

MARGARETH LOPES GALVÃO SARON

**NÍVEIS SÉRICOS DAS VITAMINAS LIPOSSOLÚVEIS
(A, D e E) EM PACIENTES COM ATRESIA BILIAR
E HEPATITE AUTO-IMUNE E A RELAÇÃO COM O
ESTADO NUTRICIONAL E INDICADORES CLÍNICOS
E LABORATORIAIS**

CAMPINAS

Unicamp

2008

MARGARETH LOPES GALVÃO SARON

**NÍVEIS SÉRICOS DAS VITAMINAS LIPOSSOLÚVEIS
(A, D e E) EM PACIENTES COM ATRESIA BILIAR
E HEPATITE AUTO-IMUNE E A RELAÇÃO COM O
ESTADO NUTRICIONAL E INDICADORES CLÍNICOS
E LABORATORIAIS**

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente, área de concentração em Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Hessel

CAMPINAS

Unicamp

2008

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

Sa74n Saron, Margareth Lopes Galvão
Níveis séricos das vitaminas lipossolúveis (A, D e E) em pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune e a relação com o estado nutricional e indicadores clínicos e laboratoriais / Margareth Lopes Galvão Saron. Campinas, SP : [s.n.], 2008.

Orientador : Gabriel Hessel.
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Vitamina A. 2. Vitamina D. 3. Vitamina E. 4. Avaliação nutricional. 5. Doença crônica. 6. Fígado. 7. Doença hepática. I. Hessel, Gabriel. II. Godoy, Helena Teixeira. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Título em inglês : Serum levels of fat - soluble vitamins (A, D and E) in patients with biliary atresia and auto-immune hepatitis and relations with the nutritional status and clinic indicators and laboratorial

Keywords: • Vitamin A
• Vitamin D
• Vitamin E
• Nutrition assessment
• Chronic Disease
• Liver
• Liver disease

Titulação: Doutor em Saúde da criança e do Adolescente
Área de concentração: Saúde da criança e do Adolescente

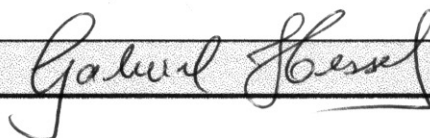
Banca examinadora:

Prof. Dr. Gabriel Hessel
Profa. Dra. Vânia Aparecida Leandro Merli
Profa. Dra. Júlia Laura Delbue Benardi
Profa. Dra. Adriana Maria Alves De Tommaso
Prof. Dr. Antônio Fernando Ribeiro
Data da defesa: 25 -02 - 2008

Banca Examinadora da tese de Doutorado

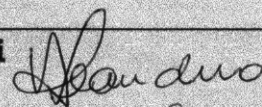
Orientador:

Prof. Dr. Gabriel Hessel

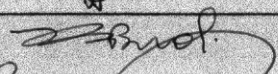


Membros:

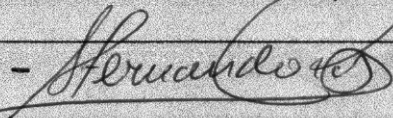
1. Prof.(a) Dr.(a). Vânia Aparecida Leandro Merhi



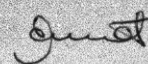
2. Prof.(a) Dr.(a). Julia Laura Delbue Bernardi



3. Prof. Dr. Antônio Fernando Ribeiro



4. Prof.(a) Dr.(a) Adriana Maria Alves de Tommaso



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

Data: 2008

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese ao meu grande amor, companheiro, amigo e esposo Clodoaldo Saron que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos importantes de minha vida e que foi minha inspiração de grande pesquisador.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Gabriel Hessel** pela oportunidade e por estes 4 anos de convivência que foram maravilhosos. Conheci um grande exemplo de profissional que tem as qualidades mais notáveis como sabedoria, humildade e paixão pela profissão.

À Prof.^a Dr.^a **Helena Texeira Godoy** que me acolheu com muito carinho no seu laboratório e pela sua co-orientação que foi fundamental para a execução deste trabalho.

Aos **meus pais** que mesmo à distância torceram sempre por mim.

À Prof.^a Dr.^a **Adriana Maria Alves De Tommaso** e à Prof.^a Dr.^a **Maria Ângela Bellomo Brandão** pela grande colaboração, amizade e profissionalismo.

À Nutricionista **Márcia Regina Banin**, por quem tenho profunda admiração. Obrigada pelos ensinamentos, amizade e por me agüentar nos treinos das apresentações dos congressos.

À Profa. Dra. **Elizete Aparecida Lomazi da Costa Pinto**, Profa. Dra. **Keila Miriam Monteiro de Carvalho** e ao Dr. **Roberto José Negrão Nogueira** pela colaboração na coleta dos dados.

À todas as amigas do laboratório de imunologia do CIPED, em especial à **Yara Franco**.

A todos os amigos **do laboratório de Análise de Alimentos** da FEA.

À **Elizete Facco** pela grande ajuda nas análises cromatográficas, que sempre me socorria no HPLC e companheira de altas horas no laboratório.

A **todos os residentes** que passaram pelo Ambulatório de Hepatologia Pediátrica durante estes 4 anos, obrigada pela contribuição.

À Faculdade de Ciências Médicas, especialmente ao *Departamento de Pediatria*, pela oportunidade profissional.

À *Capes e a Faepex* pelo suporte financeiro.

A todas *as crianças e adolescentes* que participaram como voluntários deste trabalho, muito obrigado.

A *todos* os que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização desse trabalho.

	PÁG.
RESUMO.....	<i>xxxi</i>
ABSTRACT.....	<i>xxxv</i>
INTRODUÇÃO GERAL.....	39
1.1- APRESENTAÇÃO.....	41
1.2- OBJETIVOS.....	42
1.3- CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	43
1.3.1- Casuística.....	43
1.3.2- Métodos.....	44
1.3.2.1- Técnicas e procedimentos de antropometria e composição corporal.....	44
1.4- ESTRUTURA GERAL DE DESENVOLVIMENTO DA TESE.....	47
1.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
CAPÍTULO I- Avaliação do estado nutricional de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune e a relação com os níveis séricos das vitaminas A, D e E.....	51
RESUMO.....	53
1- INTRODUÇÃO.....	55
2- OBJETIVOS.....	56
2.1- Gerais.....	56
2.2- Específicos.....	57
3- CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	57
3.1- Casuística.....	57

3.1.1- Local da pesquisa.....	57
3.1.2- Delineamento do estudo.....	58
3.1.3- População.....	58
3.2- Métodos.....	59
3.2.1- Coleta de sangue.....	59
3.2.2- Avaliações bioquímicas.....	59
3.2.2.1- Determinação dos níveis séricos das vitaminas lipossolúveis.....	59
3.2.2.2- Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	60
3.2.3- Classificação quanto à presença ou ausência de colestase.....	60
3.2.4- Classificação pelo método de Child-Pugh modificado.....	60
3.2.5- Antropometria e composição corporal.....	61
3.2.6- Inquérito dietético.....	62
3.2.7- Análise dos dados.....	63
4- RESULTADOS.....	63
4.1- Avaliação antropométrica.....	63
4.2- Níveis séricos das vitaminas A, D e E de acordo com as faixas etárias e com o gênero.....	65
4.3- Níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo controle e do grupo atresia biliar e hepatite auto-imune.....	66
4.4- Correlações dos parâmetros antropométricos com os níveis séricos das vitaminas A, D e E.....	67
4.5- Gravidade da doença.....	68
4.6- Distribuição percentual e adequação de energia.....	69

5- DISCUSSÃO.....	69
6- CONCLUSÕES.....	74
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
CAPÍTULO II- Níveis séricos das vitaminas A, D e E em pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune e a relação com indicadores clínicos e laboratoriais.....	81
RESUMO.....	83
1- INTRODUÇÃO.....	85
2- OBJETIVOS.....	87
2.1- Gerais.....	87
2.2- Específicos.....	87
3- CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	88
3.1- Casuística.....	88
3.1.1- Local da pesquisa.....	88
3.1.2- Delineamento do estudo.....	88
3.1.3- População.....	88
3.2- Métodos.....	89
3.2.1- Coleta de sangue.....	89
3.2.2- Avaliações bioquímicas.....	89
3.2.2.1- Determinação dos níveis séricos das vitaminas lipossolúveis.....	89
3.2.2.2- Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	90
3.2.2.3- Indicadores bioquímicos.....	90

3.3- Classificação quanto à presença ou ausência de colestase.....	91
3.4- Classificação pelo método de Child-Pugh modificado.....	91
3.5- Dosagem de gordura fecal.....	92
3.6- Prescrição de vitaminas.....	92
3.7- Análise dos dados.....	92
4- RESULTADOS.....	93
4.1- Características gerais.....	93
4.2- Níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo controle e do grupo de atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente.....	94
4.3- Colestas.....	95
4.4- Gravidade da doença.....	96
4.5- Esteatorréia.....	97
4.6- Suplementação vitamínica.....	98
4.7- Correlações dos indicadores laboratoriais.....	98
5- DISCUSSÃO.....	102
6- CONCLUSÕES.....	107
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	108
APÊNDICES.....	113
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – I.....	115
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – II.....	116
ANEXOS.....	121
VALORES DE REFERÊNCIAS ADOTADOS PELO LABORATÓRIO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNICAMP.....	123
PARECER PROJETO: Nº 542/2003.....	125

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAB	Área Adiposa Braquial
AB	Atresia Biliar
ALB	Albumina
ALT	Alanina Aminotransferase
AMB	Área Muscular Braquial
AST	Aspartato Aminotransferase
BD	Bilirrubina Direta
BT	Bilirrubina Total
Ca	Cálcio
CB	Circunferência Braquial
CDC	Center for Disease Control
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CT	Colesterol Total
DHC	Doenças Hepáticas Crônicas
DRI	Dietary Reference Intake
E/I	Estatura/Idade
FA	Fosfatase Alcalina
GGT	Gama Glutamiltransferase
HAI	Hepatite Auto-Imune
HDL	Hight Density Level
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	Low Density Level

MELD	Model for End-stage Liver Disease
ND	Não Detectado
P/I	Peso/Idade
PCT	Prega Cutânea Tricipital
PCSE	Prega Cutânea Subescapular
PELD	Pediatric End-Stage Liver Disease
Pi	Fósforo Inorgânico
SPC	Soma das Pregas Cutâneas
SPSS	Statistical Package for Social Science
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
WHO	World Health Organization

CAPÍTULO I

	PÁG.
Tabela 1- Classificação de Child-Pugh modificado pelo sistema de pontuação quanto à gravidade da doença hepática.....	61
Tabela 2- Resultados da avaliação nutricional em escore Z dos grupos de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune.....	64
Tabela 3- Resultados da avaliação antropométrica em escore Z dos grupos atresia biliar com presença de colestase e ausência de colestase.....	64
Tabela 4- Níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo controle de acordo com a faixa etária e com o gênero.....	65
Tabela 5- Comparação dos níveis séricos das vitaminas A, D e E entre o grupo de pacientes hepatopatas e grupo controle.....	66
Tabela 6- Parâmetros antropométricos em relação à gravidade da doença (Child A e Child B associado ao Child C) nos pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune.....	68
Tabela 7- Distribuição percentual de energia e adequação de energia dos grupos de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune.....	69

CAPÍTULO II

Tabela 1- Classificação de Child-Pugh modificado pelo sistema de pontuação quanto à gravidade da doença hepática.....	91
Tabela 2- Características laboratoriais do grupo atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente.....	94
Tabela 3- Comparação dos níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo controle com os grupos atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente.....	95

Tabela 4-	Níveis séricos das vitaminas A, D e E em relação à presença ou ausência de colestase no grupo atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente.....	96
Tabela 5-	Níveis séricos das vitaminas A, D e E em relação à classificação do Child-Pugh no grupo atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente.....	97
Tabela 6-	Níveis séricos das vitaminas A, D e E em relação à ausência ou presença de esteatorréia no grupo atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente para HAI.....	98

CAPÍTULO I

PÁG.

Figura 1-	Correlação linear (r) das variáveis Peso/Idade (P/I), Estatura/Idade (E/I), Índice de Massa Corpórea (IMC), Prega Cutânea Tricipital (PCT), Prega Cutânea Subescapular (PCSE) Circunferência Braquial (CB), Área Muscular Braquial (AMB), Área Adiposa Braquial (AAB), Soma das Pregas Cutâneas (SPC) com os níveis séricos das vitaminas A, D e E nos pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune em conjunto. *p<0,05.....	67
------------------	---	----

CAPÍTULO II

Figura 1-	Correlação das variáveis ALB (Albumina), ALT (Alanina AminoTransferase), AST (Aspartato AminoTransferase), BD (Bilirrubina Direta), BT (Bilirrubina Total), GGT (Gama GlutamilTransferase), FA (Fosfatase Alcalina), com os níveis séricos das vitaminas A, D e E no grupo atresia biliar e hepatite auto-imune em conjunto. *p<0,05.....	99
Figura 2-	Correlação das variáveis ALB (Albumina), ALT (Alanina Amino Transferase), AST (Aspartato Amino Transferase), BD (Bilirrubina Direta), BT (Bilirrubina Total), GGT (Gama Glutamil Transferase), FA (Fosfatase Alcalina) com os níveis séricos das vitaminas A, D e E no grupo atresia biliar. *p>0,05.....	100
Figura 3-	Correlação das variáveis ALB (Albumina), ALT (Alanina AminoTransferase), AST (Aspartato AminoTransferase), BD (Bilirrubina Direta), BT (Bilirrubina Total), GGT (Gama GlutamilTransferase), FA (Fosfatase Alcalina), com os níveis séricos das vitaminas A, D e E no grupo hepatite auto-imune. *p<0,05.....	101

RESUMO

As doenças hepáticas crônicas podem induzir à má-absorção de lipídios e vitaminas lipossolúveis e levar ao comprometimento do estado nutricional. O objetivo da pesquisa foi determinar os níveis séricos de vitaminas lipossolúveis (A, D e E) em crianças e adolescentes com atresia biliar (AB) e hepatite auto-imune (HAI) e verificar a relação com o estado nutricional e indicadores laboratoriais e clínicos. O estudo foi transversal e controlado e foram avaliados os pacientes com HAI (n=25) e AB (n=24), e um grupo controle (n=53) pareado por sexo e idade. Os níveis séricos das vitaminas A, D e E foram determinados pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Além disso, foi realizada a avaliação antropométrica e a classificação dos pacientes na pontuação de Child-Pugh. Foram empregados os testes de Mann-Whitney, o coeficiente de correlação de Spearman e análise de variância, sendo considerada diferença significativa se $p < 0,05$. Em relação às vitaminas, no grupo controle, constatou-se que os níveis séricos das vitaminas A e E variaram com a idade. Os níveis séricos das vitaminas A, D e E foram maiores no grupo controle em relação aos pacientes com AB e HAI, em conjunto ou separadamente. Em relação ao grupo AB, não foi observado diferença significativa nos níveis séricos das vitaminas A, D e E nos pacientes com ou sem colestase. Os pacientes com AB e HAI, em conjunto, classificados em Child C e Child B apresentaram os menores níveis séricos das vitaminas A e E comparados ao Child A. O déficit nutricional mais grave foi observado nos pacientes com AB com colestase. Verificou-se no grupo AB e HAI em conjunto a correlação do Peso/Idade (P/I), Prega Cutânea Tricipital (PCT), Prega Cutânea Subescapular (PCSE), Circunferência Braquial (CB), Área Adiposa Braquial (AAB) com as vitaminas A e E. Além destes indicadores a vitamina E também se correlacionou com Estatura/Idade (E/I), Índice de Massa Corporal (IMC), Área Muscular Braquial (AMB) e Soma das Pregas Cutâneas (SPG) nos pacientes com HAI e AB, em conjunto. Pode-se concluir que, foi observada deficiência das vitaminas A, D e E nos pacientes com AB e HAI. Quanto maior a gravidade da doença menores foram os níveis séricos das vitaminas A e E, nos pacientes com

AB e HAI, em conjunto. Essa mesma relação da gravidade da doença ocorreu para as vitaminas A e D nos pacientes com HAI. Com relação ao estado nutricional, os pacientes com AB, principalmente com colestase, apresentaram maior comprometimento nutricional. Houve correlação diretamente proporcional, principalmente da vitamina E com todas as variáveis antropométricas do grupo de AB e HAI em conjunto.

Descritores: vitamina A, vitamina D, vitamina E, colestase, doença hepática crônica, avaliação nutricional.

ABSTRACT

The chronic liver diseases can cause malabsorption of lipids and fat-soluble vitamins, leading to a deficient nutritional status. The aim of research was: to evaluate the relation between serum levels of fat-soluble vitamins (A, D and E) on children and adolescents with biliary atresia (BA) and auto-immune hepatitis (AIH) with the nutritional status and with laboratorial and clinic indicators. The study was transversal controlled, which were evaluated patients with AIH (n=25) and BA (n=24) and a control group (n=53) lined up by sex and age. The determination of serum levels of vitamins A, D and E was carried out by high performance liquid chromatography. Anthropometrics evaluation and classification of patients on Child-Pugh scale were also used. It was used the Mann-Whitney test, the correlation coefficient of Spearman and variance analysis for data analysis, which was considered significant difference if $p < 0.05$. Have been evidenced that serum levels of vitamins A and E in healthful group were changed with age. The serum levels of vitamins A, D and E were higher in the healthful group when compared with the patients with BA and AIH together or isolated. No difference in the serum levels of vitamins A, D and E was noted in the BA group with or without cholestasis. The patients with BA and AIH together grouped and classified in Child C and Child B presented the lowest serum levels of vitamins A and E when compared to the patients classified in Child A. The nutritional deficit more intense was observed in the patients with BA and cholestasis. It was verified in the BA and AIH groups together a correlation weight/age (W/A), Triceps Skinfold Thickness (TST), Subscapular Skinfold Thickness (SST), Midarm Circumference (MC) and Midarm Fat Area (MFA), with the vitamins A and E. Besides indicators, the vitamin E was also correlated with Stature/Age (S/A), Body Mass Index (BMI), Midarm Muscle Area (MMA) and SKinfold Sum (SFS) for patients with AIH and BA together. In conclusion, have been observed deficiency of vitamins A, D and E in patients with AB and AIH. For higher severity of disease, the serum levels of vitamins A and E are lower for patients with AB and AIH together. This same relation occurs for vitamins A and D for patients with AIH. When the nutrition status is evaluated, the patients with AB and cholestasis presented the highest nutritional deficiency. There is a correlation directly proportional, mainly of vitamin E with the anthropometric variables of the AB and AIH groups together.

Keywords: vitamin A, vitamin D, vitamin E, cholestasis, chronic liver disease, nutritional assessment.

INTRODUÇÃO GERAL

1.1- APRESENTAÇÃO

A colestase é o resultado de defeitos na secreção canalicular da bile ou da obstrução do fluxo distal de bile para os canalículos. A excreção prejudicada de sais biliares no lúmen intestinal pode levar, primeiramente, à má-absorção de lipídios, seguida da má-absorção de vitaminas lipossolúveis (Hofmann, 2002; Francavilla et al., 2003).

Os primeiros sinais da deficiência de vitamina A são lesões cutâneas. A manifestação clínica mais importante ocorre no aparelho ocular, podendo levar à cegueira noturna, xerose da conjuntiva com ou sem mancha de Bitot e xerose da córnea e ceratomalácia (Feranchak et al., 2005). As manifestações primárias da deficiência de vitamina D são hipocalcemia, hipofosfatemia, tetania, osteomalácia e raquitismo (Feranchak et al., 2001). Enquanto que a deficiência de vitamina E pode causar disfunção neurológica, miopatias e diminuição da vida dos eritrócitos (Thakur e Srivastava, 1996).

As deficiências nutricionais são comuns em crianças e adultos com doenças hepáticas crônicas (DHC), particularmente quando essas doenças são colestatas e iniciaram-se na infância (Amédée-Manesme et al., 1985; Sokol e Stall, 1990).

A desnutrição protéico-energética afeta, aproximadamente 60% das crianças com hepatopatias crônicas (Protheroe, 1998) e está associada com o aumento das taxas de morbidade e de mortalidade. É uma complicação que tem implicações importantes no prognóstico (Henkel e Buchman, 2006).

Os métodos convencionais para medir o estado nutricional nem sempre são aplicáveis em pacientes com DHC. A disfunção hepática pode alterar o peso corpóreo, a produção de proteínas plasmáticas, a função imune e as determinações de compartimentos de tecido corporal individuais, independente do estado nutricional. Infelizmente, o peso corpóreo é, freqüentemente, um marcador incerto do estado nutricional em pacientes com DHC devido à retenção de fluido, edema e ascite (Matos et al., 2002).

Uma das causas mais freqüentes de colestase crônica e a principal indicação de transplante hepático pediátrico é a atresia biliar (AB) (Makin e Davenport, 2006). É caracterizada por um processo inflamatório destrutivo que afeta os ductos biliares intra-

hepáticos e extra-hepáticos, conduzindo à fibrose e à obliteração do trato biliar em qualquer ponto do *porta hepatis* até o duodeno (Balistreri et al., 1996).

Por outro lado, uma outra doença que acomete, predominantemente, os hepatócitos é a hepatite auto-imune (HAI). É considerada como uma forma de hepatite crônica de etiologia desconhecida que incide em pacientes que perderam a tolerância imunológica a antígenos do próprio fígado (Desmet et al., 1994).

Como relatado na literatura, os pacientes com AB e HAI têm condições para apresentarem deficiência das vitaminas lipossolúveis e déficit nutricional (Amédée-Manesme et al., 1985; Taylor e Dhawan 2005). Entretanto, o monitoramento dessas vitaminas não é realizado rotineiramente e são escassos os estudos sobre a deficiência das vitaminas A, D e E em crianças e adolescentes com DHC. Além disso, não está claro qual a relação entre o estado nutricional e a deficiência de vitaminas lipossolúveis nessas doenças.

1.2- OBJETIVOS

1.2.1- Gerais

Verificar os níveis séricos de vitaminas lipossolúveis (A, D e E) em crianças e adolescentes com atresia biliar e hepatite auto-imune e relacionar com o estado nutricional e com indicadores clínicos e laboratoriais.

1.2.2- Específicos

- ♦ Verificar os níveis séricos das vitaminas A, D e E no grupo controle e nos grupos de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune.
- ♦ Avaliar o estado nutricional de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune e relacionar com os níveis séricos das vitaminas A, D e E.

- ♦ Correlacionar os níveis séricos das vitaminas A, D e E nos grupos de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune com parâmetros antropométricos (peso, estatura, pregas cutâneas e medidas derivadas).
- ♦ Comparar os níveis séricos das vitaminas A, D e E nos grupos de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune, com indicadores clínicos (colestase, gravidade da doença, esteatorréia e suplementação vitamínica).
- ♦ Correlacionar os níveis séricos das vitaminas A, D e E nos grupos de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune com indicadores laboratoriais (enzimas hepáticas, bilirrubinas e albumina).

1.3- CASUÍSTICA E MÉTODOS

1.3.1- Casuística

No sentido de viabilizar a pesquisa proposta e atender seus objetivos, o modelo utilizado foi o estudo transversal controlado. Sendo o projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, parecer nº 542/2003.

A pesquisa foi realizada no Ambulatório de Hepatologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e no Ambulatório de Transplante Hepático Pediátrico do Gastrocentro (UNICAMP), SP, Brasil, no período de janeiro de 2004 a agosto de 2006. Foram avaliados pacientes com atresia biliar (n=24) e hepatite auto-imune (n=25) na faixa etária de 4 meses a 17,9 anos de idade.

O grupo controle foi constituído por 53 pacientes sem doença hepática, porém os pacientes apresentavam dor abdominal recorrente ou constipação intestinal crônica ou doença oftalmológica (estrabismo), atendidos no Serviço de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição e no Serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas da FCM-UNICAMP.

1.3.2- Métodos

Os principais métodos empregados neste projeto foram a análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), antropometria, composição corporal e inquérito dietético habitual. Sendo descritos a seguir as técnicas e procedimentos de antropometria e composição corporal.

1.3.2.1- Técnicas e Procedimentos de antropometria e composição corporal

As técnicas e procedimentos adotados nesta pesquisa foram realizados de acordo com Lohman et al. (1988) e WHO (1995). As áreas muscular e adiposa braquial foram calculadas segundo fórmula proposta por Frisancho (1981) e Frisancho (1984).

1.3.2.1.1- Massa Corpórea (Peso)

Material e Técnica: As crianças menores de 24 meses foram pesadas em balança pediátrica horizontal (Filizola®) com capacidade de pesagem até 15Kg e precisão de 5g. O peso foi medido com a criança deitada ou sentada, sem roupas, imóvel e posicionada no centro da plataforma.

As crianças com idade superior a 24 meses foram pesadas em balança plataforma digital (Filizola®) com capacidade de pesagem de 180kg e precisão de 100g. O peso foi medido com a criança em pé, com o mínimo de roupas, descalça, imóvel, ereta, com os pés juntos e os braços estendidos ao longo do corpo.

1.3.2.1.2- Estatura

Material e Técnica: Para crianças menores de 24 meses, utilizou-se o antropômetro de madeira horizontal, com régua graduada em centímetro até 102cm, com aproximação de 0,1cm e com cursor móvel. O comprimento foi medido em decúbito dorsal, a cabeça permaneceu apoiada firmemente contra a parte fixa do equipamento, com o pescoço reto e o queixo afastado do peito, os ombros totalmente em contato com a

superfície de apoio do antropômetro e os braços estendidos ao longo do corpo. As nádegas e os calcanhares estavam em pleno contato com a superfície que apóia o antropômetro e com os joelhos estendidos e os dedos dos pés apontando para cima. A parte móvel do antropômetro foi levada até as plantas dos pés e a medida anotada.

As crianças com idade superior a 24 meses foram medidas com antropômetro de madeira vertical, com régua graduada em centímetro até 200cm, com aproximação de 0,1cm e com cursor móvel. As crianças foram posicionadas de pé, eretas, imóveis, com os braços estendidos ao longo do corpo e com a cabeça erguida, olhando para um ponto fixo na altura dos olhos. A nuca, ombros, nádegas e os calcanhares estavam em contato com o antropômetro e os pés com calcanhares unidos formando um ângulo de 45°. A parte móvel do antropômetro foi posicionada contra a cabeça com pressão suficiente para comprimir o cabelo e a medida anotada.

1.3.2.1.3- Circunferência braquial (CB)

Material e Técnica: Esta medida foi realizada com a fita métrica inelástica e inextensível de 150cm, com precisão de 0,1cm, da marca Beta Technology Incorporated Cambridge. Para se obter a medida, a criança permaneceu em pé, com o braço fletido, formando um ângulo de noventa graus e, com a fita, foi medida a distância entre os pontos do acrômio da escápula e do olecrânio da ulna, sendo que o ponto equidistante marcado a caneta. Para se obter esta medida, a criança deixou o braço relaxado e a palma das mãos voltadas para as coxas e a sua circunferência foi obtida com o uso da fita, sem comprimir as partes moles. A medida foi efetuada no braço direito.

1.3.2.1.4- Prega Cutânea Tricipital (PCT)

Material e Técnica: A prega cutânea do tríceps foi medida com a utilização de um compasso de dobras cutâneas *Lange* (Lange Skinfold Caliper, PAT nº 3.008.239; Beta Technology Incorporated Cambridge, Maryland, USA) que possui uma pressão constante de 10g/mm.

A PCT foi medida na parte posterior do braço direito, sobre o músculo tríceps, no ponto médio entre o acrômio da escápula e o olecrânio da ulna determinado da mesma forma que foi descrito anteriormente na medida da CB. Com o braço relaxado, a prega foi pinçada com os dedos polegar e indicador do examinador, usando a mão esquerda. O adipômetro foi aplicado 1cm abaixo dos dedos que pinçaram a prega, e sem soltar, foram realizadas três leituras, anotando-se a média das medidas.

1.3.2.1.5- Prega Cutânea Subescapular (PCSE)

Material e Técnica: A prega cutânea subescapular foi medida com a utilização de um compasso de dobras cutâneas *Lange* (Lange Skinfold Caliper, PAT nº 3.008.239; Beta Technology Incorporated Cambridge, Maryland, USA) que possui uma pressão constante de 10g/mm.

A PCSE foi medida abaixo da extremidade da escápula direta, sendo a prega pinçada logo abaixo da borda da escápula e angulada em 45 graus a partir do plano horizontal. A prega foi pinçada com os dedos polegar e indicador do examinador, usando a mão esquerda. O adipômetro foi aplicado 1cm abaixo dos dedos que pinçaram a prega, e sem soltar foram realizadas três leituras, anotando-se a média das medidas.

1.3.2.2- Medidas Derivadas

1.3.2.2.1- Índice de massa corpórea (IMC)

Com os dados do peso e da estatura foi calculado o índice de massa corpórea (IMC) determinado pelo índice de Quetelet, sendo obtido pela equação da divisão do Peso Corporal (Kg) pela estatura (metros) elevada ao quadrado.

$$\text{IMC} = \text{Peso Corporal} / \text{Estatura}^2$$

1.3.2.2.2- Área muscularbraquial (AMB)

Com os valores obtidos da prega cutânea do tríceps e da circunferência braquial foi calculada a área muscular braquial (AMB) de acordo com o gênero.

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

$$4 \times \pi$$

$$\text{Feminino } AMB (\text{mm}^2) = \frac{[CB - (\pi \times DCT)]^2}{4 \times \pi} - 6,5$$

$$4 \times \pi$$

Onde $\pi = 3,1416$

1.3.2.2.3- Área adiposa braquial (AAB)

Com os valores obtidos da AMB foi calculada a área adiposa braquial (AAB).

$$AAB(\text{mm}^2) = AB (\text{Área do Braço}) - AMB$$

$$AB(\text{mm}^2) = (\pi/4) \times d^2$$

$$\text{onde } d = CB(\text{mm}^2)/\pi$$

1.4- ESTRUTURA GERAL DE DESENVOLVIMENTO DA TESE

Essa tese é composta de dois capítulos:

- **Capítulo I:** Avaliação do estado nutricional de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune e a relação com os níveis séricos das vitaminas A, D e E.
- **Capítulo II:** Níveis séricos das vitaminas A, D e E em pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune e a relação com indicadores clínicos e laboratoriais.

1.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amédée-Manesme O, Furr, HC, Alvarez F, Hadchouel M, Alagille D, Olson JA. Biochemical indicators of vitamin A depletion in children with cholestasis. *Hepatology* 1985; 6(6):1143-48.

Balistreri WF, Grand R, Hoofnagle JH, Suchy FJ, Ryckman FC, Perlmutter DH, Sokol RJ. Biliary atresia: current concepts and research directions. *Hepatology* 1996; 23:1682-92.

Desmet VJ, Gerver M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 19:1513-20.

Feranchak AP, Gralla J, King R, Ramirez RO, Corkill M, Narkewicz MR, Sokol RJ. Comparison of Indices of Vitamin A Status in Children With Chronic Liver Disease. *Hepatology* 2005; 42:782-92.

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

Francavilla R, Miniello VL, Brunetti L, Lionetti ME, Armenio L. Hepatitis and cholestasis in infancy: clinical and nutritional aspects. *Acta Paediatric* 2003; 441:101S-4S.

Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscles areas for assessment of nutritional status. *American Journal of Clinical Nutrition* 1981; 34: 2540-45.

Frisancho AR. New standards of weight and body composition by frame size and height for assessment of nutritional status of adults and the elderly. *American Journal of Clinical Nutrition* 1984; 40: 808-819.

Henkel AS, Buchman, AL. Nutritional support in patients with chronic liver disease. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology* 2006; 6(4):202-9.

Hofmann AF. Cholestatic liver disease: pathophysiology and therapeutic options. *Liver* 2002; 22(Suppl.2):14-9.

Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric Standardization Reference Manual. Abridged edition. Champaign: Human. Kinetics Books; 1988. 90p.

Makin E, Davenport M. Biliary atresia. Current Paediatrics 2006; 16:59-63.

Matos C, Porayko MK, Francisco-Ziller N, DiCecco S. Nutrition and Chronic Liver Disease. Journal Clinical Gastroenterology 2002; 35(5):391-97.

Protheroe SM. Feeding the child with chronic liver disease. Nutrition 1998; 14(10): 798-800.

Sokol RJ, Stall C. Anthropometric evaluation of children with chronic liver disease. American Journal Clinical Nutrition 1990; 52:203-8.

Taylor, RM, Dhawan A. Assessing nutritional status in children with chronic liver disease. Journal of Gastroenterology and Hepatology 2005; 20:1817-1824.

Thakur MI, Srivastava US. Vitamin-E metabolism and its application. Nutrition Research 1996; 16(10):1767-1809.

World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva; 1995. Technical Report Series 854.

CAPÍTULO I

**Avaliação do estado nutricional de
pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune
e a relação com os níveis séricos das
vitaminas A, D e E**

RESUMO

As doenças hepáticas crônicas podem induzir à má-absorção de lipídios e vitaminas lipossolúveis e levar ao comprometimento do estado nutricional. O objetivo da pesquisa foi avaliar o estado nutricional em crianças e adolescentes com atresia biliar (AB) e hepatite auto-imune (HAI) e relacionar com os níveis séricos das vitaminas (A, D e E). O estudo foi transversal controlado e foram avaliados os pacientes com HAI (n=25) e AB (n=24), e um grupo controle (n=53). Foi realizada avaliação antropométrica, aplicação do inquérito alimentar, determinação dos níveis séricos das vitaminas A, D e E pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência e classificação dos pacientes na pontuação de Child-Pugh. Foram empregados os testes de Mann-Whitney, o coeficiente de correlação de Spearman e análise de variância, sendo considerada diferença significativa se $p < 0,05$. O déficit nutricional mais grave foi observado nos pacientes com AB, principalmente com colestase. Em relação às vitaminas, no grupo controle, constatou-se que os níveis séricos das vitaminas A e E variaram com a idade. Os níveis séricos das vitaminas A, D e E foram maiores no grupo controle em relação aos pacientes com AB e HAI, em conjunto ou separadamente. No grupo AB, com colestase e sem colestase, constatou-se que não houve diferença nos níveis séricos das vitaminas A, D e E. Observou-se correlação significativa do Peso/Idade (P/I), Prega Cutânea Tricipital (PCT), Prega Cutânea Subescapular (PCSE), Circunferência Braquial (CB), Área Adiposa Braquial (AAB) com as vitaminas A e E nos pacientes com AB e HAI, em conjunto. Além desses indicadores, a vitamina E também se correlacionou com Estatura/Idade (E/I), Índice de Massa Corpórea (IMC), Área Muscular Braquial (AMB) e Soma das Pregas Cutâneas (SPC). Nos grupos AB e HAI, separadamente, a correlação permaneceu para a vitamina A com as variáveis PCT e CB no grupo AB e com variável SPC no grupo HAI e a vitamina E teve correlação com as variáveis P/I e CB no grupo AB e com a variável AMB no grupo HAI. Os pacientes com AB classificados em Child B associado ao Child C apresentaram os maiores déficits nutricionais para os seguintes parâmetros P/I, IMC, CB, PCT e PCSE. Pode-se concluir que, os pacientes com AB e colestase apresentaram o maior comprometimento nutricional. Foi observada deficiência das vitaminas A, D e E nos pacientes com AB e HAI. A vitamina E correlacionou-se com todos os parâmetros antropométricos, enquanto que, para a vitamina A apenas alguns parâmetros não tiveram correlação, no grupo de pacientes com

AB e HAI. Os pacientes com AB classificados em Child B associados ao Child C apresentaram os maiores déficits antropométricos por meio dos parâmetros P/I, IMC, CB, PCT e PCSE.

Descritores: Vitamina A, Vitamina D, Vitamina E, Avaliação Nutricional, Hepatite Auto-Imune, Atresia Biliar.

1- INTRODUÇÃO

A colestase é o impedimento do fluxo biliar canalicular, independente do local onde se localiza o obstáculo e(ou) da causa que o determinou (Silveira e Pires, 1991). As deficiências nutricionais são comuns em crianças e adultos com doenças hepáticas crônicas (DHC), particularmente quando essas doenças são colestáticas e iniciaram-se na infância (Amédée-Manesme et al., 1985; Sokol e Stall, 1990).

A desnutrição protéico-energética afeta, aproximadamente, 60% das crianças com hepatopatias crônicas (Protheroe, 1998) e está associada com o aumento das taxas de morbidade e de mortalidade. É uma complicação que tem implicações importantes no prognóstico (Henkel e Buchman, 2006).

Os métodos convencionais para mensurar o estado nutricional nem sempre são aplicáveis em pacientes com DHC. A disfunção hepática pode alterar o peso corpóreo, a produção de proteínas plasmáticas, a função imune e as determinações de compartimentos de tecido corporal individuais, independente do estado nutricional. Desta forma, o peso corpóreo é, freqüentemente, um marcador incerto do estado nutricional em pacientes com DHC devido à retenção de fluido, edema e ascite. A circunferência braquial (CB) e prega cutânea tricipital (PCT) são considerados preferíveis como parâmetros alternativos para detectar a desnutrição nos adultos e nas crianças com DHC (Matos et al., 2002).

Mecanismos diferentes podem contribuir para a desnutrição, como a diminuição da ingestão dietética devido à anorexia, má-absorção de triglicerídeos de cadeia longa (TCL) que conduz a deficiências de vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais, metabolismo de nitrogênio anormal com aumento de aminoácidos aromáticos e uma redução em aminoácidos de cadeia ramificada e a alteração da utilização de substrato, conduzindo à perda do estoque de gordura e balanço protéico negativo (Nobili, 2005).

É comum a deficiência de vitaminas lipossolúveis na DHC, principalmente na presença de colestase (Sokol e Stall, 1990). Uma das complicações comuns da deficiência de vitamina A é a cegueira noturna (Feranchak et al., 2005).

A deficiência de vitamina D é outra complicação da DHC, resultando primariamente da má-absorção. A diminuição de exposição à luz solar e ingestão dietética inadequada também podem contribuir para a deficiência dessa vitamina (Henkel e Buchman, 2006).

A vitamina E é o principal antioxidante responsável por proteger as membranas contra peroxidação de lipídios. A deficiência desta vitamina pode causar disfunção neurológica, miopatias e diminuir a vida dos eritrócitos (Thakur e Srivastava, 1996).

Uma das causas mais frequentes de colestase crônica e a principal indicação de transplante hepático pediátrico é a AB (Makin e Davenport, 2006). É caracterizada por um processo inflamatório destrutivo que afeta os ductos biliares intra-hepáticos e extra-hepáticos, conduzindo à fibrose e à obliteração do trato biliar em qualquer ponto do *porta hepatis* até o duodeno (Balistreri et al., 1996).

Por outro lado, uma outra doença que acomete, predominantemente, os hepatócitos é a HAI. É considerada como uma forma de hepatite crônica de etiologia desconhecida que incide em pacientes que perderam a tolerância imunológica a antígenos do próprio fígado (Desmet et al., 1994). O diagnóstico é baseado na presença de achados clínicos, laboratoriais e exclusão de outras causas de doença hepática crônica (Maggiore et al., 1986).

Como relatado na literatura, os pacientes com AB e HAI têm condições para apresentarem déficit nutricional e de vitaminas lipossolúveis (Amédée-Manesme et al., 1985; Taylor e Dhawan, 2005). Contudo, não está claro qual a relação entre o estado nutricional e a deficiência de vitaminas lipossolúveis nessas doenças.

2- OBJETIVOS

2.1- Gerais

Avaliar o estado nutricional de crianças e adolescentes com atresia biliar e hepatite auto-imune e relacionar com os níveis séricos das vitaminas A, D e E.

2.2- Específicos

- Verificar o estado nutricional do grupo de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune.
- Comparar os níveis séricos das vitaminas A, D e E em diferentes faixas etárias e de acordo com o gênero.
- Comparar os níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune com o grupo controle.
- Correlacionar os parâmetros antropométricos com os níveis séricos das vitaminas A, D e E no grupo de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune.
- Comparar os parâmetros antropométricos no grupo de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune com a gravidade da doença.
- Verificar a ingestão e a adequação dietética dos pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune.

3- CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1- Casuística

3.1.1- Local da pesquisa

A pesquisa foi realizada no Ambulatório de Hepatologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e no Ambulatório de Transplante Hepático Pediátrico do Gastrocentro (UNICAMP), SP, Brasil, no período de janeiro de 2004 a agosto de 2006.

3.1.2- Delineamento do estudo

Este estudo caracterizou-se por ser transversal e controlado, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, parecer nº 542/2003. O termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido, por escrito, dos pais ou responsáveis pelos pacientes.

3.1.3- População

Foram avaliados pacientes com AB e HAI. Os critérios de inclusão dos pacientes foram: faixa etária de 4 meses a 18 anos de idade, evidência de hepatopatia crônica diagnosticada por meio de biópsia hepática, ter diagnóstico de AB ou HAI. Os critérios de exclusão dos pacientes foram: o uso injetável de vitamina (A, D e E) nos últimos 3 meses, o uso de nutrição parenteral nos últimos 3 meses e a não assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos pais ou responsáveis pelos pacientes.

A hipótese diagnóstica de AB foi, inicialmente, realizada por meio de ultra-som abdominal e biópsia hepática e o diagnóstico confirmado pelos achados do procedimento cirúrgico. Em relação ao diagnóstico de HAI, foi empregado o sistema de escore estabelecido pelo grupo internacional de hepatite auto-imune (Alvarez et al., 1999).

De acordo com esses critérios, foram selecionados 49 pacientes (25 com HAI e 24 com AB), com mediana de idade de 8,5 anos e variação de 0,3 a 17,9 anos.

O grupo controle foi constituído por pacientes sem doença hepática, porém com dor abdominal recorrente ou constipação intestinal crônica ou doença oftalmológica (estrabismo), atendidos no Serviço de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição, e no Serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas da FCM-UNICAMP.

Os critérios de inclusão para os controles foram: enquadrar-se na mesma faixa etária dos pacientes avaliados (variação máxima de ± 5 meses) e apresentar escore Z de peso e estatura entre +2 e -2 para a idade e sexo, a partir do gráfico de crescimento do Center for Disease Control (CDC, 2000). Os critérios de exclusão dos controles foram:

presença de diarreia e febre, a não assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos pais ou responsável pelo paciente e a evidência de hepatopatia verificada por meio da história clínica, exame físico e revisão do prontuário. Empregando esses critérios, foram selecionados 53 controles (39 femininos e 14 masculinos), com mediana de idade de 7,6 anos e variação de 0,7 a 17,6 anos.

3.2- Métodos

3.2.1- Coleta de sangue

Coletou-se de 2 a 5mL de sangue, por punção de veia periférica, além da quantidade habitual para exames de rotina dos pacientes com AB e HAI. Para o grupo controle coletou-se 5mL de sangue, uma vez que estes não colhem exames bioquímicos de rotina. As amostras de sangue para a análise dos níveis séricos das vitaminas A, D e E foram colocadas em tubos (protegidos com papel alumínio) sem anticoagulante, mantidas em refrigeração e em seguida centrifugadas a 1800rpm por 10 minutos. O soro foi coletado e congelado em nitrogênio líquido até o momento da análise.

3.2.2- Avaliações bioquímicas

3.2.2.1- Determinação dos níveis séricos das vitaminas lipossolúveis

A extração das vitaminas (A, D, E) foi realizada de acordo com o método descrito por Wang e Huang (2002) com algumas modificações. O soro obtido foi transferido para um tubo, onde foram adicionados hexano (3mL) e acetato de etila (1mL), agitando-se em vortex durante 10 segundos. A camada orgânica foi lavada com mistura de metanol-água (9:1), logo a seguir centrifugada a 2000rpm por 10 minutos, e o sobrenadante foi seco em nitrogênio. Imediatamente, foi adicionado metanol ao resíduo seco e após foi feita a homogeneização por 5 segundos. A solução de metanol foi transferida ao “vial” de injeção para análise em cromatografia líquida de alta eficiência.

3.2.2.2- Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Para a separação e quantificação das vitaminas lipossolúveis no soro foi utilizada a técnica de CLAE. Utilizou-se um cromatógrafo a líquido da Hewlett Packard (HP) modelo 1100, com degaseificador, bomba quaternária, forno, injetor automático com capacidade de 1 a 100µL e detectores de arranjo de diodos (UV-Visível) e de fluorescência, dispostos em série.

Todo o sistema foi controlado pelo programa Chemstation-HP, que também gerencia o sistema de aquisição de dados. Para a separação das vitaminas foi utilizada uma coluna cromatográfica Metachem Technologies Inc, C18, 250mm x 4,6mm (DN 0296), com tamanho de partícula de 3µm. A coluna foi mantida à temperatura de 26°C.

O extrato foi eluído isocraticamente em fase móvel composta por metanol e água na proporção de 99:1 (v/v), filtrada e degaseificada em banho ultra-sônico, a um fluxo de 1mL/min. Os padrões utilizados foram os seguintes: all-trans-retinol (Sigma), colecalciferol (Sigma) e D-L- α -tocoferol (Merck).

3.2.3- Classificação quanto à presença ou ausência de colestase

Os pacientes foram classificados em colestáticos e não colestáticos de acordo com Moyer et al. (2004). Segundo esses autores, o diagnóstico bioquímico de colestase é definido quando a bilirrubina direta for maior que 20% da bilirrubina total, se essa excede 5mg%. Se a bilirrubina total for menor que 5mg%, a definição de colestase é quando a bilirrubina direta for maior que 1mg%.

3.2.4- Classificação pelo método de Child-Pugh modificado

Os pacientes participantes da pesquisa foram classificados quanto à gravidade da hepatopatia pelo método de Child-Pugh modificado (Riley e Bhatti, 2001), descrito na tabela 1.

Embora este método tenha sido descrito para pacientes com cirrose, sabe-se que os pacientes com AB, na quase totalidade, apresentam cirrose (Allagille, 1995), da mesma forma para HAI (Vajro et al., 1990).

Tabela 1- Classificação de Child-Pugh modificado pelo sistema de pontuação quanto à gravidade da doença hepática.

	Pontuação		
	1 Ponto	2 Pontos	3 Pontos
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

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

Fonte: Riley e Bhatti (2001)

3.2.5- Antropometria e Composição Corporal

As medidas antropométricas utilizadas nesse estudo foram peso e comprimento ou estatura de acordo com a técnica recomendada por Lohman et al. (1988). Com os dados do peso e estatura, foi calculado o Índice de Massa Corpórea (IMC) (WHO, 1995).

A composição corporal foi determinada a partir da obtenção da circunferência braquial (CB), prega cutânea tricipital (PCT) e prega cutânea subescapular (PCSE), de acordo com o procedimento descrito por Lohman et al. (1988). Os valores obtidos das pregas cutâneas foram utilizados para calcular a soma das pregas cutâneas (SPC), utilizando as pregas cutâneas tricipital e subescapular.

Nos pacientes que apresentaram edema e(ou) ascite, não foram considerados os parâmetros antropométricos e a composição corporal, exceto a estatura/idade (E/I).

As medidas antropométricas de todos os pacientes foram realizadas sempre pelo mesmo examinador. A medida considerada foi o resultado da média de três medidas realizadas, consecutivamente.

Com os valores obtidos da prega cutânea do tríceps e da circunferência braquial foram calculadas as medidas derivadas: a área muscular braquial (AMB) e a área adiposa braquial (AAB), segundo fórmulas propostas por Frisancho (1981) e Frisancho (1984).

Os valores de peso, estatura, IMC, pregas cutâneas, soma das pregas cutâneas, CB, AMB e AAB foram convertidos em escore Z, baseado no método LMS, por meio do programa computacional SISCREs (2003) para indivíduos com idade entre 1 a 18 anos. O sistema calcula os escores Z do peso e estatura em relação às curvas de crescimento do CDC (2000) para gênero e idade. Os escores Z das pregas cutâneas tricipital e subescapular, da soma das duas dobras, CB, AMB e AAB foram calculados empregando os dados de Frisancho (1989).

Os valores obtidos com relação ao peso, comprimento, IMC, CB, PCT e PCSE foram convertidos em escore Z, por meio do método LMS, baseado nas tabelas da WHO (2006) e WHO (2007) para crianças menores de 1 ano de idade.

Método LMS:

$$Z \text{ escore} = \frac{(X/M)^L - 1}{L \times S}$$

X= Valor obtido dos parâmetros antropométricos.

M= Mediana obtida nas tabelas da WHO dos parâmetros antropométricos.

L e S = Valores obtidos nas tabelas da WHO dos parâmetros antropométricos.

3.2.6- Inquérito dietético

O inquérito dietético foi determinado por meio da aplicação do recordatório habitual realizado, utilizando o método de entrevista, com a mãe ou responsável pelo paciente (Willett, 1990). Para os cálculos da ingestão de energia e do percentual de macronutrientes, as informações do registro alimentar foram analisadas no programa computacional Dietpro (2002).

Os cálculos de adequação foram feitos a partir das recomendações obtidas pelas Dietary Reference Intake (DRI, 2002) utilizadas como padrão de referência para indivíduos saudáveis, com o acréscimo de 30% para os pacientes com AB, segundo Pierro et al. (1989) e acréscimo de 30% para os pacientes com HAI, de acordo com a recomendação para doenças hepáticas crônicas (Bavdekar et al., 2002).

3.2.7- Análise dos dados

O tratamento estatístico de todos os resultados foi efetuado por meio do Programa SPSS (Statistical Package for Social Science). Utilizou-se a estatística descritiva (média, desvio padrão, mínimo, mediana e máximo) para as variáveis contínuas. Para comparar as variáveis contínuas com relação a dois grupos, utilizou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney (Siegel, 1975). Foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman (Siegel, 1975) para verificar a existência de correlação (associação linear) entre as variáveis do grupo paciente. Na comparação de três ou mais grupos foi utilizada a análise de variância (ANOVA) (Daniel, 1978). O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, $p\text{-valor} \leq 0,05$.

4- RESULTADOS

4.1- Avaliação antropométrica

Os resultados da avaliação antropométrica dos grupos de pacientes com AB e HAI estão descritos na Tabela 2. Observa-se que a mediana dos valores de escore Z das variáveis se situa dentro dos valores de normalidade para o grupo de HAI. Porém, no grupo de AB todos os valores mínimos se encontram abaixo do escore Z -2, apresentando um déficit nutricional grave quando comparado com os pacientes com HAI para os parâmetros de P/I, IMC, CB, PCT, AAB e SPC, com significância estatística. A ascite foi diagnosticada em 5 pacientes e o edema de membros superiores e ascite em 1 paciente do grupo AB e 3 pacientes do grupo HAI, sendo então utilizada somente a medida de E/I e excluídas as outras medidas antropométricas.

Tabela 2- Resultados da avaliação nutricional em escore Z dos grupos de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune.

Escore Z	N	Atresia Biliar	N	Hepatite Auto-Imune	*p
		Mediana (mín. e máx.)		Mediana (mín. e máx.)	
P/I	18	-0,12 (-4,88 e 1,69)	22	0,58 (-1,92 e 2,72)	0,017
E/I	24	-0,11 (-3,50 e 1,42)	25	0,02 (-2,48 e 4,77)	0,542
IMC	18	0,36 (-3,23 e 1,65)	22	0,94 (-1,08 e 2,32)	0,040
CB	18	-1,16 (-3,81 e 1,36)	22	0,82 (-1,89 e 1,85)	0,001
PCT	18	-1,55 (-3,36 e 0,05)	22	0,28 (-1,65 e 2,40)	0,001
PCSE	18	0,14 (-3,77 e 2,19)	22	0,47 (-0,55 e 2,49)	0,072
AMB	13	-0,22 (-4,00 e 2,81)	22	0,30 (-2,01 e 3,82)	0,065
AAB	13	-1,15 (-2,57 e 0,27)	22	0,56 (-1,80 e 3,14)	0,001
SPC	13	-0,76 (-2,54 e 0,73)	22	0,37(-1,37 e 2,55)	0,022

N = número absoluto. Mediana (mínimo e máximo). * Teste de Mann-Whitney. Peso/Idade (P/I), Estatura/Idade (E/I), Índice de Massa Corpórea (IMC), Circunferência Braquial (CB), Prega Cutânea Tricipital (PCT), Prega Cutânea Subescapular (PCSE), Área Muscular Braquial (AMB), Área Adiposa Braquial (AAB), Soma das Pregas Cutâneas (SPC).

No grupo AB, classificado quando à presença e ausência de colestase, foi observado um déficit nutricional mais grave no grupo com presença de colestase para os parâmetros de P/I, E/I, IMC, CB, PCT, com significância estatística (Tabela 3).

Tabela 3- Resultados da avaliação antropométrica em escore Z dos grupos atresia biliar com presença de colestase e ausência de colestase.

Escore Z	Colestase				*p
	Presença		Ausência		
	N	Mediana (mín. e máx.)	N	Mediana (mín. e máx.)	
P/I	9	-1,67 (-4,88 e 1,58)	9	0,54 (-0,55 e 1,69)	0,007
E/I	14	-0,55 (-3,50 e 0,70)	10	0,40 (-0,56 e 1,42)	0,009
IMC	9	-0,95 (-3,23 e 1,65)	9	0,89 (-0,79 e 1,62)	0,038
CB	9	-2,19 (-3,81 e -0,91)	9	-0,81 (-1,79 e 1,36)	0,002
PCT	9	-2,06 (-3,36 e 0,01)	9	-0,94 (-3,17 e 0,05)	0,031
PCSE	9	-1,36 (-3,77 e 0,71)	9	0,29 (-2,47 e 2,19)	0,102

N = número absoluto. Mediana (mínimo e máximo). *Teste de Mann-Whitney. Peso/Idade (P/I), Estatura/Idade (E/I), Índice de Massa Corpórea (IMC), Circunferência Braquial (CB), Prega Cutânea Tricipital (PCT), Prega Cutânea Subescapular (PCSE).

4.2- Níveis séricos das vitaminas A, D e E de acordo com as faixas etárias e com o gênero

Com relação às vitaminas, no grupo controle, constatou-se que os níveis séricos das vitaminas A e E variaram com a idade (Tabela 4). Os pacientes controles com idade abaixo de 3 anos diferiram dos pacientes controles com idades de 9-13 anos e de 14-18 anos. Somente a vitamina A apresentou diferença na idade de 4-8 anos com relação à idade de 14-18 anos, com significância estatística. Enquanto, para a vitamina D os resultados mostraram que as diferentes faixas etárias não apresentaram diferenças significativas em relação aos níveis séricos desta vitamina (Tabela 4).

Tabela 4- Níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo controle de acordo com a faixa etária e com o gênero.

	N	Mediana (mín. e máx.) Vitamina A (ng/dL)	Mediana (mín. e máx.) Vitamina D (ng/dL)	Mediana (mín. e máx.) Vitamina E (ng/dL)
Idade				
(anos)				
≤ 3	12	90,28 ^A (61,42 e 140,57)	49,96 ^B (30,41 e 116,87)	1489,14 ^C (1020,13 e 2272,25)
4 – 8	15	122,98 ^A (75,54 e 179,01)	59,39 ^B (31,44 e 111,40)	1992,17 ^C (1342,39 e 5416,45)
9 – 13	14	136,49 ^A (104,79 e 245,84)	52,93 ^B (21,55 e 99,34)	2253,35 ^C (1254,53 e 4031,41)
14 – 18	12	154,19 ^A (97,45 e 213,78)	54,20 ^B (41,98 e 90,95)	2354,94 ^C (1055,90 e 7970,22)
Gênero				
Fem.	39	129,10 ^D (61,42 e 245,84)	57,30 ^D (30,41 e 114,40)	2110,23 ^D (1020,13 e 5416,45)
Masc.	14	113,89 ^D (75,54 e 213,78)	51,07 ^D (21,55 e 116,87)	1751,13 ^D (1232,90 e 7970,22)

N=número absoluto. Mediana (mínimo e máximo). Fem.=Feminino. Masc.=Masculino. ^AAnova: $p=0,0001$ (≤ 3 anos $\neq$ 9-13anos, 14-18 anos) (4-8 anos $\neq$ 14-18 anos). ^BAnova: $p=0,6228$. ^CAnova: $p=0,0232$ (≤ 3 anos $\neq$ 9-13 anos; 14-18 anos). ^D Teste de Mann-Whitney ($p>0,05$).

Os resultados mostraram que os níveis séricos das vitaminas A, D e E não apresentaram diferença significativa entre os gêneros feminino e masculino do grupo controle (Tabela 4).

4.3- Níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo controle e do grupo atresia biliar e hepatite auto-imune

Na tabela 5, observa-se que os níveis séricos das vitaminas A, D e E foram menores no grupo de pacientes com AB e HAI, em conjunto ou separadamente, em relação aos controles, com significância estatística. Com relação ao grupo de pacientes com AB com colestase e sem colestase observa-se que não houve diferença significativa nos níveis séricos das vitaminas A, D e E, mesmo quando corrigidos os valores para a idade.

Tabela 5- Comparação dos níveis séricos das vitaminas A, D e E entre o grupo de pacientes hepatopatas e grupo controle.

Grupos	N	Mediana		
		Vitamina A (ng/dL)	Vitamina D (ng/dL)	Vitamina E (ng/dL)
AB + HAI	49	55,46*	25,11*	787,38*
CONTROLE	53	128,81	56,78	2017,33
AB	24	35,51*	26,33*	491,53*
CONTROLE	27	99,59	57,55	1679,50
HAI	25	98,42*	24,40*	1426,48*
CONTROLE	26	143,77	55,01	2438,88
AB com colestase	14	35,39	31,08	526,98
AB sem colestase	10	54,92	34,99	602,38

N=número absoluto. AB (Atresia Biliar). HAI (Hepatite Auto-imune). AB + HAI (Atresia Biliar e Hepatite Auto-imune em conjunto). Teste de Mann-Whitney, * $p < 0,05$.

No grupo AB, a colestase esteve presente em 14 pacientes (mediana de idade = 1,3 anos e variação = 0,3 a 13 anos) e ausente em 10 pacientes (mediana de idade = 5,1 anos e variação = 0,6 a 13,9 anos), com diferença de idade entre esses grupos ($p=0,0324$) pelo teste de Mann-Whitney. Em relação aos pacientes do grupo de HAI, a colestase esteve presente em apenas 4 pacientes.

4.4- Correlações dos parâmetros antropométricos com os níveis séricos das vitaminas A, D e E

Os testes de correlação dos parâmetros de P/I, E/I, IMC, PCT, PCSE, CB, AMB, AAB e SPC com os níveis séricos das vitaminas A, D e E estão apresentados na Figura 1. Observa-se uma correlação significativa do P/I, PCT, PCSE, CB e AAB com a vitamina A e de todos os parâmetros antropométricos com a vitamina E nos pacientes com AB e HAI em conjunto.

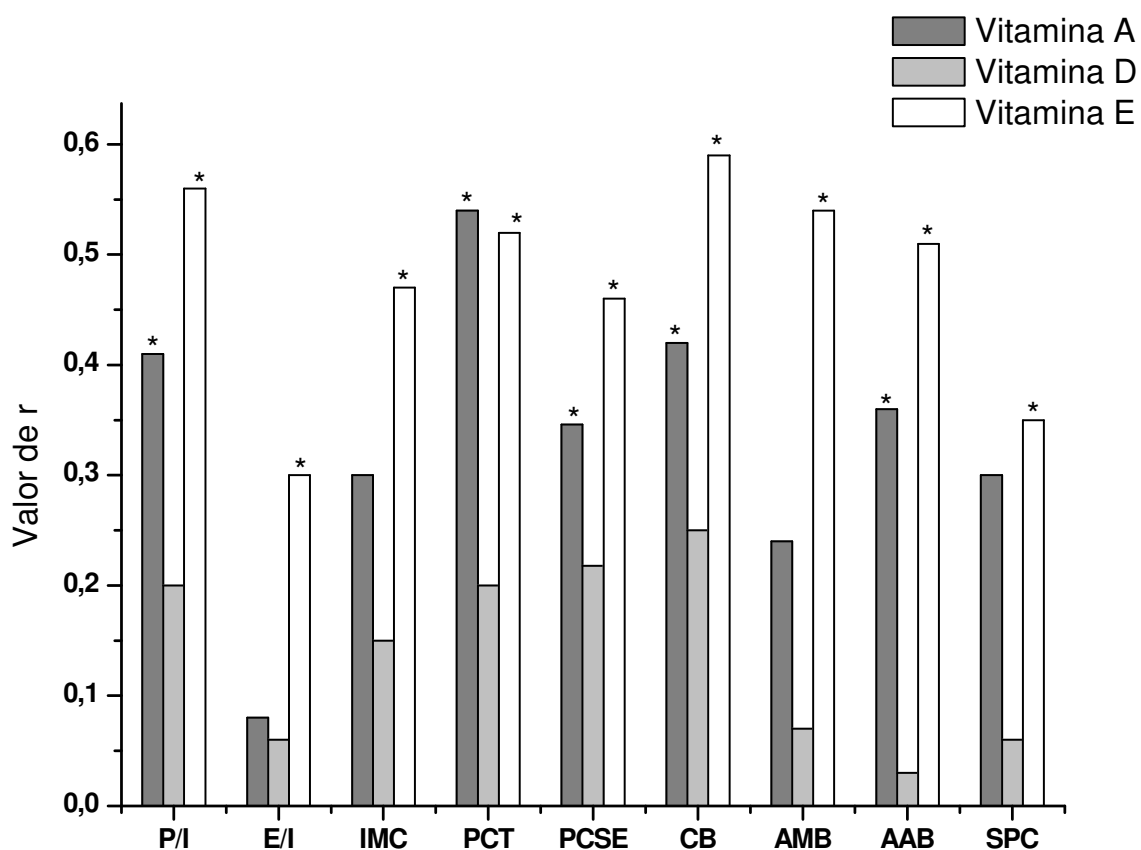


Figura 1- Correlação linear (r) das variáveis Peso/Idade (P/I), Estatura/Idade (E/I), Índice de Massa Corpórea (IMC), Prega Cutânea Tricipital (PCT), Prega Cutânea Subescapular (PCSE) Circunferência Braquial (CB), Área Muscular Braquial (AMB), Área Adiposa Braquial (AAB), Soma das Pregas Cutâneas (SPC) com os níveis séricos das vitaminas A, D e E nos pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune em conjunto. * $p < 0,05$.

Quando separados por grupos (HAI e AB), a correlação permaneceu para a vitamina A com as variáveis PCT ($r=0,49$) e CB ($r=0,48$) no grupo AB e com variável SPC ($r=0,30$) no grupo HAI, com significância estatística ($p<0,05$). Já a vitamina E apresentou correlação com as variáveis P/I ($r=0,52$) e CB ($r=0,51$) no grupo de AB e com a variável AMB ($r=0,46$) no grupo de HAI, com significância estatística ($p<0,05$).

4.5- Gravidade da doença

Com relação à gravidade da doença, os pacientes com AB classificados em Child B associados ao Child C apresentaram os maiores déficits nutricionais para os seguintes parâmetros P/I, IMC, CB, PCT e PCSE quando comparado com os pacientes com AB classificados em Child A, com diferença estatística (Tabela 6).

Os pacientes com HAI classificados em Child A não apresentaram diferença em relação aos parâmetros antropométricos quando comparados com os pacientes classificados em Child B associados ao Child C, sem significância estatística (Tabela 6).

Tabela 6- Parâmetros antropométricos em relação à gravidade da doença (Child A e Child B associado ao Child C) nos pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune.

	N	<i>Child-Pugh A</i> Média ± Desvio Padrão	N	<i>Child-Pugh B e C</i> Média ± Desvio Padrão	* <i>p</i>
AB					
P/I	11	0,052 ± 1,77	7	-1,57 ± 1,05	0,008
E/I	11	0,0036 ± 1,29	13	-0,743 ± 1,28	0,093
IMC	11	0,40 ± 1,41	7	-0,77 ± 1,08	0,033
CB	11	-0,74 ± 1,3	7	-2,34 ± 1,12	0,010
PCT	11	-1,14 ± 0,94	7	-2,23 ± 1,13	0,041
PCSE	11	0,23 ± 1,53	7	-1,43 ± 1,15	0,048
HAI					
P/I	17	0,67 ± 1,26	5	0,72 ± 1,08	0,880
E/I	19	-0,0083 ± 1,82	6	0,40 ± 0,90	0,400
IMC	17	0,82 ± 0,93	5	0,76 ± 0,80	0,940
CB	17	0,42 ± 1,07	5	0,0086 ± 1,30	0,649
PCT	17	0,30 ± 1,11	5	-0,23 ± 1,06	0,493
PCSE	17	0,57 ± 0,70	5	0,54 ± 0,49	0,890

N=número absoluto. Peso/Idade (P/I), Estatura/Idade (E/I), Índice de Massa Corpórea (IMC), Circunferência Braquial (CB), Prega Cutânea Tricipital (PCT), Prega Cutânea Subescapular (PCSE), Área Muscular Braquial (AMB), Área Adiposa Braquial (AAB). Soma das Pregas Cutâneas (SPC). * Teste de Mann-Whitney.

4.6- Distribuição percentual e adequação de energia

A tabela 7 mostra a distribuição percentual dos macronutrientes e a adequação de energia. O percentual de lipídios foi o único com significância estatística, sendo a ingestão maior nos pacientes com AB quando comparados com os pacientes com HAI.

A adequação de energia foi menor no grupo de pacientes com HAI quando comparado com o grupo de pacientes com AB, com significância estatística.

Tabela 7- Distribuição percentual dos macronutrientes e adequação de energia dos grupos de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune.

	AB (n=24)	HAI (n=25)	*p
	Mediana (mín. e máx.)	Mediana (mín. e máx.)	
Distribuição dos macronutrientes			
Proteína (%)	15,29 (05,79 e 18,54)	16,75 (10,48 e 24,35)	0,177
Carboidrato (%)	50,65 (24,81 e 60,10)	54,43 (24,45 e 65,83)	0,097
Lipídio (%)	35,21 (21,65 e 56,96)	29,82 (15,99 e 58,51)	0,032
Adequação^{1,2} de energia (%)	86,80 (42,70 e 204,40)	56,2 (30,80 e 102,50)	0,002
Adequação de energia pela DRI (%)	112,8 (55,60 e 265,70)	73,10 (40,00 e 133,30)	0,002

N = número absoluto. Mediana (mínimo e máximo). ¹ Adequação proposta por Pierro et al. (1989).

² Adequação proposta por Bavdekar et al. (2002). * Teste de Mann-Whitney.

5- DISCUSSÃO

Nesse estudo, constatou-se que os pacientes com AB apresentaram um déficit nutricional (P/I, IMC, CB, PCT, AAB e SPC) grave em comparação com os pacientes com HAI. Quando considerados os grupos colestático e não colestático, observou-se que o déficit nutricional (P/I, E/I, IMC, CB, PCT) mais grave aparece nos pacientes com colestase. De modo semelhante, o estudo feito por Mattar et al. (2005), detectou déficit nutricional mais grave nos pacientes com colestase, predominando os déficits de P/I e E/I. A média de peso (escore Z) reportado na literatura para pacientes pediátricos com DHC oscila entre $-1,4 \pm 1,8$ a $-2,02 \pm 1,36$ e média de estatura (escore Z) entre $-1,3 \pm 1,8$ a $-2,53 \pm 1,54$ (Carter-Kent et al., 2007).

Alguns autores consideram a PCT e AMB como indicadores mais sensíveis do estado nutricional durante a doença hepática crônica do que outras medidas antropométricas (Novy e Schawarz, 1997).

Como não existe um único método de avaliação nutricional capaz de diagnosticar com precisão, isoladamente, alterações do estado nutricional, torna-se necessária a seleção criteriosa dos métodos a serem utilizados.

Vários fatores podem estar contribuindo para o aparecimento da desnutrição nos pacientes com AB, principalmente na presença de colestase, como o hipermetabolismo, a má-absorção de lipídios e de vitaminas lipossolúveis. Os resultados do estudo feito por Pierro et al. (1989) sugerem que o hipermetabolismo é o maior determinante da desnutrição em crianças com AB.

No presente estudo, constatou-se que os níveis séricos das vitaminas A e E variaram de acordo com a idade, mostrando que os pacientes do grupo controle com a idade menor ou igual a 3 anos possuíam os menores níveis dessas vitaminas. Segundo Olson (1991), crianças menores são mais sensíveis à deficiência de vitamina A, devido ao fato de possuírem um menor estoque (recém-nascidos) e por terem um crescimento e uma rápida diferenciação celular durante os 2 primeiros anos de vida. De acordo com esse autor, os níveis plasmáticos de retinol em humanos aumentam moderadamente com a idade.

Da mesma forma, a concentração sérica de vitamina E do grupo controle é dependente da faixa etária. Machilin (1991) afirma que as crianças, geralmente, têm baixos níveis sanguíneos de tocoferol em relação aos adultos, por terem baixos níveis de lipídios, sendo mais sensíveis à deficiência dessa vitamina. Em consequência disto, a medida da relação entre a vitamina E e os lipídios totais no plasma tem sido utilizada para estimar o estado da vitamina E. Os valores de referências de vitamina E de adulto não são apropriados para crianças e adolescentes (Drewel et al., 2006).

Déficits nos níveis séricos das vitaminas A, D e E foram observados nos pacientes com AB e HAI, em conjunto ou separadamente, em relação ao grupo controle. Esses resultados indicam que essas doenças podem interferir nos processos de absorção,

transporte, metabolismo e estoque das vitaminas lipossolúveis, podendo provocar a deficiência dessas vitaminas.

Mais precisamente, com relação ao colecalciferol (vitamina D₃), após a ingestão dessa vitamina, ocorre a solubilização, no duodeno, das micelas na presença de sais biliares e a absorção ao longo do jejuno. Na sequência, a vitamina é incorporada aos quilomícrons, que são responsáveis pelo transporte da vitamina D₃ do sistema linfático para a circulação, onde se liga a proteína ligadora (PLD), sendo conduzida até o fígado. No fígado, ocorre a primeira hidroxilação, gerando o intermediário 25-hidroxil-colecalciferol, que será transformado na forma ativa da vitamina por subsequente hidroxilação nos rins, resultando na forma ativa 1,25-dihidroxicalciferol (Penteado, 2003).

No presente estudo, a vitamina D foi monitorada na forma de colecalciferol (vitamina D₃). A causa da baixa concentração sérica dessa vitamina nos pacientes com AB e HAI pode estar relacionada com o processo de absorção e de transporte até o fígado.

Existem vários estudos, que relatam baixos níveis sanguíneos de vitamina A, E e D em DHC com colestase (Guggenheim et al., 1982; Floreani et al., 2000; Bastos e Silveira, 2003; Feranchak et al., 2005). No estudo feito por Floreani et al. (2000), os níveis plasmáticos de retinol, α -tocoferol e carotenóides foram significativamente menores no grupo de DHC colestática (cirrose biliar primária e colangite esclerosante primária) em relação ao grupo controle. Em um outro estudo feito por Feranchak et al. (2005) foi verificado que a deficiência de vitamina A é relativamente comum em crianças com DHC colestática e os autores propuseram que o retinol sérico pode ser usado como um parâmetro inicial para monitorar a deficiência de vitamina A em crianças com DHC. Com relação à vitamina D, Bastos e Silveira (2003) constataram que os níveis plasmáticos de vitamina D apresentaram diferença significativa entre os pacientes com colestase e os controles. Já a deficiência de vitamina E foi descrita por Guggenheim et al. (1982) que encontraram baixos níveis séricos da mesma vitamina em todos os pacientes com colestase crônica anterior ao tratamento com a vitamina E. Os mesmos autores recomendam a terapia intramuscular com alfa tocoferol para pacientes com colestase crônica que não podem alcançar concentração sérica normal com a terapia oral.

No presente estudo, não foi observada diferença significativa dos níveis séricos das vitaminas A, D e E, no grupo de pacientes AB com colestase em relação ao grupo de pacientes AB sem colestase. Esse resultado pode ser decorrente da amostra ser reduzida ou pelo fato da cobrança ser mais intensiva com relação ao uso de vitaminas nos pacientes com colestase. Semelhantemente, no estudo realizado por Feranchak et al. (2005) também não foi encontrada diferença significativa nos níveis séricos das vitaminas A, D, E quando comparado os grupos de pacientes com DHC com colestase e sem colestase.

Quando efetuada a correlação das vitaminas com os índices antropométricos dos pacientes em conjunto, constatou-se que houve correlação da vitamina A com P/I, PCT, PCSE, CB e AAB, e da vitamina E com todos os índices. Estes índices antropométricos estiveram diretamente correlacionados com os níveis séricos das vitaminas A e E, ou seja, a medida que diminui essas medidas antropométricas diminuem os níveis séricos dessas vitaminas.

Os grupos, quando separados em HAI e AB, apresentaram para os índices de PCT e CB do grupo AB, e SDC do grupo HAI, uma correlação direta com os níveis séricos da vitamina A. Os índices de P/I e CB do grupo de atresia biliar e AMB do grupo de HAI correlacionaram diretamente com os níveis séricos de vitamina E.

Nesse estudo, o parâmetro de CB se destaca por manter a correlação com as vitaminas A e E no grupo AB e HAI em conjunto e no grupo AB isolado, provavelmente por ser o indicador mais sensível do estado nutricional.

Recentemente, o Ministério da Saúde implantou, por meio da Portaria Nº 1.160 de 29 de maio de 2006, um novo critério de gravidade de estado clínico do paciente com cirrose, que adota o sistema MELD (Model for End-stage Liver Disease) ou PELD (Pediatric End-Stage Liver Disease). Para calcular o MELD (adultos e adolescentes maiores de 12 anos) são necessárias as dosagens séricas de creatinina, bilirrubina total e determinação do RNI (Relação Normalizada Internacional da atividade da protrombina). Para calcular o PELD (crianças menores de 12 anos) são necessárias as dosagens de bilirrubina, valor de RNI, valor de albumina e valor do déficit de crescimento (Brasil, 2006). Entretanto, como a coleta de dados desse trabalho iniciou em 2004 finalizando em

agosto de 2006, a classificação utilizada para relacionar a gravidade da doença foi o Child-Pugh descrito por Riley e Bhatti (2001).

Em relação à gravidade da doença, os maiores déficits antropométricos nesse estudo foram detectados pela P/I, IMC, CB, PCT e PCSE nos pacientes com AB classificados em Child B associado ao Child C. A gravidade da doença pode ter interferido no estado nutricional, levando à depleção de massa adiposa e muscular, sendo os pacientes com Child B associado ao Child C os que possuem os maiores déficits nutricionais. Com relação aos pacientes com HAI classificados em Child B associado ao Child C não ocorreu diferença do estado nutricional quando comparado aos pacientes com Child A. Isso pode ser decorrente da amostra reduzida no sub-grupo de pacientes classificados como Child B (n=5) associado ao Child C (n=1). Para efeito de análise estatística foram agrupados os pacientes com pontuação Child B associado ao Child C.

Por causa do dano hepático, os pacientes com cirrose podem desenvolver desnutrição protéico-energética caracterizada por depleção dos estoques de gordura e(ou) massa muscular (Maio et al., 2000; Riley e Bhatti, 2001). A detecção da desnutrição protéico-energética é muito importante para que medidas de suporte nutricional possam ser aplicadas, reduzindo as taxas de infecções, complicações e mortalidade.

No estudo feito por Maio et al. (2004) a CB foi o melhor índice antropométrico para relacionar a deficiência de massa muscular com a gravidade da doença hepática. No entanto, os índices IMC e P/I devem ser aplicados com cautela, pois os fluidos extracelulares podem estar aumentados, mesmo nos pacientes com cirrose sem ascite.

Na tabela 7, constata-se que o percentual de lipídeos da dieta foi superior a 30% no grupo de pacientes com AB. Provavelmente, esse percentual está relacionado com a suplementação que é feita com o módulo de triglicerídeos de cadeia média (TCM) nesses pacientes, principalmente com colestase. Já nos pacientes com HAI, raramente é realizada a suplementação com este módulo, pois a maioria não apresenta colestase. Sendo assim, o objetivo da terapia nutricional inclui a reabilitação de alterações da composição corporal e déficits nutricionais, prevenção de injúrias das células do fígado, promoção da regeneração hepática e melhoria na recuperação dos transplantados (Greer et al., 2003).

A ingestão dietética recomendada de nutrientes na DHC compensada deve ser em relação à proteína de 15-17%, ao lipídio de 20-25% e ao carboidrato de 60-65% (Okita, 2004). Neste estudo observou-se que a mediana do grupo AB e HAI não alcançou a recomendação percentual de carboidratos e ultrapassou a recomendação percentual de lipídio, estando a distribuição de energia adequada para o percentual de proteína pela proposta de Okita (2004).

A adequação de energia foi menor nos pacientes com HAI, atingindo uma mediana de apenas 73,1% pela DRI, destinada a população saudável, e 56,2% pela DRI com o acréscimo de 30%. Porém, os dois grupos não atingiram 100% de adequação pela DRI com acréscimo de 30% recomendado para pacientes com doenças hepáticas crônicas. Dessa forma, seria esperado um percentual maior de desnutrição nos pacientes com HAI, o que não ocorreu no presente estudo. Na tentativa de explicar o fenômeno, podemos levantar duas hipóteses: foi superestimado o gasto metabólico desses pacientes ou subdiagnosticada a desnutrição, tendo em vista o uso de corticóides que poderiam superestimar o peso. Essa última hipótese é menos provável porque alguns índices antropométricos não seriam influenciados por retenção discreta de líquido.

Na AB, o gasto de energia em repouso é cerca de 30% maior que nas crianças saudáveis do mesmo sexo e idade (Pierro et al., 1989). Na HAI, são escassos os estudos que trazem as recomendações das necessidades energéticas para esse grupo, por isto foi feita a adequação de energia pela DRI, sem e com acréscimo de 30% de acordo com Bavdekar et al. (2002).

6- CONCLUSÕES

Os pacientes com AB, principalmente com colestase, apresentaram um maior comprometimento nutricional, sendo os parâmetros de P/I, IMC, CB e PCT responsáveis por detectar a desnutrição grave. Estes pacientes quando classificados em Child B associado ao Child C apresentaram os maiores déficits antropométricos por meio dos parâmetros P/I, IMC, CB, PCT e PCSE.

Os níveis séricos da vitamina E se correlacionaram com todos os indicadores antropométricos. A CB foi o indicador mais sensível para correlacionar os níveis séricos das vitaminas A e E no grupo de pacientes com AB e HAI.

A ingestão dietética dos pacientes com AB e HAI apresentou-se abaixo do percentual de carboidratos e acima do percentual de lipídios do recomendado para a DHC.

Portanto, recomendamos o monitoramento do estado nutricional dos pacientes com AB, principalmente com colestase, a fim de detectar a desnutrição precocemente e a adequar a ingestão dietética dos macronutrientes.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allagille D. Prolonged obstructive jaundice including calculous and noncalculous gallbladder conditions. In: Roy CC, Silverman A, Allagille D. Pediatric clinical gastroenterology. Fourth Edition, Mosby; 1995. p.636-665.

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. Journal Hepatology 1999; 31(5): 929-38.

Amédée-Manesme O, Furr, HC, Alvarez F, Hadchouel M, Alagille D, Olson JA. Biochemical indicators of vitamin A depletion in children with cholestasis. Hepatology 1985; 6(6): 1143-48.

Balistreri WF, Grand R, Hoofnagle JH, Suchy FJ, Ryckman FC, Perlmutter DH, Sokol RJ. Biliary atresia: current concepts and research directions. Hepatology 1996; 23: 1682-92.

Bastos MD, Silveira TR. Níveis plasmáticos de vitamina D em crianças e adolescentes com colestase. Jornal de Pediatria 2003; 79(3): 245-52.

Bavdekar A, Bhav S, Pandit A. Nutrition management in chronic liver disease. Indian Journal of Pediatrics 2002; 69(5): 427-31.

Brasil. Decreto-lei Nº 1.160, de maio de 2006. Modifica os critérios de distribuição de fígado de doadores cadáveres para transplante, implantando o critério de gravidade de estado clínico do paciente. Ministério da Saúde.

Carter-Kent C, Radhakrishnan K, Feldstein AE. Increasing calories, decreasing morbidity and mortality: Is improved nutrition the answer to better outcomes in patients with biliary atresia? *Hepatology* 2007; 46(5):1329-31.

Center for Disease Control (CDC). Growth charts: United States. National Center for Health Statistics (NCHS) 2000; 314:1-27.

Daniel WW. Biostatistics: a foundation for analysis in the health science. 2 ed. New York, J Wiley; 1978. p.215-23.

Desmet VJ, Gerver M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 19: 1513-20.

Dietary Reference Intakes: energy, carbohydrate, fiber, fat, cholesterol, protein and amino acids. Washington DC, National Academic Press; 2002.

Dietpro. Versão 4. Monteiro JB, Esteves EA: Programa computacional; 2002.

Drewel BT, Giraud DW, Davy SR, Driskell JA. Less than adequate vitamin E status observed in a group of preschool boys and girls living in the United StatesB. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2006; 17: 132-38.

Feranchak AP, Gralla J, King R, Ramirez RO, Corkill M, Narkewicz MR, Sokol RJ. Comparison of Indices of Vitamin A Status in Children With Chronic Liver Disease. *Hepatology* 2005; 42: 782-92.

Floreani A, Baragiotta A, Martines D, Naccarato R, D'odorico A. Plasma antioxidant levels in chronic cholestatic liver diseases. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2000; 14: 353-58.

Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscles areas for assessment of nutritional status. American Journal of Clinical Nutrition 1981; 34: 2540-45.

Frisancho AR. New standards of weight and body composition by frame size and height for assessment of nutritional status of adults and the elderly. American Journal of Clinical Nutrition 1984; 40: 808-819.

Frisancho, A.R. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status. Ann Arbor MI: University of Michigan; 1989. 189p.

Greer R, Lehnert M, Lewindon P, Cleghorn GF, Shepherd RW. Body composition and components of energy expenditure in children with end-stage liver disease. Journal Pediatric Gastroenterology Nutrition 2003; 36(3): 358-63.

Guggenheim MA, Ringel SP, Silverman A, Grabert BE. Progressive neuromuscular disease in children with chronic cholestasis and vitamin E deficiency: diagnosis and treatment with alpha tocopherol. Journal of Pediatrics 1982; 100(1): 51-8.

Henkel AS, Buchman, AL. Nutritional support in patients with chronic liver disease. Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology 2006; 6(4): 202-209.

Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric Standardization Reference Manual. Abridged edition. Champaign: Human. Kinetics Books; 1988. 90p.

Machlin LJ. Vitamin E. In: Machlin LJ. Handbook of Vitamins. New York: Marcel Dekker; 1991. p.99-144.

Maggiore G, Bernard O, Homberg JC, Hadchouel M, Alvarez F, Hadchouel P, Odièvre M, Alagille D. Liver disease associated with anti-liver-kidney microsome antibody in children. Journal of Pediatrics 1986; 108(3): 399-404.

Maio R, Dichi JB, Burini RC. Consequências nutricionais das alterações metabólicas dos macronutrientes na doença hepática crônica. Arquivos de Gastroenterologia 2000; 37(1): 52-7.

Maio R, Dichi JB, Burini RC. Sensibilidade de indicadores da desnutrição protéico-energética em cirróticos com vários graus de disfunção hepatocelular. *Arquivo de Gastroenterologia* 2004; 41(2): 93-9.

Makin E, Davenport M. Biliary atresia. *Current Paediatrics* 2006; 16: 59-63.

Matos C, Porayko MK, Francisco-Ziller N, DiCecco S. Nutrition and Chronic Liver Disease. *Journal Clinical Gastroenterology* 2002; 35(5): 391-97.

Mattar RHGM, Azevedo RA, Speridião PGL, Fagundes Neto U, Morais MB. Nutritional status and intestinal iron absorption in children with chronic hepatic disease with and without cholestasis. *Jornal de Pediatria* 2005; 81(4): 317-24.

Moyer V, Freese DK, Whittington PF, Olson AD, Brewer F, Colletti RB, Heyman MB. Guideline for the evaluation of cholestasis jaundice in infants: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Journal Pediatric Gastroenterology Nutrition* 2004; 39: 115-28.

Nobili V. Nutritional considerations in children with chronic liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2005; 20: 1805-6.

Novy M, Schwarz, KB. Nutrition considerations and management of the child with liver disease. *Nutrition* 1997; 13(3): 177-84.

Okita M. Chronic hepatic disease and dietary instruction. *Hepatology Research* 2004; 30S: S90-S93.

Olson JA. Vitamin A. In: Machlin LJ. *Handbook of Vitamins*. New York: Marcel Dekker; 1991. p.1-58.

Penteado MV. Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. Barueri, SP: Editora Manole Ltda; 2003. p.75-120.

Pierro A, Koletzko B, Carnielli V, Superina R, Roberts EA, Filler RM, Smith J, Heim T. Resting energy expenditure is increased in infants and children with extrahepatic biliary atresia. *Journal of Pediatric Surgery* 1989; 24(6): 534-38.

Protheroe SM. Feeding the child with chronic liver disease. *Nutrition* 1998; 14(10): 798-800.

Riley TR, Bhatti AM. Preventive Strategies in Chronic Liver Disease: Part II. Cirrhosis. *American Family Physician* 2001; 64(10): 1735-40.

Siegel, S. Estatística não paramétrica. São Paulo: Makron Books do Brasil Editora; 1975. p.67-240.

Silveira TR, Pires ALG. Icterícia colestática neonatal. In: *Gastroenterologia pediátrica*. 2 edição. Rio de Janeiro, 1991, cap. 51, p.465-87.

Siscres: Sistema para análise de dados de crescimento. Morcillo AM, Marini SHVL: Programa computacional; 2003.

Sokol RJ, Stall C. Anthropometric evaluation of children with chronic liver disease. *American Journal Clinical Nutrition* 1990; 52: 203-8.

Taylor, RM, Dhawan A. Assessing nutritional status in children with chronic liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2005; 20: 1817-24

Thakur MI, Srivastava US. Vitamin-E metabolism and its application. *Nutrition Research* 1996; 16(10): 1767-1809.

Vajro P, Hadchouel P, Hadchouel M, Bernard O, Allagille D. Incidence of cirrhosis in children with chronic hepatitis. *Journal of Pediatrics* 1990; 117(3):417-8.

Wang LH, Huang SH. Determination of vitamins A, D, E, and K in human and bovine serum, and β -carotene and vitamin A palmitate in comestic and pharmaceutical products, by isocratic. *Chromatographia* 2002; 55(5-6): 289-96.

Willett W. *Nutrition epidemiology*. New York: Orford; 1990. p.217-244.

World Health Organization. Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatrics* 2006; 450: 76 -85.

World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva; 1995. Technical Report Series 854.

World Health Organization. WHO child growth standards: head circumference-for-age, arm circumference-for-age, triceps skinfold-for-age and subscapular skinfold-for-age: methods and development. Geneva: World Health Organization; 2007.

CAPÍTULO II

**Níveis séricos das vitaminas A, D e E em pacientes
com atresia biliar e hepatite auto-imune e a relação
com indicadores clínicos e laboratoriais**

RESUMO

Muitas das debilitações decorrentes das doenças hepáticas crônicas podem ser atribuídas às deficiências generalizadas e (ou) específicas de nutrientes como a deficiência de vitaminas lipossolúveis. O objetivo desta pesquisa foi determinar os níveis séricos de vitaminas lipossolúveis (A, D e E) em crianças e adolescentes com atresia biliar (AB) e hepatite auto-imune (HAI), e relacionar com indicadores clínicos e laboratoriais. O estudo foi transversal controlado e foram avaliados os pacientes com AB (n=24) e HAI (n=25), e um grupo controle (n=53). A determinação dos níveis séricos das vitaminas A, D e E foi feita pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Os indicadores clínicos e laboratoriais pesquisados foram: colestase, gravidade da doença, suplementação vitamínica, esteatorréia, enzimas hepáticas, bilirrubinas e albumina. Foram empregados os testes de Mann-Whitney, o coeficiente de correlação de Spearman e a análise de variância, sendo considerada diferença significativa se $p < 0,05$. Os níveis séricos das vitaminas A, D e E foram maiores no grupo controle em relação aos pacientes com AB e HAI, em conjunto e separadamente. Houve diferença significativa dos níveis séricos das vitaminas A e E apenas no grupo de pacientes com AB e HAI em conjunto, na ausência ou presença de colestase. Da mesma forma, ocorreu diferença significativa em relação à gravidade da doença no grupo de pacientes com AB e HAI em conjunto. Entretanto, os níveis séricos das vitaminas A, D e E não apresentaram diferença significativa em relação à presença ou ausência da esteatorréia em todos os grupos. Os níveis séricos das vitaminas A e E foram menores nos pacientes que fizeram suplementação vitamínica. Os testes de correlações dos indicadores laboratoriais com os níveis séricos das vitaminas A, D e E mostraram correlação significativa com os indicadores laboratoriais empregados, sendo mais evidente a correlação inversa com a bilirrubina direta. Pode-se concluir que, foi observada deficiência das vitaminas A, D e E no grupo de AB e HAI. Baixos níveis séricos das vitaminas A e E foram encontrados na presença de colestase no grupo de pacientes com AB e HAI em conjunto. A gravidade da doença foi responsável por menores níveis séricos das vitaminas A e E no grupo AB e HAI em conjunto e no grupo de HAI os menores níveis séricos foram das vitaminas A e D. A suplementação vitamínica oral não é eficiente para manter os níveis séricos adequados das vitaminas A, D e E no grupo de pacientes com AB e HAI. O indicador laboratorial que apresentou a melhor correlação foi a bilirrubina direta com os

níveis séricos das vitaminas A e E no grupo de pacientes com AB e HAI, em conjunto e separadamente para a HAI.

Descritores: vitamina A, vitamina D, vitamina E, atresia biliar, hepatite auto-imune.

1- INTRODUÇÃO

A colestase é resultado de defeitos na secreção canalicular da bile ou da obstrução do fluxo distal de bile para os canalículos. A excreção prejudicada de sais biliares no lúmen intestinal pode levar, primeiramente, à má-absorção de lipídios, seguida da má-absorção de vitaminas lipossolúveis (Hofmann, 2002; Francavilla et al., 2003). Os sais biliares são responsáveis pela emulsificação de lipídios que se dividem em gotículas menores, proporcionando maior superfície para a ação das enzimas, além de diminuir a tensão superficial. As vitaminas lipossolúveis compartilham a mesma seqüência de eventos para serem absorvidas (Biesalski e Grimm, 2007).

Os primeiros sinais da deficiência de vitamina A são lesões cutâneas. A manifestação clínica mais importante ocorre no aparelho ocular, podendo levar à cegueira noturna, xerose da conjuntiva com ou sem mancha de Bitot e xerose da córnea e ceratomalácia (Olson, 1991; Feranchak et al., 2005).

A deficiência de vitamina D é outra complicação da doença hepática crônica provocada, primariamente, pela má-absorção. A diminuição de exposição à luz solar e ingestão dietética inadequada também podem contribuir para a deficiência dessa vitamina (Henkel e Buchaman, 2006). As manifestações primárias da deficiência de vitamina D são hipocalcemia, hipofosfatemia, tetania, osteomalácia e raquitismo (Feranchak, 2001).

A vitamina E é o principal antioxidante responsável por proteger as membranas contra peroxidação de lipídios. A deficiência de vitamina E pode causar disfunção neurológica, miopatias e diminuição da vida dos eritrócitos (Thakur e Srivastava, 1996).

A suplementação oral de vitaminas lipossolúveis é essencial em doença hepática crônica, especialmente em crianças com colestase e deveria incluir a suplementação de vitamina A (5-15000UI/dia); vitamina D (calcidiol 50ng/kg/dia); vitamina E (50-200mg/dia) e vitamina K (2,5-5mg/dia) (Kelly e Wilsonc, 2006). Altas doses orais de vitaminas lipossolúveis são necessárias, sendo recomendado usar preparações individuais de cada vitamina. Com isto, tem-se uma maior flexibilidade para

ajustar as doses. Subseqüentemente, os ajustes das doses devem ser baseados nos níveis séricos ou na resposta biológica (McKiernanm, 2001).

Uma das causas mais freqüentes de colestase crônica e a principal indicação de transplante hepático pediátrico é a atresia biliar (AB) (Makin e Davenport, 2006). É caracterizada por um processo inflamatório destrutivo que afeta os ductos biliares intra-hepáticos e extra-hepáticos, conduzindo à fibrose e à obliteração do trato biliar em qualquer ponto do *porta hepatis* até o duodeno (Balistreri et al., 1996). A sua freqüência estimada é de 1 para 8000 a 1 para 15000 nascidos vivos, com pequena predominância no sexo feminino (Haber e Russo, 2003).

Aproximadamente 25 a 35% dos pacientes com AB submetidos a portoenterostomia de Kasai sobrevivem por mais de 10 anos de idade sem transplante hepático, um terço desenvolve cirrose, necessitando de transplante hepático antes de 10 anos de idade, e o terço restante desenvolve fibrose e cirrose progressivas semelhante às crianças sem intervenção cirúrgica, necessitando de transplante hepático precoce (Hessel e Sawamura, 2001; Schreiber et al. 2007).

Uma outra doença que acomete, predominantemente, os hepatócitos é a hepatite auto-imune (HAI). É considerada uma doença inflamatória do fígado caracterizada por destruição progressiva do parênquima hepático e de etiologia desconhecida (Romero et al., 2007). O diagnóstico é baseado na presença de achados clínicos, laboratoriais e exclusão de outras causas de doença hepática crônica. Predomina no sexo feminino, associa-se com hipergamaglobulinemia e outras condições auto-imunes no paciente ou em seus parentes de primeiro grau (Ferreira et al., 2002).

A doença pode permanecer sem exteriorização clínica por meses ou anos, sendo então detectada em uma avaliação de rotina. Em 1/3 dos casos, o início é abrupto, indistinguível de um quadro de hepatite viral aguda, embora sem a evolução esperada. Em casos raros, a forma de apresentação pode ser fulminante (Mattos, 2001).

Conforme relatado na literatura, AB e HAI podem levar à deficiência de vitaminas lipossolúveis (Amédée-Manesme et al., 1985; Taylor e Dhawan, 2005). O monitoramento destas vitaminas não é realizada rotineiramente e são escassos os estudos sobre a deficiência de vitaminas A, D e E em crianças e adolescentes com AB e HAI.

2- OBJETIVOS

2.1- Gerais

Determinar os níveis séricos de vitaminas lipossolúveis (A, D e E) em crianças e adolescentes com atresia biliar e hepatite auto-imune e relacionar com indicadores clínicos e laboratoriais.

2.2- Específicos

- Comparar os níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente, com o grupo controle.
- Comparar os níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente, com presença de colestase e ausência de colestase.
- Comparar os níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente, com a gravidade da doença.
- Comparar os níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente, com a presença ou ausência da esteatorréia.
- Comparar os níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune com a suplementação de vitaminas.
- Correlacionar os níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo de pacientes com atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente, com os índices laboratoriais (enzimas hepáticas, bilirrubinas e albumina).

3- CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1- Casuística

3.1.1- Local da pesquisa

A pesquisa foi realizada no Ambulatório de Hepatologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e no Ambulatório de Transplante Hepático Pediátrico do Gastrocentro (UNICAMP), SP, Brasil, no período de janeiro de 2004 a agosto de 2006.

3.1.2- Delineamento do estudo

Este estudo caracterizou-se de por ser transversal e controlado, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, parecer nº 542/2003. O termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido por escrito dos pais ou responsáveis pelos pacientes.

3.1.3- População

Foram avaliados pacientes com AB e HAI. Os critérios de inclusão dos pacientes foram: faixa etária de 4 meses a 18 anos de idade, evidência de hepatopatia crônica diagnosticada por meio de biópsia hepática, ter diagnóstico de AB ou HAI. Os critérios de exclusão dos pacientes foram: o uso injetável de vitamina (A, D e E) nos últimos 3 meses, o uso de nutrição parenteral nos últimos 3 meses e a não assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos pais ou responsáveis pelos pacientes.

A hipótese diagnóstica de AB foi, inicialmente, realizada por meio de ultra-som abdominal e biópsia hepática e o diagnóstico confirmado pelos achados do procedimento cirúrgico. Em relação ao diagnóstico de HAI, foi empregado o sistema de escore estabelecido pelo grupo internacional de hepatite auto-imune (Alvarez et al., 1999).

De acordo com esses critérios, foram selecionados 49 pacientes (25 com HAI e 24 com AB), com mediana de idade de 8,5 anos e variação de 0,3 a 17,9 anos.

O grupo controle foi constituído por pacientes sem doença hepática, porém com dor abdominal recorrente ou constipação intestinal crônica ou doença oftalmológica (estrabismo), atendidos no Serviço de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição, e no Serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas da FCM-UNICAMP. Os critérios de inclusão para os controles foram: enquadrar-se na mesma faixa etária dos pacientes avaliados (variação máxima de ± 5 meses) e apresentar escore Z de peso e estatura entre +2 e -2 para a idade e sexo, a partir do gráfico de crescimento do CDC (2000). Os critérios de exclusão dos controles foram: presença de diarreia e febre, a não assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos pais ou responsável pelo paciente e a evidência de hepatopatia verificada por meio da história clínica, exame físico e revisão do prontuário. Empregando esses critérios, foram selecionados 53 controles (39 femininos e 14 masculinos), com mediana de idade de 7,6 anos e variação de 0,7 a 17,6 anos.

3.2- Métodos

3.2.1- Coleta de sangue

Coletou-se de 2 a 5mL de sangue, por punção de veia periférica, além da quantidade habitual para exames de rotina dos pacientes com AB e HAI. Para o grupo controle coletou-se 5mL de sangue, uma vez que estes não colhem exames bioquímicos de rotina. As amostras de sangue para a análise dos níveis séricos das vitaminas A, D e E foram colocadas em tubos (protegidos com papel alumínio) sem anticoagulante, mantidas em refrigeração e em seguida centrifugadas a 1800rpm por 10 minutos. O soro foi coletado e congelado em nitrogênio líquido até o momento da análise.

3.2.2- Avaliações bioquímicas

3.2.2.1- Determinação dos níveis séricos das vitaminas lipossolúveis

A extração das vitaminas (A, D, E) foi realizada de acordo com o método descrito por Wang e Huang (2002) com algumas modificações. O soro obtido foi transferido para um tubo, onde foram adicionados hexano (3mL) e acetato de etila (1mL),

agitando-se em vortex durante 10 segundos. A camada orgânica foi lavada com uma solução de metanol-água (9:1), logo a seguir centrifugada a 2000rpm por 10 minutos, e o sobrenadante foi seco em nitrogênio. Imediatamente, foi adicionado metanol ao resíduo seco e após foi feita a homogeneização por 5 segundos. A solução de metanol foi transferida ao “vial” de injeção para análise em CLAE.

3.2.2.2- Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Para a separação e quantificação das vitaminas lipossolúveis no soro foi utilizada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Utilizou-se um cromatógrafo a líquido da Hewlett Packard (HP) modelo 1100, com degaseificador, bomba quaternária, forno, injetor automático com capacidade de 1 a 100µL e detectores de arranjo de diodos (UV-Visível) e de fluorescência, dispostos em série.

Todo o sistema foi controlado pelo programa Chemstation-HP, que também gerencia o sistema de aquisição de dados. Para a separação das vitaminas foi utilizada uma coluna cromatográfica Metachem Technologies Inc, C₁₈, 250mm x 4,6mm (DN 0296), com tamanho de partícula de 3µm. A coluna foi mantida à temperatura de 26°C.

O extrato foi eluído isocraticamente em fase móvel composta por metanol e água na proporção de 99:1 (v/v), filtrada e degaseificada em banho ultra-sônico, a um fluxo de 1mL/min. Os padrões utilizados foram os seguintes: all-trans-retinol (Sigma), colecalciferol (Sigma) e D-L- α -tocoferol (Merck).

3.2.2.3- Indicadores bioquímicos

Os exames laboratoriais: alanina-aminotransferase (ALT), aspartato-aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gama glutamiltransferase (GGT), bilirrubina total (BT), bilirrubina direta (BD), albumina (ALB), cálcio (Ca), fósforo inorgânico (Pi), colesterol (CT), HDL (*High Density Level*) e LDL (*Low Density Level*) foram realizados no laboratório do HC-FCM-UNICAMP. Esses exames são habitualmente solicitados como rotina de assistência aos pacientes hepatopatas.

3.3- Classificação quanto à presença ou ausência de colestase

Os pacientes foram classificados em colestáticos e não colestáticos de acordo com Moyer et al. (2004). Segundo esses autores, o diagnóstico bioquímico de colestase é definido quando a bilirrubina direta for maior que 20% da bilirrubina total se essa excede 5mg%. Se a bilirrubina total for menor que 5mg%, a definição de colestase é quando a bilirrubina direta for maior que 1mg%.

3.4- Classificação pelo método de Child-Pugh modificado

Os pacientes participantes do estudo foram classificados quanto à gravidade da hepatopatia pelo método de Child-Pugh modificado (Riley e Bhatti, 2001), descrito na tabela 1.

Embora este método tenha sido descrito para pacientes com cirrose, sabe-se que os pacientes com AB, na quase totalidade, apresentam cirrose (Allagille, 1995), da mesma forma para HAI (Vajro et al., 1990).

Tabela 1- Classificação de Child-Pugh modificado pelo sistema de pontuação quanto à gravidade da doença hepática.

	Pontuação		
	1 Ponto	2 Pontos	3 Pontos
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

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

Fonte: Riley e Bhatti (2001)

3.5- Dosagem de gordura fecal

A dosagem de gordura fecal, das crianças e adolescentes com AB e HAI, foi feita por meio da administração de dieta padronizada de gordura (5g/Kg de peso, não excedendo a 50g) durante 5 dias e sendo coletada toda quantidade de fezes das últimas 72 horas deste período. Nos lactantes, a sobrecarga de gordura na dieta foi feita acrescentando óleo às mamadeiras na proporção de 2% do volume por mamada. Nos lactentes em aleitamento materno exclusivo não foi realizado o exame com sobrecarga de gordura.

Ao final da coleta, todo o volume fecal foi homogenizado e a seguir, o conteúdo de gordura foi determinado pelo método de Van de Kamer et al. (1949). O resultado é considerado normal quando o valor for igual ou inferior a 2,2g/dia de ácido graxos nas fezes; valores acima foram caracterizados como esteatorréia (Barbieri e Koda, 1986).

3.6- Prescrição de vitaminas

Com a aplicação do questionário foi verificada a prescrição vitamínica aos pacientes:

- acetato de retinol-colecalciferol (ADTIL): 2 gotas/dia
- acetato de α -tocoferol (EPHYNAL): 1 gota/dia
- polivitamínico (PROTOVIT): 24 gotas/dia

3.7- Análise dos dados

O tratamento estatístico de todos os resultados foi efetuado por meio do Programa SPSS (Statistical Package for Social Science). Utilizou-se a estatística descritiva (média, desvio padrão, mínimo, mediana e máximo) para as variáveis contínuas. Para comparar as variáveis contínuas com relação a dois grupos, utilizou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney (Siegel, 1975). Foi utilizado o coeficiente de correlação

de Spearman (Siegel, 1975) para verificar a existência de correlação (associação linear) entre as variáveis do grupo paciente. Na comparação de três ou mais grupos foi utilizada a análise de variância (ANOVA) (Daniel, 1978). O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, $p\text{-valor} \leq 0.05$.

4- RESULTADOS

4.1- Características gerais

A Tabela 2 apresenta alguns índices laboratoriais do grupo de pacientes com AB e HAI, em conjunto e separadamente. Os resultados mostram, por meio da média ou mediana, que os níveis de BD, ALT, AST, GGT e FA encontram-se aumentados em relação aos valores de referências nos grupos de pacientes com AB e HAI, em conjunto e separadamente. Entretanto, a média e mediana dos níveis séricos de albumina situam-se dentro dos valores de normalidade, porém observa-se que a hipoalbuminemia está presente.

Tabela 2- Características laboratoriais do grupo atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente.

		Grupos	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Bilirrubina (mg/dL)	Total	AB + HAI	49	3,94	6,14	1,1	0,23	25,2
		AB	24	6,17	7,66	2,65	0,29	25,2
		HAI	25	1,8	3,06	1	0,23	15,75
Bilirrubina (mg/dL)	Direta	AB + HAI	28	4,24	5,02	1,73	0,2	16,6
		AB	14	7,06	5,4	5,73	1,2	16,6
		HAI	14	1,44	2,48	0,64	0,2	9,8
Alanina Aminotransferase (U/L)		AB + HAI	49	115,53	137,65	68	13	674
		AB	24	114,71	68,26	105	19	303
		HAI	25	116,32	182,84	45	13	674
Aspartato Aminotransferase (U/L)		AB + HAI	49	155,69	198,4	71	23	819
		AB	24	172,63	154,04	135,5	30	582
		HAI	25	139,4	235,42	49	23	819
Gama- Glutamilttransferase (U/L)		AB + HAI	49	228,57	361,21	103	9	2277
		AB	24	364,75	477,16	194	9	2277
		HAI	25	97,84	79,96	77	13	292
Fostase Alcalina (U/L)		AB + HAI	49	507,32	378,04	415	73	1914
		AB	24	742,67	400,43	731,5	194	1914
		HAI	25	281,4	153,67	230	73	632
Albumina (g/dL)		AB + HAI	47	3,62	0,61	3,6	2,37	4,92
		AB	22	3,5	0,58	3,6	2,37	4,5
		HAI	25	3,73	0,62	3,61	2,67	4,92

N = número absoluto. AB + HAI= Atresia Biliar e Hepatite Auto-imune em conjunto. AB= Atresia Biliar. HAI= Hepatite Auto-Imune.

4.2- Níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo controle e do grupo de atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente

Com relação à comparação dos níveis séricos das vitaminas A, D e E, os grupos de pacientes com AB e HAI, em conjunto e separadamente, apresentaram menores níveis séricos dessas vitaminas do que o grupo controle, com diferença significativa (Tabela 3). Observa-se, também, que há no grupo de pacientes com AB, níveis séricos dessas vitaminas abaixo do nível de detecção por meio da técnica cromatográfica.

Tabela 3- Comparação dos níveis séricos das vitaminas A, D e E do grupo controle com os grupos atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente.

Grupo	N	Vitamina A (ng/dL)	Vitamina D (ng/dL)	Vitamina E (ng/dL)
		Mediana (mín. e máx.)	Mediana (mín. e máx.)	Mediana (mín. e máx.)
AB + HAI	49	55,46 ^A (nd* e 229,7)	25,11 ^A (nd* e 76,13)	787,38 ^A (nd* e 5635,88)
Controle	53	128,81 ^A (61,42 e 245,84)	56,78 ^A (21,55 e 116,87)	2017,33 ^A (1020,13 e 7970,22)
AB	24	35,51 ^A (nd* e 169,72)	26,33 ^A (nd* e 72,6)	491,53 ^A (nd* e 1765,39)
Controle	27	99,59 ^A (61,42 e 194,99)	57,55 ^A (30,41 e 116,87)	1679,5 ^A (1020,13 e 5416,45)
HAI	25	98,42 ^B (10,07 e 229,70)	24,40 ^B (6,20 e 76,13)	1426,48 ^B (133,23 e 5635,88)
Controle	26	143,77 ^B (99,89 e 245,84)	55,01 ^B (21,55 e 92,59)	2438,88 ^B (1055,90 e 7970,22)

N = número absoluto. nd*= não detectado. AB + HAI= Atresia Biliar e Hepatite Auto-imune em conjunto. AB= Atresia Biliar. HAI= Hepatite Auto-Imune. Teste de Mann-Whitney, ^Ap=0,0001; ^Bp=0,001.

4.3- Colestase

A Tabela 4 apresenta os resultados com relação à mediana dos níveis séricos das vitaminas A, D e E quanto à presença ou ausência de colestase. O grupo de pacientes com AB e HAI, em conjunto, com presença de colestase apresentou diferença significativa dos níveis séricos das vitaminas A e E quando comparado com os pacientes com ausência de colestase.

Os grupos de pacientes com AB e HAI, separadamente, com presença de colestase não apresentaram diferenças significativas dos níveis séricos das vitaminas A, D e E, quando comparados com os pacientes com ausência de colestase (Tabela 4).

Tabela 4- Níveis séricos das vitaminas A, D e E em relação à presença ou ausência de colestase no grupo atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente.

Colestase	N	Vitamina A (ng/dL) Mediana (mín. e máx.)	Vitamina D (ng/dL) Mediana (mín. e máx.)	Vitamina E (ng/dL) Mediana (mín. e máx.)
AB +HAI				
Presença	18	28,49 ^A (nd* e 111,4)	22,79 ^B (nd* e 70,92)	364,85 ^A (nd* e 2000,26)
Ausência	31	89,51 ^A (nd* e 229,7)	26,29 ^B (nd* e 76,13)	1275,44 ^A (nd* e 5635,88)
AB				
Presença	14	26,16 ^B (nd* e 96,29)	22,79 ^B (nd* e 70,92)	364,85 ^B (nd* e 1608,92)
Ausência	10	54,92 ^B (nd* e 169,72)	35,00 ^B (nd* e 72,6)	602,375 ^B (nd* e 1565,39)
HAI				
Presença	4	29,36 ^B (10,07 e 111,40)	24,30 ^B (6,20 e 68,81)	626,28 ^B (133,23 e 2000,26)
Ausência	21	103,95 ^B (18,33 e 229,70)	24,40 ^B (9,86 e 76,13)	1460,13 ^B (411,68 e 5635,88)

N = número absoluto. nd*= não detectado. AB + HAI= Atresia Biliar e Hepatite Auto-imune em conjunto. AB= Atresia Biliar. HAI= Hepatite Auto-Imune. Teste de Mann-Whitney, ^A $p < 0,05$; ^B $p > 0,05$.

4.4- Gravidade da doença

Quanto à gravidade da doença, os pacientes com AB e HAI, em conjunto, classificados em Child C e Child B apresentaram os níveis séricos das vitaminas A e E menores que os pacientes Child A, com diferença significativa. Por outro lado, não houve diferença significativa dos níveis séricos da vitamina D com relação ao Child (Tabela 5).

No grupo de pacientes com AB, os níveis séricos das vitaminas A, D e E não apresentaram diferença significativa entre as classificações Child A e Child B associado ao Child C (Tabela 5). Entretanto, os pacientes do grupo de HAI classificados em Child B associado ao Child C apresentaram menores níveis séricos das vitaminas A e D quando comparados aos pacientes com Child A, com diferença estatística. Porém, os níveis séricos da vitamina E do grupo de pacientes com HAI classificados em Child B associado ao Child C não diferiram dos pacientes classificados como Child A (Tabela 5).

Tabela 5- Níveis séricos das vitaminas A, D e E em relação à classificação do Child-Pugh no grupo atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente.

	N	Vitamina A (ng/dL) Mediana (min. e máx.)	Vitamina D (ng/dL) Mediana (min. e máx.)	Vitamina E (ng/dL) Mediana (min. e máx.)
AB + HAI				
Child A	30	97,36 ^A (nd* e 229,70)	36,67 ^B (nd* e 76,13)	1096,42 ^C (nd* e 5635,88)
Child B	14	31,06 ^A (nd* e 93,44)	18,33 ^B (nd* e 68,98)	739,03 ^C (nd* e 2930,83)
Child C	5	10,07 ^A (8,12 e 40,34)	25,11 ^B (6,20 e 70,92)	273,95 ^C (nd* e 722,69)
AB				
Child A	11	55,46 ^D (nd* e 169,72)	42,44 ^D (nd* e 72,60)	592,85 ^D (nd* e 1765,39)
Child B+C	13	21,64 ^D (nd* e 88,52)	20,35 ^D (nd* e 70,92)	285,58 ^D (nd* e 1608,92)
HAI				
Child A	19	116,79 ^E (18,33 e 229,7)	34,50 ^F (12,85 e 76,13)	1751,04 ^D (411,68 e 5635,88)
Child B+C	6	28,87 ^E (10,07 e 93,44)	13,29 ^F (6,20 e 68,81)	1140,84 ^D (133,23 e 2930,83)

N = número absoluto. nd*= não detectado. AB + HAI= Atresia Biliar e Hepatite Auto-imune em conjunto. AB= Atresia Biliar. HAI= Hepatite Auto-Imune. Child B+C (Child B associado ao Child C). ^AAnova: $p < 0,0001$ ($A \neq B$ e $A \neq C$).

^BAnova: $p=0,0828$. ^CAnova: $p=0,0069$ ($A \neq C$). Teste de Mann-Whitney, ^D $p > 0,05$; ^E $p=0,0075$, ^F $p=0,0358$.

4.5- Esteatorréia

Não houve correlação entre os níveis séricos das vitaminas A, D e E em relação à presença ou ausência de esteatorréia nos pacientes do grupo de AB e HAI, em conjunto ou separadamente para HAI (Tabela 6).

Tabela 6- Níveis séricos das vitaminas A, D e E em relação à ausência ou presença de esteatorréia no grupo atresia biliar e hepatite auto-imune, em conjunto e separadamente para HAI.

Esteatorréia	N	Vitamina A ng/dL	Vitamina D ng/dL	Vitamina E ng/dL
		Mediana (min. e máx.)	Mediana (min. e máx.)	Mediana (min. e máx.)
AB + HAI				
Presença	21	44,51 ^A (nd* e 163,50)	26,29 ^A (nd* e 70,92)	1046,14 ^A (nd* e 5579,68)
Ausência	8	60,86 ^A (15,71 e 169,72)	35,98 ^A (nd* e 76,13)	649,98 ^A (nd* e 5635,88)
HAI				
Presença	12	91,48 ^A (22,08 e 151,07)	25,35 ^A (9,86 e 68,98)	1875,65 ^A (787,38 e 5579,68)
Ausência	5	116,79 ^A (18,33 e 163,50)	44,52 ^A (12,85 e 76,13)	2304,31 ^A (411,68 e 5635,88)

N = número absoluto. nd* = não detectado. AB + HAI= Atresia Biliar e Hepatite Auto-imune em conjunto. AB= Atresia Biliar. HAI= Hepatite Auto-Imune. Teste de Mann-Whitney, ^A $p>0,05$.

4.6- Suplementação vitamínica

A mediana dos níveis séricos das vitaminas A, D e E nos pacientes que receberam a suplementação completa foi de 21,43ng/mL, 20,35ng/mL, 302,10ng/mL respectivamente e o nível sérico das vitaminas A, D e E nos pacientes que não receberam nenhuma suplementação foi de 55,46ng/mL, 27,55ng/mL, 1046,14ng/mL respectivamente, havendo diferença significativa entre as vitaminas A ($p=0,014$) e E ($p=0,011$).

4.7- Correlações dos indicadores laboratoriais

Os testes de correlações dos indicadores laboratoriais, do grupo AB e HAI em conjunto, com os níveis séricos da vitamina A mostraram que há uma correlação significativa com todos os indicadores (Figura 1). Os níveis de albumina estão diretamente correlacionados com os níveis séricos de vitamina A. Por outro lado, há uma correlação inversa dessa vitamina com as enzimas ALT, AST, GGT e FA, e com os níveis de BD e BT.

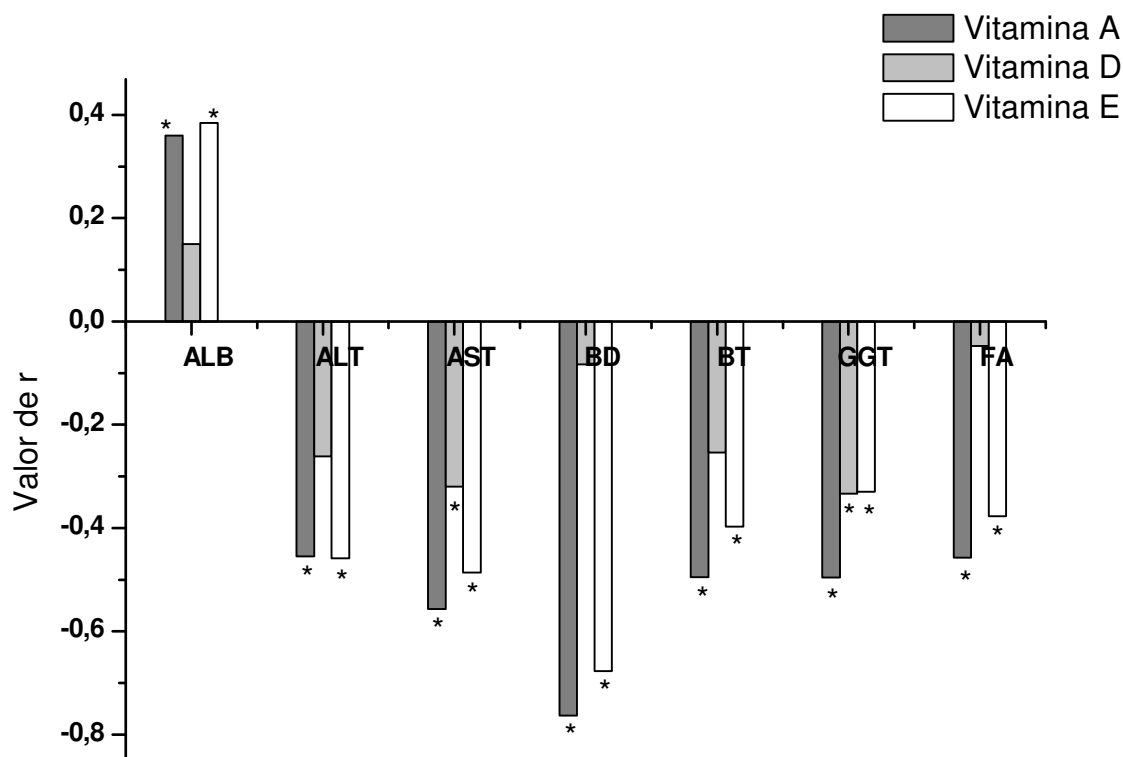


Figura 1- Correlação das variáveis ALB (Albumina), ALT (Alanina AminoTransferase), AST (Aspartato AminoTransferase), BD (Bilirrubina Direta), BT (Bilirrubina Total), GGT (Gama GlutamilTransferase), FA (Fosfatase Alcalina), com os níveis séricos das vitaminas A, D e E no grupo atresia biliar e hepatite auto-imune em conjunto. * $p < 0,05$.

Em relação à vitamina D, há correlação significativa somente com AST e GGT (Figura 1). Para a vitamina E, há correlação significativa com a maioria dos indicadores (Figura 1), excetuando apenas o colesterol total ($r = -0,017$), o HDL ($r = -0,069$) e o LDL ($r = -0,009$), onde $p > 0,05$. Houve correlação inversa dos níveis dessa vitamina com as enzimas ALT, AST, GGT e FA, os níveis de BD e BT e correlação direta com os níveis de albumina.

No grupo AB, não houve correlação significativa dos níveis séricos das vitaminas A, D e E com nenhum dos indicadores laboratoriais (Figura 2), incluindo a correlação da vitamina D com Ca ($r=-0,41$) e Pi ($r=-0,13$) e da vitamina E com CT ($r=-0,09$), HDL ($r=-0,025$) e LDL ($r=-0,45$), sendo $p>0,05$.

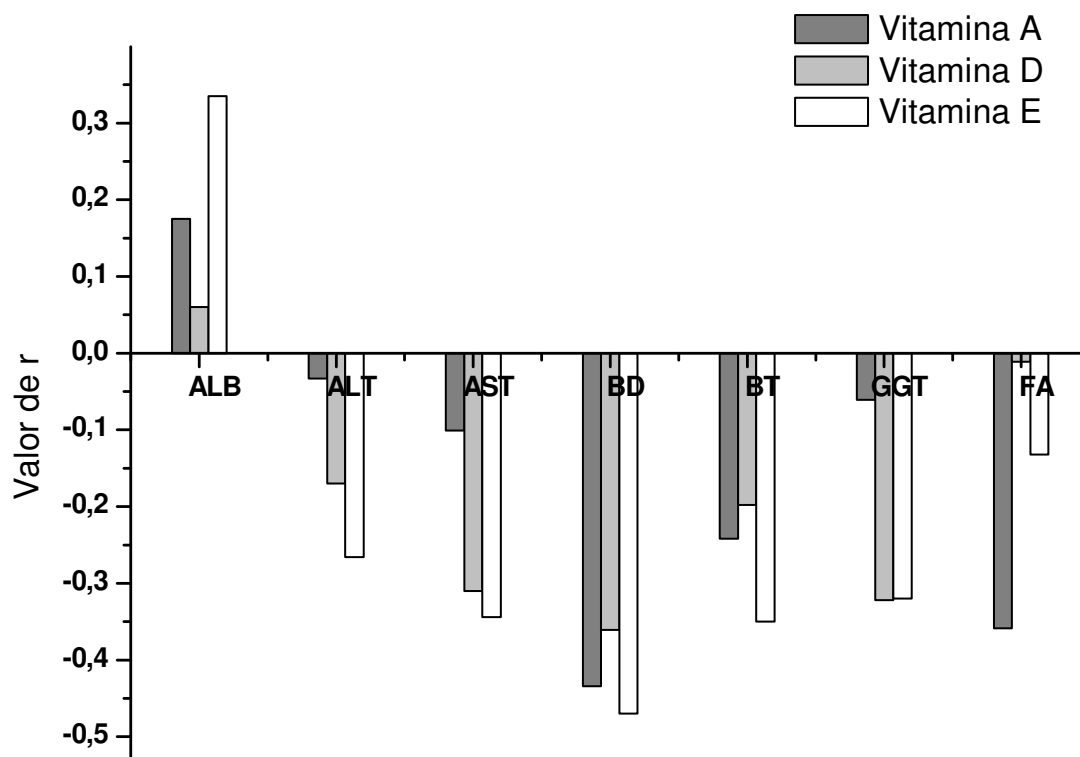


Figura 2- Correlação das variáveis ALB (Albumina), ALT (Alanina Amino Transferase), AST (Aspartato Amino Transferase), BD (Bilirrubina Direta), BT (Bilirrubina Total), GGT (Gama Glutamil Transferase), FA (Fosfatase Alcalina) com os níveis séricos das vitaminas A, D e E no grupo atresia biliar. $*p>0,05$.

No grupo HAI, houve correlação significativa dos níveis séricos das vitaminas A, D e E com alguns indicadores laboratoriais (Figura 3). Os níveis séricos da vitamina A se correlacionaram inversamente com a ALT, AST, GGT, BD e BT.

Em relação à vitamina D, houve correlação inversa significativa apenas com a BT (Figura 3). Por outro lado, não ocorreu correlação com o cálcio ($r=-0,144$) e fósforo inorgânico ($r=-0,146$), $p>0,05$.

Em relação à vitamina E, não houve correlação significativa com nenhum dos indicadores laboratoriais (Figura 3), incluindo o colesterol total ($r=-0,30$), LDL ($r=0,15$) e HDL ($r=0,31$), sendo $p>0,05$.

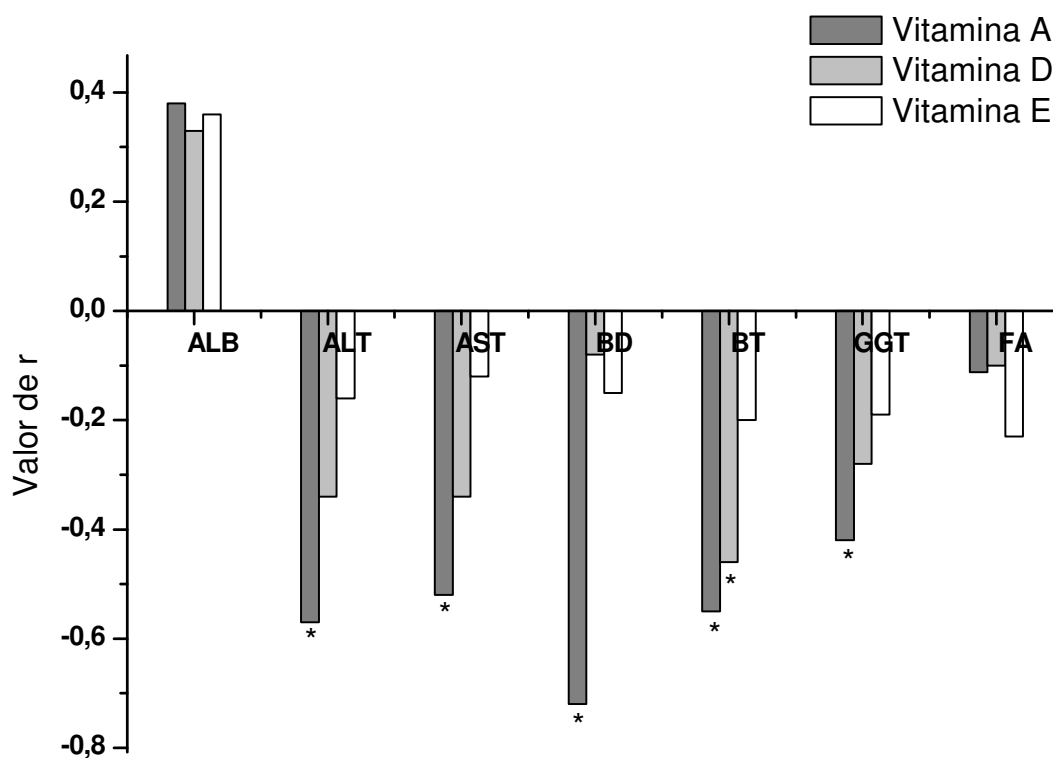


Figura 3- Correlação das variáveis ALB (Albumina), ALT (Alanina AminoTransferase), AST (Aspartato AminoTransferase), BD (Bilirrubina Direta), BT (Bilirrubina Total), GGT (Gama GlutamilTransferase), FA (Fosfatase Alcalina), com os níveis séricos das vitaminas A, D e E no grupo hepatite auto-imune. * $p<0,05$.

5- DISCUSSÃO

No presente estudo, os valores médios dos indicadores laboratoriais de função hepática (BD), lesão hepatocelular (ALT e AST) e lesão canalicular (GGT e FA) se situaram acima dos valores de referência no grupo de pacientes com AB e HAI, em conjunto e separadamente. Nos pacientes com AB, mesmo após a cirurgia de Kasai, esses exames permanecem alterados e podem refletir um êxito parcial da cirurgia ou que o processo patológico continua ao longo do tempo. Esses indicadores refletem funções diferentes do fígado, como excretar anions (bilirrubina), integridade hepatocelular (aminotransferase), formação e subsequente fluxo livre da bile (bilirrubina e FA) e síntese de proteína (albumina) (Limdi e Hyde, 2007; Thapa e Walia, 2007).

Na hepatite auto-imune, na fase de apresentação da doença, sem ainda ter sido instituído o tratamento, a hiperbilirrubinemia está presente em 83% dos casos, embora se constate níveis superiores a três vezes o valor máximo da normalidade (VMN) somente em 46% dos pacientes. As aminotransferases estão sistematicamente alteradas, geralmente em torno de 10 vezes o VMN. A elevação da fosfatase alcalina é, via de regra, pouco significativa. Por outro lado, há aumento importante dos níveis séricos de gamaglobulina se situando os valores, geralmente, acima de 2 vezes o VMN. Quando há perda de função hepatocelular, esta pode ser traduzida por uma queda nos níveis de albumina e por um aumento do tempo de protrombina (Mattos, 2001).

No presente estudo, os pacientes dos grupos AB e HAI, em conjunto e separadamente, apresentaram níveis séricos das vitaminas A, D e E menores que o grupo controle. De forma semelhante, no estudo realizado por Andrews et al. (1981) foi verificado que existem deficiências séricas das vitaminas A e E, e evidência por meio de radiografias de deficiência de vitamina D em pacientes com AB, com idades entre 5 meses a 5,5 anos. Os estudos referentes aos níveis séricos de vitaminas lipossolúveis em HAI são escassos.

Os corticoesteróides são fármacos empregados no tratamento de diversas doenças por suas propriedades antiinflamatórias e imunossupressoras (Patrício et al., 2006). Esse fármaco tem um papel essencial no tratamento da hepatite auto-imune (Montano-Loza, 2007). No entanto, secundariamente, produz alterações importantes na

fisiologia normal da remodelação óssea que predispõe à osteoporose (Ringe et al., 1999; Patrício et al., 2006). Os pacientes medicados com corticoesteróides por tempo prolongado (mais de 3 meses) devem iniciar a terapêutica com cálcio e vitamina D com o objetivo de prevenir o aparecimento de osteopenia e osteoporose induzida por corticóides (Mattos, 2001; Patrício et al., 2006).

Quanto aos valores mínimos das vitaminas A, D e E, alguns pacientes com AB apresentaram valores abaixo do nível de detecção por meio da técnica cromatográfica utilizada. Esses valores mínimos não detectados pela CLAE podem indicar uma deficiência gravíssima dessas vitaminas.

Os primeiros sinais da deficiência de vitamina A são lesões cutâneas. No entanto, a manifestação clínica mais importante ocorre no aparelho ocular, podendo levar a cegueira noturna, xerose da conjuntiva com ou sem mancha de Bitot e xerose da córnea, formas clínicas reversíveis, assim como manifestações mais graves de ceratomalácia, parcialmente reversível em estágio inicial e totalmente irreversível quando alcança estágios avançados (Olson, 1991; Feranchak et al., 2005). Além dessas alterações oculares, a deficiência de vitamina A pode levar ao déficit no crescimento, aumento da susceptibilidade às infecções, aumento do risco de doenças respiratórias e diarreias (Underwood, 1994).

As manifestações primárias da deficiência de vitamina D são hipocalcemia, hipofosfatemia, tetania, osteomalácia e raquitismo (Feranchak, 2001). A deficiência de vitamina E pode causar disfunção neurológica, miopatias e diminuição da vida dos eritrócitos (Thakur e Srivastava, 1996).

No presente estudo, os níveis séricos das vitaminas A e E foram menores no grupo de pacientes com AB e HAI, em conjunto, com presença de colestase em comparação com os pacientes que não apresentaram colestase. Essa diferença não foi notada quando os grupos AB e HAI foram separados. Esse resultado pode estar relacionado com o tamanho amostral dos grupos. É bem documentado na literatura que, em doenças hepáticas colestatas, quantidades inadequadas de sais biliares são liberadas no lúmen

intestinal e, conseqüentemente, resultam em má-absorção de lipídios da dieta e de vitaminas lipossolúveis (Novy e Schwarz, 1997; Phillips et al., 2001).

As mudanças na concentração de ácido biliar têm conseqüências fisiológicas. No intestino, a ausência de ácidos biliares resulta na má-digestão de lipídios causada pela ausência na formação de micelas. Isso resulta na má-absorção de vitaminas lipossolúveis e na diminuição da eficiência dietética dos ácidos graxos. A baixa solubilidade dos ácidos graxos em água ocorre devido à grande deficiência de ácido biliar. Os ácidos graxos de cadeia longa ($>C_{16}$) são poucos absorvidos (Hofmann, 2002).

Entretanto, os níveis séricos de vitamina D não apresentaram diferença significativa entre os pacientes com ausência ou presença de colestase em ambos os grupos AB e HAI, em conjunto e separadamente. Esse resultado pode estar relacionado com o fato da concentração dessa vitamina apresentar-se baixa nos pacientes sem colestase ou pela razão de que na forma de coilecalciferol a vitamina D não se encontra como a forma circulante no plasma. A determinação de vitamina D na forma de 25-dihidroxitamina D é a mais apropriada para se verificar a real situação dos níveis plasmáticos desta vitamina, uma vez que os níveis de 1,25 dihidroxivitamina D são mais indicativos da situação do cálcio, e não seriam adequados para a monitorização da vitamina D (Bastos e Silveira, 2003).

Nesse estudo, observou-se que os pacientes mais graves do grupo AB e HAI, em conjunto, apresentaram os menores níveis séricos das vitaminas A e E. Esse resultado mostra que a gravidade da doença pode se refletir na deficiência dessas vitaminas.

Para efeito de análise estatística foram agrupados os pacientes com pontuação Child B associados ao Child C quando os resultados foram analisados para cada doença. Os pacientes com AB e HAI, em conjunto, classificados em Child C e Child B apresentaram os menores níveis séricos das vitaminas A e E do que os pacientes classificados em Child A. Os pacientes com HAI com a maior gravidade da doença apresentaram os menores níveis séricos das vitaminas A e D. Os pacientes com AB não apresentaram diferença nos níveis séricos com relação à gravidade da doença, mas esse resultado pode estar relacionado com o tamanho amostral.

No estudo feito por Fisher e Fisher (2007) em pacientes com doenças hepáticas crônicas não colestáticas, os resultados mostram que nos pacientes classificados em Child C, os níveis séricos da vitamina D foram significativamente menores do que nos pacientes classificados como Child A, sendo que a prevalência da deficiência de vitamina D foi mais alta nos pacientes cirróticos do que nos não cirróticos.

Recentemente, o Ministério da Saúde implantou, por meio da Portaria Nº 1.160 de 29 de maio de 2006, um novo critério de gravidade de estado clínico do paciente cirrótico, que adota o sistema MELD (Model for End-stage Liver Disease) ou PELD (Pediatric End-Stage Liver Disease). Para calcular o MELD (adultos e adolescentes maiores de 12 anos) são necessárias as dosagens séricas de creatinina, bilirrubina total e determinação do RNI (Relação Normalizada Internacional da atividade da protrombina). Para calcular o PELD (crianças menores de 12 anos) são necessárias as dosagens de bilirrubina, valor de RNI, valor de albumina e valor do déficit de crescimento (Brasil, 2006). Entretanto, como a coleta de dados iniciou em 2004 finalizando em agosto de 2006, a classificação utilizada para relacionar a gravidade da doença foi o Child-Pugh descrito por Riley e Bhatti (2001).

Os resultados com relação à presença ou ausência de esteatorréia mostraram que não ocorreu diferença nos níveis séricos das vitaminas A, D e E nos pacientes com AB e HAI, em conjunto e separadamente para a HAI. O grupo de pacientes com AB não participou dessa análise devido ao fato do número de pacientes com ausência de esteatorréia, somente 3 pacientes, não ser suficiente para efetuar a análise estatística. Esse resultado pode ser decorrente de 2 fatores. Há necessidade de ampliar a amostra e realizar a análise estatística contemplando não somente a ausência ou a presença de colestase, mas também a intensidade em que ela ocorre. Outra possibilidade é que fatores não relacionados com a esteatorréia estejam interferindo de forma mais importante na patogênese da deficiência das vitaminas.

Em relação à suplementação das vitaminas, os resultados do presente trabalho sugerem que a suplementação com as vitaminas A, D e E pode não estar sendo adequada para os pacientes. Mesmo assim, não se recomenda a suspensão dessa suplementação vitamínica até que mais estudos sejam feitos para se chegar à dosagem correta para estes

pacientes hepatopatas. Habitualmente, no ambulatório, os pacientes que recebem a prescrição de suplementos vitamínicos são os que apresentam maior gravidade e colestase, e as fórmulas químicas das vitaminas recomendadas são dependentes dos sais biliares, podendo levar a má-absorção das vitaminas prescritas. De modo semelhante, em um estudo feito por Bastos e Silveira (2003), com crianças e adolescentes colestáticos, não houve diferença nos níveis plasmáticos de vitamina D entre os pacientes que usaram regularmente a suplementação oral e os que não utilizaram tal suplementação.

As formulações disponíveis para esses pacientes com presença de colestase necessitam dos ácidos biliares para a solubilização antes da absorção e, a maioria das preparações vitamínicas comercialmente disponíveis possui forte solubilidade em lipídios e requer os ácidos biliares para a solubilização antes da sua absorção intestinal (Dimitrov et al., 1996).

A introdução de succinato de polietilenoglicol 1000 de RRR- α -tocoferol (TPGS) fornece uma forma de vitamina E que incorpora uma molécula de polietilenoglicol 1000 solúvel, ligada ao α -tocoferol por meio de uma ligação éster terminal, criando uma estrutura anfipática. Esse composto presumidamente assume uma forma miscível capaz de atravessar a camada de água na ausência de ácidos biliares. Em baixas concentrações, as micelas formadas são capazes de atravessar as membranas celulares e depois são hidrolisadas dentro da célula, liberando o α -tocoferol. Estudos clínicos confirmam que o TPGS pode ser absorvido sob condições nas quais a secreção biliar é gravemente prejudicada e sendo a absorção intestinal de TPGS superior ao do α -tocoferol durante a colestase mais intensa (Dimitrov et al., 1996). Essa forma de vitamina E apresenta capacidade de aumentar a absorção de outras formas de vitaminas lipossolúveis, agindo como um emulsificante para dispensar as vitaminas lipossolúveis em uma solução aquosa.

Nesse estudo, os testes de correlações de indicadores bioquímicos de função e lesão hepática com os níveis séricos das vitaminas nos pacientes com AB e HAI, em conjunto, mostraram que a bilirrubina direta apresenta a mais forte correlação, sendo essa correlação inversa com a vitamina A, ou seja, quando se eleva o nível de bilirrubina direta ocorre a redução dos níveis de vitamina A. Da mesma forma, isto ocorre com as enzimas

ALT, AST, GGT e FA, apresentando boa correlação. Em relação à albumina, essa correlação é direta, ou seja, quando há redução dos níveis plasmáticos da proteína, ocorre também redução dos níveis da vitamina A. Para a vitamina D, os resultados dos níveis séricos foram inversamente correlacionados com AST e GGT. Para a vitamina E, as correlações dos níveis séricos dessa vitamina ocorreram com a maioria dos indicadores laboratoriais, sendo a correlação mais forte com a bilirrubina direta e uma correlação mais fraca com a albumina.

No grupo de pacientes com HAI, a bilirrubina direta apresentou a mais forte correlação, sendo essa correlação inversa com a vitamina A. Da mesma forma, isso ocorreu com as enzimas ALT, AST, BT e GGT apresentando uma boa correlação. Por outro lado, para a vitamina D, os níveis séricos apresentaram inversamente correlacionados apenas com a BT.

Para os pacientes com AB, os testes de correlações mostraram que nenhum dos indicadores laboratoriais analisados apresentou correlação com os níveis séricos das vitaminas A, D e E. Este fato também pode estar relacionado com o tamanho amostral.

Na literatura, há relato de um estudo realizado em pacientes com idade maior que 50 anos e portadores de cirrose biliar primária em que se verificou uma correlação inversa entre a vitamina A e os indicadores AST, bilirrubina e com o estágio da doença, enquanto que para a albumina a correlação foi direta. Em relação à vitamina D, ocorreram correlações inversas com os indicadores FA, AST, bilirrubina e o estágio da doença, enquanto que para a albumina a correlação foi direta (Kaplan et al., 1988).

6- CONCLUSÕES

Os pacientes com AB e HAI apresentaram deficiência dos níveis séricos das vitaminas A, D e E. A gravidade da doença e a presença de colestase, nestes pacientes, foram responsáveis por menores níveis séricos das vitaminas A e E no grupo de pacientes com AB e HAI. Enquanto que, a esteatorréia não apresenta influencia nos níveis séricos das vitaminas A, D e E. O indicador laboratorial que apresentou a melhor correlação foi à

bilirrubina direta com os níveis séricos das vitaminas A e E, no grupo de pacientes com AB e HAI.

A suplementação oral vitamínica que os pacientes com AB e HAI recebem no atendimento ambulatorial não foi eficiente para manter os níveis séricos adequados das vitaminas A, D e E.

Recomendamos o monitoramento dos níveis séricos das vitaminas A, D e E em pacientes com AB e HAI como forma de prevenção de deficiências e do controle de uma suplementação mais efetiva.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allagille D. Prolonged obstructive jaundice including calculous and noncalculous gallbladder conditions. In: Roy CC, Silverman A, Allagille D. Pediatric clinical gastroenterology. Fourth Edition, Mosby; 1995. p.636-665.

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. Journal Hepatology 1999; 31(5): 929-38.

Amédée-Manesme O, Furr, HC, Alvarez F, Hadchouel M, Alagille D, Olson JA. Biochemical indicators of vitamin A depletion in children with cholestasis. Hepatology 1985; 6(6): 1143-8.

Andrews W, Pau CML, Chase HP, Foley LC, Lilly J. Fat soluble vitamin deficiency in biliary atresia. Journal of Pediatric Surgery 1981; 16(3): 284-90.

Balistreri WF, Grand R, Hoofnagle JH, Suchy FJ, Ryckman FC, Perlmutter DH, Sokol RJ. Biliary atresia: current concepts and research directions. Hepatology 1996; 23: 1682-92.

Barbieri D, Koda YKI. Diarréia crônica procedimentos diagnósticos. In: Barbieri D, Koda YKI. Diarréia crônica na infância. São Paulo: Sarvier; 1989. p.41-73.

Bastos MD, Silveira TR. Níveis plasmáticos de vitamina D em crianças e adolescentes com colestase. *Jornal de Pediatria* 2003; 79(3): 245-52.

Biesalski HK, Grimm P. *Nutrição: texto e Atlas*. Porto Alegre: Artmed; 2007. p.152-175.

Brasil. Decreto-lei Nº 1.160, de maio de 2006. Modifica os critérios de distribuição de fígado de doadores cadáveres para transplante, implantando o critério de gravidade de estado clínico do paciente. Ministério da Saúde.

Center for Disease Control (CDC). Growth charts: United States. National Center for Health Statistics (NCHS) 2000; 314:1-27.

Daniel WW. *Biostatistics: a foundation for analysis in the health science*. 2 ed. New York, J Wiley; 1978. p.215-23.

Dimitrov NV, Meyer-Leece C, McMillan J, Gilliland D, Perloff M, Malone W. Plasma α -tocopherol concentrations after supplementation with water- and fat-soluble vitamin E. *American Journal of Clinical Nutrition* 1996; 64: 329-35.

Feranchak AP, Gralla J, King R, Ramirez RO, Corkill M, Narkewicz MR, Sokol RJ. Comparison of Indices of Vitamin A Status in Children With Chronic Liver Disease. *Hepatology* 2005; 42: 782-92.

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

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

Fisher L, Fisher A. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2007; 5(4): 513-20.

FrancaVilla R, Miniello VL, Brunetti L, Lionetti ME, Armenio L. Hepatitis and cholestasis in infancy: clinical and nutritional aspects. *Acta Paediatric* 2003; 441: 101S-4S.

Haber BA, Russo P. Biliary atresia. *Gastroenterology Clinical of North America* 2003; 32: 891-911.

Henkel AS, Buchman, AL. Nutritional support in patients with chronic liver disease. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology* 2006; 6(4): 202-9.

Hessel G, Sawamura R. Colestase do lactante. In: Barbieri P, Palma D. *Gastroenterologia e nutrição*. São Paulo: Atheneu; 2001. p.143-57.

Hofmann AF. Cholestatic liver disease: pathophysiology and therapeutic options. *Liver* 2002; 22(Suppl.2): 14-9.

Kaplan MM, Elta GH, Furie B, Sadowski JA, Russell R. Fat soluble vitamin nutrition in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1988; 95: 787-92.

Kelly DA, Wilson DC. Chronic liver failure. *Current Paediatrics* 2006; 16: 51-8

Limdi JK, Hyde GM. Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgraduate Medical Journal* 2007; 79: 307-12.

Makin E, Davenport M. Biliary atresia. *Current Paediatrics* 2006; 16: 59-63.

Mattos AA. Hepatite auto-imune: o que o clínico deve saber. *Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul* 2001; 45(1,2): 51-7.

McKiernan PJ. The infant with prolonged jaundice: investigation and management. *Current Paediatrics* 2001; 11: 83-9.

Montano-Loza AJ, Carpenter HA, Czaja JA. Features associated with treatment failure in type 1 autoimmune hepatitis and predictive value of the model of end-stage liver disease. *Hepatology* 2007; 46(4): 1138-45.

Moyer V, Freese DK, Whittington PF, Olson AD, Brewer F, Colletti RB, Heyman MB. Guideline for the evaluation of cholestasis jaundice in infants: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Journal Pediatric Gastroenterology Nutrition* 2004; 39: 115-28.

Novy M, Schwarz, KB. Nutrition considerations and management of the child with liver disease. *Nutrition* 1997; 13(3): 177-84.

Olson JA. Vitamin A. In: Machlin LJ. *Handbook of Vitamins*. New York: Marcel Dekker; 1991. p.1-58.

Patrício JP, Oliveira P, Faria MT, Pérez MB, Pereira J. Osteoporose Induzida por Corticóides. *Arquivos de Medicina* 2006; 20(5/6): 173-8.

Phillips JR, Angulo P, Petterson T, Lindor KD. Fat-soluble vitamin levels in patients with primary biliary cirrhosis. *American Journal of Gastroenterology* 2001; 96(9): 2745-50.

Riley TR, Bhatti AM. Preventive strategies in chronic liver disease: part II. Cirrhosis. *American Family Physician* 2001; 64(10): 1735-40.

Ringe JD, Cöster A, Meng T, Schacht E, Umbach R. Treatment of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis with Alfacalcidol/Calcium Versus Vitamin D/Calcium. *Calcified Tissue International* 1999; 65: 337-40.

Romero RG, De Carpi JM, Cuartas CB, S. Pisón P, Calderón VV. Autoimmune hepatitis in pediatric patients. *Revista Española de Enfermedades Digestivas* 2007; 99(5): 255-8.

Schreiber RA, Barker CC, Roberts EA, Martin SR, Alvarez F, Smith L, et al. Biliary atresia: the canadian experience. *Journal of Pediatrics* 2007; 151 (6):659-65.

Siegel, S. *Estatística não paramétrica*. São Paulo: Makron Books do Brasil Editora; 1975. p.67-240.

Taylor, RM, Dhawan A. Assessing nutritional status in children with chronic liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2005; 20: 1817-24.

Thakur MI, Srivastava US. Vitamin-E metabolism and its application. *Nutrition Research* 1996; 16(10): 1767-809.

Thapa BR, Walia A. Liver function tests and their interpretation. *Indian Journal of Pediatric* 2007; 74: 663-71.

Underwood, B.A. Maternal vitamin A status and its importance in infancy and early childhood. *American Journal of Clinical Nutrition* 1994; 59(Suppl1-2): 517-24.

Vajro P, Hadchouel P, Hadchouel M, Bernard O, Allagille D. Incidence of cirrhosis in children with chronic hepatitis. *Journal of Pediatrics* 1990; 117(3):417-8.

Vajro P, Hadchouel P, Hadchouel M, Bernard O, Allagille D. Incidence of cirrhosis in children with chronic hepatitis. *Journal of Pediatrics* 1990; 117(3):417-8.

Van De Kamer JH, Tem Bokkel H, Weyers HA. Rapid method for the determination of fat in feces. *Journal Biology Chemistry* 1949; 177: 347-55.

Wang LH, Huang SH Determination of vitamins A, D, E, and K in human and bovine serum, and β -carotene and vitamin A palmitate in comestic and pharmaceutical products, by isocratic. *Chromatographia* 2002; 55(5-6): 289-96.

APÊNDICES

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - I

Projeto - Níveis séricos de vitaminas lipossolúveis e suas correlações com o zinco, a esteatorréia, o estado nutricional e a composição corporal em pacientes pediátricos com doenças hepáticas crônicas

- Pesquisadores: Margareth L. G. Saron e Prof. Dr. Gabriel Hessel
- Paciente: _____ HC: _____
- Idade: _____
- Endereço: _____

Eu, _____, declaro por livre e espontânea vontade permitir a participação de _____ neste estudo. Que será feito para investigar se a quantidade de vitaminas que o paciente está tomando está adequado para a sua doença. Será necessário coletar o sangue (feitos por punção de veia periférica, total de 2 a 5 mL) necessitando para isso, vir ao hospital em jejum feito durante 8 horas. Essa investigação não acarretará gasto de dinheiro e nem riscos à minha saúde. Queremos dizer ainda que serão realizados os exames antropométricos (peso, altura e pregas da pele) não oferecendo nenhum risco a integridade física da criança.

Recebi orientação que não receberei remuneração em troca da participação, que os dados serão mantidos em sigilos 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.

De acordo,

Responsável pelo Participante: _____

Margareth Lopes Galvão Saron Tel.(19) 9712-7445: _____

Prof. Dr. Gabriel Hessel Tel.(19) 3788-7193: _____

Comitê de Ética em Pesquisa Tel. (19) 3788- 8936.

_____, _____ de _____ de 200__

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - II

Projeto - Níveis séricos de vitaminas lipossolúveis e suas correlações com o zinco, a esteatorréia, o estado nutricional e a composição corporal em pacientes pediátricos com doenças hepáticas crônicas

- Pesquisadores: Margareth L. G. Saron e Prof. Dr. Gabriel Hessel
- Paciente: _____ HC: _____
- Idade: _____
- Endereço: _____

Eu, _____, declaro por livre e espontânea vontade permitir a participação de _____ neste estudo como **grupo controle**. Esse estudo será feito para investigar os níveis no sangue das vitaminas lipossolúveis em pacientes com doenças hepáticas. Será necessário coletar o sangue (feitos por punção de veia periférica, total de 2 a 5mL) necessitando para isso, vir ao hospital em jejum feito durante 8 horas. O coleta de sangue será efetuada no dia da consulta agendada. Essa investigação não acarretará gasto de dinheiro e nem riscos à minha saúde. Queremos dizer ainda que serão realizados os exames antropométricos (peso, altura e pregas da pele) não oferecendo nenhum risco a integridade física da criança.

Recebi orientação que não receberei remuneração em troca da participação, que os dados serão mantidos em sigilos 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.

De acordo,

Responsável pelo Participante: _____

Margareth Lopes Galvão Saron Tel.(19) 9712-7445: _____

Prof. Dr. Gabriel Hessel Tel.(19) 3788-7193: _____

Comitê de Ética em Pesquisa Tel. (19) 3788- 8936.

_____, _____ de _____ de 200__

Protocolo de Avaliação

I- Identificação

Nome:

Nome do Responsável:

Data de Nascimento:

Idade:

Sexo: () F () M

Data da avaliação:

II- Histórico Clínico

Doença de base:

Critério de diagnóstico:

Biópsia nº:

III- Quadro Clínico Atual

Icterícia	() sim	() não	Duração:
Colúria	() sim	() não	Duração:
Acolia fecal	() sim	() não	Duração:
Hipocolia fecal	() sim	() não	Duração:
Prurido	() sim	() não	Duração:

IV- Uso de Micronutrientes (vitaminas)

Nome comercial:

Dose:

Duração:

V- Exames Laboratoriais

Gordura fecal:

Bilirrubina direta:

Bilirrubina indireta:

AST:

ALT:

FA:

GGT:

Perfil lipídico:

RNI:

Ca:

Pi:

Hemograma:

VI- Resultados das análises

Vitamina A:

Vitamina D:

Vitamina E:

Protocolo de Avaliação Nutricional

Identificação

Nome:

Nome do Responsável:

Data de Nascimento:

Idade:

Sexo: () F () M

Data:

AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR

Recordatório - *Habitual*

Horário	Alimento - Preparação	Quantidades

Protocolo de Avaliação Antropométrica

Identificação

Nome:

Nome do Responsável:

Data de Nascimento:

Idade:

Sexo: () F () M

Data da avaliação:

Parâmetros:

Peso(kg) =

Altura/Comprimento (cm) =

Perímetro Braquial (cm) =

Pregas Cutâneas (mm):

- Subescapular =
- Tríceps =
- Bíceps =
- Abdominal =
- Suprailíaca =

ANEXOS

**VALORES DE REFERÊNCIAS ADOTADOS PELO LABORATÓRIO DO
HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNICAMP**

AST (U/L)

6 dias a 6 meses: < 84
7 meses a 1 ano: < 89
1 a 3 anos: < 56
4 a 6 anos: < 52
7 a 12 anos: < 51
13 a 17 anos Homem: < 35
13 a 17 anos Mulheres: < 27

ALT (U/L)

6 dias a 6 meses: < 60
7 meses a 1 ano: < 57
1 a 12 anos: < 39
13 a 17 anos Homem: < 26
13 a 17 anos Mulheres: < 23

GGT (U/L)

6 dias a 6 meses: < 204
7 meses a 1 ano: < 34
1 a 3 anos: < 18
4 a 6 anos: < 23
7 a 12 anos: < 17
13 a 17 anos : Homem: < 45 Mulher: < 33

BILIRRUBINA DIRETA (mg/dl) : Até 0,30

BILIRRUBINA TOTAL (mg/dL): crianças e adultos: < 1

CÁLCIO (mg/dl)

2 meses a 1 ano: 8,4 - 10,8

1 ano a 4 anos: 8,4 - 10,4

5 a 20 anos: 9,2 – 11

21 a 50 anos: 8,8 - 10,2

>50 anos: 8,4 – 9,7

FÓSFORO (mg/dl):

4 meses a 1 ano: masc. 3 – 6,9 fem. 2,5 – 7

13 meses a 2 anos: masc. 2,5 – 6,4 fem. 3 – 6,5

2 anos a 13 anos: masc. 3 - 6 fem. 2,5 – 6

14 anos a 16 anos: masc. 3 – 4,8 fem. 3 – 5,6

17 anos a 18 anos: masc. 3 – 5,2 fem. 3 – 5,2

Adultos: 2,7 a 4,5

Colesterol Total (mg/dL) < 200

HDL (mg/dL) >= 40

LDL (mg/dL) < 100

TRIG (mg/dL) <= 150

ALBUMINA 3,20 a 5,40



**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

☒ Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas, SP

☎ (0_19) 3788-8936

FAX (0_19) 3788-8925

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

✉ cep@fcm.unicamp.br

CEP, 16/12/03.
(Grupo III)

PARECER PROJETO: Nº 542/2003

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINAS LIPOSSOLÚVEIS E SUAS CORRELAÇÕES COM O ZINCO, A ESTEATORRÉIA, O ESTADO NUTRICIONAL E A COMPOSIÇÃO CORPORAL DE PACIENTES PEDIÁTRICOS COM DOENÇAS HEPÁTICAS CRÔNICA”

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Margareth Lopes Galvão Saron

INSTITUIÇÃO: Departamento de Pediatria/FCM/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 11/11/2003

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 16/12/04

II - OBJETIVOS

Analisar os níveis séricos de vitaminas lipossolúveis e correlacionar com o zinco, a esteatorreia, o estado nutricional e a composição corporal dos pacientes com doenças hepáticas crônicas.

III - SUMÁRIO

Estudo transversal controlado. Serão incluídos 105 crianças e adolescentes com idade variando entre 3 meses a 18 anos com hepatopatia crônica e como controles serão selecionados indivíduos eutróficos (com dor abdominal recorrente ou constipação crônica) pareados por faixa etária, peso e estatura e sem hepatopatia crônica, ambos atendidos, todos atendidos no Serviço de Gastroenterologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Os participantes fazem uso de suplemento de vitaminas lipossolúveis prescritas e administrada na forma de ADEKs, AD-TIL, Ephynal e Kanakion. Será realizada coleta de 2 a 5ml em crianças até 9 anos e até 20ml de sangue para aqueles com idade entre 10 a 18 anos. Será realizada dosagem sérica de vitaminas lipossolúveis, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e outros indicadores bioquímicos. A dosagem de zinco sérico e intra-leucocitário será efetuada apenas nos pacientes com idade de 10 a 18 anos. Também serão realizados dosagem de gordura fecal, avaliação antropométrica, composição corporal e inquérito alimentar nos pacientes. A análise dos dados será apresentada como médio desvio padrão e mediana e a diferença entre os grupos serão avaliados pela análise de variância com medidas repetidas.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

A coleta de sangue 2 a 5 ml (até 20 em 10-18 anos) será realizada 15 dias após o início da administração da vitamina K. Resumo informativo, introdução, justificativa, objetivos, hipóteses, casuística e métodos, recurso e custos estimados. Cronograma, referências bibliográficas, anexos adequados e bem redigidos. O termo de consentimento é sucinto e claro e inclui todos os itens necessários para compreensão do projeto sendo específico para cada participante. A pesquisa não oferece riscos adicionais. Caso seja detectada deficiência tanto de vitaminas lipossolúveis como de zinco, e a desnutrição, os pais serão comunicados e será feito o encaminhamento ao Serviço de Gastroenterologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da UNICAMP para que as providências cabíveis. Orçamento adequado a ser encaminhado para agência de fomento. Cronograma adequado

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

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.).

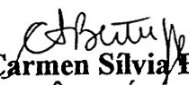
O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e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

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na XII Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 16 de dezembro de 2003.


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

