vitamin K Absence (factor II)</i>
QFA	Questionário de Frequência Alimentar
R	Razão (TP do paciente/TP controle)

RDA	<i>Recommended Dietary Allowance</i>
RNI	Relação Normatizada Internacional (da Atividade De Protrombina)
SMA	Anticorpo antimúsculo Liso
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEE	<i>Total Energy Expenditure</i>
TP	Tempo de Protrombina
TPAP	Tempo de Protrombina e Atividade de Protrombina
TRIG	Triglicérides
TT	Tempo de Trombina
TTPA	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada
ucOc	<i>Undercarboxylated Osteocalcin</i>
UL	<i>Tolerable Upper Intake Level</i>
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade
WHO	<i>World Health Organization</i>
%	Porcentagem
<	Menor
>	Maior
≤	Menor ou igual
≥	Maior ou igual
®	Marca registrada

RESUMO



A hepatite autoimune (HAI) é uma doença inflamatória do fígado de etiologia desconhecida. As crianças e os adolescentes com doença hepática crônica têm o risco de desenvolver deficiência de vitamina K devido à má-absorção de lipídios e a ingestão dietética inadequada. A vitamina K é uma vitamina lipossolúvel que está envolvida no processo de coagulação sanguínea e no metabolismo ósseo. Como tem sido difícil tecnicamente a mensuração de vitamina K no plasma, alguns pesquisadores têm proposto a determinação de algumas proteínas descarboxiladas, incluindo a PIVKA-II (*Protein Induced by Vitamin K Absence*). Esta pesquisa teve por finalidade determinar os níveis plasmáticos de PIVKA-II em crianças e adolescentes com HAI; comparar com o grupo controle e correlacionar os resultados com o estado nutricional, ingestão dietética e alguns exames laboratoriais: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FALC), gama-glutamilttransferase (GGT), Razão Normalizada Internacional (RNI) e Razão (R). O estudo foi transversal e controlado. Participaram do estudo 29 pacientes com HAI de ambos os gêneros atendidos no Ambulatório de Hepatologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, com idades entre 8 a 18 anos e um grupo controle, pareado por gênero e idade, constituído por 32 participantes. Para a dosagem plasmática de PIVKA-II, solicitou-se a coleta de 3,5 mL de sangue, foi utilizado o *kit* comercial Asserachrom® PIVKA-II (*Diagnostica Stago, France*). Na avaliação do estado nutricional foram empregados os índices antropométricos altura para idade (A/I) e índice de massa corporal para idade (IMC/I), porcentagem de gordura corporal calculada pela bioimpedância elétrica e pelas dobras cutâneas, circunferência muscular do braço (CMB), área muscular do braço (AMB) e área adiposa do braço (AAB). A ingestão alimentar dos pacientes foi avaliada pelo preenchimento do diário alimentar de três dias. Na análise estatística utilizou-se o teste de Mann-Whitney, teste Qui-quadrado, coeficiente de correlação de Spearman e o coeficiente Kappa, sendo adotado nível de significância de 5%. Houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$) para os exames plaquetas, R, RNI, Atividade de Protrombina (AP), Tempo de Protrombina (TP), ALT, AST e GGT entre os pacientes com HAI e grupo controle. A média do nível plasmático de PIVKA-II no grupo de HAI foi $1,34 \pm 0,43$ ng/mL e no grupo controle $1,17 \pm 0,40$ ng/mL, sem diferença estatisticamente significativa. Porém, ao comparar a PIVKA-II entre os 16 pacientes que não fizeram uso de vitamina K

(Kanakion®) ($1,39 \pm 0,34$) com o grupo controle ($1,17 \pm 0,40$), obteve-se diferença significativa ($p=0,043$). Concluiu-se que cerca de 2/3 pacientes estavam eutróficos, 1/3 com excesso de peso e não houve pacientes desnutridos. Na ingestão dietética, observou-se que a ingestão média de carboidratos, proteínas e lipídios se situaram dentro dos valores recomendados. A PIVKA-II apresentou relação estatisticamente significativa com os parâmetros antropométricos PCT, IMC, CB e AAB, sendo mais elevada nos pacientes com maior valor de gordura corporal.

Palavras chave: Hepatite Autoimune, Avaliação Nutricional, Vitamina K, Ingestão de Alimentos, Composição Corporal, Criança, Adolescente.

ABSTRACT



Autoimmune hepatitis (AIH) is an inflammatory liver disease of unknown etiology. Children and adolescents with chronic liver disease are at risk of developing vitamin K deficiency due to malabsorption of lipids and inadequate dietary intake. The fat-soluble vitamin K is involved in blood coagulation and bone metabolism. As it is technically difficult to measure vitamin K in plasma, some authors have suggested the use of some decarboxylated proteins including PIVKA-II (Protein Induced by Vitamin K Absence). This research aimed to determine plasma PIVKA-II levels in children and adolescents with AIH and compare them with the control group, correlated to nutritional state, dietary intake and some laboratory examinations: aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyltransferase (GGT), international normalized ratio (INR) and ratio (R). The study, which was cross-sectional matching gender and age, compared 29 AIH patients between 8 and 18 years at the Pediatric Hepatology Department at the Medical School Hospital of the University of Campinas (Unicamp) with 32 control participants. 3.5 ml of blood was collected in order to measure the plasma PIVKA-II levels using the commercial kit Asserachrom® PIVKA-II (Diagnostica Stago, France). Anthropometric indices height for age (H/A) and body mass index for age (BMI/A), percentage of body fat calculated by bioelectrical impedance and by skinfold thickness, mid-arm circumference (MAC), mid-arm muscle area (MAMA) and mid-arm fat area (MAFA) were used to assess the nutritional status. A three-day food diary was used to assess the patient food intake. The statistical analysis used the Mann-Whitney, chi-square test, Spearman correlation coefficient and kappa coefficient, with a significance level of 5%. The difference between the AIH patients and the control group was statistically significant ($p < 0.01$) for the platelets, R, INR, Prothrombin Activity (PA), Prothrombin Time (PT), ALT, AST and GGT. The mean plasma PIVKA-II level was 1.34 ± 0.43 ng/mL in the AIH group and 1.17 ± 0.40 ng/mL in the control group, with no difference statistically significant. However, the PIVKA-II level was significant different ($p = 0.043$) between the 16 patients without vitamin K administration of Konakion® (1.39 ± 0.34) and the control group (1.17 ± 0.40). It was concluded that around 2/3 patients were eutrophic, 1/3 overweight and none malnourished, with average dietary intake of carbohydrate, protein and lipid within the recommendations. AIH patients with higher body

fat showed statistically significant higher PIVKA-II levels when sorted by triceps skinfold thickness (TSF), BMI, MAC and MAFA.

Keywords: Autoimmune Hepatitis, Nutrition Assessment, Vitamin K, Eating, Body Composition, Child, Adolescent.

REVISÃO DA LITERATURA



1.1 Hepatite autoimune

A hepatite autoimune (HAI) é uma doença inflamatória do fígado, de etiologia desconhecida. A lesão hepática decorre de uma resposta autoimune a antígenos tissulares próprios do hospedeiro, levando a danos celulares irreversíveis. É caracterizada pela presença de hipergamaglobulinemia, autoanticorpos circulantes não órgãos específicos e alterações histológicas como infiltrado inflamatório linfoplasmocitário, hepatite por interface e rosetas de hepatócitos (Johnson et al., 1993; Czaja e Freese, 2002). A HAI acomete mais o gênero feminino, na proporção de aproximadamente 4:1 (Czaja et al., 1998). Todos os grupos étnicos são susceptíveis à doença que pode surgir em qualquer faixa etária com dois picos de maior incidência, sendo dos 10 aos 30 anos e na pós-menopausa (Czaja e Freese, 2002; Feld e Heathcote, 2003; Krawitt, 2006).

Em 1950, o sueco Waldenström fez a primeira descrição de hepatite crônica em mulheres jovens, caracterizada por icterícia, hipergamaglobulinemia e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. Kunkel e col. (1950) assim como Bearn e col. (1956) descreveram outras características da doença, incluindo hepatoesplenomegalia, acne, febre, icterícia, hirsutismo, fâcies cushingóide, artrite e amenorreia (*apud* Manns e Strassburg, 2001; Reuben, 2003).

Em 1955, Joske e King relataram uma semelhança da doença ao lúpus eritematoso sistêmico devido às manifestações clínicas e à associação com anticorpos antinucleares (ANA). No ano seguinte, Mackay e col. propuseram o termo hepatite lupóide para a doença. A doença teve várias denominações, em 1966 Whittingham e col. propuseram hepatite autoimune após a identificação do anticorpo antimúsculo liso (SMA) (*apud* Fulton e McCann, 1976; Johnson, 1991; Ludwig et al., 1994; Reuben, 2003).

Em 1993, um grupo formado por médicos e patologistas com interesse na investigação da doença, se reuniu no Reino Unido para rever o critério de diagnóstico da doença criando-se o *International Autoimmune Hepatitis Group* (IAIHG). Esse grupo propôs para a doença, a terminologia hepatite autoimune, devido ao uso de várias terminologias inadequadas (Johnson, 1993).

A HAI não apresenta marcadores bioquímicos específicos para definir o seu diagnóstico. O diagnóstico é definido por uma combinação de achados clínicos, laboratoriais, histológicos, epidemiológicos, resposta terapêutica e com exclusão de outras possíveis doenças hepáticas como a doença de Wilson, deficiência de alfa 1-antitripsina, hemocromatose, lesões induzidas por droga, doença hepática gordurosa não alcoólica, hepatopatia alcoólica, colangite esclerosante e hepatites virais A, B e C (Strassburg e Manns, 2002; Lemos, 2007). A biópsia hepática é essencial para avaliar a gravidade da doença (Czaja, 1981).

O primeiro sistema de escore com os critérios diagnósticos foi proposto pelo IAIHG em 1993 e posteriormente foi revisto em 1999. Esse escore estabelece uma pontuação que classifica o diagnóstico em provável ou definitivo (Anexo 1) (Johnson et al., 1993; Alvarez et al., 1999).

A fisiopatogenia da HAI não está bem definida, sendo a hipótese mais aceita é a de uma complexa interação entre agente desencadeador, predisposição genética, auto antígenos e falha no mecanismo da imunorregulação. Vários agentes têm sido implicados como desencadeadores da doença, incluindo os vírus das hepatites A, B e C, vírus do sarampo, Epstein-Barr, citomegalovírus e certas drogas como a nitrofurantoína e minociclina (Czaja, 2001; Czaja e Freese, 2002; Krawitt, 2006).

Para a classificação da HAI foram feitas várias propostas baseada em diferentes autoanticorpos, mas a proposta mais aceita é a classificação em dois tipos: HAI tipo 1 que é a forma mais comum da doença mundialmente, sendo caracterizada pela presença do SMA, particularmente o anticorpo antiactina (AAA), que pode estar associado ou não a anticorpos antinucleares e a HAI tipo 2 que é caracterizada pela presença de anticorpo antimicrosomal fígado/rim tipo 1 (anti-LKM1) que pode estar associado ou não à presença do anticitosol hepático tipo 1 (anti LC-1) (Homberg et al., 1987; Martini et al., 1988; McFarlane, 1998).

Outros autores acrescentam um terceiro tipo caracterizado pela presença do antígeno hepático solúvel/antifígado-pâncreas (anti-SLA/LP). No entanto, 74% desses pacientes também apresentam marcadores sorológicos positivos da HAI tipo 1 e um quadro

clínico semelhante quanto ao sexo, idade, frequência e resposta terapêutica aos corticosteroides (Mackay, 1983; Manss et al., 1987).

O tratamento da HAI é realizado por imunossuppressores com a finalidade de induzir à remissão completa da doença. O esquema terapêutico mais empregado é a associação de prednisona com a azatioprina, sendo que a maioria dos pacientes tem uma boa resposta a esse tratamento (Czaja e Freese, 2002; Czaja, 2002). A prednisona apresenta vários efeitos colaterais, e o seu uso prolongado pode provocar ganho de peso, repercussão no crescimento, osteopenia, hipertensão arterial e diabetes mellitus. A associação tem por objetivo principal minimizar os efeitos colaterais, pois permite reduzir a dose do corticoide no tratamento a longo prazo.

1.2 Vitamina K

A vitamina K é uma vitamina lipossolúvel, que possui um núcleo 2-metil-1,4-naftoquinona. Esse núcleo é encontrado tanto na forma natural quanto na forma sintética da vitamina. O termo “vitamina K” é utilizado de forma generalizada para todas as formas. A descoberta da deficiência vitamínica ocorreu em 1929 por Henrik Dam em Copenhague, quando observou em seu estudo sobre o metabolismo de esterol, que galinhas alimentadas com rações isentas de gordura apresentavam hemorragias musculares. Com essa observação descobriu-se que o fator anti-hemorrágico era lipossolúvel (Dam, 1929; *apud* Van Winckel et al., 2009).

Em 1934, Dam descobriu que nenhuma das vitaminas já estabelecidas (A, D e E) poderia prevenir a doença hemorrágica, portanto, se tratava de uma nova vitamina que foi denominada *Koagulations-Vitamin*, que posteriormente passou a ser reconhecida como vitamina K (Dam, 1935). Nesta época, apenas duas proteínas envolvidas no processo de coagulação sanguínea haviam sido identificadas, a protrombina e o fibrinogênio (Suttie, 1990). A análise laboratorial do plasma de galinhas com doença hemorrágica mostrou uma ausência da atividade de protrombina plasmática (Dam et al., 1936).

Em 1935, foi descoberto que pacientes com icterícia apresentavam episódios de sangramento constantes, esses episódios foram atribuídos à falta de protrombina plasmática (Quick et al., 1935).

Entre a descoberta da deficiência da vitamina K e o seu isolamento e determinação estrutural foram 10 anos de pesquisas. Em 1939, Dam e col. assim como Doisy e col. isolaram a vitamina filoquinona (K_1) da alfafa e sua estrutura foi identificada como 2-metil-3-fetil-1,4-naftoquinona (*apud* Doisy et al., 1941; Suttie, 1990; Olson 1999). A filoquinona é a principal fonte de vitamina K na dieta, está presente principalmente em hortaliças verdes e em menores concentrações nos óleos vegetais. A tabela 1 apresenta os valores de filoquinona em algumas hortaliças e óleos, conforme a tabela de composição química dos alimentos fornecida pelo *United States Department of Agriculture* (USDA).

Tabela 1 – Teor de filoquinona em hortaliças e óleos.

Alimento	Quantidade de filoquinona ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
Acelga crua	830.0
Agrião cru	250.0
Alface	126.3
Azeite	60.2
Couve cozida	817.0
Couve crua	817.0
Espinafre cozido	493.6
Espinafre cru	482.9
Óleo de canola	71.3
Óleo de soja	183.9
Salsa	1640.0

Fonte: *United States Department of Agriculture* (USDA).

Em peixe putrefato foi identificada uma forma semelhante à vitamina K_1 , denominada vitamina menaquinona (K_2) que apresenta um aspecto de produto cristalino,

enquanto que a filoquinona mostrava um aspecto de óleo amarelo (Mackee et al., 1939; Doisy et al., 1941; Binkley et al., 1939). As menaquinonas (MK_n) são sintetizadas por bactérias e formam um grupo de compostos com diferentes unidades isoprênicas que variam em comprimento. Fígados de diversas espécies animais e determinados queijos são boas fontes de ampla variedade de menaquinonas. O fígado humano contém armazenado cerca de 10 vezes mais a forma menaquinona do que a filoquinona (Shearer, 1995). A tabela 2 apresenta o teor de filoquinona e menaquinona (MK₄) em diferentes carnes.

Tabela 2 – Teor de filoquinona e menaquinona (MK₄) em carnes.

Alimento	Filoquinona (µg/100g)	MK₄ (µg/100g)
Bife de carne moída, baixo teor de gordura, cru	0.9	4.9
Bife de carne moída, baixo teor de gordura, grelhado	1.2	1.7
Bife de carne moída, alto teor de gordura, grelhado	2.1	5.1
Bife de fígado bovino, cru	3.1	0.4
Bife de fígado bovino, frito	3.9	0.4
Salsicha <i>Hot Dog</i> (crua e cozida)	4.3	5.7
Fígado galinha, cru	ND	14.1
Fígado galinha, frito	ND	12.6

Fonte: adaptado de Elder e col. (2006); ND: não detectável.

A vitamina K possui várias formas sintéticas. O composto sintético menadiona (K₃) não possui cadeia lateral, porém pode ser alquilado no fígado para produzir menaquinonas; a menadiona é biologicamente duas vezes mais potente do que as formas

naturais da vitamina K (Booth et al., 1999). A vitamina K também pode ser disponibilizada na forma hidrossolúvel, como o difosfato sódico de menadiol (K₄) para tratamento terapêutico. As formas derivadas do composto K₃, como a vitamina K₄, K₅, K₆ e K₇, são utilizadas em larga escala por várias áreas na indústria. As indústrias de ração utilizam a K₃ para obter benefícios para a saúde do animal e a K₅ para inibir o crescimento de fungos (Kurosu e Begari, 2010). O difosfato sódico de menadiol é 50% menos potente que a menadiona (Lacy et al., 2009).

A elucidação do papel metabólico da vitamina K só ocorreu em 1974, quando o ácido gama-carboxiglutâmico (Gla) foi encontrado nas proteínas dependentes de vitamina K (Stenflo et al., 1974). A vitamina K tem o papel biológico de cofator para a reação de carboxilação que transforma resíduos específicos do ácido glutâmico (Glu) em resíduos Gla, atuando como uma coenzima durante a síntese de várias proteínas envolvidas na coagulação sanguínea e no metabolismo ósseo. Existem diversas evidências de que a vitamina K é importante tanto no desenvolvimento precoce do esqueleto, quanto na manutenção do osso maduro sadio, sendo necessária para a carboxilação da osteocalcina, proteína da matriz óssea essencial no metabolismo ósseo (Hauschaka et al., 1975; Prince, 1988; Shearer, 1995).

O Gla é liberado durante o catabolismo das proteínas dependentes de vitamina K e excretado na urina sem alterações. Na ocorrência de deficiência de vitamina K, as proteínas dependentes dessa vitamina são sintetizadas com um número reduzido de resíduos Gla, podendo a excreção de Gla ser medida como um índice do catabolismo dessas proteínas, mas são necessários vários dias para observar alterações na excreção (Shearer, 1995). Suttie e col. (1988) realizaram um estudo com dez homens de 20 a 35 anos para avaliar a excreção de Gla. Durante os sete primeiros dias, os pacientes mantiveram uma alimentação habitual, com a mediana de ingestão de filoquinona 82 µg/dia (1,02 µg/Kg). Por 21 dias, os pesquisadores eliminaram as principais fontes de vitamina K da dieta, sendo a mediana de filoquinona 40 µg/dia (0,61 µg/Kg). Os pacientes foram divididos entre dois grupos e cada grupo recebeu uma suplementação com 50 e 500 µg de filoquinona por 12 dias. Em seguida, todos receberam uma dose diária de 1 mg de vitamina K por sete dias. A

restrição alimentar de vitamina K diminuiu a excreção urinária de Gla em 22% após 3 semanas e voltou aos valores normais 12 dias após a suplementação.

Outros indicadores podem ser utilizados para identificar a deficiência da vitamina K, como a dosagem dos níveis plasmáticos de filoquinona, porém este método não é considerado como um marcador sensível, pois reflete a ingestão recente ao invés dos estoques (Sokoll et al., 1997).

A atividade do fator VII (pró-convertina) foi testada por Allison e col. (1987) para avaliar os níveis de vitamina K. Os pesquisadores observaram que indivíduos saudáveis em uso de antibióticos e com uma dieta com baixo teor de filoquinona (< 5 µg/dia) por duas semanas, apresentaram redução do fator VII. No entanto, na ausência do tratamento com antibióticos, a atividade do fator VII não demonstrou ser um indicador sensível às alterações na ingestão de vitamina K.

A dosagem da osteocalcina (*undercarboxylated Osteocalcin* - ucOc) e da *Protein Induced by Vitamin K Absence* (PIVKA-II) seriam outras opções, além dos métodos laboratoriais tradicionais, para determinação indireta da vitamina K como o tempo de protrombina (TP).

A absorção da vitamina K depende de uma quantidade mínima de lipídios, sais biliares e suco pancreático para efetividade máxima (Gallagher, 2005). Shearer e col. (1974) compararam a absorção da filoquinona radioativa em sujeitos normais com pacientes que apresentavam absorção prejudicada de lipídios devido à colestase obstrutiva, insuficiência pancreática ou doença celíaca. Em sujeitos normais, menos de 20% da dose administrada de 1mg de filoquinona foi excretada nas fezes, enquanto que nos pacientes, 70 a 80% da filoquinona ingerida foi excretada de forma inalterada.

A filoquinona fornecida pela dieta é absorvida por um processo dependente de energia na porção proximal do intestino delgado durante a digestão de lipídios (Hollander, 1973). A vitamina é incorporada aos quilomícrons nas células da mucosa intestinal e transportada ao fígado pelo sistema linfático. A filoquinona circula em todas as frações de lipoproteínas, principalmente a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) que

transporta cerca de 50% da filoquinona plasmática enquanto a lipoproteína de baixa densidade (LDL) e a lipoproteína de alta densidade (HDL) são responsáveis cada uma pelo transporte de aproximadamente 25% da filoquinona (Kohlmeier et al., 1996). Quando a filoquinona marcada isotopicamente é administrada em seres humanos oralmente, a vitamina aparece no plasma dentro de 20 minutos, com pico em 2 horas; a seguir, declina exponencialmente a baixos valores, durante 48-72 horas (Olson, 1999).

As menaquinonas são sintetizadas por bactérias intestinais gram-positivas, tais como *Escherichia coli* e *Bacteroides fragilis*, no intestino delgado distal e cólon. Nessas partes do trato digestório, a concentração de ácidos biliares é baixa ocorrendo absorção por difusão passiva (Gallagher, 2005; Biesalski, 2007). Pensava-se que até 50% da necessidade de vitamina K era suprida pela síntese bacteriana, sabe-se que essa contribuição é muito menor, embora a contribuição exata ainda não tenha sido definida (Suttie, 1995).

A biodisponibilidade de vitamina K na dieta está mais relacionada à filoquinona das plantas e às menaquinonas dos alimentos de origem animal, pois as menaquinonas produzidas pela flora bacteriana são muito difíceis de serem avaliadas (Bates e Hesecker, 1994). Birgit e col. (1996) realizaram um estudo para avaliar a absorção de vitamina K em seres humanos e observaram que o nível plasmático de filoquinona é influenciado pela forma de consumo da vitamina. Os participantes receberam uma dose de 1 mg de filoquinona pela administração via oral da forma farmacêutica Kanakion®, ou pela ingestão de espinafre cozido (227g) com manteiga (25g) ou pela ingestão de espinafre cozido puro (227g). Os resultados desse estudo mostraram que a filoquinona presente no espinafre (com e sem manteiga) apresentou-se menos biodisponível que a forma farmacêutica, com uma absorção cerca 1,5 vezes menor. Por outro lado, a filoquinona consumida no espinafre com manteiga apresentou biodisponibilidade 3 vezes maior do que a consumida no espinafre puro, sugerindo que existem grandes diferenças entre absorção intestinal e biodisponibilidade da vitamina K de diferentes alimentos.

A filoquinona presente nos óleos vegetais é estável ao calor, mas é destruída pela luz, tanto natural quanto fluorescente, o óleo de canola perde 87% da filoquinona após ser exposto por dois dias à luz solar (Ferland e Sadowsky, 1992).

A vitamina K pode sofrer interação com anticoagulantes orais, como os derivados do 4-hidroxicoumarin, que são utilizados na prevenção de trombose. Essas drogas afetam a enzima epóxido redutase, impedindo a conversão da 2,3 epóxido para a forma ativa hidronaftoquinona. Alterações na ingestão de vitamina K podem, entretanto, influenciar a eficácia da varfarina, mas como a dose eficaz desse medicamento varia muito de indivíduo para indivíduo, uma vez estabelecida a dose, o monitoramento pode evitar complicações resultantes de variações na ingestão de vitamina K, podendo o paciente manter seus hábitos alimentares normais (Booth et al., 1997).

A deficiência de vitamina K pode ocorrer em qualquer faixa etária. Há vários relatos na literatura sobre a doença hemorrágica do recém-nascido (Lane e Hathaway, 1985; Matsuda et al. 1991; von Kries et al. 1993) que pode ocorrer logo nos primeiros dias de vida, principalmente em prematuros, ou em crianças em aleitamento materno exclusivo. É recomendado que recém-nascidos recebam uma dose profilática de 0,5 a 1,0 mg de vitamina K intramuscular, ou 2,0 mg via oral nas primeiras 6 horas após o parto (Greer, 1995).

Indivíduos que fazem uso de antibióticos de largo espectro, nutrição parenteral total, que apresentam doenças hepáticas, câncer, problemas gastrointestinais e má absorção, estão sob o risco de desenvolverem deficiência da vitamina K (Olson, 1999). No entanto, em adultos saudáveis é rara a ocorrência de uma deficiência grave devido apenas à baixa ingestão dietética (Allison et al., 1987). Estudos têm demonstrado uma correlação entre baixa ingestão de vitamina K e diminuição da densidade mineral óssea em adultos e idosos. Adicionalmente, há uma correlação inversa entre ingestão de vitamina K e risco de fraturas (Feskanich et al., 1999; Booth et al., 2000; Booth et al., 2003).

As recomendações mais recentes para a ingestão de vitamina K foram estabelecidas pela *Food and Nutrition Board* (FNB) do *Institute of Medicine* (IOM, 2001) (Tabela 3). Essas recomendações têm como base os níveis de consumo de indivíduos saudáveis e para lactentes, os níveis de vitamina K no leite materno. Para a vitamina K tem estabelecido apenas os valores para uma ingestão adequada (*Adequate Intake* - AI). O AI é o valor médio de ingestão diária de um nutriente cujos estudos disponíveis não permitiram

o estabelecimento de RDA (*Recommended Dietary Allowance*) e EAR (*Estimated Average Requirement*), mas a observação de consumo e/ou de dados experimentais possibilitou recomendá-lo. Quando não há RDA e EAR de um determinado nutriente, utiliza-se a AI como meta de ingestão. Para a vitamina K também não há a determinação sobre o nível máximo de ingestão diária tolerável biologicamente UL (*Tolerable Upper Intake Level*). Deve-se lembrar de que o UL se refere à ingestão de alimentos fonte do nutriente, pois a menadiona administrada em doses elevadas é potencialmente tóxica, devendo ser utilizada com cautela (Bates e Heseke, 1994). Há uma diferença na recomendação diária para adultos entre o gênero masculino e feminino, essa diferença se deve à ação do estrogênio na absorção da vitamina (Jolly et al. 1977). Análise de estudos sobre requerimento de vitamina K para o metabolismo ósseo tem sugerido que o requerimento de vitamina K seja maior do que o necessário para manter a hemostasia normal, portanto, a recomendação de vitamina K deva ser maior do que as recomendações atuais (Weber, 1997).

Tabela 3 – Recomendações nutricionais de vitamina K ($\mu\text{g}/\text{dia}$) para lactentes, crianças, adolescentes e adultos de acordo com o IOM (2001).

Ciclo de vida	Faixa etária	Gênero masculino ($\mu\text{g}/\text{dia}$)	Gênero feminino ($\mu\text{g}/\text{dia}$)
Lactentes	0-6 meses	2	2
	7- 12 meses	2.5	2.5
Crianças	1-3 anos	30	30
	4-8 anos	55	55
	9-13 anos	60	60
Adolescentes	14-18 anos	75	75
Adultos	> 19 anos	120	90
Gravidez	< 18 anos	-	75
	> 19 anos	-	90
Lactação	< 18 anos	-	75
	> 19 anos	-	90

* IOM -*Institute of Medicine*.

1.3 Sistema de coagulação

O sistema de coagulação sanguínea consiste em uma série de reações em cadeia uma dependente da outra (cascata da coagulação), desencadeadas pela ação de diversas enzimas endopeptidases denominadas de fatores da coagulação, que estão presentes nas formas de proenzimas e enzimas (Amorim, 2000).

O fígado exerce um papel de grande importância na cascata da coagulação, praticamente todos os fatores da coagulação e seus inibidores são produzidos pelos hepatócitos, sendo responsável, por exemplo, pela produção do fator I (fibrinogênio), fator II (protrombina), fator VII (pró-convertina), fator IX (*Christmas*) e fator X (*Stuart-Prower*). Todos estes fatores com exceção do fibrinogênio são dependentes de vitamina K para a

síntese, assim como os anticoagulantes, proteína C e proteína S. (Sherlock et al., 1970; Gomes et al., 1974). Os fatores da coagulação dependentes da vitamina K (II, VII, IX e X) e as proteínas anticoagulantes C e S, são precursores inativos, que necessitam passar por uma etapa de carboxilação no resíduo Glu na porção amino-terminal, levando à formação do Gla. A carboxilação capacita as proteínas da coagulação a se ligarem ao cálcio (Ca^{2+}), permitindo, assim, sua interação com os fosfolípidos das membranas de plaquetas e células endoteliais, possibilitando o processo normal da coagulação sanguínea. Essa carboxilação é realizada pela enzima gama-glutamil carboxilase que utiliza a vitamina K em sua forma reduzida como cofator, toda vez que um resíduo de Glu é carboxilado, a vitamina K é oxidada, originando 2,3 epóxido de vitamina K. Esse metabólito é convertido novamente à sua forma ativa hidroquinona pela ação da enzima epóxido redutase de vitamina K, tornando-a disponível para novos processos de carboxilação. Os anticoagulantes cumarínicos inibem a ação da epóxido redutase e também inibem a carboxilação das proteínas C, S e Z, que são os principais anticoagulantes naturais (Wessler e Gitel, 1984; Shearer, 1995; Sadowiski et al., 1996; Olson, 1999).

A deficiência dos fatores de coagulação pode ocorrer nas doenças hepáticas devido às lesões hepatocelulares que diminuem a produção de fatores pró-coagulantes e anticoagulantes e também alteram a produção das plaquetas quali e quantitativamente. Essa deficiência dos fatores também pode ocorrer pela diminuição do aporte da vitamina K (uso de antibióticos de largo espectro e ingestão inadequada), pela absorção deficiente na ocorrência de esteatorreia ou icterícias obstrutivas e pelo tratamento com anticoagulantes cumarínicos (Gomes et al. 1974; Amitrano et al., 2002). Para a avaliação da coagulação sanguínea, os exames mais utilizados são o TP, tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA) e tempo de trombina (TT). O TP detecta deficiências dos fatores I, II, V, VII e X, sendo pouco sensível à deficiência do fator II e mais sensível à deficiência dos fatores VII e X. Três destes fatores (II, VII e X) detectados pelo TP são dependentes da vitamina K (Gomes et al. 1974; Rodgers, 2004). O TTPA é utilizado para avaliar a deficiência dos fatores VIII e IX e o TT para determinar qualitativamente a reatividade do fator I e a presença de heparina ou de antitrombinas (Gomes et al., 1974; Amorim, 2000).

Para que o TP possa ser comparado mundialmente o Comitê Internacional de Trombose e Hemostasia e o Comitê Internacional para Padronização em Hematologia recomendam que o resultado seja expresso na Razão Normalizada Internacional (RNI), que consiste em relacionar o TP do paciente com o TP de um controle normal do laboratório, levando-se em conta o Índice de Sensibilidade Internacional (ISI) da tromboplastina utilizada (WHO, 1999).

1.4 Protein Induced by Vitamin K Absence-PIVKA

Na deficiência da vitamina K ou na presença de antagonistas como dicumarol ou varfarina os precursores descarboxilados dos fatores da coagulação, dependentes da vitamina K podem ser encontrados no plasma, esses precursores são conhecidos como *Protein Induced by Vitamin K Absence* ou Antagonists (PIVKA), em referência a protrombina (fator II), o termo usado é PIVKA-II ou *des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin* (DCP) (Blanchard et al., 1981). A PIVKA-II foi descrita pela primeira vez por Ganrod e Niléhn em 1968 quando observaram a presença dessa proteína em plasma de pacientes tratados com dicumarol. Para a protrombina se ligar ao íon Ca^{2+} ela tem que ser carboxilada o suficiente para a transição conformacional no retículo endoplasmático rugoso do hepatócito normal, pelo menos 8 dos 10 resíduos Gla são necessários para que ocorra essa transição e a protrombina possa assumir o seu papel no sistema de coagulação (Borowski et al., 1985).

Blanchard e col. (1981) foram uns dos primeiros a dosar a PIVKA-II em pacientes com várias doenças hepáticas. Eles observaram que em pacientes com deficiência grave de vitamina K, os níveis plasmáticos de PIVKA-II retornaram aos valores normais após a administração de vitamina K. Entretanto, em pacientes com cirrose hepática e hepatites os níveis não se normalizaram após a reposição de vitamina K, sugerindo um distúrbio adquirido no sistema enzimático de carboxilação. A PIVKA-II é medida no plasma por anticorpos específicos, em pessoas saudáveis sua concentração é próxima de zero, enquanto que, em pessoas com deficiência de vitamina K, os valores podem aumentar em até 30% de toda a protrombina (Olson, 1999). Motohara e col. (1985) desenvolveram

pelo método *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) uma forma de detectar a PIVKA-II, utilizando um anticorpo monoclonal mono específico, esse anticorpo reage somente com a protrombina anormal e não apresenta reação cruzada com a protrombina plasmática normal. Níveis elevados são encontrados em pacientes em terapia com anticoagulantes ou com carcinoma hepatocelular (Liebman et al., 1984; Nakao et al., 1991 Grosley et al., 1996). A PIVKA-II tem demonstrado ser um marcador mais sensível para a deficiência da vitamina K do que o TP (von Kries et al., 1993 Sokoll et al., 1995) porque para ocorrer alguma alteração no TP, as concentrações de protrombina precisam diminuir 50% do normal (Suttie, 1992).

1.5 Avaliação do estado nutricional

O fígado é um órgão importante para o metabolismo, armazenamento e distribuição de macro e micronutrientes. Na presença da doença hepática, o seu funcionamento pode ser afetado, alterando significativamente o estado nutricional (Bavdekar et al., 2002). Em pacientes com doença hepática crônica o estado nutricional é um dos fatores que mais interferem na sobrevida, tanto dos pacientes que aguardam um transplante como daqueles que já o realizaram (Feranchak et al., 2001).

Na doença hepática crônica avançada as deficiências nutricionais são comuns, a desnutrição energético-protéica afeta aproximadamente 60% das crianças, sendo secundária à ingestão alimentar deficiente, má absorção intestinal e aumento das necessidades de nutrientes em função de maior gasto energético (Beath et al., 1993; Greer et al., 2003). Os pacientes que apresentam visceromegalia e/ou ascite frequentemente têm uma baixa ingestão alimentar que pode ser provocada pela alteração do paladar e a saciedade precoce (Matos et al., 2002).

Para detectar o paciente em risco de desenvolver deficiências nutricionais, a avaliação deve abordar: exames laboratoriais, avaliação física e o histórico que deve incluir eventos hemorrágicos, medicamentos e a ingestão dietética (Olson, 1999).

Para a avaliação antropométrica do paciente hepatopata o ideal é combinação de várias técnicas para fornecer as melhores estimativas do estado nutricional desses pacientes. Nem todos os métodos são aplicáveis na doença hepática, isto porque a retenção de fluidos, edema e ascite pode alterar os resultados, principalmente na aferição do peso corporal, e na análise por bioimpedância elétrica (BIA) e *dual energy x-ray absorptiometry* (DEXA). A medida da dobra cutânea tricipital e circunferência muscular do braço são consideradas como bons parâmetros para a estimativa da composição corporal uma vez que, a retenção de líquidos, ocorre em menor proporção nos membros superiores, mantendo a acurácia destas medidas (Matos et al., 2002).

O método de avaliação da composição corporal pela BIA é um método rápido, simples, portátil, não invasivo, indolor e de baixo custo (Phillips et al., 2003). É o resultado da resistência oferecida pelos tecidos corporais à passagem de uma corrente elétrica. Este método avalia o percentual de gordura corporal (%GC) e se baseia no princípio de que a impedância, resultante da reactância e resistência, relacionam-se com o volume do corpo como um condutor, demonstrando correlação significativa entre a água corporal total (ACT) e a massa livre de gordura (MLG).

Quantificar a ingestão alimentar tem sido descrito como um dos fatores de maior complexidade nas investigações clínicas. Os inquéritos dietéticos são essenciais para a investigação da relação saúde-dieta e identificação de populações em risco nutricional. Os métodos para a obtenção da informação dietética podem ser prospectivos ou retrospectivos e fornecer informações qualitativas e/ou quantitativas (Juzwiak, 2007).

O diário alimentar é um método de avaliação do consumo alimentar que recolhe informações sobre a ingestão atual do indivíduo. Nesse método o paciente ou responsável anota todos os alimentos e bebidas consumidos, devendo anotar também os alimentos consumidos fora do lar.

OBJETIVOS

2.1 Geral

Determinar os níveis plasmáticos de PIVKA-II em pacientes com HAI.

2.2 Específicos

Comparar os níveis plasmáticos de PIVKA-II e os seguintes exames laboratoriais (AST, ALT, FALC, GGT, plaquetas, RNI, R, TP, TTPA, hemoglobina) entre os pacientes com HAI e grupo controle.

Comparar a PIVKA-II entre os pacientes com colestase e sem colestase.

Comparar a PIVKA-II entre os pacientes que receberam suplemento de vitamina K e os que não receberam.

Comparar a PIVKA-II entre o grupo controle e os pacientes que não receberam suplemento vitamina K.

Correlacionar os níveis plasmáticos de PIVKA-II com enzimas hepáticas, RNI, R, colesterol, triglicérides, albumina, hemoglobina e plaquetas.

Avaliar a ingestão dietética dos pacientes com HAI através dos inquéritos alimentares.

Correlacionar os níveis plasmáticos de PIVKA-II com o estado nutricional, medidas antropométricas e ingestão alimentar.

Avaliar o estado nutricional dos pacientes através da antropometria.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Casuística

Este estudo de delineamento transversal e controlado foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), SP, Brasil, conforme parecer nº 301/2008 (Anexo 1).

A pesquisa foi realizada no Ambulatório de Hepatologia Pediátrica do Hospital de Clínicas (HC) da FCM da Unicamp e a análise no Laboratório de Hepatologia do Gastrocentro, no período de maio de 2009 a maio de 2011.

Foram avaliados 29 pacientes com HAI de ambos os gêneros, com idade de 8 a 18 anos. O paciente e o responsável foram convidados para uma reunião ao comparecerem no ambulatório para consulta de rotina. Nessa reunião foram informados sobre o desenvolvimento da pesquisa, sua finalidade e métodos. Também foi feita a apresentação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1) foi entregue o diário alimentar de três dias (Apêndice 2) para ser preenchido em casa e o protocolo para o exame de bioimpedância elétrica. A participação do paciente efetivou-se após a assinatura de três vias do TCLE pelo responsável.

Juntamente com o próximo retorno do paciente para a coleta de exames laboratoriais de rotina foi feita a coleta de sangue para a análise da PIVKA-II, a entrega do diário alimentar de três dias preenchido e a avaliação nutricional por meio da avaliação antropométrica, pregas cutâneas, circunferências, inquéritos dietéticos e bioimpedância elétrica. Todos os dados coletados foram registrados em uma ficha (Anexo 2).

Os critérios de inclusão dos pacientes foram: ter até 18 anos de idade e diagnóstico positivo de HAI de acordo com o score do Grupo Internacional de Hepatite Autoimune. Os critérios de exclusão foram: uso de nutrição parenteral nos últimos 3 meses e não assinatura do TCLE pelo pai ou responsável.

3.1.1 Formação do grupo controle

O grupo controle foi pareado por idade e gênero sendo constituído por irmãos de pacientes com HAI, pacientes atendidos no Ambulatório de Adolescentes, pacientes internados na enfermaria do HC, estagiários da Unicamp e voluntários sem vínculo com a Unicamp que aceitaram o convite para a participação. O grupo controle totalizou-se com 32 participantes, sendo 24 do gênero feminino e 8 do gênero masculino. A idade média foi de $13,9 \pm 2,5$ anos. O paciente e/ou responsável foram informados sobre o desenvolvimento da pesquisa, sua finalidade e métodos, sendo feita a apresentação do TCLE (Apêndice 3). O adolescente que aceitou a participação e não estava acompanhado pelo responsável levou o TCLE para casa e os contatos com a pesquisadora foram disponibilizados para eventuais esclarecimentos.

Os critérios de inclusão para os controles foram: ter a mesma faixa etária dos pacientes, não apresentar evidência de hepatopatia verificada através da história e exames laboratoriais. E os critérios de exclusão foram: presença de diarreia, desnutrição, febre ou doença inflamatória e não assinatura do TCLE pelo pai ou responsável.

3.2 Métodos

3.2.1 Classificação pelo método de Child-Pugh

A classificação da gravidade da doença foi determinada pelo escore de Child-Pugh (Pugh et al., 1973), que contabiliza cinco variáveis, sendo duas delas em relação ao quadro clínico (grau de encefalopatia e ascite) e três dados laboratoriais quantitativos (bilirrubina, albumina e RNI). Neste escore são estipulados pontos de um a três, que variam conforme os limites determinados para cada variável, sendo a doença de leve intensidade classificada como A (5 a 6 pontos), moderada B (7 a 9 pontos) e grave C (≥ 10 pontos) (Tabela 4).

Tabela 4 – Classificação de Child-Pugh.

Parâmetros	Pontuação		
	1	2	3
Encefalopatia	Ausente	Grau I e II	Grau III e IV
Ascite	Ausente	Leve	Moderada
Albumina	> 3,5 g/dL	2,8 - 3,5 g/dL	< 2,8 g/dL
RNI	< 1,7	1,71 - 2,2	> 2,2
Bilirrubina	< 2 mg/dL	2 - 3 mg/dL	> 3 mg/dL

Pugh et al. (1973).

Child-Pugh A: 5 a 6 pontos; Child-Pugh B: 7 a 9 pontos; Child-Pugh C: \geq 10 pontos

3.2.2 Classificação quanto à presença ou ausência de colestase

De acordo com os resultados laboratoriais da bilirrubina direta (BD) os pacientes foram classificados em relação à presença e ausência de colestase. A presença de colestase foi caracterizada quando os níveis de BD se situavam acima de 2 mg/dL (Kumpf, 2006).

3.2.3 Exames laboratoriais

Os exames de assistência aos pacientes com HAI foram realizados pelo Laboratório de Patologia Clínica do HC da Unicamp. Os exames avaliados foram: hemograma completo (HMG), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de protrombina e atividade de protrombina (TPAP), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FALC), gama-glutamilttransferase (GGT), albumina (ALB), bilirrubina total (BT), bilirrubina indireta (BI), BD, colesterol total (COL), lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL),

lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), triglicérides (TRIG), cálcio (Ca) e fósforo inorgânico (Pi).

Os pacientes do grupo controle realizaram os seguintes exames laboratoriais: HMG, TTPA, TPAP, AST, ALT, FALC e GGT.

3.2.4 Coleta de sangue

Solicitou-se a coleta de 3,5 mL de sangue, por punção de veia periférica, quando os pacientes fizeram a coleta para as análises de rotina. As amostras foram coletadas em tubo a vácuo com citrato trissódico 0,109M (3,2%), sendo uma parte de solução anticoagulante para nove partes de sangue. Os tubos foram acondicionados em caixa de isopor com gelo para o transporte até ao laboratório e em seguida centrifugados a 2500 g durante 10 minutos para a obtenção do plasma. O plasma foi pipetado e aliqotado em 3 tubos criogênicos devidamente identificados e armazenados em *freezer* -80°C até o momento da análise.

3.2.5 Determinação dos níveis plasmáticos de PIVKA-II

3.2.5.1 Princípio do procedimento

As amostras foram testadas utilizando-se o *kit* comercial *Asserachrom*® PIVKA-II fornecido pela *Diagnostica Stago – France*. O princípio deste teste consiste na utilização de microplacas revestidas com fragmento monoclonal de ratos, específico para PIVKA-II (P1-2B9), mas sem reatividade com protrombina nativa, pelo método *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). A PIVKA-II quando presente é capturada pelo determinante antígeno específico revestido nos poços.

A Imunoglobulina de coelho anti-protrombina acoplada com peroxidase de rábano-silvestre (anti-II-HRP) é então adicionada e esta se liga ao antigênico restante livre determinante da molécula de PIVKA-II.

A atividade do conjugado enzima-anticorpo ligado é finalmente revelada pela ação no substrato orto-fenilenodiamina (OPD) na presença de peróxido de ureia. Depois da reação enzimática pela adição de ácido sulfúrico, a coloração é obtida e medida pelo feixe de 492 nm, usando o leitor de placa ELISA. Esta coloração é resultante da concentração de PIVKA-II presente nas amostras. Em indivíduos sadios as concentrações são abaixo de 2 ng/mL.

3.2.5.2 Procedimento do ensaio

As análises foram realizadas no Laboratório de Hepatologia do Gastrocentro. Os testes foram realizados em duplicata tanto para o grupo HAI quanto para o grupo controle.

As amostras de plasma foram descongeladas em banho Maria a 37°C por 15 minutos antes do teste. Nos poços da microplaca introduziu-se 200 µl da solução tampão e em seguida 50 µl da amostra teste ou do calibrador e em seguida foram incubados por 1 hora em temperatura ambiente (18 a 25°C). Após o período de incubação foram feitas cinco lavagens sucessivas com a solução de lavagem fornecida no *kit*.

Assim que o ciclo da última lavagem foi completado adicionou-se 200 µl de conjugado enzima-anticorpo em cada poço e foram deixados incubados por 1 hora em temperatura ambiente. Logo em seguida foram feitas cinco lavagens sucessivas com a solução de lavagem.

Assim que o ciclo da última lavagem foi completado, adicionou-se 200 µl do substrato OPD/peroxidase de uréia em cada poço. A placa foi incubada por 5 minutos e a reação enzimática parada com a adição de 50 µl de ácido sulfúrico 3M. A placa permaneceu na bancada por 10 minutos em temperatura ambiente e então medida a absorbância a 492 nm usando o leitor de placa ELISA. Para cada ensaio foi montada a curva padrão para a obtenção dos resultados, sendo considerado o resultado final a média de dois resultados.

3.2.6 Avaliação antropométrica

As medidas antropométricas foram realizadas no ambulatório, no mesmo dia em que o paciente esteve sob consulta de rotina de evolução do tratamento (clínica ou exames). O peso foi obtido em quilogramas (Kg) em balança de plataforma digital marca Filizola®, com capacidade máxima de 150 Kg e com precisão de leitura de 100g. A aferição da estatura foi obtida em centímetros (cm), utilizando o estadiômetro vertical de alumínio, com cursor móvel da marca Tonelli & Gomes, graduado até 220 cm, com precisão de 0,1 cm. Foram adotadas as técnicas de Jelliffe (1968) para a obtenção do peso e estatura.

Os resultados do peso e da estatura foram utilizados para calcular índice de massa corporal (IMC) ou índice de *Quetelet*, obtido pela divisão do peso corporal em Kg pela estatura em metros (m) elevada ao quadrado:

$$\text{IMC} = \text{Peso (Kg)} / \text{Estatura (m)}^2$$

3.2.7 Índices antropométricos

Os índices antropométricos altura para idade (A/I) e IMC para idade (IMC/I) foram calculados em escores-Z através do programa *software* WHO *AnthroPlus* versão 1.0.4, a classificação foi feita de acordo com os desvios padrão (DP) estabelecidos pela WHO (2007) e pelo Ministério da Saúde (2008), que estabelece as seguintes categorias para o índice A/I: baixa estatura para a idade (< -2 DP) e estatura adequada para a idade (\geq -2 DP e < 2DP), e para o índice IMC/I: desnutrição (< -2 DP), eutrofia (\geq -2 e < +1 DP), sobrepeso (\geq +1 e < +2 DP) e obesidade (\geq +2 DP).

3.2.8 Medidas de composição corporal

Todas as medidas foram realizadas do lado direito do corpo.

A circunferência do braço (CB) é uma medida que representa a soma das áreas

constituídas pelos tecidos ósseo, muscular e adiposo. A medida foi feita com o braço flexionado em direção ao tórax, foi marcado o ponto médio entre o acrômio e olécrano em seguida o paciente manteve o braço ao longo do corpo com a palma da mão voltada para a coxa. No ponto marcado, foi tomada a medida do braço com fita métrica flexível, inelástica e milimetrada, de forma ajustada evitando compressão da pele ou folga.

A circunferência muscular do braço (CMB) é considerada como um bom indicador da reserva do tecido muscular, sem corrigir a área óssea. A partir dos valores da dobra cutânea tricipital (DCT) e da CB foi possível calcular a CMB, através da seguinte fórmula:

$$\text{CMB (cm)} = \text{CB (cm)} - (0,314 \times \text{DCT})$$

A área muscular do braço (AMB) foi calculada a partir dos valores da DCT e da CB, através da seguinte fórmula:

$$\text{AMB (cm}^2\text{)} = \frac{[\text{CB(cm)} - (\pi \times \text{DCT(mm)} / 10)]^2}{4 \times \pi}$$

A área adiposa do braço (AAB) foi calculada a partir dos valores da dobra DCT e da CB, através da seguinte fórmula:

$$\text{AAB (cm}^2\text{)} = \frac{\text{CB (cm)} \times [\text{DCT (mm)} / 10]}{2} - \frac{\pi \times [\text{DCT(mm)} / 10]^2}{4}$$

Os resultados foram classificados pela tabela percentilar proposta por Frisancho (1990).

3.2.9 Dobras cutâneas

A dobra cutânea tricipital (DCT) é uma medida que avalia a reserva de gordura corporal. No mesmo ponto médio utilizado para realizar a medida da CB foi feita a medida da dobra cutânea na parte posterior do braço, sobre o músculo tríceps, com o braço relaxado e solto ao lado do corpo. Foi utilizado o adipômetro Lange® (*Beta Technology, Santa Cruz, CA, USA*) com pressão constante de 10 g/mm² na superfície de contato que possibilita medir a dobra com precisão de 1 mm, com escala de 0 a 65 mm.

A dobra cutânea subescapular (DCSE) foi aferida a 1 cm abaixo do ângulo inferior da escápula direita, a pele foi levantada de tal forma que pudesse observar um ângulo de 45° entre esta e a coluna vertebral e o paciente manteve os braços e ombros relaxados.

A soma das dobras cutâneas tricipital e subescapular foram utilizadas para calcular a porcentagem de gordura corporal (%GC) utilizando-se as fórmulas propostas por Boileau e col. (1985) para jovens brancos e negros de 8 a 29 anos.

Para indivíduos do gênero masculino:

$$\%GC = 1,35 (DCT+DCSE) - 0,012 (DCT+DCSE)^2 - 4,4$$

Para indivíduos do gênero feminino:

$$\%GC = 1,35 (DCT+DCSE) - 0,012 (DCT+DCSE)^2 - 2,4$$

A %GC foi classificada de acordo com a tabela percentilar proposta por McCarthy e col. (2006).

3.2.10 Bioimpedância elétrica

Na reunião com o paciente e o responsável foram feitas as orientações para os procedimentos prévios para minimizar o erro de estimativa da análise da composição corporal. Para realizar a avaliação corporal pela Bioimpedância elétrica (BIA), foi utilizado

o aparelho tetrapolar modelo *Quantum II- 101-Q* fabricado pela *RJL Systems, Detroit, USA*. O método tetrapolar utiliza quatro pequenos eletrodos que foram aplicados na mão direita (na base do dedo médio e acima da linha da articulação do punho) e no pé direito (na base do dedo médio e acima da linha da articulação do tornozelo). A pele foi previamente limpa com algodão umedecido em álcool.

Os pacientes foram deitados em decúbito dorsal, com a cabeça na altura do corpo, em uma superfície não condutiva, com os braços levemente abduzidos, de forma que não tocassem o tronco. As pernas foram separadas, de forma que a distância entre os tornozelos fosse de pelo menos 20 cm, sem que as coxas se tocassem.

O aparelho gera uma corrente elétrica de 800 μA e frequência de 50 kHz, que determina as medidas de resistência e reactância expressas em ohm, estes valores combinados com a altura, peso e sexo, foram inseridos no programa de *software* fornecido pelo fabricante para a obtenção da %GC, MLG e ACT. A %GC foi classificada de acordo com a tabela percentilar proposta por McCarthy e col. (2006).

3.2.11 Avaliação da ingestão alimentar

A ingestão alimentar do grupo HAI foi avaliada pela aplicação do diário alimentar de três dias. Taylor e Dhawan (2005) recomendam 3 dias para a avaliação do consumo alimentar de crianças com doença hepática crônica. Na reunião realizada com o paciente e o responsável foi feita a explicação para o correto preenchimento do formulário e no dia da entrega do diário alimentar foi feita uma revisão do formulário com o participante para esclarecer determinados alimentos, preparações e quantidades.

Os alimentos foram quantificados em medidas caseiras e foi utilizado o programa Diet Pro 5.i (Agromídia *Software* Ltda, Viçosa-MG, 2007) para análise. Utilizou-se a tabela de composição química dos alimentos desenvolvida pelo USDA para cálculo dos nutrientes. Após a análise dos três dias de ingestão de macro e micronutrientes de cada participante foi determinada a média. O cálculo foi realizado para os seguintes nutrientes: energia, carboidrato, proteína, lipídio e filoquinona.

Para a necessidade de energia foram utilizados os valores estipulados pela EER (*Estimated Energy Requeriments*) para pacientes eutróficos e a TEE (*Total Energy Expenditure*) para pacientes em sobrepeso ou obesidade (IOM, 2005), sendo considerado o menor nível de atividade física, ou seja, apenas atividades típicas diárias excluindo-se os exercícios físicos como corridas e caminhadas.

O consumo médio de energia foi comparado com os valores estimados de consumo individual de cada paciente deste estudo, levando-se em consideração a porcentagem de adequação. Considerou-se o consumo menor que o recomendado, quando este era inferior a 80% da recomendação estimada, adequado entre 80 e 120% e maior que o recomendado quando este excedia 120%. A recomendação de proteína pela RDA para crianças de 4 a 8 anos é 19 g/dia, para a faixa etária de 9 a 13 anos 34 g/dia, e para a faixa etária de 14 a 18 anos no gênero masculino e feminino a recomendação é 52 e 46 g/dia, respectivamente. A RDA determinada para o carboidrato é de 130g/dia para crianças e adolescentes, esse valor se refere à média da quantidade mínima necessária para fornecer glicose para o cérebro sem que haja necessidade de utilizar fontes alternativas de lipídio e proteína. Como não foram definidos os valores RDA e nem AI para lipídios, foi analisada a faixa de distribuição adequada de macronutrientes. Para a distribuição de carboidrato, proteína e lipídio em relação ao valor energético total (VET) foram aceitos os valores de 45% a 65% para carboidrato, 25% a 35% para lipídio e 10% a 30% para proteína (IOM, 2005).

Os valores médios obtidos da ingestão de filoquinona foram comparados com a recomendação AI (IOM, 2001), tanto individualmente quanto em grupos divididos por faixa etária.

3.2.12 Análise estatística

Os dados coletados foram analisados por meio do programa *Statistical Analysis System* (SAS) versão 9.2 para o sistema *Windows* e o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 16.0 para o sistema *Windows*. Para a análise estatística das

variáveis contínuas foi utilizada a estatística descritiva (média, desvio padrão, mediana, valores mínimo e máximo).

Para verificar associação ou comparar proporções foi utilizado o teste Qui-quadrado ou teste exato de Fisher, quando necessário. Para comparação de variáveis contínuas entre 2 grupos utilizou-se o teste de Mann-Whitney. Para verificar associação linear entre a PIVKA-II e os exames laboratoriais, estado nutricional e ingestão dietética, foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. Este coeficiente varia de -1 a 1, valores próximos dos extremos indicam correlação negativa ou positiva, respectivamente e valores próximos de zero não indicam correlação. Para verificar associação linear entre a %GC calculada pela BIA e pelas pregas cutâneas, foi aplicado o coeficiente Kappa ponderado. A magnitude do coeficiente é definida como: valores maiores ou iguais a 0.75 indicam excelente concordância, valores entre 0.75 e 0.40 indicam boa concordância e valores menores ou iguais a 0.40 não indicam concordância. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi 5% ($p \leq 0.05$) (Conover, 1971; Montgomery, 1991).

RESULTADOS

4.1 Dados da população

Foram convidados 34 pacientes com HAI a participarem da pesquisa, dentre esses, 4 foram excluídos por não assinarem o TCLE ou por não comparecerem no período da coleta. Uma paciente foi excluída das análises estatísticas do grupo por estar em uso de anticoagulante, sendo os resultados clínicos, laboratoriais e dietéticos apresentados separados como caso clínico, resultando em 29 pacientes a casuística final do grupo com HAI.

A relação Feminino/Masculino foi de 3:1 para a HAI tipo 1 e 4:1 para a HAI tipo 2. Os dados da distribuição de acordo com o sexo e o tipo da doença estão descritos na tabela 5. A idade média dos pacientes com HAI foi de $14,0 \pm 2,4$ anos e o tempo médio de acompanhamento entre a admissão do paciente e a realização deste estudo foi de $4,5 \pm 3,4$ anos, o tempo mínimo e máximo de tratamento foram 0,1 e 14,4 anos, respectivamente. O diagnóstico da HAI teve como base os achados clínicos, laboratoriais e histológicos.

Tabela 5 – Distribuição dos pacientes com HAI conforme o sexo e o tipo da doença

Tipo de HAI	Feminino	Masculino
	N (%)	N (%)
Tipo 1	16 (73)	6 (86)
Tipo 2	4 (18)	1 (14)
Indeterminado	2 (9)	0
Total	22 (100%)	7 (100%)

No grupo controle foram incluídos inicialmente 33 participantes, sendo 25 do gênero feminino e 8 do gênero masculino, com a média da idade de $13,9 \pm 2,5$ anos. Uma participante do grupo controle foi excluída por apresentar evidência de doença hepática pelos exames laboratoriais, sendo assintomática do ponto de vista hepático e encontra-se sob investigação. Os resultados dos exames laboratoriais dessa paciente foram: PIVKA-II =

2,45 ng/mL (normal até 2 ng/mL); ALT = 160,00 (normal até 23 U/L); AST = 123,00 U/L (normal até 35 U/L); FALC = 232,00 U/L (normal até 390 U/L); GGT = 366,00 U/L (normal até 33 U/L) e RNI = 1,04 (normal até 1,25).

4.2 Dados clínicos

Pelo escore de Child-Pugh utilizado para determinar a gravidade da doença hepática, 27 pacientes (93%) foram classificados como A (intensidade leve), 2 pacientes como B (intensidade moderada) e nenhum foi classificado como C (intensidade grave). Dessa forma, não foi possível separar os pacientes em grupos de acordo com a gravidade da doença para análises estatísticas.

Na avaliação clínica nenhum paciente referiu icterícia, colúria, acolia fecal, hematêmese, equimose, melena, hematúria ou edema no dia da avaliação. Dois pacientes relataram epistaxe, sendo que um referiu em volume moderado com melhora rápida 4 dias antes da avaliação e outro epistaxe leve após tomar sol. Os pacientes se apresentaram corados, hidratados e com bom estado geral.

Em relação às doenças extra-hepáticas sendo de efeitos colaterais ao tratamento medicamentoso ou não, a baixa densidade mineral óssea foi diagnosticada em 7 pacientes (24%). As demais doenças extra-hepáticas foram observadas numa frequência variável conforme tabela 6 em apêndice.

Na tabela 7, é possível visualizar as doenças hepato-gastrointestinais apresentadas pelos pacientes. Observa-se que 8 pacientes (27,6%) foram diagnosticados com hipertensão portal pela ultrassonografia. As demais doenças foram observadas numa frequência variável que são apresentadas na tabela 7 em apêndice.

4.3 Medicamentos

Em relação ao tratamento com imunossupressores, todos pacientes estavam em uso de prednisona associado a outro imunossupressor exceto dois pacientes (um por ser caso novo e aguardava a azatioprina e outro por apresentar plaquetopenia secundária à azatioprina). O esquema terapêutico dos pacientes é apresentado na tabela 8.

Tabela 8 – Esquema terapêutico imunossupressor dos pacientes com HAI.

Imunossupressores	N (%)
Prednisona + Azatioprina	15 (51,7)
Prednisona + Azatioprina + Ursacol	10 (34,5)
Prednisona em monoterapia	2 (6,9)
Prednisona + Azatioprina + Ciclosporina + Ursacol	1(3,4)
Prednisona +Ciclosporina+ Ursacol	1(3,4)
Total	29 (100)

Ursacol - ácido ursodesoxicólico.

Além do tratamento com imunossupressores, os pacientes utilizam outros medicamentos para o tratamento de doenças concomitantes. A relação dos medicamentos se encontra na tabela 9 em apêndice.

Dos 29 pacientes, 13 estavam em uso de Kanakion®. Na comparação da PIVKA-II entre os pacientes que utilizaram e não utilizaram a vitamina, não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0.3687$). Os demais suplementos vitamínicos e minerais prescritos encontram-se na tabela 10 em apêndice.

4.4 Exames laboratoriais

No grupo de pacientes com HAI não se observou paciente com bilirrubina direta > 2 mg/dL, não sendo portanto possível a divisão em subgrupos de colestático e não colestático.

Os participantes do grupo controle além da dosagem da PIVKA-II realizaram o hemograma, coagulograma e aminotransferases para descartar a possibilidade de alguma doença hepática. A distribuição dos dados referentes aos exames laboratoriais realizados pelo grupo de pacientes e controle estão demonstrados na tabela 11 e os valores de referência se encontram no anexo 3.

Tabela 11 – Comparação dos exames laboratoriais do grupo HAI e controle.

Exame laboratorial	Grupo HAI (n=29)		Grupo controle (n=32)		p*
	Média±DP	(mín - máx)	Média±DP	(mín - máx)	
PIVKA-II (ng/mL)	1,34 ±0,43	(0,60 - 2,42)	1,17 ±0,40	(0,62 - 1,92)	0.0925
TP (seg)	15,73 ±1,77	(13,40 - 19,70)	14,55 ±1,03	(12,80 - 16,90)	0.0082
AP (%)	69,46 ±12,84	(45,00 - 93,00)	81,19 ±10,22	(60,00 - 100,00)	0.0005
RNI (seg)	1,26 ±0,16	(1,05 - 1,63)	1,13 ±0,08	(1,00 - 1,33)	0.0006
TTPA (seg)	37,06 ±3,72	(30,70 - 48,20)	36,09 ±6,81	(25,30 - 59,80)	0.1446
R	1,29 ±0,13	(1,07 - 1,68)	1,20 ±0,24	(0,89 - 2,10)	0.0008
AST (U/L)	52,03 ±80,03	(12,00 - 443,00)	21,53 ±4,72	(12,00 - 33,00)	<0.0001
ALT (U/L)	53,38 ±107,21	(4,00 - 588,00)	14,34 ±5,70	(8,00 - 39,00)	0.0002
FALC (U/L)	183,28 ±103,97	(48,00 - 531,0)	178,44 ±91,02	(57,00 - 381,00)	0.9673
GGT (U/L)	46,10 ±31,75	(11,00 - 153,00)	15,25 ±7,87	(6,00 - 50,00)	<0.0001
Hb (g/dL)	13,33 ±1,51	(10,60 - 17,30)	13,42 ±1,30	(11,70 - 17,50)	0.8228
Ht (%)	39,56 ±3,67	(33,40 - 50,10)	39,99 ±3,16	(35,0 - 49,10)	0.7126
PLQ (mm ³)	191,41 ±89,88	(28,00 - 363,00)	251,19 ±53,51	(72,00 - 377,00)	0.0011
Leucócitos (mm ³)	6,98 ±2,77	(2,33 - 13,16)	6,89 ±1,67	(3,69 - 10,27)	0.6912

* Teste Mann-Whitney; p<0.05; n = número absoluto; DP = Desvio Padrão; mín = valor mínimo; máx = valor máximo.

No grupo HAI (n=29), o nível plasmático de PIVKA-II variou de 0,60 a 2,42 ng/mL (1,34±0,43), enquanto no grupo controle (n=32) variou de 0,62 a 1,92 ng/mL (1,17±0,40), não havendo diferença estatisticamente significativa (p=0.0925). Por outro

lado, se forem excluídos os pacientes que fizeram uso de vitamina K (13 pacientes) e comparado o nível plasmático entre o grupo controle ($1,17 \pm 0,40$) e o grupo de HAI sem uso de vitamina K ($1,39 \pm 0,34$), obtém-se diferença significativa ($p=0,043$). Apenas dois pacientes com HAI apresentaram valores acima de 2 ng/mL, um paciente estava no início do tratamento da doença com alterações no RNI = 1,49, ALT = 127 U/L, AST = 152 U/L, GGT = 153 U/L, plaquetas = $28,00 \times 10^{**3}/\text{mm}^3$ e apresentou uma ingestão inadequada de filoquinona (33,9 µg/dia), que corresponde a 57% da porcentagem de adequação. O segundo paciente apresentou coagulograma e aminotransferases normais e um baixo consumo de filoquinona (18,6 µg/dia), que atingiu 31% da porcentagem de adequação.

Observa-se na tabela 11 que houve diferença estatisticamente significante entre os dois grupos para os exames RNI, R, TP, AP, plaquetas, ALT, AST e GGT. O RNI nos pacientes com HAI variou de 1,05 a 1,63 com média de 1,26, sendo que dez (34,5%) apresentaram RNI alargado. Oito pacientes (27,6%) apresentaram o R acima de 1,30. Onze pacientes (37,9%) apresentaram plaquetopenia (valor abaixo de $150,00 \times 10^{**3}/\text{mm}^3$) e três pacientes (10,3%) apresentaram leucopenia.

Em relação às aminotransferases, observou-se que 6 pacientes (20,7%) apresentaram aumento da ALT e AST acima de 1,5 vezes o limite superior da normalidade (LSN). Um paciente que não estava fazendo uso da medicação prescrita, sendo confirmado pela dosagem da ciclosporina que não foi detectável, apresentou um aumento de 24,6 vezes acima do LSN para ALT e 15,4 para AST. Para a GGT, 3 pacientes (10,3%) apresentaram aumento de 1,5 vezes o LSN e para a FALC, apenas um paciente apresentou aumento de 1,5 vezes o LSN.

Além do hemograma, coagulograma e aminotransferases, o grupo de pacientes realizou os exames laboratoriais complementares descritos na tabela 12. Quatorze pacientes (48,3%) apresentaram hipercolesterolemia, sendo nove com risco limítrofe de doença coronariana (170-199 mg/dL) e cinco, risco aumentado de doença coronariana (≥ 200 mg/dL). Dois pacientes (6,9%) apresentaram valores dos triglicérides acima do desejável. Para o LDL colesterol, 11 pacientes (37,9%) apresentaram valores próximos do ótimo (100-129 mg/dL). Dois (6,9%) pacientes apresentaram o valor de HDL menor do que o

desejável. Um paciente apresentou hipoalbuminemia, sete (24,1%) hipocalcemia e nenhum teve alteração no Pi.

Tabela 12 – Resultados dos exames complementares dos pacientes com HAI (n=29).

Exame laboratorial	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Ca (MG/dL)	9,40	0,49	8,30	9,40	10,80
Pi (mg/dL)	4,16	0,48	3,30	4,20	5,20
COL (mg/dL)	167,41	31,32	111,00	172,00	223,00
HDL (mg/dL)	62,67	18,05	20,0	73,00	97,0
LDL (mg/dL)	88,56	21,80	40,0	87,00	123,0
VLDL (mg/dL)	16,19	7,05	6,00	15,00	36,00
TRIG (mg/dL)	80,89	35,35	28,00	73,00	178,00
ALB (g/dL)	4,33	0,49	3,10	4,39	5,00
BT (mg/dL)	1,12	1,08	0,34	0,77	5,99

A PIVKA-II foi correlacionada aos exames laboratoriais e não foi encontrada nenhuma correlação com o RNI (p=0.21), R (p=0.06), BT (p=0.52), albumina (p=0.09), TRIG (p=0.94), COL (p=0.14), Hb (p=0.53), Ht (p=0.30), Ca (p=0.69), TP (p=0.26), TTPA (p=0.06), AP (p=0.21), ALT (p=0.55), AST (p=0.54), GGT (p=0.42), FA (p=0.47), plaquetas (p=0.68).

4.5 Avaliação antropométrica

Todos os participantes apresentaram altura adequada pelo índice antropométrico A/I. Para o índice IMC/I no grupo com HAI, dezoito pacientes (62,1%) estavam eutróficos, quatro (13,8%) com sobrepeso, sete (24,1%) com obesidade e nenhum paciente foi classificado como desnutrido por este parâmetro. Na tabela 13 estão descritos os resultados em escore Z para os índices A/I e IMC/I por gênero para os pacientes com HAI. No grupo controle, vinte e três pacientes apresentaram-se eutróficos (82,1%) e cinco com sobrepeso (17,9%), em quatro participantes não foi possível obter o peso e/ou estatura. Na comparação da variável IMC/I entre o grupo HAI com o grupo controle, houve uma diferença estatisticamente significativa ($p=0.0180$).

Tabela 13 – Índices antropométricos dos pacientes com HAI, gênero masculino (n=7) e feminino (n=22), em escore Z calculado pelo programa *AntroPlus* da WHO (2007).

Variáveis	Gênero	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
A/I (escore Z)	Masculino	-0,65	0,72	-1,77	0,13
	Feminino	0,16	1,04	-1,67	2,36
IMC/I (escore Z)	Masculino	0,66	1,57	-0,94	3,93
	Feminino	0,79	1,06	-1,52	2,19

O percentual de gordura corporal calculado pelo método de bioimpedância elétrica apresentou doze pacientes (41,4%) classificados como eutróficos, nove (31%) com excesso de gordura corporal, sete (24,1%) com obesidade e um paciente com redução de gordura corporal. Os valores descritivos da %GC, MLG e ACT estão na tabela 14.

Tabela 14 – Distribuição da %GC pela bioimpedância elétrica, MLG e ACT nos pacientes com HAI (n=29).

Variáveis	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
%GC-BIA	27,2	7,3	12,0	45,0
MLG	40,1	9,7	25,4	76,4
ACT	29,3	7,1	18,6	55,9

A porcentagem de gordura corporal calculada pelas dobras cutâneas variou de 9 a 35% (25,9+7,8). Em dez pacientes (34,5%), foi observada a preservação de massa gorda, oito (27,6%) com excesso de gordura corporal, oito (27,6%) em obesidade e três pacientes (10,3%) com redução de gordura corporal.

Avaliou-se a concordância entre a classificação da %GC pelo método BIA e dobras cutâneas (fórmula de Boileau) pelo coeficiente de Kappa Ponderado e o teste mostrou uma boa concordância entre os métodos (0.56) IC95% [0.32; 0.79].

A avaliação da AMB mostrou que 21 pacientes (72,4%) estavam com preservação da massa magra, 3 (10,3%) em risco de depleção, 4 (13,8%) com aumento do tecido muscular e apenas 1 (3,4%) em depleção. A média do grupo foi de 34,3 +7,7 cm² e variou de 23 a 58 cm². Em relação à CMB, a média do grupo foi de 20,7 +2,2 cm e variou de 17,0 a 27,0 sendo 27 pacientes (93,1%) classificados com preservação da massa magra, 1 (3,4%) em depleção e 1 (3,4%) com aumento do tecido muscular. Não foi possível correlacionar a PIVKA-II com a AMB e CMB devido à frequência apresentada.

Na comparação da PIVKA-II com as medidas de composição corporal categorizadas, observou-se uma significância estatística em relação ao IMC/I, CB e PCT (tabela 15).

Tabela 15 – Comparação da PIVKA-II com as variáveis IMC/I, % GC-BIA, C, PCT e AAB nos pacientes com HAI (n=29).

Variáveis	Classificação do estado nutricional	n	PIVKA-II Média (\pm DP) (ng/dL)	p-valor *
IMC/I	Eutrofia	18	1,23 (\pm 0,39)	0.0506
	Excesso de peso ^a	11	1,52 (\pm 0,49)	
% GC-BIA	Preservação de massa gorda ^b	13	1,28 (\pm 0,47)	0.2635
	Excesso de massa gorda ^c	16	1,39 (\pm 0,41)	
CB	Preservação de massa magra	21	1,23 (\pm 0,37)	0.0205
	Percentil acima da referência ^d	8	1,64 (\pm 0,47)	
PCT	Preservação de massa gorda	20	1,20 (\pm 0,34)	0.0077
	Excesso de massa gorda	9	1,66 (\pm 0,45)	
AAB	Preservação de massa gorda	19	1,18 (\pm 0,34)	0.0038
	Excesso de massa gorda	10	1,64 (\pm 0,43)	

* Teste Mann-Whitney; ^a pacientes classificados em sobrepeso e obesidade; ^b incluído um paciente com redução de gordura corporal; ^{c,d} pacientes em sobrepeso e obesidade.

Na correlação da PIVKA-II com os índices antropométricos em valores absolutos, utilizando o coeficiente de correlação de Spearman, observou-se uma correlação significativa apenas com a PCT ($r=0.45$; $p=0.02$).

4.6 Avaliação da ingestão alimentar

A ingestão alimentar dos pacientes com HAI foi avaliada utilizando-se o diário alimentar de três dias. Um paciente com 8 anos foi agrupado à faixa etária de 9-13 anos por ser o único representante.

O diário alimentar de três dias foi preenchido por 28 pacientes. Considerando-se os valores individuais, 16 pacientes (57,1%) apresentaram uma ingestão de filoquinona inferior ao recomendado pelo AI conforme a idade. Quando se comparou a média da ingestão de filoquinona em grupos por faixas etárias, todos atingiram a AI levando-se em consideração o percentual de adequação que foi de 85% na faixa etária de 8-13 anos e 93% na faixa etária de 14-18 anos.

Em relação ao consumo de energia, individualmente 4 pacientes (14,3%) tiveram uma ingestão inferior ao recomendado e 7 (25%) tiveram uma ingestão acima de 120% da porcentagem de adequação para energia. A tabela 16 descreve a média do consumo de energia e o recomendado para a faixa etária. A média do consumo de energia no grupo para ambos os gêneros foi de 1895 Kcal, esse consumo apresentou uma adequação de 104% em relação às recomendações energéticas pela DRI.

Tabela 16 – Média da ingestão energética de acordo com a faixa etária no gênero masculino e feminino e a média da recomendação para o grupo pelo IOM (2005).

Idade	Gênero					
	Masculino			Feminino		
	n	Ingestão	Recomendação*	n	Ingestão	Recomendação*
8-13 anos	1	2714	1873	12	1802	1740
14-18 anos	5	2136	2139	10	1805	1757

n = número absoluto; * Recomendação de energia pelo IOM- *Institute of Medicine* (2005).

A tabela 17 apresenta a distribuição percentual de carboidrato, proteína e lipídio em relação ao VET. Nota-se que a média da distribuição dos macronutrientes em relação ao VET atendeu às necessidades estabelecidas pela DRI. A média de ingestão de carboidrato foi de 260 +62g/dia, com valor mínimo de 160 g/dia e valor máximo de 421g/dia. Para

proteína, encontrou-se um consumo médio de 79 +22 g/dia sendo o valor mínimo 32 g/dia e o máximo 130 g/dia.

Tabela 17 – Distribuição percentual de carboidrato, proteína e lipídio no gênero masculino e feminino (n=28).

Macronutriente	Média \pmDP	(mín- máx)
Carboidrato (%)	54,8 \pm 6,3	(44,3 – 70,5)
Proteína (%)	16,7 \pm 3,5	(10,7 – 22,5)
Lipídio (%)	28,6 \pm 5,1	(18,1 – 38,5)

n = número absoluto; DP = Desvio Padrão; mín = valor mínimo; máx = valor máximo.

Comparou-se o nível de PIVKA-II entre os pacientes que atingiram a AI para a vitamina K (n=10) com os que não atingiram (n=18) e não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (p=0.1873). Também, não foi encontrada correlação entre a PIVKA-II com a ingestão de filoquinona (r=-0.29; p=0.14) e nem com a ingestão energética (r=0.20; p=0.31).

4.7 Caso clínico

Para ilustrar a interferência do anticoagulante sobre o resultado da PIVKA-II, é apresentado o seguinte caso, que foi excluído das análises estatísticas: paciente do gênero feminino, 14 anos, sem colestase, em acompanhamento ambulatorial por 2,8 anos devido à HAI tipo 1, trombose de veia porta e hipertensão portal, em acompanhamento com a Hematologia devido à síndrome de anticorpos antifosfolípides (SAAF). Na avaliação clínica negou icterícia, colúria, acolia fecal, hematêmese, equimose, melena, hematúria ou edema. Relatou episódios de epistaxe e gengivorragia.

Em uso de Kanakion® (última dose 26 dias antes da coleta de sangue), prednisona 10mg/dia, azatioprina 50mg/dia, adtil 2 gotas/dia, vitamina E 1 cápsula/semana, carbonato de cálcio 600 mg/dia e varfarina sódica 5 mg/dia.

Os resultados dos exames laboratoriais foram: PIVKA-II = 722,9 ng/ml; ALT = 15,00 U/L; AST = 21,00 U/L; FALC = 112,00 U/L; GGT = 28,00 U/L; RNI = 1,71; R = 1,15; TP = 21 segundos; AP = 42%; TTPA = 33,4 segundos; BT = 0,4 mg/dL; ALB = 4,14 g/dL; HDL = 53 mg/dL; LDL = 109 mg/dL; VLDL = 22 mg/dL; COL = 184 mg/dL; TRIG = 109 mg/dL; plaquetas = $154,00 \times 10^{**3}/\text{mm}^3$; HB = 12,7 g/dl; HT = 38,5%; Ca = 9,4 mg/dL; Pi = 3,2 mg/dL.

Apresentou-se eutrófica para os índices antropométrico A/I (escore $Z=-1,14$) e IMC/I (escore $Z=0,58$), e sobrepeso e obesidade pela porcentagem de gordura corporal pela BIA e pelas pregas cutâneas, respectivamente.

Em relação à ingestão alimentar, apresentou um baixo consumo de filoquinona, percentual de adequação de 20%, a distribuição percentual de macronutrientes foi de 10% para proteína, 55% para carboidrato e 35% para lipídios.

DISCUSSÃO

A casuística desse estudo relacionada à frequência de gênero e tipo de HAI apresenta dados semelhantes aos de outros trabalhos (Maggiore et al., 1993; Czaja et al., 1998; Ferreira et al. 2002). Nos 29 pacientes com HAI avaliados, a relação feminino/masculino foi de 3:1 para a HAI tipo 1 e 4:1 para a HAI tipo 2, confirmando uma predominância no sexo feminino, assim como uma maior prevalência da HAI tipo 1. Gregorio e col. (1997) em um relato de experiência de 20 anos de acompanhamento a crianças com HAI, também confirmaram o achado constante de predominância no gênero feminino tanto no grupo positivo para os autoanticorpos ANA/SMA (n=32) quanto no grupo positivo para anti-LKM-1 (n=20), a relação feminino/masculino foi de 3:1 e 4:1, respectivamente.

No presente estudo, 93% dos pacientes apresentaram a classificação A para o escore Child-Pugh, indicando que a maioria dos pacientes apresenta um bom estado geral, provavelmente devido ao controle da doença pelo tempo de seguimento ambulatorial e adesão ao tratamento.

Algumas das doenças concomitantes presentes nos pacientes com HAI podem ser devido aos efeitos colaterais das drogas utilizadas no tratamento, como a baixa densidade mineral óssea e obesidade.

As alterações ósseas são complicações comuns em várias formas da doença hepática crônica. Na presente casuística, observou-se baixa densidade mineral óssea em 7 (24,1%). Uma possível causa para essa baixa densidade mineral óssea seria o uso prolongado de corticoide, que pode provocar uma perda óssea acelerada. Stellon e col. (1985) realizaram um estudo para determinar a frequência de osteoporose em 36 pacientes com HAI mantidos em corticoterapia. Desses pacientes, 47% tiveram evidência de uma perda óssea excessiva trabecular e/ou cortical, sendo sugerido o uso de cálcio e vitamina D no estágio inicial do tratamento da doença. No estudo de Gregorio e col. (1997), dos 52 pacientes com HAI, apenas um apresentou osteoporose.

A vitamina K parece ter um efeito positivo contra o risco de fraturas. Hart e col (1985) dosaram os níveis de filoquinona em pacientes com osteoporose, que haviam sofrido fratura da coluna vertebral ou fratura do fêmur. Nesses pacientes, os níveis da vitamina

foram significativamente menores em comparação ao grupo controle pareado por idade. Cheung e col. (2008) realizaram um estudo randomizado, duplo cego, com 440 mulheres na pós-menopausa, diagnosticadas com osteopenia. As participantes receberam uma dose de 5 mg/dia de vitamina K ou placebo. A densidade mineral óssea não aumentou nas pacientes que receberam suplementação de vitamina K. Entretanto, houve uma redução do risco de fraturas, que ocorreu em apenas 9 pacientes, em comparação a 20 pacientes do grupo que recebeu placebo ($p=0,04$). Semelhantemente, em relação ao desenvolvimento de câncer, foi menor no grupo suplementado ($n=3$), em relação ao grupo placebo ($n=12$) ($p=0,02$). A suplementação diária não apresentou efeitos colaterais significantes e o nível da vitamina K_1 aumentou de forma significativa no segundo ano (2.0 nmol/l versus 22.6 nmol/l; $p<0.0001$) e a porcentagem da ucOC apresentou redução significativa (-21.4 versus -2.0%; $p<0.0001$).

Conforme apresentado em resultados, 24,1% dos pacientes apresentaram obesidade pelo parâmetro IMC/I. Esse achado é compatível com a %GC pela BIA e pelas dobras cutâneas que constatou obesidade em 24,2 e 27,6%, respectivamente. O excesso de peso pode-se apresentar tanto pelo aumento da ingestão calórica quanto ao uso de corticoide ou uma combinação de ambos.

A mudança do padrão alimentar da população tem contribuído para o aumento da obesidade, e as pessoas estão substituindo os alimentos saudáveis por alimentos com alto valor energético e com baixo valor nutricional. Na infância e adolescência, a ingestão calórica acima dos níveis necessários pode ser prejudicial, levando a um aumento da deposição de gordura corporal, que é um dos principais fatores de risco para as doenças crônicas não transmissíveis.

Um dos pacientes com obesidade foi diagnosticado com a síndrome metabólica. A síndrome metabólica é uma série de alterações que aumentam o risco para doenças cardiovasculares, representada pela hipertensão arterial, dislipidemia e diabetes mellitus tipo 2. Esses problemas estão aparecendo cada vez mais na população pediátrica (Reaven, 1988; Oliveira et al., 2004; Miranda et al., 2005).

Dos 29 pacientes, 48,3% apresentaram hipercolesterolemia, 6,9% apresentaram valores dos triglicérides acima do desejável, 6,9% pacientes apresentaram o valor de HDL menor do que o desejável e nenhum paciente apresentou valores de LDL colesterol de risco para doença coronariana. A obesidade está frequentemente associada a um estado dislipidêmico, na qual os triglicérides e o LDL estão elevados e as concentrações de HDL reduzidas (Sposito et al., 2007).

A obesidade é responsável por uma série de complicações e prejuízos à saúde e uma delas é a esteatose hepática que pode piorar o quadro de pacientes com HAI. A esteatose hepática é caracterizada pelo acúmulo de gordura no fígado, principalmente triglicerídeos (Angulo, 2002). Tominagata e col. (1995) realizaram um estudo com 810 crianças japonesas de 4 a 12 anos, para determinar a prevalência da esteatose hepática na população pediátrica. Os pesquisadores encontraram uma prevalência de 2,6% nas crianças, sendo maior no gênero masculino (3,4%) do que no feminino (1,8%), mas sem significância estatística ($p=0.15$) e foi encontrada uma forte correlação positiva entre a esteatose hepática e o IMC. Outros trabalhos tem encontrado uma frequência maior de esteatose em pacientes obesos. Schwimmer e col. (2006) realizaram um estudo retrospectivo, baseado em necropsias de 742 crianças e adolescentes com idade entre 2 a 19 anos. A esteatose esteve presente em 13% das necropsias. A prevalência da esteatose diferiu significativamente entre as raças e etnias, sendo de 10,2% nos asiáticos, 1,5% nos negros, 11,8% hispânicos e 8,6% nos caucasianos. A prevalência ajustada pela idade, gênero, raça e etnia foi estimada em 9,6% e a maior prevalência encontrada foi em crianças obesas, sendo de 38%.

Em relação às aminotransferases, dos 14 pacientes que apresentaram níveis alterados, cinco (17,2%) estavam obesos. O aumento das aminotransferases pode ocorrer tanto em crianças com doença hepática crônica quanto em crianças obesas. Franzese e col. (1997) realizaram um estudo com 72 crianças italianas obesas sem doença hepática crônica. Os pesquisadores encontraram as aminotransferases elevadas em 18 crianças (25%), e pela ultrassonografia encontraram 38 imagens compatíveis com esteatose hepática (53%). O IMC percentual foi significativamente maior nos pacientes com esteatose do que no demais

(167.3 \pm 22.3 versus 152.0 \pm 16.2; $p < 0.002$). Com a perda de peso, os pacientes apresentaram melhora pelos parâmetros bioquímicos e ultrassonográficos.

Na avaliação nutricional, observa-se que os pacientes apresentaram estado nutricional de eutrofia com tendência à obesidade, não sendo diagnosticada desnutrição pelo índice antropométrico IMC/I, mas uma redução de gordura corporal pelo método BIA e dobras cutâneas, em 1 (3,4%) e 3 (10,3%) pacientes, respectivamente. Nenhum dos pacientes apresentou déficit de crescimento pelo índice A/I. Ferreira et al. (2002) avaliaram 39 crianças e adolescentes com HAI e observaram uma redução estatisticamente significativa do escore Z A/I ($p < 0.05$), no período de tratamento de 1 a 5 anos. Os pesquisadores suspeitam que esse achado possa estar associado ao uso diário de corticoide.

Em um estudo publicado por Cortez e col. (2010) realizado com 37 crianças e adolescentes com HAI, constatou-se que 13/31 (41,9%) dos pacientes do gênero feminino apresentavam valores superiores a 30% GC pelo método BIA e no gênero masculino um paciente (16,7%) apresentou valor superior a 25% GC.

Saron et al. (2009) realizaram um estudo para avaliar os níveis séricos das vitaminas lipossolúveis (A, D e E) e o estado nutricional em pacientes com atresia biliar e HAI. Em relação ao estado nutricional, os pacientes com HAI apresentaram mediana dos valores em Z escore dentro da normalidade para os parâmetros de P/I, IMC, CB, DCT, área adiposa do braço (AAB) e soma das pregas cutâneas (SPC). Contudo, no grupo de pacientes com atresia biliar todos os valores mínimos se encontraram abaixo do Z escore - 2. Concluiu-se então, que os pacientes com atresia biliar apresentaram um déficit nutricional grave quando comparado aos pacientes com HAI.

Estudos têm demonstrado um aumento da obesidade em todas as classes sociais em diferentes idades (Flegal et al., 1998, Nguyen et al., 2007; Carmo et al., 2007; Wang e Lobstein, 2006). Na população brasileira, os dados recentes da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) realizada pelo Ministério da Saúde (2010), nos anos de 2008-2009, indicam que o número de crianças e adolescentes com excesso de peso aumentou. Os inquéritos nacionais realizados em 1974-75, 1989 e 2008-09, mostram que no gênero masculino, crianças (5 a 9 anos), o excesso de peso subiu 10.9, 15.0 e 34.8%,

respectivamente; assim como a obesidade na frequência de 2.9, 4.1 e 16.6%, respectivamente. Nesses inquéritos, no gênero feminino (5 a 9 anos), o excesso de peso apresentou prevalência de 8.6, 11.9 e 32.0% e a obesidade prevalência de 1.8, 2.4 e 11.8%. A tendência da evolução do excesso de peso e da obesidade também foi observada nos adolescentes (10 a 19 anos). A partir dos inquéritos realizados em 1974-75, 1989, 2002-03 e 2008-09, no gênero masculino o excesso de peso apresentou um aumento contínuo de 3.7, 7.7, 16.7 e 21.7%. Da mesma forma para a obesidade de 0.4, 1.5, 4.1 e 5.9%. Nos respectivos inquéritos, o gênero feminino apresentou uma prevalência de excesso de peso de 7.6, 13.9, 15.1, 19.4% e de obesidade 0.7, 2.2, 3.0 e 4.0%.

No presente estudo, o que poderia estar ocorrendo é que os pacientes com HAI estão acompanhando as mudanças do estado nutricional que está ocorrendo na população em geral. A maioria dos pacientes se encontra na classificação A do escore Child-Pugh e isso mostra que eles não apresentam complicações que poderiam levar a uma perda de peso e déficit no crescimento. Por outro lado, o uso de corticoide também poderia estar contribuindo para o ganho de peso. O tratamento com os glicocorticoides a longo prazo promove uma redistribuição característica do tecido adiposo, que confere ao paciente o clássico aspecto de obesidade centrípeta, com ganho de peso (Damiani et al., 2001). Provavelmente, o aumento da ingesta calórica tem uma participação maior porque a maioria desses pacientes estava em uso de baixas doses de corticosteroides, uma vez que se encontravam na fase de manutenção do tratamento.

Os pacientes com HAI podem apresentar outras doenças autoimunes associadas, dentre elas, as manifestações reumáticas: síndrome do anticorpo antifosfolípide, artrite reumatóide, síndrome de Sjögren, mononeurite múltipla, pericardite e lúpus eritematoso sistêmico, diabetes mellitus tipo 1, doença inflamatória intestinal, doença celíaca, e as doenças colestáticas: colangite autoimune, colangite esclerosante primária e cirrose biliar primária (Czaja, 1998; Koskinas et al., 1999; Katayama, 2000; Ben-Ari, 2001; Czaja, 2001; Silva et al., 2002; Villalta, 2005; Czaja, 2007; May et al., 2007; Hovinga et al, 2010).

Dentre as doenças autoimunes citadas, duas foram identificadas neste estudo, a síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAAF) e a colangite esclerosante autoimune.

A síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAAF) é uma desordem sistêmica, autoimune, que foi descrita originalmente por Hugles em 1983 em pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico. É caracterizada por trombose (arterial e/ou venosa), abortos espontâneos de repetição e trombocitopenia. A SAAF pode ser de origem primária ou secundária a outras doenças previamente existentes e apresenta uma maior prevalência no gênero feminino (Cervera et al., 2002). O tratamento é feito com anticoagulantes (varfarina ou heparina) para os pacientes que já apresentaram eventos trombóticos, com níveis significantes de anticorpo antifosfolípide (AAF) e antiagregantes plaquetários e imunossupressores para o tratamento da doença de base (Louzada et al., 1998).

Na literatura foram encontrados alguns relatos de casos, descrevendo a rara associação da HAI com a SAAF, todos envolvendo pacientes adultos (Berker-Merok e Nossent, 2005; Dourakis et al., 2001; Katayama et al., 2000; Tanaka et al. 2002; Hueber et al., 2005).

Devido à dificuldade de mensurar a vitamina K, pesquisadores têm buscado outros indicadores para estabelecer a deficiência vitamínica. As concentrações de filoquinona plasmática em indivíduos saudáveis em jejum varia 0,2 a 1,0 ng/mL (Sadowski et al., 1989), sendo a concentração muito baixa em comparação a outras vitaminas lipossolúveis, sendo 50 vezes menor do que a concentração de vitamina D, 2 mil vezes menor em relação ao retinol e 200 mil vezes menor em relação ao tocoferol (Suttie, 1992). Dessa forma, os autores têm procurado outros métodos para detectar a deficiência de vitamina K, incluindo a PIVKA-II.

A expectativa da PIVKA-II ser mais sensível que o RNI para detectar deficiência subclínica da vitamina K tem sido descrita em alguns trabalhos. Mager et al. (2006) realizaram um estudo para determinar a prevalência da deficiência de vitamina K em crianças com doença hepática crônica leve a moderada. Os participantes foram divididos em dois grupos, com colestase (n=43) e sem colestase (n=29). Observou-se que houve diferença significativa entre os grupos, sendo a PIVKA-II maior no grupo com

colestase. Nesse grupo, 21 crianças (48%) apresentaram elevação da PIVKA-II e, desses pacientes, somente dois apresentavam TP prolongado.

Rashid et al (1999) realizaram um estudo para diagnosticar a deficiência de vitamina K em 98 pacientes com fibrose cística, sendo 83 com insuficiência pancreática. Foi feita a dosagem da PIVKA-II e 78% dos pacientes com insuficiência pancreática e todos com FC associada à doença hepática (cirrose biliar multifocal e hipertensão portal) apresentaram níveis elevados de PIVKA-II. Esses resultados indicam a necessidade de uma suplementação de rotina em todos pacientes com insuficiência pancreática, independente do grau de esteatorreia ou uso de antibióticos. Nesses pacientes com alteração da PIVKA-II, apenas 6 apresentaram TP prolongado. No subgrupo formado por 8 pacientes com fibrose cística avançada associada à doença hepática, todos apresentaram PIVKA-II alterada, e três apresentaram TP prolongado.

No presente estudo, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa dos níveis plasmáticos de PIVKA-II entre o grupo de HAI e grupo controle. Talvez uma explicação para esse fato seja que a maioria dos pacientes se encontra em um estágio controlado da doença (Child-Pugh A) sem colestase e alguns em uso de Kanakion®. Nesse estudo, 2 pacientes apresentaram o nível de PIVKA-II > 2 ng/mL, sendo uma paciente diagnosticada com HAI no início do tratamento com aminotransferases alteradas, e uma paciente com HAI que não apresentou alterações no coagulograma e nem nas aminotransferases. Um outro caso que foi excluído da análise estatística apresentou valores elevados porque estava em uso de varfarina que inibe a atividade da carboxilase-vitamina K dependente.

Contudo, no grupo de HAI, 13 pacientes fizeram uso da vitamina K em períodos variáveis no último ano da coleta de dados. Se esses pacientes forem excluídos da análise estatística, observa-se uma diferença significativa com PIVKA-II mais elevado no grupo de pacientes com HAI que não fizeram uso de vitamina K. Considerando os valores alterados, foram identificados 2 pacientes que apresentavam os seguintes valores de PIVKA-II: 2,06 e 2,42 ng/mL e não apresentavam colestase de acordo com o critério estabelecido. Dessa forma, avaliando esse resultado e o fato de que metade dos pacientes

com colestase podem apresentar PIVKA-II normal (Mager et al., 2006), o ideal seria a dosagem desse indicador da deficiência de vitamina K para determinar em quais pacientes estaria indicada a administração dessa vitamina e com que frequência.

O'Shaughnessy e col. (2003) realizaram um estudo para investigar a deficiência de vitamina K em pacientes hospitalizados, já que essa deficiência é a principal causa de coagulopatia nesses pacientes. Foram avaliados 35 pacientes adultos (18 a 77 anos), internados na unidade de tratamento intensivo. Na admissão, foi feita a dosagem da PIVKA-II, vitamina K₁, ferritina e coagulograma. O nível plasmático da vitamina K₁ apresentou-se baixo em 15 pacientes (43%) e a PIVKA-II estava elevada em 12 (34%). Dos 17 pacientes com RNI alargado, somente 7 (41%) apresentaram PIVKA-II elevada. Os autores sugerem que os achados de baixo nível da vitamina K₁ e PIVKA-II normal em alguns pacientes poderiam ser explicados pelo tempo necessário para que ocorra uma queda dos estoques plasmáticos e hepáticos até ocorrer uma produção da PIVKA-II. E os achados de vitamina K₁ (normal ou elevado) e nível de PIVKA-II (elevado) poderiam ter ocorrido devido à disfunção hepática, administração prévia da vitamina K ou ingestão alimentar recente de fonte da vitamina, já que o tempo de meia vida da PIVKA-II é de aproximadamente 40 horas.

Os elevados níveis de PIVKA-II em pacientes com carcinoma hepatocelular tem demonstrado ser um bom marcador tumoral e não um marcador para a deficiência vitamínica. Liebman e col. 1984 em um estudo com pacientes com carcinoma hepatocelular detectaram uma média 900 ng/ml de PIVKA-II, e estes níveis não diminuíram mesmo após a administração de vitamina K. Este achado sugere que a produção de PIVKA-II não era devido à falta de vitamina K, mas sim ao defeito provocado pelos hepatócitos malignos à enzima carboxilase. Desde 1984, vários outros estudos foram realizados, utilizando diferentes ensaios para detectar a PIVKA-II em pacientes com carcinoma hepatocelular (Nakao et al., 1991; Sakon et al., 1991; Suehiro et al., 1994; Grosley et al., 1996). No presente estudo, não foi observada diferença significativa dos níveis plasmáticos de PIVKA-II, no grupo de pacientes que receberam Kanakion® e os não receberam. Esse resultado pode ser decorrente do tempo de efeito da suplementação vitamínica, embora não fosse possível fazer análises estatísticas pelo fato da amostra ser pequena, os pacientes que

receberam Kanakion® a menos de 25 dias antes da coleta de sangue apresentaram níveis mais baixos de PIVKA-II.

Para os pacientes com HAI não existe uma dieta específica. O ideal é manter uma dieta saudável e balanceada para evitar as complicações nutricionais. O uso de bebida alcoólica deve ser evitado, pois pode piorar a doença hepática, mesmo em pequenas quantidades. Como a maioria dos pacientes deste estudo estava compensada (eutróficos com tendência para a obesidade) optou-se por não utilizar o adicional energético de 30%, proposto para pacientes com doenças hepáticas crônicas (Bavdekar et al., 2002).

A avaliação da ingestão de filoquinona pelo diário alimentar demonstrou que 57,1% dos pacientes apresentam uma ingestão inadequada, mas deve-se levar em conta que os valores de menaquinona nos alimentos não foram computados, por não estarem disponíveis em tabelas de composição química dos alimentos. A tabela utilizada foi desenvolvida pelo departamento de agricultura dos Estados Unidos, e uma das limitações na avaliação é que essa tabela pode não representar as concentrações de filoquinona em alimentos produzidos em solo brasileiro. De acordo com Booth et al. (1993), a concentração de filoquinona pode ser influenciada por diversos fatores, dentre eles, a estação do ano, clima, local geográfico e a fertilização do solo, e a distribuição de filoquinona nas plantas não é uniforme, sendo encontrado maiores concentrações nas folhas externas do que nas internas. Além disso, a biodisponibilidade de vitamina K pode ser influenciada pelo uso de gorduras no preparo do alimento (Birgit et al., 1996).

Na avaliação nutricional, observou-se uma relação entre os níveis plasmáticos de PIVKA-II com os parâmetros antropométricos que avaliam a gordura corporal. Shea e col. (2010) realizaram um estudo para determinar a associação da vitamina K com a gordura corporal em homens e mulheres idosos. Os pesquisadores encontraram uma associação inversa entre a %GC e a filoquinona plasmática, principalmente em mulheres com maiores valores de gordura corporal. Uma associação positiva foi observada entre a %GC e a concentração plasmática de PIVKA-II, tanto em homens quanto em mulheres. O maior nível de filoquinona em tecido adiposo (subcutâneo e visceral) com o aumento da gordura corporal parece ser um risco para deficiência de vitamina K em adultos idosos.

Em conclusão, observou-se diferença entre os valores de PIVKA-II entre o grupo de pacientes com hepatite autoimune sem uso de vitamina K e grupo controle. O estado nutricional desses pacientes foi bom, sendo classificada a maioria como eutróficos, não havendo nenhum paciente desnutrido. Outros estudos são necessários para melhor definição do status da vitamina K em pacientes com hepatite autoimune, devendo haver um grupo de pacientes com colestase e sem colestase e número suficiente de pacientes nas diferentes categorias da classificação de Child-Pugh. Adicionalmente, seria importante a investigação de esteatorreia nesses pacientes e dosagem dos fatores que influenciam no resultado do RNI: os fatores dependentes de vitamina K (II, VII e X) e dos fatores não dependentes de vitamina K (I e V).

Os resultados do presente trabalho e os de Shea e col. (2010) relacionados com a associação de gordura corporal com vitamina K são importantes e outras pesquisas devem ser estimadas nessa área para confirmar essa relação tendo em vista a aplicabilidade em mulheres idosas obesas e em crianças e adolescentes obesos.

CONCLUSÕES

Para a população com hepatite autoimune estudada, conclui-se que:

1. Não houve diferença significativa nos níveis plasmáticos de PIVKA II entre os pacientes com HAI e os controles. Contudo, o grupo de pacientes com HAI sem uso de vitamina K apresentou valores de PIVKA-II superiores ao grupo controle, sendo estatisticamente significativa.

2. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os pacientes que receberam suplemento de vitamina K e os que não receberam.

3. Houve diferença estatisticamente significativa para os exames TP, plaquetas, R, RNI, AP, ALT, AST e GGT entre os pacientes com HAI e grupo controle.

4. Não houve correlação da PIVKA-II com o RNI, R, colesterol, triglicérides, albumina e hemoglobina e plaquetas.

5. A média da ingestão dietética de carboidrato, proteína e lipídeo no grupo de pacientes esteve dentro das recomendações. A ingestão de filoquinona apresentou-se inferior ao recomendado em cerca de metade dos casos.

6. A PIVKA-II apresentou relação estatisticamente significativa com os parâmetros antropométricos PCT, IMC, CB e AAB, sendo mais elevada nos pacientes com maior valor de gordura corporal.

7. Não houve correlação da PIVKA-II com a ingestão alimentar de filoquinona e ingestão energética.

8. O estado nutricional dos pacientes com hepatite autoimune pelas curvas de crescimento da WHO (IMC/I), a maioria foi classificado como eutróficos, 1/3 com excesso de peso e não houve pacientes desnutridos. Todos pacientes apresentaram estatura adequada para a idade pelo índice antropométrico A/I.

9. Houve concordância de resultados de porcentagem de gordura corporal obtido pela BIA e pelas dobras cutâneas.

REFERÊNCIAS

Allison PM, Mumma-Schendel LL, Kindberg CG, Harms CS, Bang NU, Suttie JW. Effects of a vitamin K-deficient diet and antibiotics in normal human volunteers. *J Lab Clin Med.* 1987; 110:180-8.

Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, et al. International Autoimmune Hepatitis Group report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol.* 1999; 31(5):929-38.

Amitrano L, Guardascione MA, Brancaccio V, Balzano A. Coagulation disorders in liver disease. *Semin Liver Dis.* 2002; 22:83-96.

Amorim RB. Transfusão sanguínea. In: Braz JRC, Castiglia YMM, editores. *Temas de Anestesiologia para o Curso de Graduação em Medicina*, 2ª ed. São Paulo: Unesp; 2000. p. 211-25.

Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med.* 2002; 346:1221-31.

Bates CJ, Heseker H. Human bioavailability of vitamins. *Nutr Res Rev.* 1994; 7(1):93-127.

Bavdekar A, Bhave S, Pandit A. Nutrition management in chronic liver disease. *Indian J Pediatr.* 2002; 69(5):427-31.

Bearn AG, Kunkel HG, Slater RJ. The problems of chronic liver disease in young women [abstract]. *Am J Med.* 1956; 21:3-15.

Beath SV, Both W, Kelly DA. Nutritional support in liver disease. *Arch Dis Child.* 1993; 69:545-9.

Becker-Merok A, Nossent H. Antiphospholipid antibody syndrome in autoimmune hepatitis. *Isr Med Assoc J.* 2005; Apr;7(4):268-9.

Ben-Ari, Czaja AJ. Autoimmune hepatitis and its variant syndromes. *Gut* 2001; 49:589-94.

Biesalski, HK, Grimm, P. *Nutrição: texto e atlas*. Porto Alegre: Artme; 2007. P.176-9.

Binkley SB, MacCorquodale DW, Thayer SA, Doisy EA. The isolation of vitamins K1. *J Biol. Chem.* 1939; 130:219-34.

Birgit LMG, Gijbbers BL, Jie KS, Vermeer C. Effect of food composition on vitamin K absorption in human volunteers. *Br J Nutr.* 1996; 76:223-9.

Blanchard RA, Furie BC, Jorgensen M, Kruger SF, Furie B. Acquired vitamin K dependent carboxylation deficiency in liver disease. *N Engl J Med.* 1981; 305:242-8.

Boileau RA, Lohaman TG, Slaughter MH. Exercise and body composition of children and youth. *Scand J. Sports Sci.* 1985; 7:17-27.

Booth SL, Broe KE, Gagnon DR, Tucker KL, Hannan MT, McLean RR, et al. Vitamin K intake and bone mineral density in women and men. *Am J Clin Nutr* 2003; 77:512-6.

Booth SL, Centurelli MA. Vitamin K: a practical guide to the dietary management of patients on warfarin. *Nutr. Rev.* 1999; 57:288-96.

Booth SL, Charnley JM, Sadowski JA, Saltzman E, Bovill EG, Cushman M. Dietary vitamin K1 and stability of oral anticoagulation: Proposal of a diet with constant vitamin K1 content. *Thromb Haemost.* 1997; 77:504-9.

Booth SL, Sadowski JA, Weihrauch JL, Ferland G. Vitamin K1 (phylloquinone) content of foods: a provisional table. *J Food Comp Anal.* 1993; 6:109-20.

Booth SL, Tucker KL, Chen H, Hannan MT, Gagnon DR, Cupples LA, et al. Dietary vitamin K intakes are associated with hip fracture but not with bone mineral density in elderly men and women. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:1201-8.

Borowski M, Furie BC, Goldsmith GH, Furie B: Metal and phospholipid binding properties of partially carboxylated human prothrombin variants. *J Biol Chem.* 1985; 260:9258-64.

Carmo I, Santos O, Camolas J, Vieira J, Carreira M, Medina L, et al. Overweight and Obesity in Portugal: National Prevalence in 2003–2005. *Obes Rev.* 2008 9:11-9.

Cervera R, Piette JC, Fornt J. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum.* 2002; 46: 1019-27.

Cheung AM, Tile L, Lee Y, Tomlinson G, Hawker G, Scher J, et al. Vitamin K Supplementation in Postmenopausal Women with Osteopenia (ECKO Trial): A Randomized Controlled Trial. *PLoS Med.* 2008; 5(10):1461-71.

Conover WJ. *Practical Nonparametric Statistics.* New York: John Wiley & Sons Inc; 1971.

Cortez AP, Morais MB, Speridião PG, da Motta Mattar RH, Calanca F, Neto UF. Food Intake, Growth and Body Composition of Children and Adolescents With Autoimmune Hepatitis. *J Clin Gastroenterol.* 2010; 44(3):200-7.

Czaja AJ, Dos Santos RM, Porto A, Santrach PJ, Moore SB. Immunephenotype of chronic liver disease. *Dig Dis Sci.* 1998; 43:2149-55.

Czaja AJ, Freese DK. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2002; 36:479-97.

Czaja AJ, Wolf AM, Baggenstoss AH. Laboratory assessment of severe chronic active liver disease (CALD): correlation of serum transaminase and gamma globulin levels with histologic features. *Gastroenterology* 1981; 80:687-92.

Czaja AJ. Autoimmune Hepatitis. In: Feldman M, Scharschmidt BF, Sleisenger MH, Fordtran JS, editores. *Gastrointestinal and liver disease.* 6^a ed. Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders Company; 1998. p. 1265-74.

Czaja AJ. Autoimmune liver disease and rheumatic manifestations: Genetic factors. *Curr Opin Rheumatol.* 2007; 19(1):74-80.

Czaja AJ. Treatment of autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis.* 2002; 22(4):365-78.

Czaja AJ. Understanding the Pathogenesis of Autoimmune Hepatitis. *Am J Gastroenterol.* 2001; 96(4):1224-31.

Dam H, Geiger A, Glavind J, Karrer P, Karrer W, Rothschild E, et al. Isolierung des Vitamins K in hochgereinigter Form. *Helv Chim Acta*. 1939; 22:310-3.

Dam H, Schonheyder F, Tage-Hansen E. Studies on the mode of action of vitamin K. *Biochem. J*. 1936; 30:1075-9.

Dam H. Cholesterinstoffwechsel in Hühnereiern und Hühnchen. *Biochem Zeitschr*. 1929; 215:475-81. *Apud* Van Winckel et al. (2009).

Dam H. Cholesterol synthesis in the animal body. *Biochem*. 1930; 220:158-63.

Dam H. Hemorrhages in chicks reared on artificial diets. A new deficiency disease. *Nature* 1934; 133:909-10.

Dam H. The antihemorrhagic vitamin of the chick. *Biochem J*. 1935; 29:1273-85.

Damiani D, Kuperman H, Dichtchekian V, Della Manna T, Setian N. Corticoterapia e suas repercussões: a relação custo-benefício. *Pediatria (São Paulo)* 2001; 1:71-82.

DietPro 5i tecnologia para nutrição. Versão 5i. Viçosa: A.S. Sistemas, 2008. 1 CD-ROM.

Doisy EA, Binkley SB, Thayer SA. Vitamin K. *Chem. Rev*. 1941; 28(3):477-517.

Dourakis SP, Michael AE, Papanikolaou IS, Nomikou E, Thalassinou P, Hadziyannis SJ: Autoimmune hepatitis associated with the antiphospholipid syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2001; 13:591-3.

Elder SJ, Haytowitz DB, Howe J, Peterson JW, Booth SL. Vitamin k contents of meat, dairy, and fast food in the U.S. diet. *J Agric Food Chem*. 2006; 54:463-7.

Feld JJ, Heathcote EJ. Epidemiology of autoimmune liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003; 18(10):1118-28.

Feranchak AP, Ramires RO, Sokol RJ. Medical and nutritional management of cholestasis. In: Suchy FJ, Sokol RJ, Balistreri F, editors. *Liver disease in children*. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p.195-237.

Ferland G, Sadowsky JA. The vitamin K1 (phylloquinone) content of edible oils: effects of heating and light exposure. *J Agr Food Chem*. 1992; 40: 1869-73.

Ferreira AR, Roquete MLV, Penna FJ, Toppa NH. Hepatite auto-imune em crianças e adolescentes: estudo clínico, diagnóstico e resposta terapêutica. *J Pediatr (Rio J)*. 2002; 78(4): 309-14.

Feskanich D, Weber P, Willet WC, Rockett H, Booth SL, Colditz GA. Vitamin K intake and hip fractures in women: a prospective study. *Am J Clin Nutr*. 1999; 69:74-9.

Flegal KM, Carroll MD, Kuczmarski RJ, Johnson CL . Overweight and obesity in the United States: prevalence and trends, 1960-1994. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998 Jan; 22(1):39-47.

Food and Nutrition Board. In: IOM (Institute of Medicine). Vitamin K. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington, D.C.: National Academy Press; 2001:162-196.

Franzese A, Vajro P, Argenziano A, Puzziello A, Iannucci MP, Saviano MC, et al. Liver involvement in obese children: ultrasonography and liver enzyme levels at diagnosis and during follow-up in an Italian population. *Dig Dis Sci*. 1997; 42:1428-32.

Frisancho AR. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status. Michigan: The University of Michigan Press; 1990. 198 p.

Fulton T, McCann VJ. Active chronic hepatitis. Part I. *Ulster Med J*. 1976; 45(1): 84-98.

Gallagher ML. Vitaminas. In: Mahan LK, Escott-Stump S, editores. *Krause: Alimentos, Nutrição & Dietoterapia*. 11ª ed. São Paulo: Roca; 2005. p. 72-114.

Ganrot PO, Niléhn JE. Plasma prothrombin during treatment with dicumarol: II. Demonstration of an abnormal prothrombin fraction. *Scand J Clin Lab Invest*. 1968; 22:23-8.

Gomes MO, Langer B, Chamone DAF. Coagulação e cirurgia. São Paulo: Sarvier; 1974. 115p.

Greer FR. The importance of vitamin K as a nutrient during the first year of life. *Nutr Res.* 1995; 15:289-310.

Greer R, Lehnert M, Lewindon P, Cleghorn GJ, Shepherd RW. Body composition and components of energy expenditure in children with end-stage liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003; 36:358-63.

Gregorio GV, Portmann B, Reid F, Donaldson PT, Doherty DG, McCartney M, et al. Autoimmune hepatitis in childhood: a 20- year experience. *Hepatology* 1997; 25: 541-7.

Grosley BM, Hirschauer C, Chambrette B, Bezeaud A, Amiral J. Specific measurement of hypocarboxylated prothrombin in plasma or serum and application to the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *J Lab Clin Med.* 1996; 127:553-64.

Hart JP, Shearer MJ, Klenerman L, Catterall A, Reeve J, Sambrook PN et al. Electrochemical detection of depressed circulating levels of vitamin K1 in osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1985; 60:1268-9.

Hauschka PV, Lian JB, Gallop PM. Direct identification of the calcium- binding amino acid, gamma-carboxyglutamate, in mineralized tissue. *Proc Natl Aca Sci USA.* 1975; 72:3925-9.

Hollander D. Vitamin K1 absorption by everted intestinal sacs of the rat. *Am J Physiol.* 1973; 225:360-4.

Homberg JC, Abuaf N, Bernard O, Islam S, Alvarez F, Khalil S, et al. Chronic active hepatitis associated with antiliver/kidney microsome antibody type 1: a second type of “autoimmune” hepatitis. *Hepatology* 1987; 7(6):1333-9.

Hovinga ICLK, Stam ED, Mearin ML, Mul D. A girl with type 1 diabetes and a yellowish appearance. *BMJ Case Reports.* 2010 Jan; doi:10.1136/bcr.04.2010.2899. Disponível em: casereports.bmj.com

Hueber AJ, Boxberger F, Ganslmayer M, Hahn EG. Antiphospholipid syndrome in combination with auto-immune hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005; 17:241-43.

Institute of Medicine (IOM). National Academy Of Sciences On Dietary Reference Intakes (DRIs) - Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients). Washington: National Academy Press; 2005. p.1319-31.

Jelliffe DB. Evaluación del estado de nutrición de la comunidad. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. OMS - Série de Monografias, 53. 1968.

Johnson PJ, McFarlane IG, Alvarez F, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs A, et al. Meeting Report: International Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology* 1993; 18(4):998-1005.

Johnson PJ, McFarlane IG. Chronic active hepatitis. *Gut* 1991; 32(Suppl):S63-S72.

Jolly DW, Craig C, Nelson TE. Estrogen and prothrombin synthesis; effect of estrogen on absorption of vitamin K. *Am J. Physiol.* 1977; 232(1):H12-7.

Joske RA, King WE. The L.E.-cell phenomenon in active chronic viral hepatitis. *Lancet* 1955; 269:477-80.

Juzwiak CR. Avaliação do Estado Nutricional- Avaliação Dietética. In: Silva, SMCS, Mura JDP, editores. *Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia.* São Paulo: Roca; 2007. p.147-152.

Katayama Y, Kohriyama K, Kirizuka K, Nishizaki H, Fujii H, Tanji Y. Sjogren's syndrome complicated with autoimmune hepatitis and antiphospholipid antibody syndrome. *Intern Med.* 2000; 39:73-76.

Kohlmeier M, Salomon A, Saupe J, Shearer MJ. Transport of vitamin K to bone in humans. *J Nutr.* 1996; 126:1192S-6S.

Koskinas J, Raptis I, Manika Z, Hadziyannis S. Overlapping syndrome of autoimmune hepatitis and primary sclerosing cholangitis associated with pyoderma gangrenosum and ulcerative colitis. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1999; 11(12):1421-4.

Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. *N Engl J Med.* 2006; 354(1):54-66.

Kumpf VJ. Parenteral nutrition-associated liver disease in adult and pediatric patients. *Nutr Clin Pract.* 2006;21:279-90.

Kunkel HG, Ahrens EH, Eisenmenger WJ. Extreme hypergammaglobulinemia in young women with liver disease of unknown etiology. *J Clin Invest.* 1950; 30:654. (*apud* Reuben, 2003; Manns e Strassburg, 2001).

Kurosu, M. Begari, E. Vitamin K2 in electron transport system: are enzymes involved in vitamin K2 biosynthesis promising drug targets? *Molecules.* 2010; 15(3):1531-53.

Lacy et al., 2009. Medicamentos Lexi-Comp. Manole. Ed. brasileira. São Paulo: Manole; 2009 p 609-10.

Lane PA, Hathaway WE. Vitamin K in infancy. *J Pediatr.* 1985; 106:351-9.

Lemos, LVB. Hepatite autoimune (HAI). In: Ferraz MLG, Schiavon JLN, Silva AEB, editores. *Guias de Medicina Ambulatorial - UNIFESP- Hepatologia.* São Paulo: Manole; 2007. p.107-119.

Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, Blanchard RA, Lo KJ, Lee SD, et al. Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med.* 1984; 310:1427-31.

Louzada Jr P, Simon SM, Voltarelli JC, Donadi EA. Síndrome do anticorpo antifosfolípide. *Medicina (Ribeirão Preto)* 1998; 31:305-15.

Ludwig J, McFarlane IG, Rakela J, Demetris AJ, Wanless IR, Panel Chair. Terminology of chronic hepatitis, hepatic allograft rejection and nodular lesions of the liver: summary of

recommendations developed by an International working party. *Am J Gastroenterol.* 1994; 89: S177-81.

Mackay IR, Taft CO, Cowlings DS. Lupoid hepatitis. *Lancet* 1956; 2:1323-26.

Mackay IR. Immunological aspects of chronic active hepatitis. *Hepatology* 1983; 3:724-8.

MacKee RW, Binkley SB, Thayer SA, MacCorquodale DW, Doisy EA. The isolation of viramin K2. *J. Biol. Chem.* 1939; 131:327-44.

Mager, DR, McGee P, Furuya KN, Roberts EA. Prevalence of vitamin K deficiency in children with mild to moderate chronic liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006 Jan; 42(1):71-6.

Maggiore G, Veber F, Bernard O, Hadchouel M, Homberg JC, Alvarez F, et. al. Autoimmune hepatitis associated with anti-actin antibodies in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1993; 17:376-81.

Manns MP, Strassburg CP. Autoimmune hepatitis: clinical challenges. *Gastroenterol.* 2001; 120: 1502–17.

Martini E, Abuaf N, Cavalli F, Durand V, Johanet C, Homberg JC. Antibody to liver cytosol (anti-LC1) in patients with autoimmune chronic active hepatitis type 2. *Hepatology* 1988; 8:1662-6.

Matos C, Porayko MK, Francisco-Ziller N, DiCecco S. Nutrition and chronic liver disease. *J. Clin. Gastroenterol.* 2002; 35: 391-7.

Matsuda I, Endo F, Motohara K. Vitamin K deficiency in infancy. *World World Rev Nutr Diet.* 1991; 64:85-108.

May DS, Franca RF, Cibele D, Dias AM, Andrade CF, Silva LR. Manifestações autoimunes associadas em pacientes com hepatite autoimune. *R. Ci méd biol.* 2007; 6(2):183-9.

McCarthy HD, Cole TJ, Fry T, Jebb SA, Prentice AM. Body fat reference curves for children. *Int J Obes*. 2006; 30: 598-602.

McFarlane IG. The relationship between autoimmune markers and different clinical syndromes in autoimmune hepatitis. *Gut* 1998; 42:599-602.

Ministério da Saúde (MS). Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Vigilância Alimentar e Nutricional: SISVAN. Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde. Norma Técnica - SISVAN. Material Preliminar. Brasília; 2008.

Ministério da Saúde. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de Orçamentos Familiares. 2008-2009. Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; 2010. 130p.

Miranda PJ, De Fronzo RA, Califf RM, Guyton JR. Metabolic syndrome: definition, pathophysiology, and mechanisms. *Am Heart J*. 2005; 149:33-45.

Montgomery DC. Design and Analysis of Experiments. 3^a ed. New York: John Wiley & Sons; 1991.

Motohara K, Kuroki Y, Kan H, Matsuda I. Detection of vitamin K deficiency by the use of an enzyme-linked immunosorbent assay for circulating abnormal. 1985 Apr; 19(4):354-7.

Nakao A, Virji A, Karr B, Iwaki Y, Iwatski S, Starzl E. Abnormal prothrombin (des-gamma-carboxy prothrombin) in hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 1991; 38:450-3.

Nguyen MD, Beresford SA, Drewnowski A. Trends in overweight by socio-economic status in Vietnam: 1992 to 2002. *Public Health Nutr*. 2007; 10(2):115-21.

Oliveira CL, Mello MT, Cintra IP e Fisberg M. Obesidade e síndrome metabólica na infância e adolescência. *Rev Nutr Campinas*. 2004; 17:237-45.

O'Shaughnessy D, Allen C, Woodcock T, Pearce K, Harvey J, Shearer M. Echis time, under-carboxylated prothrombin and vitamin K status in intensive care patients. *Clin Lab Haematol.* 2003; 25(6):397-404.

Osion RE. Vitamin K. In: Shils ME, Olson JA, Shike M, editores. *Modern Nutrition in Health and Disease* 8^a ed. Philadelphia: Lea and Febiger; 1999. p 363-80.

Phillips SM, Bandini LG, Compton DV, Naumova EN, Must A: A longitudinal comparison of body composition by total body water and bioelectrical impedance in adolescent girls. *J. Nutr.* 2003, 133:1419-25.

Price PA. Role of vitamin-K-dependent proteins in bone metabolism. *Annu Rev Nutr.* 1988; 8:565-83.

Pugh NH, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg.* 1973; 60:646-9.

Quick AJ, Stanley-Brown M, Bancroft FW. A study of the Coagulation Defect in Hemophilia and in Jaundice. *Amer. J. Med Am Sc.* 1935; 190(4):501-11.

Rashid M, Durie P, Andrew M, Kalnins D, Shin J, Corey M et al. Prevalence of vitamin K deficiency in cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr.* 1999; 70:378-82.

Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988; 37:1595-607.

Reuben A. A sheep in wolf's clothing. *Hepatology.* 2003; 38(6):1596-601.

Rodgers GM. Diagnostic Approach to the Bleeding Disorders. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, editores. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 11^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p.1511-28.

Sadowski JA, Booth SL, Mann KG, Malhotra OMP, Bovill EG. Structure and mechanism of activation of vitamin K antagonist. In: Poller L, Hirsh J, editores. *Oral anticoagulants.* New York: Arnold; 1996. p9-29.

Sadowski JA, Hood SJ, Dallal GE, Garry PJ. Phylloquinone in plasma from elderly and young adults: factors influencing its concentration. *Am J Clin Nutr.* 1989;50:100-8.

Sakon M, Monden M, Gotoh M, Kobayashi K, Kanai T, Umeshita K, et al. The effects of vitamin K on the generation of des-gamma-carboxy prothrombin (PIVKA-II) in patients with hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol.* 1991 Mar; 86(3):339-45.

Saron MLG, Godoy HT, Hessel GI. Nutritional status of patients with biliary atresia and autoimmune hepatitis related to serum levels of vitamins A, D and E. *Arq. Gastroenterol.* 2009; 46(1):62-8.

SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 9.2. SAS Institute Inc, 2002-2008, Cary, NC, USA.

Schwimmer JB, Deutsch R, Kahen T, Lavine JE, Stanley C, Behling C. Prevalence of Fatty Liver in Children and Adolescents. *Pediatrics* 2006 , 118(4):1388-93.

Shea MK, Booth SL, Gundberg CM, Peterson JW, Waddell C, Dawson-Hughes B, et al. Adulthood obesity is positively associated with adipose tissue Concentrations of Vitamin K and Inversely Associated with Circulating Indicators of Vitamin K Status in Men and Women. 2010 May; 140(5):1029-34.

Shearer M J; McBurney A; Barkhan P. studies on the absorption and metabolism of phylloquinone (vitamin K1) in man. *Vitamins and Hormones* 1974; 2:513-542.

Shearer MJ. Vitamin K. *Lancet* 1995; 345(8944):229-34.

Sherlock S. Nutritional complications of biliary cirrhosis. Chronic colestasis. *Am J Clin Nutr.* 1970; 23:640-4.

Silva ME, Porta G, Goldberg AC, Bittencourt PL, Fukui RT, Correia MR et al. Diabetes mellitus: related autoantibodies in childhood autoimmune hepatitis. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2002; 15(6):831-840.

Sokoll LJ, Booth SL, O'Brien ME, Davidson KW, Tsaïoun KI, Sadowski JA. Changes in serum osteocalcin, plasma phylloquinone, and urinary γ -carboxyglutamic acid in response to altered intakes of dietary phylloquinone in human subjects. *Am J Clin Nutr* 1997; 65:779-84.

Sokoll LJ, O'Brien ME, Camilo ME, Sadowski JA. Sadowski Undercarboxylated osteocalcin and development of a method to determine vitamin K status. *Clin Chem*. 1995; 41:1121-8.

Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FAH, Bertolami MC, Afiune NA, Souza AD, et al. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq. Bras. Cardiol*. 2007; 88(1):2-19.

Stellon AJ, Davies A, Compston J, Williams R. Bone loss in autoimmune chronic active hepatitis on maintenance corticosteroid therapy. *Gastroenterology* 1985; 89:1078-83.

Stenflo J, Fernlund P, Egan W, Roepstorff P. Vitamin K dependent modifications of glutamic acid residues in prothrombin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1974; 71(7): 2730-3.

Strassburg CP, Manns MP. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2002, 22:339-51.

Suehiro T, Sugimachi K, Matsumata T, Itasaka H, Taketomi A, Maeda T. Protein induced by vitamin K absence or antagonist II as a prognostic marker in hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 1995; 73:2464-71.

Suttie JW, Mummah-Schendel LL, Shah DV, Lyle BJ, Greger JL. Vitamin K deficiency from dietary restriction in humans. *Am J Clin Nutr*. 1988; 47:475-80.

Suttie JW. The importance of menaquinones in human nutrition. *Annu Rev Nutr*. 1995; 15:399-417.

Suttie JW. Vitamin K and human nutrition. *J Am Diet Assoc*. 1992; 92(5):585-90.

Suttie JW. Vitamin K. In: Macklin LJ, editor. Handbook of Vitamins, 2^a ed. New York: Marcel Dekker; 1990. p 145-194.

Tanaka H, Umekawa T, Kikukawa T, Toyoda N. Autoimmune hepatitis complicated with antiphospholipid syndrome in pregnancy. *AJRI* 2002; 47:142-5.

Taylor RM, Dhawan A. Assessing nutritional status in children with chronic liver disease. *J Gastroenterol. Hepatol.* 2005; Dec 20(12):1817-24.

Tominagata K, Kurata JH, Chen YK, Fuijimoto E, Miyagawa S, Kusano Y. Prevalence of fatty liver in Japanese children and relationship to obesity: an epidemiological ultrasonographic survey. *Dig Dis Sci.* 1995; 40:2002-9.

United States Department of Agriculture (USDA). Nutrient Data Laboratory. Search the USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>

Waldenström JL. Blutproteine und Nahrungseiweisse. *Dtsch Gesellsch Verd Stoffw* 1950; 15:113-9. (*apud* Reuben, 2003; Manns e Strassburg, 2001).

Van Winckel M, De Bruyne R, Van De Velde S, Van Biervliet S. Vitamin K, an update for the paediatrician. *Eur J Pediatr.* 2009; 168(2):127-34.

Wang Y, Lobstein T. Worldwide trends in childhood overweight and obesity. *Int J Pediatr Obes.* 2006; 1(1):11-25.

Weber P. Management of osteoporosis: Is there a role for vitamin K? *Int J Vitam Nutr Res.* 1997; 67:350-6.

Wessler S, Gitel SN. Warfarin: from bedside to bench. *N Engl J Med.* 1984; 311:645-52.

Whittingham S, Irwin J, Mackay IR, Smalley M. Smooth muscle autoantibody in "autoimmune" hepatitis. *Gastroenterol.* 1966; 51:499-505.

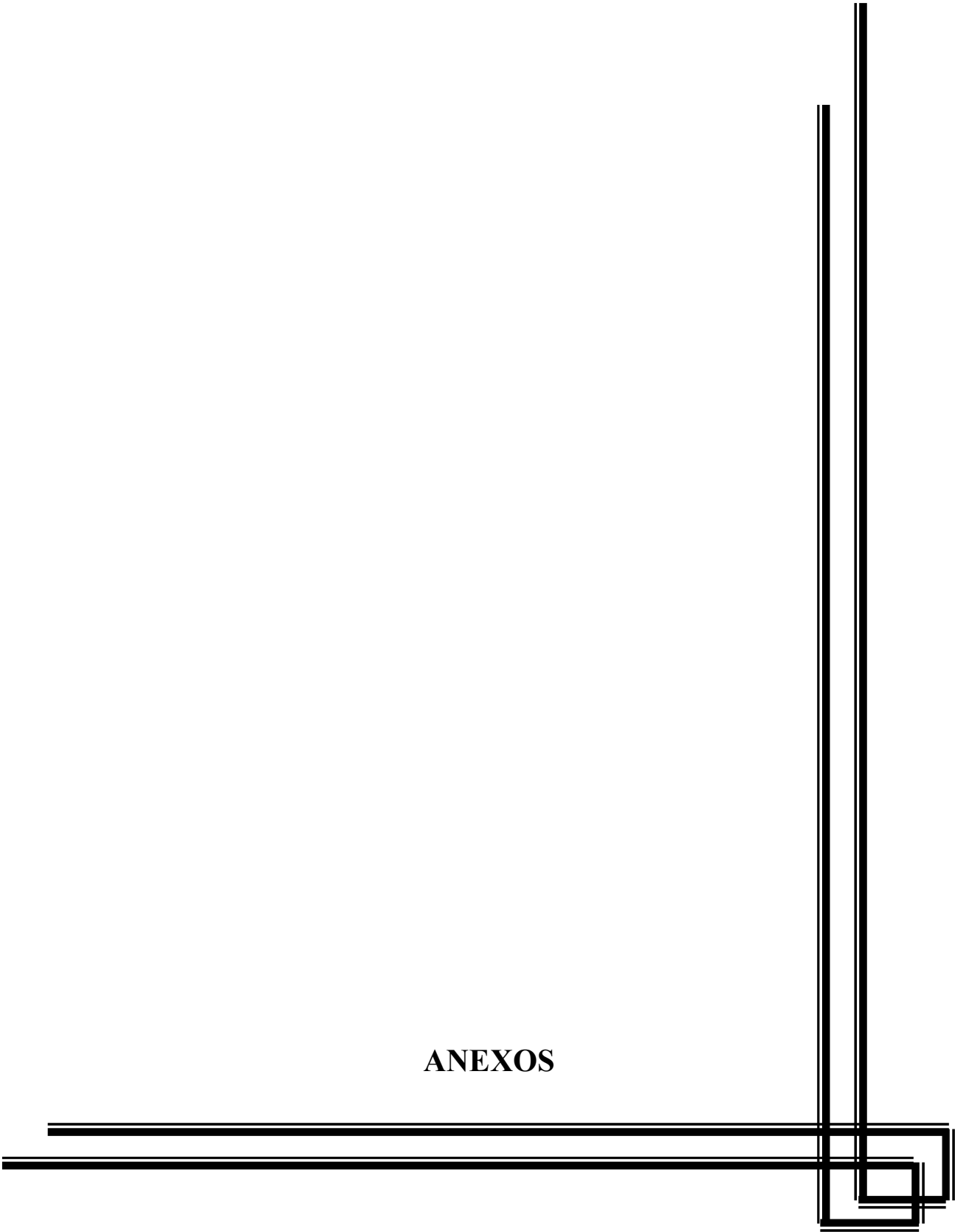
Villalta D, Girolami D, Bidoli E, Bizzaro N, Tampoia M, Liguori M, et al. High prevalence of celiac disease in autoimmune hepatitis detected by anti-tissue transglutaminase autoantibodies J Clin Lab Anal. 2005; 196-10.

von Kries R, Greer FR, Suttie JW. Assessment of vitamin K status of the newborn infant. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1993; 16, 231-8.

World Health Organization (WHO) Technical Report Series. Guidelines for thromboplastins and plasma used to control oral anticoagulant therapy. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. World Health Organization 1999. p.64-93.

World Health Organization (WHO). AnthroPlus version 1.0.4 for personal computers Manual: Software for assessing growth of the world's children and adolescents. Geneva: WHO, 2009. Disponível em : <http://www.who.int/growthref/tools/en/>

ANEXOS



ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 04/06/08.
(Grupo III)

PARECER CEP: Nº 301/2008 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0233.0.146.000-08

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “NÍVEIS PLASMÁTICOS DE PIVKA-II EM PACIENTES COM HEPATITE AUTO-IMUNE”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Michelle de Oliveira Torres Sundell

INSTITUIÇÃO: Hospital das Clínicas / UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 08/05/2008

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 27/05/09 (O formulário encontra-se no *site* acima)

II - OBJETIVOS

Determinar os níveis plasmáticos de PIVKA-II em pacientes com hepatite auto-imune, atendidos no Ambulatório de gastroenterologia pediátrica do Hospital das Clínicas / UNICAMP. Relacionar estes dados com o estado nutricional, a ingestão de micronutrientes, os dados da densitometria óssea e de coagulograma. Comparar os dados do grupo de pacientes com o grupo controle.

III - SUMÁRIO

Projeto de mestrado. A vitamina K atua como co-enzima na síntese de várias proteínas envolvidas na coagulação sanguínea e no metabolismo ósseo. A doença hepática crônica pode resultar em mal absorção de lipídeos e conseqüente quadro de deficiência de vitamina K. Tecnicamente, é difícil a mensuração deste composto no plasma, por isso recorre-se à dosagem de algumas proteínas descarboxiladas e, entre estas, a PIVKA-II. Assim, o objetivo do presente estudo será determinar os níveis plasmáticos desta proteína em pacientes com hepatite auto-imune, visando estimar a necessidade de suplementação adequada de vitamina K, de forma a melhorar seu estado nutricional, da taxa de crescimento e da qualidade de vida.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O projeto encontra-se adequado a Resolução CNS/MS 196/96 e suas complementares, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13084-971 Campinas – SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br

- 1 -

restrições o Protocolo de Pesquisa, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VI - DATA DA REUNIÃO

Homologado na V Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 27 de maio de 2008.


Prof. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

ANEXO 2 – SISTEMA DE ESCORE PARA O DIAGNÓSTICO DE HAI

Parâmetros	Escore
Sexo	
Feminino	+2
Bioquímica hepática	
Relação de elevação acima dos valores normais de FA/AST ou ALT	
< 1,5	+2
1,5-3,0	0
> 3,0	- 2
Níveis séricos de globulinas ou gama-globulinas ou IgG	
<i>(número de vezes acima do limite normal)</i>	
>2,0	+3
1,5 - 2,0	+2
1,0 - 1,5	+1
< 1,0	0
Auto-anticorpos (títulos por IFI em cortes de rato)	
ANA, SMA, anti-LKM1 -1	
> 1/80	+3
1/80	+2
1/40	+1
< 1/40	0
AAM	
positivo	- 2
Crianças com títulos < 1/80, principalmente anti-LKM1	+1
Marcadores virais (VHA, VHB, VHC, CMV, EB)	
Positivo	- 3
Negativo	+3
História de drogas (recente ou uso contínuo ou suspeita de drogas hepatotóxicas)	
positiva	- 4
negativa	+1
Consumo alcoólico	
< 25g/dia	+2
> 60g/dia	- 2
Histologia	
Hepatite por interface	+3
Rosetas de hepatócitos	+1

Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário acentuado	+1
Nenhum dos acima	- 5
(Continuação)	
Alterações biliares	- 3
Outras alterações: granulomas, siderose e depósitos de cobre sugestivos de diferente etiologia	- 3
Outras doenças auto-ímmunes	
(paciente ou familiares de primeiro grau)	+2
Outros parâmetros opcionais adicionais	
soropositividade para outro auto-anticorpo definido PANCA, anti-citosol-1, anti-SLA, anti-ASGP-R, anti antígeno de membrana plasmática de hepatócito humano ou glico-esfingolípide da membrana plasmática de hepatócitos, anti-sulfatide	+2
Marcadores genéticos	
HLA DR3 ou DR4 (outros HLA de diferentes populações podem ser considerados)	+1
Resposta terapêutica	
completa	+2
recaídas	+3

Interpretação do escore:

1. Pré- tratamento:

a. Definitivo >15

b. Provável 10-15

2. Pós-tratamento:

a. Definitivo >17

b. Provável 12-17

**ANEXO 3 – VALORES DE REFERÊNCIA ADOTADOS PELO
LABORATÓRIO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNICAMP**

ALANINA AMINOTRANSFERASE - ALT

Prematuro: < 28 U/L
1 dia: < 31 U/L
2 a 5 dias: < 52 U/L
6 dias-6 meses: < 60 U/L
7 meses-1ano: < 57 U/L
1 ano - 12 anos: < 39 U/L
13-17 anos: Homem: < 26 U/L
 Mulher: < 23 U/L
Adulto: Homem: < 50 U/L
 Mulher: < 34 U/L

ASPARTATO AMINOTRANSFERASE - AST

Prematuro: < 64 U/L
1 dia: < 122 U/L
2 a 5 dias: < 110 U/L
6 dias a 6 meses: < 84 U/L
7 meses a 1 ano: < 89 U/L
1 a 3 anos: < 56 U/L
4 a 6 anos: < 52 U/L
7 a 12 anos: < 51 U/L
13 a 17 anos: Homem: < 35 U/L
 Mulher: < 27 U/L
Adulto: Homem: < 33 U/L
 Mulher: < 27 U/L

BILIRRUBINA TOTAL - BT

1 dia: < 6,0 mg/dL
2 dias: < 7,0 mg/Dl
3 a 5 dias: < 12,0 mg/dL
Crianças e Adultos: < 1,0 mg/dL

GAMA GLUTAMILTRANSFERASE - GGT

Prematuro: < 257 U/L
1 dia: < 151 U/L
2 a 5 dias: < 185 U/L
6 dias a 6 meses: < 204 U/L
7 meses a 1 ano: < 34 U/L
1 a 3 anos: < 18 U/L
4 a 6 anos: < 23 U/L
7 a 12 anos: < 17 U/L

13 a 17 anos: Homem: < 45 U
Mulher: < 33 U/L
Adulto: Homem: < 71 U/L
Mulher: < 42 U/L

COLESTEROL TOTAL

de 2 a 19 anos: < 170 mg/dL
> ou = 20 anos: < 200 mg/dL
Risco Limítrofe de doença coronariana:
de 2 a 19 anos: 170 - 199 mg/dL
> ou = 20 anos: 200 - 239 mg/dL
Risco Aumentado de Doença Coronariana:
de 2 a 19 anos: > ou = 200 mg/dL
> ou = 20 anos: > ou = 240 mg/dL

HDL-COLESTEROL

< 10 anos: desejável > ou = 40 mg/dL
10 a 19 anos: desejável > ou = 35 mg/dL
Adulto: desejável > ou = 40 mg/dL
Ótimo: > 60 mg/dL

TRIGLICÉRIDES

< 10 anos: desejável < ou = 100 mg/dL
de 10 a 19 anos: desejável < ou = 130 mg/dL
> ou = 20 anos: desejável < ou = 150 mg/dL
Fator de Risco Aumentado de Doença Coronariana:
< 10 anos: > 100mg/dL
de 10 a 19 anos: > 130 mg/dL
> ou = 20 anos: > 150 mg/dL

LDL COLESTEROL

Ótimo: < 100 mg/dL
Próximo do ótimo: 100 - 129 mg/dL
Doença Coronariana
Risco Levemente Aumentado: 130 - 150 mg/dL
Alto Risco: 160 - 189 mg/dL
Risco Muito Alto: > ou = 190 mg/dL

ALBUMINA

< ou = 4 dias: 2,8 a 4,4 g/dL
5 dias a 14 anos: 3,8 a 5,4 g/dL
15 a 18 anos: 3,2 a 4,5 g/dL
Adulto: 3,4 a 4,8 g/dL

BILIRRUBINA DIRETA

Até 0,30 mg/dL

BILIRRUBINA TOTAL

Prematuros a partir de 1 dia: < 6,0 mg/dL

2 dias: < 7,0 mg/dL

3 a 5 dias: < 12,0 mg/dL

Crianças e Adultos: < 1,0 mg/dL

CALCIO TOTAL

Prematuro: 7,6 - 10,0 mg/dL

2 meses a 1 ano: 8,4 - 10,8 mg/dL

1 a 4 anos: 8,4 a 10,4 mg/dL

5 a 20 anos: 9,2 - 11,0 mg/dL

21 a 50 anos: 8,8 - 10,2 mg/dL

> 50 anos: 8,4 - 9,7 mg/dL

FOSFATASE ALCALINA

1 dia: < 250 U/L

2 a 5 dias: < 231 U/L

6 dias a 6 meses: < 449 U/L

1 a 3 anos: < 281 U/L

4 a 6 anos: < 269 U/L

7 a 12 anos: < 300 U/L

13 a 17 anos: Homem: < 390 U/L

Mulher: < 187 U/L

Adulto: Homem: < 129 U/L

Mulher: < 104 U/L

EXAME: HMG

WBC(4,0 - 10,0)

RBC(H:4,5-6,1 / M:4,2-5,4)

HGB(H:14-18 / M:12-16)

HCT(H:42-52 / M:37-47)

MCV(H:80-96 / M:81-99)

MCH(27 - 32)

MCHC(32 - 36)

RDW(10 - 15)

PLT(150 - 400)

PDW(0 - 18)

BAST(0 - 0,7)

SEG(2,0 - 8,0)

LINF(1,0 - 4,0)

MONO(0,2 - 1,0)

EOSINO(0 - 0,5)

BASO(0 - 0,15)

FOSFORO INORGÂNICO

Prematuro: 4,0 - 8,8 mg/dL

< 30 dias: sexo feminino: 3,0 - 8,0 mg/dL
 sexo masculino: 2,7 - 7,2 mg/dL

1 a 3 meses: Mulher: 3,0 - 7,5 mg/dL
 Homem: 3,0 - 6,8 mg/dL

4 a 1 ano: Mulher: 2,5 - 7,0 mg/dL
 Homem: 3,0 - 6,9 mg/dL

13 meses a 2 anos: Mulher: 3,0 - 6,5 mg/dL
 Homem: 2,5 - 6,4 mg/dL

2 a 13 anos: Mulher: 2,5 - 6,0 mg/dL
 Homem: 3,0 - 6,0 mg/dL

14 a 16 anos: Mulher: 3,0 - 5,6 mg/dL
 Homem: 3,0 - 5,4 mg/dL

17 a 18 anos: Mulher: 3,0 - 4,8 mg/dL
 Homem: 3,0 - 5,2 mg/dL

Adultos: 2,7 - 4,5 mg/dL

RNI até 1,25

TTPA 30,70 segundos

R até 1,30

PIVKA-II < 2 ng/ml

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – I

Projeto - Níveis plasmáticos de PIVKA-II em pacientes com hepatite autoimune

- Pesquisadores: Michelle de Oliveira Torres Sundell e Prof. Dr. Gabriel Hessel
- Paciente: _____ HC: _____
- Idade: _____ DN: _____
- Endereço: _____

Eu, _____, declaro por livre e espontânea vontade permitir a participação de _____ neste estudo que será feito para investigar se há necessidade do paciente receber a suplementação de vitamina K . Quando o paciente comparecer para fazer a coleta de sangue por punção de veia periférica, para as análises de rotina, será solicitado a coleta de 4 a 5 ml de sangue a mais, necessitando para isso, vir ao hospital em jejum feito durante 8 horas. Queremos dizer ainda que será realizado o exame densitometria óssea para verificar a qualidade dos ossos do paciente e os exames antropométricos peso, altura, pregas da pele e bioimpedância, não oferecendo nenhum risco a integridade física da criança ou adolescente. Serão feitos inquéritos alimentares por meio do diário alimentar de três dias que será preenchido em casa e o recordatório habitual e questionário de frequência alimentar que serão preenchidos durante a consulta. Os exames serão realizados no mesmo dia em que o paciente comparecer ao ambulatório para fazer a rotina de evolução do tratamento, seja consulta clínica ou exames. Essa investigação não acarretará gasto de dinheiro e nem riscos à saúde do paciente. Os dados coletados não constarão nome do paciente para publicações tendo uma garantia de total sigilo por parte dos pesquisadores.

Recebi orientação que não receberei remuneração em troca da participação e que posso desistir no momento em que desejar, mesmo após a assinatura deste termo. E que a desistência não acarretará em alteração nos cuidados médicos e orientações que venho recebendo. E receberei uma cópia deste termo assinado em três vias.

De acordo,

Pai ou responsável pelo participante: _____

Michelle de Oliveira Torres Sundell Tel.(19) 8176-4590: _____

Prof. Dr. Gabriel Hessel Tel. (19) 3521-7193: _____

Comitê de Ética em Pesquisa Tel. (19) 3521-8936.

_____, ____ de _____ de 2009.

APÊNDICE 2- DIÁRIO ALIMENTAR DE TRÊS DIAS

Nome: _____ HC: _____

Como preencher o diário:

Primeira coluna anotar o horário e a refeição (café da manhã, lanche da manhã, almoço, lanche da tarde, jantar, ceia, e beliscos).

Segunda coluna anotar os petiscos, bebidas, alimentos e preparações (cozido, grelhado, assado ou frito).

Terceira coluna anotar a medida que foi usada e/ou recipiente, como por exemplo: copos, colheres, xícaras, pratos, garfadas, gramas (g) ou mililitros (mL) das embalagens.

Quarta coluna anotar o local da refeição se foi em casa ou na escola.

Michelle O. T. Sundell

Nutricionista

(19) 8176-4590

sundell@fcm.unicamp.br

APÊNDICE 3 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – II

Projeto - Níveis plasmáticos de PIVKA-II em pacientes com hepatite autoimune

- Pesquisadores: Michelle de Oliveira Torres Sundell e Prof. Dr. Gabriel Hessel
- Paciente: _____ HC: _____
- Idade: _____ DN _____
- Endereço: _____ Fone: _____

Eu, _____, declaro por livre e espontânea vontade permitir a participação de _____ neste estudo como grupo controle. Esse estudo será feito para investigar os níveis da vitamina K. Quando o paciente comparecer ao ambulatório para fazer a rotina de evolução do tratamento, seja consulta clínica ou exames, será solicitada a coleta de sangue (feito por punção de veia periférica, total de 4 a 5 ml), necessitando para isso, vir ao hospital em jejum feito durante 8 horas. Queremos dizer ainda que serão realizados os exames antropométricos (peso, altura, pregas da pele e bioimpedância) não oferecendo nenhum risco a integridade física da criança. Serão feitos inquéritos alimentares por meio do diário alimentar de três dias que será preenchido em casa e o recordatório habitual e questionário de frequência alimentar que serão preenchidos durante a consulta. Essa investigação não acarretará gasto de dinheiro e nem riscos à saúde do paciente. Os dados coletados não constarão nome do paciente para publicações tendo uma garantia de total sigilo por parte dos pesquisadores.

Recebi orientação que não receberei remuneração em troca da participação e que posso desistir no momento em que desejar, mesmo após a assinatura deste termo. E que a desistência não acarretará em alteração nos cuidados médicos e orientações que venho recebendo. E receberei uma cópia deste termo assinado em três vias.

De acordo,

Pai ou responsável pelo participante: _____

Michelle de Oliveira Torres Sundell Tel. (19) 8176-4590: _____

Prof. Dr. Gabriel Hessel Tel. (19) 3521-7193: _____

Comitê de Ética em Pesquisa Tel. (19) 3521-8936.

_____, ____ de _____ de 2009.

APÊNDICE 4 - FICHA PARA COLETA DE DADOS

I- Identificação

Nome: _____ HC: _____

Nome do Responsável: _____

Data de Nascimento: _____ Idade: _____

Sexo: () F () M Data: ____/____/____

II- Histórico Clínico

HAI tipo I () tipo II () não classificado ()

Critério de diagnóstico: biópsia () sim () não

Biópsia nº _____ Data: ____/____/____

Outras doenças associadas:

Início do tratamento: ____/____/____

III- Quadro Clínico Atual

Icterícia	() sim	() não
Colúria	() sim	() não
Acolia fecal	() sim	() não
Hipocolia fecal	() sim	() não
Epistaxe	() sim	() não
Hematêmese	() sim	() não
Equimoses	() sim	() não
Melena	() sim	() não
Hematúria	() sim	() não
Ascite	() sim	() não
Edema	() sim	() não
Diarreia	() sim	() não
Esplenomegalia	() sim	() não

IV- Medicamentos

Nome: _____ Dose: _____

Nome: _____ Dose: _____

Nome: _____ Dose: _____

Nome: _____ Dose: _____

Fez uso da vitamina K (Kanakion®)?

() sim () não

Última dose: ____/____/____

V- Antropometria

Data da avaliação: ____/____/____

Peso(kg) _____
Altura (cm) _____
Circunferência braquial (cm) _____
Área adiposa do braço (AAB) _____
Circunferência muscular do braço (CMB) _____
Área muscular do braço (AMB) _____
Prega cutânea tricipital (PCT) _____
Prega cutânea subescapular (PCSE) _____

Bioimpedância elétrica:

Resistência _____
Reactância _____

VI- Exames Laboratoriais coleta: ____/____/____

Hb	COL
Ht	HDL
VCM	LDL
HCM	VLDL
CHCM	TRIG
Linfócitos	RNI
Leucócitos	R
Segmentados	AST
Monócitos	ALT
Eosinófilos	FALC
Basófilos	GGT
PLQ	BT
ALB	BD
Ca	BI
Pi	

VII- Resultado da análise PIVKA-II

Coleta do sangue ____/____/____ Análise laboratorial: ____/____/____

Resultado: _____

VIII- Questionário de frequência alimentar

Data ____/____/____

ALIMENTO	Diário	Semanal	Quinzenal	Mensal	Raramente	Não come
Frutas						
Abacate						
Pêra						
Suco natural						
Suco artificial						
Refrigerante						
Leite						
Iogurte						
Requeijão						
Queijo						
Yakult						
Verduras						
Legumes						
Brócolis						
Couve						
Couve-flor						
Espinafre						
Agrião						
Alface						
Salsa						
Folha de nabo						
Nabo						
Tomate						
Repolho						
Pepino						
Mandioca						
Lentilha						
Arroz						
Feijão						

Macarrão						
Pão						
Cereal						
Óleo de soja						
Óleo de canola						
Óleo fígado bacalhau						
Margarina						
Manteiga						
Frituras						
Presunto						
Azeite						
Ovo						
Fígado de boi						
Fígado de galinha						
Fígado de porco						
Peixe						
Sardinha enlatada						
Frango						
Carne de porco						
Carne de boi						
Achocolatado						
Doces						
Balas						
Pizza						
Sanduíche						
Café						

APÊNDICE 5 – Tabela 6

Tabela 6 – Discriminação e porcentagem das doenças extra-hepáticas apresentadas pelos pacientes com HAI.

Doenças extra-hepáticas	N(%)
Baixa densidade mineral óssea	7 (24,1)
Sinusite	2 (6,9)
Alopecia	1 (3,4)
Pólipo nasal	1 (3,4)
Pitiríase versicolor	1 (3,4)
Enxaqueca	1 (3,4)
Leucopenia e plaquetopenia anteriores à azatioprina,	1 (3,4)
Leucopenia e plaquetopenia secundária à azatioprina	1 (3,4)
Catarata secundária à corticoterapia	1 (3,4)
Hipotireoidismo, tireoide sublingual ectópica	1 (3,4)
Conjuntivite	1 (3,4)
Prurido	1 (3,4)
Esquistossomose	1 (3,4)
Insuficiência Mitral leve	1 (3,4)
Hematúria microscópica	1 (3,4)
Estrabismo divergente (Necrose cabeça fêmur)	1 (3,4)
Agnesia antebraço (secundário à brida amniótica)	1 (3,4)
Hipogamaglobulinemia (IgA)	1 (3,4)
Síndrome plurimetabólica	1 (3,4)
Hipoplasia MO	1 (3,4)

APÊNDICE 6 – Tabela 7

Tabela 7 – Discriminação e porcentagem das doenças hepato-gastrointestinais.

Doenças hepato-gastrointestinais	N (%)
Hipertensão portal	8 (27,6)
Constipação intestinal funcional	5 (17,2)
Gastrite crônica	1 (3,4)
Gastrite HP	1 (3,4)
Litíase Biliar	1 (3,4)
Trombose de Veia Porta	1 (3,4)
Esofagite (grau B Los Angeles)	1 (3,4)
Colite autoimune/colangite autoimune (síndrome mista)	1 (3,4)

APÊNDICE 7 – Tabela 9

Tabela 9 – Medicamentos prescritos aos pacientes com HAI devido às doenças concomitantes.

Medicação	N (%)
Omeprazol	7 (24,1)
Ranitidina	3 (10,3)
Hidroclorotiazida	2 (6,9)
Propranolol	1 (3,4)
Mesalazina	1 (3,4)
Captopril	1 (3,4)
Metformina	1 (3,4)
Hidróxido de magnésio	1 (3,4)

APÊNDICE 8 – Tabela 10

Tabela 10 – Vitaminas e minerais prescritos aos pacientes com HAI.

Medicação	N (%)
Carbonato de Cálcio	24 (82,8)
Ad-til / Vitamina A e D	15 (51,7)
Kanakion	13 (44,8)
Vitamina E	7 (24,1)
Polivitamínico e polimineral	7 (24,1)
Sulfato de Zinco	4 (13,8)
Polivitamínico	3 (10,3)
Vitamina D	3 (10,3)
Sulfato Ferroso	1 (3,4)
Cálcio	1 (3,4)