

Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Viviane Imaculada do Carmo Custodio

**Detecção da hipovitaminose A e avaliação das concentrações
plasmáticas de vitamina E e IGF-1 após dose terapêutica de
vitamina A em crianças atendidas em uma unidade de saúde**

Ribeirão Preto

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Viviane Imaculada do Carmo Custodio

Detecção da hipovitaminose A e avaliação das concentrações plasmáticas de
vitamina E e IGF-1 após dose terapêutica de vitamina A em crianças atendidas
em uma unidade de saúde

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para obtenção
do Título de Doutora em Medicina.

Área: Saúde da Criança e do
Adolescente.

Orientador: Prof. Dr. Júlio César
Daneluzzi.

Ribeirão Preto

2010

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação

CUSTODIO, Viviane Imaculada do Carmo

Detecção da hipovitaminose A e avaliação das concentrações plasmáticas de vitamina E e IGF-1 após dose terapêutica de vitamina A em crianças atendidas em uma unidade de saúde / Viviane Imaculada do Carmo Custodio. Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2010. xiii, p. 104 ; il. 30cm.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 2010.
Orientador: Daneluzzi, Júlio César.

1. Deficiência de vitamina A, 2. Retinol, 3. RDR, 4. +S30DR, 5. Tocoferol, 6. Deficiência de vitamina E, 7. Fator de crescimento insulina-símile (IGF), 8. Desnutrição.

Nome: Custodio, Viviane Imaculada do Carmo

Título: Detecção da hipovitaminose A e avaliação das concentrações plasmáticas de vitamina E e IGF-1 após dose terapêutica de vitamina A em crianças atendidas em uma unidade de saúde

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Medicina.

Aprovada em:

Banca Examinadora:

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Ao Rodrigo, meu companheiro incondicional nos estudos, no trabalho e principalmente na vida. Companhia esta que faz com que defendamos nossa tese no mesmo dia (parabéns para você). Muito obrigada pelas palavras e gestos que fazem conquistar meus objetivos e que acalmam meu coração. Muito obrigada por ser um pai tão cuidadoso, tão carinhoso e tão presente. Meu amigo e confidente preferido, por isso e por muito mais: eu amo muito você.

Dedico este trabalho aos meus filhos Plínio de 4 anos e Henrique com 1 ano, meus pequeninos, igualmente belos e admiráveis em essência, por me aprimorarem na ciência da Pediatria e na arte da Vida, por aceitarem se privar de minha companhia pelos estudos e pelo trabalho, concedendo a mim a oportunidade de me realizar ainda mais.

Aos meus queridos pais, Maria e Antonio pelo amor supremo que sempre demonstram, pela disposição em proporcionar o melhor durante a minha educação, por terem me ensinado a gostar de estudar e a lutar pelos meus objetivos, pela disposição incondicional em me ajudar, pela ajuda com os meninos, sem vocês meus projetos seriam impossíveis.

Aos meus sogros Vanderlei (*in memoriam*), Neli, aos meus cunhados Fabrício, Letícia, Ludmila, Carla, Junior, Rogério, aos meus sobrinhos, Giovana, Enzo, Laura e minha sobrinha e afilhada Isadora por compartilharem comigo essa família maravilhosa, pelos 20 anos de alegre convivência.

Agradecimentos

A Deus, por me permitir a companhia de tantas pessoas especiais e por tornar possível o que tantas vezes parece impossível;

Às famílias que aceitaram participar deste estudo;

Às crianças, constantes motivos de estímulo ao aprendizado e aperfeiçoamento profissional;

Ao Prof. Dr. Ao Prof. Dr. Julio Cesar Daneluzzi, paciente orientador, um estímulo para ver na Academia um caminho para a vida. Obrigada pela liberdade de ação que foi decisiva para que este trabalho contribuísse para o meu desenvolvimento pessoal;

Agradeço ao Prof. Dr. Ivan Savioli Ferraz pela revisão deste trabalho, pela disponibilidade e sugestões sempre amigas, obrigada por ter confiado a mim a continuidade deste estudo tão especial sobre deficiência de vitamina A;

Minha gratidão aos professores do Centro Médico Social Comunitário de Vila Lobato: Prof. Dr. Julio Cesar Daneluzzi, Prof. Dr. Ivan Savioli Ferraz, Prof. Dr. Carlos Eduardo Martinelli Junior, Prof. Dr. Rubens Garcia Ricco, Prof. Dr. Luiz Antonio del Ciampo pelos ensinamentos em pediatria e por sempre me acolherem carinhosamente;

Ao Prof. Dr. Helio Vannucchi, pelas sugestões valiosas dadas a este trabalho, pela disponibilidade de utilização dos equipamentos e dependências do laboratório de

Nutrição para as dosagens de retinol. Agradeço a todos do laboratório de Nutrição, especialmente ao Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior e Mônica Silva de Souza Meirelles pelo profissionalismo, pela prontidão, pelas sugestões e pelo enorme esmero nas dosagens de vitamina A e E deste estudo;

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Martinelli Júnior, pelas sugestões criteriosas na revisão deste trabalho, pela ajuda no fornecimento do *Kit* para as dosagem de IGF-1 realizadas neste estudo;

A todos os docentes e funcionários do laboratório de Endocrinologia, especialmente ao apoio técnico e esmero do Sr. José Roberto Silva;

À Prof. Dr. Enilza M. Espreafico, exemplo de dedicação e competência, pelos ensinamentos durante a minha iniciação científica;

Às Prof. Dras. Palmira Cupo e Sylvia Evelyn Hering pela amizade, pelo carinho, pelos exemplos imprescindíveis em minha formação como pediatra, pela oportunidade de trabalhar na toxicologia e pelos fundamentais e valiosos ensinamentos desde a graduação;

Aos amigos do Centro Médico Social Comunitário de Vila Lobato, pela gentileza, atenção, pelo auxílio prestado durante a coleta dos dados, além é claro, da grande amizade no transcorrer dos anos. Em especial, agradeço à Sônia Marta, pela competência, empenho e prontidão em momentos cruciais ao longo dos anos; à Arlete, Creusinha, Edna, Eliana, Cidinha, Lucinha, Malu, Margarida, Rosalina, Sandra,

Silvandira, Vera Bittar, Vera Daguano e Wanda pela dedicação especial dispensada a esta pesquisa e pela amizade valiosa;

Às secretárias do Departamento de Puericultura e Pediatria, Dulcides Boleta, Sandra Eugenio Oliveira e Vera Lúcia Andrade, pela ajuda desde a graduação, atenção e disponibilidade;

Aos amigos Juliana e Fábio que me acompanharam durante a residência e pós-graduação, pelos momentos de diversão, colaboração e apoio;

Aos amigos da pediatria e da toxicologia da Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas pela oportunidade de continuar aprendendo diariamente;

Aos amigos professores da Pediatria do Centro Universitário Barão de Mauá, particularmente aos Prof. Dr. Naul Motta de Souza e Prof. Dra. Lívia Carvalho Galvão: pelos ensinamentos desde a graduação, pelo acolhimento e pela oportunidade de trabalhar e continuar aprendendo convosco no Centro Universitário Barão de Mauá. Agradeço também à Prof. Dra. Rosa Ferreira, pela ajuda e disposição de sempre, principalmente pela amizade e disponibilidade nas trocas na escala;

Aos docentes e funcionários da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, especialmente ao Departamento de Puericultura e Pediatria, pela minha formação profissional;

Ao CNPq pelo apoio científico e financeiro;

Meus sinceros agradecimentos, a todos os membros da banca examinadora desta tese de doutorado; fico imensamente lisongeada pela vossa avaliação e sugestões;

Peço desculpas antecipadas se deixei de agradecer a alguém. Todas as ajudas foram importantes para concluir esta página. Se a memória me traiu, desculpem-me e sintam-se agradecidos, porque sem o apoio de todos, este projeto não poderia ter sido realizado.

*Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas ...
Que já têm a forma de nosso corpo ...
E esquecer os nossos caminhos que nos levam sempre aos mesmos
lugares
É o tempo de travessia ...
E se não ousarmos fazê-la ...
Teremos ficado para sempre ...
À margem de nós mesmos*

Fernando Pessoa

*Se as coisas são inatingíveis... ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos, se não fora
A presença distante das estrelas!*

Mário Quintana

RESUMO

Custodio, VIC. Detecção da hipovitaminose A e avaliação das concentrações plasmáticas de vitamina E e IGF-1 após dose terapêutica de vitamina A em crianças atendidas em uma unidade de saúde [tese -doutorado]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 2009. 104f.

A vitamina A (VA) é uma substância lipossolúvel obtida através da dieta, sendo fundamental para a homeostase do organismo. Sua deficiência, mesmo em situação subclínica, é um sério problema de saúde pública, também no Brasil, podendo gerar sérios distúrbios às crianças, inclusive com repercussões para a vida futura. Uma vez que diversos estudos apontam para o papel da VA como um dos reguladores do crescimento e a associação frequente da deficiência de vitamina A (DVA) e de vitamina E (VE), principalmente em países em desenvolvimento, este trabalho verificou a ocorrência de deficiência de VE (DVE) através da dosagem de α -tocoferol e de DVA através de comparação entre os métodos do retinol basal e dos testes de resposta à dose +S30DR (resposta sérica de 30 dias) e RDR (resposta relativa à dose). Além disso, foi verificada a influência da suplementação de VA com o estado de VE e IGF-1 em escolares. Para tanto, foi realizado estudo transversal, descritivo e prospectivo em 94 crianças saudáveis de 5 anos e 6 meses a 11 anos incompletos atendidas no CMSC de Vila Lobato (serviço de atendimento pediátrico primário vinculado à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo). O +S30DR consiste na coleta de sangue para dosagem das concentrações de retinol sérico antes (A_0) da suplementação com 200000 UI de palmitato de transretinil (PTR) por via oral e de uma nova coleta de sangue para a mesma dosagem 30-45 dias após (A_{30}) a suplementação. Para o cálculo do +S30DR, foi aplicada a fórmula $(A_{30}-A_0/A_{30})\times 100$; resultados individuais $\geq 20\%$ indicam baixas reservas hepáticas de VA. Para análise do retinol

sérico foram utilizados os valores pré-suplementação (A_0); resultados inferiores a $1,05\mu\text{mol/l}$ foram considerados deficientes. Como “padrão ouro” foi utilizado o teste RDR, para tanto, foi administrado $1000\mu\text{g}$ de PTR e colhido sangue no tempo zero (A_0) e cinco horas após essa dose (A_5) e aplicada a fórmula $(A_5 - A_0 / A_5) \times 100$. Resultados positivos ($\geq 20\%$) são indicativos de DVA subclínica. A análise laboratorial do retinol sérico e do α -tocoferol foi realizada através de HPLC, o IGF-1 foi mensurado através de ensaio imunorradiométrico. $5,3\%$ ($5/94$) e $24,5\%$ ($23/94$) das crianças apresentaram valores basais de retinol sérico respectivamente $<0,70\mu\text{mol/l}$ e $<1,05\mu\text{mol/l}$; testes RDR e +S30DR positivos foram observados em $20,2\%$ ($19/94$) e $28,2\%$ ($27/94$) dos sujeitos, respectivamente. Em relação ao RDR, o +S30DR apontou sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo de $84,2\%$ (IC 95%: $76,8\%$ - $91,6\%$), $85,3\%$ (IC 95%: $78,1\%$ - $92,5\%$), $59,3\%$ e $95,5\%$, respectivamente. Os dados de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo quando retinol sérico $<1,05\mu\text{mol/l}$ foram respectivamente de $63,2\%$ (IC 95%: $38,4\%$ - $83,7\%$), $85,3\%$ (IC 95%: $75,3\%$ - $92,5\%$), $52,2$ e $90,1\%$, respectivamente. Sendo assim, o +S30DR mostrou-se superior para a detecção de DVA em relação ao retinol sérico, com a vantagem de ser também terapêutico. DVE foi encontrada em $7,5\%$ ($7/94$) das crianças. Houve incremento nos valores de IGF-1 e VE após a suplementação de VA nas crianças com DVA, não tendo havido alteração nas concentrações de IGF-1 e VE nas crianças sem DVA. Em relação ao IGF-1, tais resultados sugerem um possível papel da VA na regulação do crescimento. Em relação ao incremento dos resultados de VE nas crianças com DVA, pode-se supor que pelo menos parte do efeito anti-oxidante da VE deve ser mediado pela VA.

Palavras-chave: Deficiência de vitamina A. Crianças. RDR. +S30DR. Vitamina E. Sistema IGF

Custodio, VIC. Detecção de hipovitaminose A e avaliação de concentrações de vitamina E e IGF-1 após uma dose terapêutica de vitamina A em crianças atendidas em uma unidade de saúde [tese]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 2009. 104p.

Vitamina A (VA) é uma substância lipossolúvel obtida da dieta que é fundamental para a homeostase do organismo. Sua deficiência, mesmo em uma situação subclínica, é um sério problema de saúde pública também no Brasil, podendo gerar sérios distúrbios em crianças com repercussões na vida futura. Como vários estudos já apontaram o papel da VA como um dos reguladores do crescimento e a frequente associação da deficiência de vitamina A (VAD) e da deficiência de vitamina E (VED) especialmente em países em desenvolvimento, o objetivo do presente estudo foi determinar a ocorrência de VED pela medição de α -tocoferol e a ocorrência de VAD comparando o método de retinol basal com o teste de resposta à dose de 30 dias (+S30DR) e a resposta relativa (RDR). Além disso, a influência da suplementação de VA sobre o status de VE e IGF-1 foi determinada em crianças escolares. Para isso, um estudo descritivo e prospectivo de corte transversal foi realizado com 94 crianças saudáveis com idade entre 5 anos e 6 meses e 11 anos incompletos, atendidas no CMSC de Vila Lobato (serviço de pediatria primária vinculado à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo). O teste +S30DR consiste na coleta de sangue para a determinação da concentração de retinol no soro antes (A_0) da suplementação oral com 200.000 IU de palmitato de retinil trans (TRP), seguida de outra coleta de sangue para a mesma determinação 30-45 dias após a suplementação (A_{30}). O +S30DR é calculado aplicando-se a fórmula $(A_{30} - A_0 / A_{30}) \times 100$; resultados individuais $\geq 20\%$ indicam reservas hepáticas baixas de VA. Os valores de retinol no soro antes da suplementação (A_0) foram utilizados para a análise, com valores inferiores a $1,05 \mu\text{mol/l}$ sendo considerados deficientes. O teste RDR foi utilizado como o “gold

standard". The test consists of the administration of 1000 µg TRP, with blood collection at time zero (A_0) and five hours after this dose (A_5), with the application of the formula $(A_5 - A_0 / A_5) \times 100$. Positive results \geq (20%) are indicative of subclinical VAD. Laboratory analysis of serum retinol and α -tocopherol was performed by HPLC. IGF-I was measured by an immunoradiometric assay. 5.3% (5/94) and 24.5% (23/94) of the children presented basal serum retinol values \leq 0.70 µmol/l and \leq 1.05 µmol/l, respectively; positive RDR and +S30DR tests were observed in 20.2% (19/94) and 28.2% (27/94) of the subjects, respectively. Regarding RDR, the +S30DR test showed sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of 84.2% (95% CI: 76.8%-91.6%), 85.3% (95% CI: 78.1%-92.5%), 59.3% and 95.5%, respectively. Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value in the presence of serum retinol $<$ 1.05 µmol/l were 63.2% (95% CI: 38.4% - 83.7%), 85.3% (95% CI: 75.3% - 92.5%), 52.2 and 90.1%, respectively. On this basis, the +S30DR test proved to be superior for the detection of VAD than serum retinol, with the advantage of also being therapeutic. VED was detected in 7.5% (7/94) of the children. There was an increase in IGF-I and VE values after VA supplementation in children with VAD, with no changes in IGF-I or VE values in children without VAD. Regarding IGF-I, these results suggest a possible role of VA in growth regulation. Regarding the increase in VE in children with VAD, we may assume that at least part of the antioxidant effect of vitamin E must be mediated by VA.

Key-words: Vitamin A deficiency, Children, RDR, +S30DR, IGF System, Vitamin E

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	15
1.1- ASPECTOS GERAIS DA VITAMINA A.....	16
1.2- IMPORTÂNCIA DA VITAMINA A.....	18
1.3- ETIOLOGIA E FATORES DE RISCO AO DESENVOLVIMENTO DA DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A (DVA).....	19
1.4- DEFICIÊNCIA SUBCLÍNICA DE VITAMINA A.....	19
1.5- DVA – DIAGNÓSTICO.....	20
1.5.1- O método RDR.....	22
1.5.2- O método +S30DR.....	22
1.5.3- Outros métodos.....	23
1.6- EPIDEMIOLOGIA DA DVA.....	24
1.7- VITAMINA A E CRESCIMENTO.....	25
18- VITAMINA E.....	29
1.8.1- Deficiência de Vitamina E (DVE).....	30
1.8.2- Deficiência das Vitaminas A e E e o estresse oxidativo.....	31
1.8.3- Objetivos.....	34
2- CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	35
2.1- POPULAÇÃO ESTUDADA.....	36
2.1.1- Programa médico de atenção primária à saúde da criança e do adolescente no CMSC.....	36
2.2- RECRUTAMENTO DOS INDIVÍDUOS.....	37
2.3- COLETA DO MATERIAL.....	38
2.4- PROCESSAMENTO PRÉ-LABORATORIAL DAS AMOSTRAS.....	39
2.5- LABORATÓRIO DE NUTROLOGIA.....	40

2.5.1- Sistema cromatográfico.....	41
2.6- LABORATÓRIO DE ENDOCRINOLOGIA.....	42
2.7- ANTROPOMETRIA.....	43
2.8- ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	44
3- RESULTADOS.....	45
3.1- DVA.....	46
3.2- DVE.....	53
3.3-IGF-1.....	59
4- DISCUSSÃO.....	66
5- CONCLUSÕES.....	79
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
7- Anexo A- Aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.....	95
8- Apêndice A- Modelo do termo de consentimento livre e esclarecido utilizado no trabalho.....	96
9- Apêndice B- Trabalho publicado pela autora durante a realização do doutorado.....	99

1- Introdução

1- INTRODUÇÃO

1.1- ASPECTOS GERAIS DA VITAMINA A

As vitaminas são substâncias orgânicas essenciais para o metabolismo em grande número de seres vivos, contudo alguns desses organismos são incapazes de sintetizá-las, necessitando obtê-las de fontes externas. O seu armazenamento pode se dar em algum grau por todas as células (Lehninger, 1990).

A vitamina A e seus derivados pertencem à classe dos retinoides, que inclui componentes naturais ou sintéticos, com ou sem atividade biológica (Dolinsky; Ramalho, 2003). As formas naturais podem ser divididas em pré-formadas ou em provitaminas (Ross, 2002).

As vitaminas pré-formadas existem na forma de álcool (retinol), aldeído (retinal), ou ácido (ácido retinoico). São de origem animal e podem ser encontradas em alimentos como ovos, leite integral, fígado e óleos de fígado de peixes (Mclaren; Frigg, 2001).

Dentre os carotenoides encontrados na natureza, somente uma pequena parte possui atividade de vitamina A e geralmente estão presentes nos vegetais amarelos ou vermelhos. Estes são as provitaminas que serão convertidas enzimaticamente em vitamina A pela maioria dos animais (Bellovino et al., 2003).

O acetato de transretinil e o palmitato de transretinil são as formas sintéticas da vitamina A mais utilizadas no tratamento e na prevenção da hipovitaminose A. Tais ésteres têm alta estabilidade, são pouco oxidados, podem ser associados aos alimentos e resistem ao calor do cozimento (Olson, 1991).

O termo vitamina A, ao ser empregado neste trabalho, estará se referindo às substâncias com propriedades biológicas (Souza; Vilas Boas, 2002).

Sob condições normais, a maior parte da vitamina A é depositada no fígado, nas células estreladas ou nos hepatócitos, sob a forma de gotículas de gordura (Bellovino et al., 2003). Para a mobilização desses estoques e sua liberação para outros tecidos, o retinol é hidrolisado e transportado por uma proteína específica: a RBP (*retinol binding protein*) (Lehninger, 1990).

No fígado e tecidos-alvo, as interações entre depósito e liberação de vitamina A não são totalmente elucidadas (McLaren; Frigg, 2001; Ferraz et al., 2004). O maior problema está relacionado principalmente à dificuldade em se encontrar modelos adequados: pouco se tem progredido tanto nos estudos *in vitro* através de culturas celulares, bem como nos modelos animais alimentados com dietas carentes em vitamina A (Bellovino et al., 2003).

Sabe-se que algumas hidrolases de ésteres de retinil têm sua atividade intensificada na falta de vitamina A. Sendo assim, a vitamina A é reciclada, razão pela qual a sua utilização por tecidos específicos pode parcialmente se adaptar à possível diminuição de oferta. Tais adaptações e reciclagem servem para manter relativamente constantes os níveis sanguíneos, até as reservas orgânicas se esvaírem a um ponto em que a adaptação já não possa ser compensada (Blomhoff et al., 1991).

A liberação de RBP pelo fígado se torna menor quando o organismo passa por estresse inflamatório, como o causado pela febre ou diarreia (Thurnham et al., 2003).

A secreção da RBP também é regulada pelo retinol. Verificou-se que, em ratos alimentados com dietas carentes em vitamina A, a liberação de RBP é inibida, ficando acumulada no retículo endoplasmático e, após a administração de vitamina A a esses mesmos ratos, ocorre aumento da atividade das enzimas que esterificam o retinol, além de liberação hepática maciça de um complexo contendo RBP e retinol¹ (Bellovino et al., 2003).

A RBP é sintetizada em sua grande parte no fígado e, por ser uma molécula de pequeno peso molecular, circula no plasma ligada a uma outra proteína, a transtiretina, o que impede a sua perda pelo rim em situações fisiológicas (Bellovino et al., 2003).

Ao chegar aos tecidos, há um receptor celular na membrana que se liga preferencialmente ao complexo transtiretina-RBP-retinol, mas que também pode permitir a entrada de ácido retinoico para o meio intracelular. A transtiretina é liberada, a vitamina A entra no citosol e a RBP é degradada ou secretada de forma modificada (Olson, 1991).

No citosol, o retinol liga-se à CRBP (*cellular retinol-binding protein*), que protege o retinol da oxidação e funciona como carregador ao sítio de ação nuclear, onde o retinol é liberado e transformado em ácido retinoico que é a forma metabolicamente ativa da vitamina em todas as células-alvo, exceto na retina, cuja forma ativa é o 11-cis-retinal. O ácido retinoico pode se ligar à CRABP (*cellular retinoic acid-binding protein*), que será posteriormente liberada. Finalmente, após se ligarem ao ácido retinoico, os receptores nucleares conhecidos por RARs ou RXRs (respectivamente, receptores do ácido retinoico e receptores X retinoicos) irão promover a ativação ou repressão de numerosos genes (Bedo et al., 1989; Bellovino et al., 2003).

1.2- IMPORTÂNCIA DA VITAMINA A

A vitamina A é um nutriente essencial requerido em pequenas quantidades em importantes processos biológicos. Seu papel na visão é um dos mais conhecidos, entretanto, também participa na regulação da proliferação e diferenciação celulares, na reprodução, no

¹ Este fenômeno ainda não totalmente esclarecido é a base dos testes de resposta à dose que serão detalhados posteriormente (MCLAREN; FRIGG, 2001). desenvolvimento fetal, na função imune e em muitos outros processos metabólicos (Mclaren; Frigg, 2001; Zile, 2001).

1.3- ETIOLOGIA E FATORES DE RISCO AO DESENVOLVIMENTO DA DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A (DVA)

Em termos de micronutrientes, a hipovitaminose A é considerada a segunda deficiência nutricional do mundo. Considera-se que hábitos alimentares incorretos levem a exclusão ou ao baixo consumo de alimentos ricos em vitamina A, tornando-se o principal fator etiológico da carência desta vitamina (Dolinsky; Ramalho, 2003).

Os vegetais têm, de maneira geral, custo inferior e se apresentam como componente principal da dieta em muitas regiões do globo. No entanto, a provitamina A dessas fontes possui menor bioeficácia do que a vitamina A pré-formada encontrada nos alimentos de origem animal (Bellovino et al., 2003), sendo necessário o consumo de grandes quantidades de alimentos de origem vegetal, o que muitas vezes torna-se inviável, levando a ingestão diária dessa vitamina abaixo do recomendado (Dolinsky; Ramalho, 2003).

De acordo com West et al., (2002), crianças na idade escolar, devem ingerir diariamente aproximadamente 400 RE ao dia (RE = equivalente de retinol = 1 µg de retinol = 2 µg de β-caroteno em óleos = 12 µg de β-caroteno em mistura de alimentos = 24 µg de outros carotenoides em mistura de alimentos).

1.4- DEFICIÊNCIA SUBCLÍNICA DE VITAMINA A

O impacto da carência de vitamina A em outras funções metabólicas, além da visão foi, durante muito tempo, quase totalmente ignorado. Somente era considerada consequência da DVA, as lesões oculares diagnosticadas através de exame clínico, um indicador que, embora exato, é tardio, representando apenas a ponta do *iceberg*, sob o qual podem ser encontrados indivíduos com carência marginal (subclínica) cinco a dez vezes

superior do que entre aqueles que apresentam manifestações visíveis da deficiência (Dolinsky; Ramalho, 2003).

A deficiência subclínica de vitamina A tem início muito antes do aparecimento de sinais clínicos, podendo gerar diminuição da mobilização de ferro, distúrbios de diferenciação celular, alterações na resposta imune, aumento de morbimortalidade por causas infecciosas ou retardo de crescimento (Mclaren; Frigg, 2001; Sommer; Davidson, 2002; Underwood, 2004).

1.5- DVA – DIAGNÓSTICO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu a DVA como sendo a concentração tissular da vitamina A diminuída o suficiente para causar adversas consequências à saúde, mesmo que não haja evidência de deficiência clínica sendo, portanto, o estado de inadequada nutrição em relação a essa vitamina (World Health Organization, 1996).

Os sinais e sintomas clínicos de DVA detectados através de avaliações oftalmológicas ainda são importantes ferramentas para o diagnóstico em áreas onde a presença de DVA é grande e severa, entretanto subestimam a presença de DVA subclínica. Para tanto, têm sido desenvolvidos e utilizados outros métodos, tais como os bioquímicos, dentre eles, a dosagem do retinol sérico, com o objetivo de quantificar a vitamina A no organismo (Tanumiharjo, 2004).

O nível de depleção de vitamina A em que as funções fisiológicas começam a ser prejudicadas não é preciso. Entretanto, os valores mais aceitos seriam quando as concentrações séricas do retinol estivessem abaixo de $0,7 \mu\text{mol/l}$ (Sommer; Davidson, 2002), embora populações consideradas com concentrações adequadas dessa vitamina apresentem,

na maior parte dos indivíduos, resultados superiores ou iguais a 1,05 $\mu\text{mol/l}$ (World Health Organization, 1996; McLaren; Frigg, 2001).

A OMS considera como problema de saúde público leve, moderado e grave quando a prevalência de concentrações plasmáticas em jejum inferiores a $<0,7\mu\text{mol/l}$ atinja de 2 a 10%, de 11 a 19% ou acima de 20% da população, respectivamente (World Health Organization, 1996).

Alguns pesquisadores, entretanto, têm chamado atenção para as limitações do uso isolado do retinol sérico (Ferraz et al., 2004; Tanumihardjo, 2004), tais como:

- As concentrações séricas do retinol são homeostaticamente controladas e não começam a declinar até que as reservas hepáticas estejam muito baixas;
- As concentrações séricas do retinol podem se alterar em situações de estresse inflamatório, anemia ou desnutrição proteico-energética severa.

Durante as duas últimas décadas, têm sido desenvolvidos métodos visando melhor aferir, mesmo que indiretamente, as reservas hepáticas de vitamina A, como o método RDR (resposta relativa à dose) e o +S30DR (resposta sérica de 30 dias). Estes testes de resposta à dose têm sido aceitos como bons indicadores funcionais do estado de vitamina A hepático. Estes métodos, contudo, não permitem estimar quantitativamente as reservas hepáticas de vitamina A sendo, portanto, considerados métodos indiretos (Underwood, 1990), possibilitando apenas detectar a presença ou a ausência de estoques de vitamina A (Fujita et al., 2009).

Tais testes têm como fundamento o fato de que a vitamina A não participa da síntese da RBP, porém regula a sua liberação pelo fígado. Dessa maneira, nos indivíduos com baixas reservas hepáticas de vitamina A, a RBP se acumula no fígado e, mediante o estímulo com uma dose de provocação de vitamina A (por exemplo, o palmitato de transretinil), o

retinol hepático ligar-se-á ao excesso de RBP, sendo esse complexo liberado para a circulação sanguínea, onde será mensurado.

Testes de resposta à dose superiores ou iguais a 20% são aceitos por representar estoques hepáticos de vitamina A inadequados, refletindo indiretamente, as baixas reservas hepáticas de vitamina A (inferiores a 0.7 $\mu\text{mol/g}$ de fígado) (World Health Organization, 1996), mesmo antes que os valores de retinol declinem. São considerados, portanto, métodos adequados para a avaliação subclínica da DVA (Loerch et al., 1979; McLaren; Frigg, 2001; Fujita et al, 2009).

1.5.1- O método RDR

Este teste consiste em administrar uma pequena dose oral de um éster de retinil (por exemplo, palmitato de transretinil entre 450 e 1000 μg) e colher sangue no tempo zero (A_0) e cinco horas após essa dose (A_5), calculando-se então o percentual de aumento, conforme pode ser visto na fórmula a seguir. Caso o resultado dessa equação seja igual ou superior a 20%, estará sugerindo baixas reservas hepáticas de vitamina A e, portanto o teste é considerado positivo (Loerch et al., 1979).

$$\text{RDR} = \frac{A_5 - A_0}{A_0} \times 100$$

1.5.2- O método +S30DR

Este método consiste na coleta de uma amostra de sangue antes da suplementação (A_0) e outra coleta após 30 a 45 dias (A_{30}) da administração de 200000 UI de

palmitato de transretinil, calculando-se então o percentual de aumento, conforme pode ser visto na fórmula a seguir:

$$+S30DR = \frac{A_{30} - A_0}{A_0} \times 100$$

Resultados dessa equação iguais ou superiores a 20% sugerem baixas reservas hepáticas de vitamina A e, portanto o teste é considerado positivo (Flores et al., 1984; Underwood, 1990; Ferraz et al., 2004).

Esta dose de vitamina A é utilizada de acordo com a recomendação da OMS (World Health Organization, 1996), para prevenção de DVA em crianças de risco durante aproximadamente 4 - 6 meses (Assis; Barreto, 2002).

A OMS recomenda considerar a DVA como problema de saúde pública leve caso 2 a 20% da população apresente testes de resposta à dose positivos; moderado, caso estes valores se situem entre 20 e 30% e grave, se superarem 30% da população (World Health Organization, 1996).

1.5.3- Outros métodos

Outro teste de reposta à dose que pode ser utilizado é o MRDR (*modified relative dose response*). Além deste, podem ser citados outros métodos que procuram determinar o estado de vitamina A: determinações do retinol em manchas secas de sangue, determinação do retinol no leite materno, citologia de impressão conjuntival, concentrações da RBP e relação RBP:transtiretina, teste de hidrólise do retinoil β-glucoronídeo, técnicas com diluição com o isótopo deutério, dentre outros (McIaren; Frigg, 2001; Tanumiharjo, 2004).

Underwood (1990) propôs que duas amostras do soro colhidas de um mesmo

indivíduo antes e após a administração de vitamina A são superiores na identificação do estado de vitamina A de um organismo em relação a uma medida isolada de retinol sérico. Naquele trabalho ainda sugeriu que para o diagnóstico da DVA se tornar mais preciso deveria ser utilizada a combinação de mais de um método funcional, quer seja em âmbito individual como populacional.

1.6- EPIDEMIOLOGIA DA DVA

A DVA existe como um problema de saúde pública em pré-escolares de 118 países do mundo. Estima-se que apresentem DVA baseados em concentrações séricas de retinol abaixo de $0,7\mu\text{mol/l}$ e/ou anormalidades na diferenciação epitelial conjuntival aproximadamente 127 milhões de crianças com idades inferiores a cinco anos e, dessas, cerca de 4,4 milhões tenham xeroftalmia (West, 2002).

Nos últimos trinta anos, vários estudos buscaram avaliar a prevalência da hipovitaminose A no mundo. A imensa maioria dos relatos desta deficiência ocorre em grande parte dos países em desenvolvimento, principalmente em crianças e de maneira subclínica. A DVA já foi documentada nos continentes africano (Etiópia, África do Sul, Zaire, República dos Camarões, Nigéria e Zimbábue), asiático (Filipinas, Nepal, Indonésia, Bangladesh, Tailândia, Iêmen, Turquia e Índia), na Oceania e nas Américas (Panamá, Equador, Venezuela e Brasil) (Ramalho et al., 2002; West, 2002; Ferraz et al., 2004; Ramalho et al., 2002; Demissie et al., 2009).

No Brasil, relatos de DVA e suas consequências têm sido realizados principalmente na região nordeste (Santos et al., 1983; Dolinsky; Ramalho, 2003; Martins et al., 2004; Paiva et al., 2006). A DVA também é verificada na região sudeste e no estado de São Paulo (Gonçalves-Carvalho et al., 1995; Ferraz et al., 2004).

Na zona urbana da cidade de Ribeirão Preto, no Centro Médico Social e Comunitário (CMSC) de Vila Lobato, vinculado à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), Ferraz et al. (2000, 2004) verificaram que 25% dos lactentes e 75% dos pré-escolares aparentemente saudáveis atendidos neste serviço apresentavam algum grau de DVA.

Custodio et al. (2009), observaram neste mesmo serviço, que 20,4% dos escolares aparentemente saudáveis atendidos entre 2003 e 2004, apresentavam DVA de acordo com o teste RDR.

1.7- VITAMINA A E CRESCIMENTO

Estudos em animais têm apontado que cobaias alimentadas com dietas deficientes de vitamina A apresentam redução significativa do peso corporal (Akazawa et al., 1989) em relação aos controles alimentados com dietas ricas em vitamina A. Uma vez que a DVA pode levar à queratinização das papilas gustativas, as quais também podem diminuir a ingestão alimentar, até o momento não se pôde determinar se o emagrecimento é principalmente devido ao retardo do crescimento ou secundário à diminuição da ingestão alimentar (Lefebvre et al., 2005).

Tem sido questionado o papel desempenhado pela vitamina A nos quadros de desnutrição e a regulação do IGF-1 através do estado nutricional, aventando-se a possibilidade que a vitamina A possa ter alguma relação com o crescimento somático (Mendez, 1985). São os hormônios, particularmente os componentes do eixo GH - sistema IGF (hormônio de crescimento – sistema de fatores de crescimento insulina-símile ou *insulin-like growth factors*), entretanto, os fatores principais que influenciam o crescimento (Martinelli Jr et al., 2008).

O isolamento do GH ocorreu em 1956 (Li; Papikoff, 1956). Salmon; Daughaday (1957) demonstraram que as ações do GH sobre o crescimento eram mediadas por um fator que passou a ser denominado como *sulfatation factor activity*, posteriormente somatomedina C e atualmente IGF-1 (Martinelli Jr et al., 2008).

O GH estimula o crescimento longitudinal tanto diretamente quanto através da mediação pelo IGF-1. O IGF-1 é um fator de crescimento endógeno produzido em vários tecidos, sua secreção ocorre à medida que é produzido não existindo, portanto, um órgão específico para seu armazenamento (Martinelli Jr et al., 2008).

A produção do IGF-1 é modulada principalmente pelo GH e por fatores nutricionais (Thissen et al., 1994). O sistema IGF desempenha papel fundamental na homeostase, seja na regulação do metabolismo, bem como no controle do crescimento (Jones; Clemmons, 1995).

A família dos IGFs é composta por 2 fatores de crescimento peptídicos: o IGF-1 e o IGF-2. Os IGFs atuam mediante interação com dois receptores diferentes chamados de IGF1R e IGF2R. A regulação das ações promovidas pelos IGFs é influenciada pela presença das proteínas transportadoras de IGFs ou IGFbps (IGF binding proteins). Até o momento, foram bem caracterizadas 6 proteínas de mamíferos dessa família, chamadas de IGFBP-1, -2, -3, -4, -5 e -6 (Martinelli Jr et al., 2008).

Sabe-se que para que o crescimento seja adequado, tanto o IGF circulante, de origem principalmente hepática, quanto os IGF produzidos nos tecidos são fundamentais. Este conceito reforça a importância das ações endócrinas, parácrinas e autócrinas dos IGFs (Martinelli Jr et al., 2008).

A ação das vitaminas na modulação da secreção ou ação do GH ainda não está completamente esclarecida. Estudos feitos em hipófises de cobaias apontam que ocorre

diminuição das células produtoras de GH naqueles animais alimentados com dietas carentes em vitamina A (Akazawa et al., 1989).

Acredita-se que a vitamina A possa influenciar o crescimento longitudinal mediante estímulo à secreção de GH e conseqüentemente de IGF-1. Acredita-se que a vitamina A possa também influenciar a diferenciação das células da hipófise em células produtoras de GH (Bedo et al., 1989).

A hipótese que a vitamina A desempenhe papel importante na regulação da secreção ou dos efeitos do GH é baseada em diversas observações (Bedo et al., 1989): crianças com baixa estatura apresentando disfunção neuro-secretora de GH (redução da secreção espontânea noturna de GH) habitualmente ingerem quantidades inferiores de vitamina A do que crianças com estatura normal, levando a correlação entre a secreção noturna de GH e os valores de vitamina A plasmática em crianças com e sem baixa estatura (Raifen et al., 1996), sendo que a suplementação de vitamina A aumenta a secreção noturna de GH na maioria das crianças com disfunção neuro-secretora de GH (Evain-Brion et al., 1994).

Estudos *in vitro* têm demonstrado que a vitamina A é capaz de provocar a diferenciação das células da hipófise em células produtoras de GH (Mogi et al., 2005), além de aumentar a expressão gênica e a secreção de GH em células de linhagem tumoral (Bedo et al., 1989; Morita et al., 1989; Nogami et al., 2006).

Existem evidências de que a expressão do sistema IGF em diversos tecidos está associada tanto a fatores hormonais, bem como nutricionais (Jones; Clemmons, 1995).

Um dos mecanismos intracelulares de ação da IGF-1 ocorre quando o IGF-1 se liga ao IGF1R ativando uma lipídio quinase do subgrupo 1 α : a fosfoinositídeo 3 quinase (PI3) (Outdit et al., 2004). Uma vez ativada, esta lipídio quinase recruta a proteína quinase Akt também conhecida por PKB que age ativando a proteína-quinase m-TOR, promovendo

aumento da síntese protéica (Cantley, 2002). Trabalho recente aponta que o retinol é capaz de ativar diretamente a PI3 quinase através de ligação ao IGF1R e conseqüentemente ativar o complexo Akt/PKB-mTORC indicando possivelmente que a vitamina A apresenta uma função de fator de crescimento símile no organismo (Chen; Khillan, 2009).

Yang et al. (2001) verificaram que ocorre aumento significativo da síntese de ácido ribonucleico (RNA) mensageiro de IGF-1 em linfócitos incubados com concentrações fisiológicas de vitamina A.

Tem-se verificado também que a vitamina A também está relacionada a vários componentes do sistema IGF. Este sistema atua como importante regulador em grande número de processos biológicos (Mendez, 1985).

Já foi verificado que a vitamina A estimula a expressão de IGFBP-4, em culturas celulares de hepatócitos de camundongos e em células de Sertoli de leitões, através do aumento do RNA mensageiro de IGFBP-4 após algumas horas de incubação (Bardi et al., 1999; Demori et al., 2004). Na linhagem de células de adenocarcinoma de mama com receptores estrogênicos MCF-7, o IGF1R está intimamente envolvido com a sua proliferação e crescimento (Dupont; Le Roith, 2001), sendo que um dos fatores que promove a ativação deste receptor neste tipo celular é o ácido all-trans retinoico, derivado da vitamina A (Kogai et al., 2008).

Crianças desnutridas crônicas costumam apresentar deficiência de crescimento (Teixeira; Heller, 2004). Há evidências em humanos de que a DVA possa de alguma forma prejudicar o crescimento (Cortez et al., 2009).

Estudos em adolescentes com baixa estatura constitucional e atraso puberal demonstram haver redução dos valores de vitamina A em relação aos seus controles (Buyukgebiz et al., 1997) e a suplementação de vitamina A e ferro a esse grupo de pacientes

levou a indução de crescimento e puberdade em níveis semelhantes à terapia hormonal com oxandrolona ou testosterona (Zadik et al., 2004).

Considerando-se que a vitamina A é um dos reguladores do crescimento normal (Raifen et al., 1996; Chen; Khillan, 2009) e sua deficiência é altamente endêmica em países em desenvolvimento e devido às evidências que o aumento da expressão de IGF pode ser uma importante via para a vitamina A promover um pouco de sua ação, são necessários mais estudos a fim de verificar o efeito da suplementação de vitamina A nos níveis séricos de IGF-1 em crianças.

1.8- VITAMINA E

Como a vitamina A, a vitamina E também pertence à classe das vitaminas lipossolúveis, tendo sido isolada pela primeira vez em 1936 (Evans et al., 1936).

A vitamina E (tocoferol) é um termo genérico para designar diversos compostos. Alfa-tocoferol é a principal forma de vitamina E e representa mais de 90% do total de tocoferóis presentes no plasma.

Sua ação no estresse oxidativo vem sendo amplamente estudada, tendo sido verificada pela primeira vez em 1927 (Sabat et al., 2008). Contudo está envolvida também em muitos outros processos metabólicos (Traber et al., 2008).

Shute et al. (1946) descreveram pela primeira vez as propriedades terapêuticas da vitamina E contra doenças cardiovasculares. Binder et al. (1967) verificaram certa relação entre disfunção neurológica e deficiência de vitamina E em pacientes com esteatorreia crônica. Brown e Crowley (2005) através de estudos em culturas celulares puderam verificar seu papel na prevenção de aterosclerose, câncer e doenças neurodegenerativas. Todos estes

trabalhos fortaleciam a ideia da suplementação medicamentosa de vitamina E com o intuito de prevenir certas doenças.

Contudo, Bjelakovic et al. (2007), através de metanálise onde foram avaliados cerca 130 mil participantes, verificou discreto aumento da mortalidade com suplementação de altas doses de vitamina E: 1330mg/dia. (Limite superior recomendado para adultos: 1000mg/dia) (Food and Nutrition Board, 2000).

Em recente revisão de Traber et al. (2008), o papel da vitamina E no organismo foi relacionado à imunomodulação, além de possuir efeito antiplaquetário, podendo prevenir certas doenças crônicas e levar a maior sobrevida em indivíduos que fazem uso de dietas ricas em vitamina E. Uma vez que a maior parte dos indivíduos mesmo em países industrializados não consomem quantidades adequadas dessa vitamina (15mg/dia), esse trabalho recomenda o consumo de alimentos ricos em vitamina E, principalmente em populações deficientes.

As principais fontes de vitamina E são os óleos vegetais (por exemplo, amendoim, soja, palma, milho, girassol), grãos integrais, nozes, sementes, germe de trigo e vegetais de folhas verde-escuras (Food and Nutrition Board, 2000). A maior parte dos indivíduos mesmo em países industrializados não consomem quantidades adequadas dessa vitamina, levando à deficiência de vitamina E que geralmente é assintomática (Schwenke, 2008).

Em escolares, considera-se adequado o consumo de 6mg de α -tocoferol por dia (Food and Nutrition Board, 2000). O cálculo da necessidade média diária de vitamina E é baseado nos resultados do teste de hemólise induzida pelo peróxido de hidrogênio considerado positivo quando superior a 12% (Farrell et al., 1978).

1.8.1- Deficiência de Vitamina E (DVE)

A DVE é definida em crianças como a concentração de tocoferol total ou de alfa-tocoferol inferior a 7 $\mu\text{mol/l}$ (Farrell et al., 1978).

A deficiência severa desta vitamina é rara e pode ocorrer em pessoas com distúrbios hepáticos ou intestinais que impedem a absorção dessa vitamina, por exemplo, abetalipoproteinemia, fibrose cística, colestase crônica, síndrome do intestino curto e outras síndromes de malabsorção de gorduras que podem levar a vários estágios de deficiências neurológicas, piora da absorção de lipídios e se apresenta como uma síndrome neurológica progressiva que inclui ataxia cerebelar e alterações medulares (Feki et al., 2001; Rino et al., 2007).

A ingestão de vitamina E abaixo de 15mg/dia em adultos e 6mg/dia em crianças pode levar à DVE que geralmente é subclínica (Farrel, 1978; Ernst 2009).

A deficiência que cursa com valores subótimos de vitamina E é um fator de risco para doenças degenerativas, tais como câncer e doenças cardiovasculares (Diaz et al., 1997; Boaz et al., 2000; Wright et al., 2006; Schwenke, 2008). Estudos mais recentes têm apontado também para a associação da deficiência desta vitamina com comportamentos de ansiedade (Okura et al., 2009).

Existem poucos estudos realizados em crianças escolares de países em desenvolvimento visando avaliar a prevalência de DVE nessa faixa etária. Além disso, a maior parte destes trabalhos considera como DVE aquelas crianças que apresentam concentrações séricas de α -tocoferol inferiores a 12 $\mu\text{mol/l}$, fato que superestima a prevalência de DVA nessa faixa etária (Farrell et al., 1978; Kim et al., 2006).

1.8.2- Deficiência das Vitaminas A e E e o estresse oxidativo

As vitaminas A e E são requeridas em importantes processos fisiológicos tais como a gravidez e o crescimento (Schulpis et al., 2004). A associação da deficiência de tais vitaminas é apontada em diversos estudos (Leotsinidis et al., 2000; Schulpis et al., 2004; Dzieniszewski et al., 2005; Gouado et al., 2005; Obeid et al., 2006; Kwena; Nyandieka, 2006; Weiss; Litonjua, 2008; Oldewage-Theron; Samuel, 2009)

A principal causa das deficiências vitamínicas em crianças é a baixa ingestão e mesmo em países desenvolvidos como a Espanha a ingestão diária de vitamina A e E encontra-se abaixo do recomendado (Serra-Majem et al., 2001).

Alguns trabalhos têm analisado o papel da associação da deficiência das vitaminas A e E em algumas doenças (Shirahata, 1999; Carr; McBratney, 2000; Al-Saleh et al., 2007).

A suplementação de multivitamínicos é muito comum em diversos países do mundo, porém pouco se sabe se tal fato é capaz de melhorar as concentrações desses nutrientes no organismo (Maraini et al., 2009). Sendo assim, nesse mesmo trabalho, Maraini et al. (2009) verificaram que o uso de multivitamínicos pode incrementar os valores séricos particularmente de vitamina A e E no organismo.

Em gestantes de países em desenvolvimento, a suplementação vitamínica habitualmente se resume à oferta de ácido fólico e ferro. Supplementation with Multiple Micronutrients Intervention Trial (SUMMIT) Study Group (2008) analisaram cerca de 40 mil gestantes na Indonésia e, ao comparar o grupo que recebeu a terapia ferro-ácido fólico com o que recebeu a suplementação de micronutrientes (ácido fólico, ferro, retinol, vitaminas E, D, C, complexo B, zinco, cobre, selênio e iodo), verificaram que no segundo houve diminuição nas taxas de perda fetal, mortalidade infantil precoce e melhora dos pesos ao nascer.

Em 102 crianças com fibrose cística em Israel, Hakim et al. (2007) verificaram que as exacerbações pulmonares da doença estiveram diretamente relacionadas a

concentrações séricas inferiores das vitaminas A e E, ainda que estas concentrações ainda se encontrassem dentro de valores considerados adequados para a faixa etária. Os autores sugerem que essa diminuição da concentração vitamínica possa levar ao estresse oxidativo, gerando assim dano pulmonar e contribuir para o desenvolvimento da doença pulmonar crônica na fibrose cística.

Ainda estudando-se o estresse oxidativo e considerando as vitaminas A e E como anti-oxidantes na etiopatogenia de doenças, Akbay et al. (2007) avaliaram o estresse oxidativo, através da mensuração do malondialdeído em 40 pacientes com rinite alérgica e verificaram que o grupo de pacientes apresentou estresse oxidativo maior e concentrações séricas de vitamina A e E inferiores ao grupo controle, sugerindo que o desequilíbrio entre o estresse oxidativo e as defesas anti-oxidantes possa ter papel importante na etiopatogenia também da rinite alérgica.

Outros estudos também têm apontado para o papel protetor das vitaminas A e E em relação ao estresse oxidativo. Marzani et al. (2008) verificaram que a suplementação de vitamina A e E foi capaz de melhorar a síntese de proteínas musculares e inibir a degradação muscular de cobaias. Também em cobaias, a suplementação destas duas vitaminas foi capaz de reduzir o dano oxidativo ao DNA em leucócitos de cobaias (Morin et al., 2008). Em humanos, há evidências que as vitaminas E e A desempenhem papel primordial na capacidade antioxidante do leite materno (Tijerina-Sáenz et al., 2009).

Estas vitaminas são fundamentais para a homeostase do organismo, podendo ser causa de morbimortalidade infantil e gerar sérios distúrbios a essas crianças, inclusive com repercussões para a vida futura, até mesmo em situação de deficiência subclínica.

1.8.3- Objetivos

1. Este estudo irá avaliar a prevalência de DVA e DVE em crianças aparentemente saudáveis atendidas em uma Unidade Básica de Saúde.
2. Dada a alta prevalência de deficiência subclínica de vitamina A na população local (Ferraz et al., 2000; 2004; Custodio et al., 2009), sendo o RDR e o +S30DR considerados padrão-ouro para avaliação indireta dos estoques hepáticos de vitamina A e a combinação dos métodos existentes se mostrar de grande valia para avaliação de deficiência de vitamina A, este trabalho terá como um dos objetivos avaliar a deficiência de vitamina A através dos métodos retinol basal, RDR e +S30DR.
3. Apesar de diversos estudos apontarem para o papel da vitamina A como um dos reguladores do crescimento e a associação freqüente da deficiência de vitamina A e vitamina E, principalmente em países em desenvolvimento, não existem dados sobre a influência da suplementação de vitamina A com o estado de vitamina E e IGF-1 no organismo. Este trabalho terá também como objetivos, avaliar a situação de vitamina A, vitamina E e IGF-I, 30 a 45 dias após a suplementação das crianças estudadas com vitamina A.

2- Casuística e Métodos

2- CASUÍSTICA E MÉTODOS

2.1- População estudada

O Centro Médico Social Comunitário (CMSC) de Vila Lobato fica localizado em um bairro periférico da cidade de Ribeirão Preto, estado de São Paulo, oferecendo atendimento médico desde 1969 à referida população, através de convênio firmado entre a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) e a Secretaria de Saúde do Município de Ribeirão Preto.

De acordo com Ferraz et al. (2004), a renda *per capita* das pessoas atendidas nesse centro é de 1382,52 dólares anuais e aproximadamente 55% dos adultos com filhos não completaram os 8 anos do ensino fundamental.

2.1.1- Programa médico de atenção primária à saúde da criança e do adolescente no CMSC

São atendidos pela equipe pediátrica os pacientes com idades entre 0 e 21 anos. Os atendimentos de rotina são realizados semestralmente nas crianças acima de 2 anos de idade. São feitos atendimentos chamados de fora de dia para os pacientes que necessitam de atendimento médico por qualquer outro motivo de saúde além dos retornos programados e, a critério médico, podem ser solicitadas novas avaliações a partir das consultas realizadas fora de dia ou de rotina, as quais são chamadas de retornos médicos. Há também as consultas de

triagem que são para pacientes que ainda não possuem seguimento médico regular no serviço e que comparecem ocasionalmente na unidade.

2.2- RECRUTAMENTO DOS INDIVÍDUOS

Foram estudadas 94 crianças de ambos os sexos com idades entre 5 anos e 6 meses e 10 anos e 11 meses, atendidas no CMSC entre 13/09/2003 a 12/03/2004. O recrutamento teve início logo após a consulta médica da criança no serviço, sendo exposta aos pais/responsáveis e à criança a natureza do estudo e, havendo concordância foi firmada assinatura no termo de consentimento livre e esclarecido (apêndice A).

Foram excluídas as crianças que apresentaram ao menos um episódio de temperatura axilar $> 37^{\circ}\text{C}$ aferida por termômetro nos 15 dias precedentes à primeira coleta de sangue ou se a criança havia evacuado três ou mais vezes, com eliminação de fezes líquidas ou semilíquidas num período de 24 horas, ou ainda, se houve eliminação de fezes com sangue visível à ectoscopia ao menos uma vez nos 15 dias precedentes à primeira coleta de sangue (Baqui et al., 1991).

Caso qualquer uma das situações acima ocorresse, não eram prosseguidas as coletas de sangue, uma vez que estas moléstias poderiam gerar resultados falsos positivos para a deficiência de vitamina A (DVA) (Stephensen et al., 2002). Os indivíduos que foram dispensados da coleta foram convidados a retornar 2 semanas após o episódio, para nova avaliação e possível entrada no estudo.

Não foram incluídas as crianças que fizeram uso de suplementos vitamínicos nos seis meses anteriores à coleta de sangue. Outros dados referentes à história nutricional e/ou mórbida prévias não foram considerados critérios de exclusão para este trabalho.

Os pais/responsáveis foram informados a respeito dos resultados dos exames em retornos posteriores da criança na unidade. As crianças com exames anormais receberam tratamento no próprio CMSC.

As despesas com o projeto foram custeadas pelo Departamento de Puericultura e Pediatria da FMRP-USP, pelo Conselho Nacional Científico e Tecnológico e pela pesquisadora, não recebendo recursos de laboratórios farmacêuticos.

Cada sujeito participou apenas uma vez do estudo, tratando-se, portanto, de um estudo transversal, prospectivo e descritivo.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em 04/08/2003, de acordo com o processo HCRP nº 6007/2003, cuja cópia encontra-se disponível no anexo 1.

2.3- COLETA DO MATERIAL

Havendo concordância em participar do trabalho, os responsáveis foram orientados a trazer as crianças na própria unidade em dia e hora agendados pela pesquisadora.

Foram realizadas três coletas de sangue, com intervalo de cinco horas entre a primeira e a segunda, com jejum prévio mínimo de 6 horas para a primeira coleta e de 30-45 dias entre a segunda e terceira coletas, também esta coleta de sangue foi realizada após jejum prévio mínimo de 6 horas.

Para a primeira coleta de sangue foram utilizados aproximadamente 4 ml de sangue total para as dosagens de retinol, IGF-1 e vitamina E, para a segunda coleta foram utilizados cerca de 2 ml de sangue para a dosagem do retinol e para a terceira coleta foram retirados aproximadamente 4 ml de sangue total para as dosagens de retinol, IGF-1 e vitamina E.

Imediatamente após a primeira coleta de sangue foi administrado 1000 de palmitato de transretinil miscível em água para as crianças². Logo após a segunda coleta de sangue, foi administrado às crianças 200000UI de palmitato de transretinil miscível em água (40 gotas de Arovit[®] - Roche).

Logo após a primeira coleta, foi oferecida às crianças e seus acompanhantes, uma pequena refeição que consistia em leite com achocolatado (200ml) e sanduíche de pão de fôrma, com presunto e queijo tipo mussarela. Este lanche, contendo cerca de 14g de lipídios e baixo teor de vitamina A, faz parte da refeição gordurosa recomendada pela Organização Mundial de Saúde para a realização do teste *relative dose response* (RDR) (Underwood, 1990; World Health Organization, 1996).

Após essa refeição padrão, foram avaliados o peso e a estatura das crianças.

2.4- PROCESSAMENTO PRÉ-LABORATORIAL DAS AMOSTRAS

Durante a coleta de sangue, a luz foi apagada, de modo a minimizar a fotodegradação da vitamina A e vitamina E e o sangue colocado em tubos de coleta a vácuo (*BD Vacutainer*[®]) (figura 1).

O sangue, logo após a coleta, foi centrifugados durante 15 minutos a 2500 rpm e, com a luz apagada, o soro foi separado através de pipetadora automática, com ponteiros novas e estéreis e armazenado em tubos *eppendorf* também novos e estéreis, sendo imediatamente congelados a – 30°C até a análise³.

² Esta dose é segura, sendo recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (World Health Organization, 1996) para avaliação da DVA em crianças.

O palmitato de retinol transretinil utilizado no estudo foi preparado pelo Serviço de Atividades Industriais do Hospital das Clínicas do HCFMRP-USP.

³ Os tubos para dosagem das vitaminas foram armazenado em tubos *eppendorf* encapados com papel alumínio.

Número	Tubo com rolha:	Anticoagulante	Volume Sangue total	Exames	Laboratório de destino
1	 amarela encapado com papel alumínio	Gel separador com ativador de coágulo	2 ml	Retinol sérico Vitamina E	Nutrologia
2	 amarela	Gel separador com ativador de coágulo	2 ml	IGF-1	Endocrinologia

Figura 1- Tubos de coleta com os respectivos volumes de sangue necessários, de acordo com o exame realizado em cada laboratório.

Após o término da coleta dos 94 pacientes, os soros 1 e 2 foram enviados congelados aos respectivos laboratórios, para análise, em duplicata.

2.5- LABORATÓRIO DE NUTROLOGIA

No Laboratório de Nutrologia do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP através do método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Arnaud et al. 1991), foram feitas as dosagens do retinol sérico basal, isto é, antes da administração de vitamina A (A_0), vitamina E sérica basal (VE_0), retinol após 5 horas da administração de 1000 μg de palmitato de transretinil (A_5) e retinol sérico após 30-45 dias da administração de 200000UI de palmitato de transretinil (A_{30}) e vitamina E sérica pós suplementação de 200000UI de palmitato de transretinil (VE_{30}).

A cromatografia é baseada no princípio da presença de diferentes pesos moleculares e diferentes cargas elétricas na superfície das moléculas, sendo assim, percorrem,

em tempos diferentes, uma coluna contendo partículas carregadas eletricamente. Dessa forma, o aparelho é capaz de separar as substâncias, através das leituras em tempos diferentes e diferentes comprimentos de onda (Ferraz et al., 2004).

2.5.1- Sistema cromatográfico

Foi utilizado o cromatógrafo líquido, Shimadzu[®], com detectores UV/Vis, degaseificador Thornton[®] T7, bomba de gradiente Olidex[®] CZAC 49. A coluna utilizada foi da marca Nucleosil[®] C18, com 25 cm de comprimento e diâmetro interno de 4,6 mm, com diâmetro da partícula de 5 µm. Integrador e registrador incorporados ao cromatógrafo.

Para a fase móvel foi utilizada mistura de acetonitrila, diclorometano e metanol na proporção de 70:20:10. Todos os reagentes utilizados foram para CLAE (grau de pureza: 100%).

As curvas de calibração, com coeficientes de correlação superiores a 0,99, foram realizadas sempre antes da utilização da coluna e obtidas em função da concentração dos padrões externos de retinol (0,5, 1 e 2 µM) e vitamina E (5,0, 10,0 e 20,0 µM).

Para o preparo das amostras, foram pipetados 0,5 ml do soro em 1 ml de etanol, e colocados em agitador automático por 1 minuto. Acrescentou-se então 1 ml de N-hexano, agitando-se novamente por mais 1 minuto, sendo então centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos. Retirou-se 0,5 ml do sobrenadante (N-hexano), o qual foi seco em vapor de nitrogênio e, após, ressuspenso e homogeneizado com 0,5 ml do eluente da fase móvel. Para a leitura pelo cromatógrafo foram injetados 20 µl dessa solução, em duplicata.

Para as análises, foi utilizado o sistema isocrático, com detector na região ultravioleta no comprimento de onda de 325 nm para o retinol e de 292 nm para a vitamina E. A velocidade de fluxo foi de 1 ml/min, com coluna em temperatura ambiente e tempo de

corrida de 10 minutos. O tempo de retenção do retinol foi de cerca de 2,5 minutos sendo que o de vitamina E foi de aproximadamente 3,5 minutos. Foram realizados testes de reprodutibilidade e recuperação (Arnaud et al., 1991).

2.6- LABORATÓRIO DE ENDOCRINOLOGIA

O IGF-1 foi determinado por ensaio imunorradiométrico (IRMA) através de *kit* da DSL (Diagnostic System Laboratories, Webster, Texas), o qual é baseado no ensaio a partir de dois sítios de ligação (MILES et al., 1974).

A extração do material foi realizada com etanol e ácido clorídrico. Padrões, controles e amostras reagiram com o primeiro anticorpo imobilizado dentro da parede dos tubos e com o segundo anticorpo marcado com ^{125}I sem incubação prévia.

A curva-padrão, a partir da qual foram calculadas as concentrações das amostras desconhecidas, foi construída com seis pontos de concentrações distintos de IGF-1 padrão (0, 5, 20, 60, 200 e ~~600~~ $\mu\text{g/l}$). A radioatividade foi quantificada em contador de emissão gama (ANSR – Abbott). Todas as amostras foram determinadas em duplicata e os resultados expressos em $\mu\text{g/l}$. A dose mínima detectável foi de $5\mu\text{g/l}$.

2.7- ANTROPOMETRIA

O peso e a estatura das crianças foram obtidos conforme recomendação da OMS (Organización Mundial de la Salud, 1995).

A estatura de cada criança foi verificada sempre pelos mesmos dois examinadores (a pesquisadora e uma auxiliar de enfermagem treinada).

Para tanto, foi utilizado um estadiômetro de madeira, fixado na parede, com campo de uso de 0,4 a 2,2 m e resolução em milímetros.

Cada criança foi colocada descalça, com as costas e a parte posterior dos joelhos encostados à parede, permanecendo com os braços estendidos ao longo do corpo, os pés unidos por sua região medial, com os calcanhares, glúteos e ombros tocando a superfície do estadiômetro. A criança foi mantida reta, olhando para a frente, com uma das examinadoras segurando o queixo, fazendo uma leve pressão para cima a fim de manter a cabeça ereta e a outra mantendo os joelhos e calcanhares na posição correta. A examinadora que segurava a cabeça da criança abaixava porção móvel do antropômetro até tocar no ponto mais cranial da cabeça da criança, fazendo a leitura da estatura a partir da distância entre esse ponto até o plano dos calcanhares. As medidas foram realizadas até que duas delas não apresentassem variações superiores a 0,2 cm. (Jelliffe, 1968).

O peso das crianças foi aferido em quilogramas, mediante o emprego de balança eletrônica tipo Filizola[®] (*Personal Line*), com precisão de 100 g e capacidade para até 150 Kg. As crianças foram pesadas em sala apropriada, com a presença da pesquisadora e um responsável, descalças, vestindo somente roupas íntimas (calcinha ou cueca). A criança permaneceu em pé, imóvel, com os pés completamente apoiados no centro da balança e os braços estendidos e soltos ao longo do corpo, até a apresentação do peso pela balança.

Para o cálculo dos escores Z (desvio padrão) das relações estatura por idade (E/I), peso por estatura (P/E) e peso por idade (P/I) foi utilizado o programa Epi Info, versão 2002 (software de domínio público do *Centers for Disease Control and Prevention*) utilizando-se como padrão de referência os dados do *National Center for Health Statistics* (Dean, 1999; Centers for Disease Control, 2002).

Os indivíduos que apresentaram o indicador estatura ou altura /idade abaixo de -2 escores z (ou seja, situados abaixo do percentil 3) dos valores de referência foram

considerados como tendo baixa estatura. As crianças com o indicador peso/estatura ou altura < -2 escores z foram classificadas como emagrecidas e aquelas com o indicador peso/idade < -2 escores z foram classificadas como apresentando baixo peso (Organización Mundial de la Salud, 1995).

2.8- ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As diferentes variáveis coletadas e calculadas para cada criança estudada foram digitadas em planilha do programa Microsoft Excel 2000[®].

Para as comparações dos resultados de variáveis quantitativas entre dois grupos, foi utilizado o Teste t de Student (Siegel; Castellan Jr, 1988), o Teste de Wilcoxon (Siegel; Castellan Jr, 1988) ou o teste Mann-Whitney. Nas comparações das frequências de diferentes variáveis qualitativas foi empregado o Teste do qui-quadrado (Fleiss, 1981). Para a avaliação das medidas de dispersão estatística dos dados foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis. O teste de Mc. Nemar avaliou a diferença de sensibilidade dos resultados de vitamina E nos grupos pré e pós suplementação de vitamina A. O índice *Kappa* avaliou a concordância entre os métodos de detecção de vitamina A (Fleiss, 1981).

Além destes, foram realizadas também medidas de avaliação de teste diagnóstico: sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. (Hosmer; Lemeshow, 1989; Daniel, 1991).

O grau de significância estatística adotado será de 5% ($p \leq 0,05$).

3- Resultados

3- RESULTADOS

3.1- DVA

Foram incluídas no estudo 94 crianças que possibilitaram a realização de retinol basal e os testes RDR e +S30DR. Suas idades variaram entre 66 meses (5 anos e 6 meses) e 131 meses (10 anos e 11 meses).

Não houve relato de lesões físicas ou psicológicas, dado que o material foi de simples obtenção e a técnica não gerou dano aos participantes.

Dentre as crianças analisadas, nenhuma apresentou evidências de xeroftalmia à inspeção ocular.

Na tabela 1 estão descritos os valores de média e desvio padrão de A_0 , A_5 e A_{30} , em todas as crianças (geral), naquelas apresentando retinol basal inferior a $0,7 \mu\text{mol/l}$, $\geq 0,7 \mu\text{mol/l}$, retinol basal inferior a $1,05 \mu\text{mol/l}$ ou superior ou igual a esse valor e naquelas que tiveram os métodos RDR e +S30DR positivos e negativos. Após, foi realizado o teste t de Student para comparação das amostras, no início e ao final do estudo, sendo verificado que houve aumento dos valores do retinol ao final do estudo nas crianças com DVA através métodos do retinol basal ($< 1,05 \mu\text{mol/l}$), RDR e +S30DR.

Foram encontradas crianças com DVA subclínica em todos os métodos estudados: 24,5% (23/94) das crianças tiveram valores séricos de retinol inferiores a $1,05 \mu\text{mol/l}$, enquanto que somente 5,3% (5/94) das crianças apresentaram valores inferiores a $0,7 \mu\text{mol/l}$. O menor resultado encontrado foi $0,47 \mu\text{mol/l}$. Apresentaram testes RDR positivos, 20,2% dos sujeitos (19/94) e 28,2% (27/94) das crianças tiveram testes +S30DR positivos (tabelas 1, 2 e 3).

Tabela 1- Médias, desvios padrão, medianas e respectivos *p* das crianças com e sem DVA de acordo com cada método analisado

	A₀ (media+DP) Mediana	A₅ (media+DP) Mediana	A₃₀ (media+DP) Mediana	p value
População geral (n=94)	(1,32±0,39) 1,3	(1,38±0,46) 1,31	(1,43±0,41) 1,39	0,48
Retinol basal < 0,7 µmol/l (n=5)	0,58±0,08 0,58	1,16±0,45 1,07	1,61±1,07 1,21	0,09
Retinol basal ≥ 0,7 µmol/l (n=89)	1,37±0,36 1,36	1,40±0,46 1,31	1,42±0,35 1,39	0,22
Retinol basal < 1,05 µmol/l (n=23)	0,84±0,16 0,90	1,17±0,33 1,07	1,40±0,57 1,22	0,0004
Retinol basal ≥ 1,05 µmol/l (n=71)	1,47±0,31 1,43	1,45±0,48 1,38	1,44±0,35 1,43	0,51
RDR positivo (n=19)	0,98±0,33 0,94	1,67±0,65 1,54	1,66±0,63 1,45	0,0002
RDR negativo (n=75)	1,41±0,36 1,38	1,31±0,37 1,22	1,38±0,32 1,32	0,38
+S30DR positivo (n=27)	1,01±0,35 0,95	1,47±0,62 1,37	1,66±0,56 1,47	< 0,0001
+S30DR negativo (n=67)	1,45±0,34 1,42	1,35±0,38 1,27	1,34±0,29 1,31	0,09

Neste trabalho foram encontrados 23 sujeitos (24,5%) com retinol basal < 1,05 µmol/l e destes, somente 5 (5,3%) apresentaram resultados de retinol basal inferior a 0,7 µmol/l (tabela 1). Como pode ser verificado na tabela 3, todas estas 5 crianças apresentaram o teste +S30DR positivo e somente 1 teve o teste RDR negativo. 18 das 94 crianças apresentaram retinol basal entre 0,7 e 1,05 µmol/l (tabela 1) e destas 18, 8 tiveram RDR positivo e 11 foram consideradas deficientes de VA de acordo com o método +S30DR. Mais ainda, houve 7 crianças que tiveram tanto RDR e +S30DR positivos.

Sendo assim, de acordo com os testes realizados, quando o retinol basal é normal (≥1,05 µmol/l), 90,1% das crianças apresentam o teste RDR negativo (X²= 19,29 p<0,001) e 84,5% das crianças têm o teste +S30DR negativo, demonstrando associação significativa entre os valores normais de retinol basal normal e testes de resposta à dose negativos (tabela 2).

Quando as crianças apresentam DVA diagnosticadas através do método do retinol basal ($<1,05 \mu\text{mol/l}$), a chance de apresentar testes RDR positivos é aproximadamente 10 x superior (Odds ratio=9,97; IC 95% (3,22-30,89)), enquanto que a chance de ter testes +S30DR positivos é quase 12,5 x maior (Odds ratio= 12,47; IC 95% (4,17-37,32)). Quando as crianças são consideradas como deficientes de vitamina A através do método do retinol basal ($<1,05 \mu\text{mol/l}$), 69,6% delas também o são de acordo com o teste +S30DR, ($\chi^2=24,81$ $p<0,001$) (tabela 2).

Quando os resultados das concentrações séricas do retinol basal forem $\geq 1,05 \mu\text{mol/l}$, encontraram-se 7 crianças com RDR positivos (tabela 2), destas 7 crianças, 5 têm o teste +S30DR positivo. Dentre as 71 crianças com retinol basal $\geq 1,05 \mu\text{mol/l}$, 11 delas foram consideradas como DVA de acordo com o método +S30DR (tabela 2) e destas, 5 tiveram o teste RDR positivo. O índice Kappa relacionando o método RDR com o retinol basal foi de +0,45. O índice Kappa relacionando o método retinol basal com o +S30DR foi de +0,50.

Tabela 2- Comparação do método do retinol basal $<1,05 \mu\text{mol/l}$ com os testes RDR e +S30DR

Retinol basal	RDR		+S30DR	
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
$\geq 1,05 \mu\text{mol/l}$ (n=71)	64 (90,1%)	7 (9,9%)	60 (84,5%)	11 (15,5%)
$< 1,05 \mu\text{mol/l}$ (n=23)	11 (47,8%)	12 (52,2%)	7 (30,4%)	16 (69,6%)
Total (n=94)	75 (79,8%)	19 (20,2)	67 (71,3%)	27 (28,7%)

Tabela 3- Comparação do método do retinol basal $<0,7 \mu\text{mol/l}$ com os testes RDR e +S30DR

Retinol basal	RDR		+S30DR	
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
$\geq 0,7 \mu\text{mol/l}$ (n=89)	74 (83,1%)	15 (16,2%)	67 (75,2%)	22 (24,8%)
$< 0,7 \mu\text{mol/l}$ (n=5)	1 (20%)	4 (80%)	0 (0%)	5 (100%)
Total (n=94)	75 (79,8%)	19 (20,2%)	67 (71,2%)	27 (28,7%)

Na tabela 4, verifica-se que quando o teste RDR é negativo existe associação significativa com 85,3% dos testes +S30DR negativos. Da mesma forma, quando o teste RDR é positivo, 84,2% dos testes +S30DR são positivos ($\chi^2=35,81$; $p<0,001$), sendo que a chance de ser +S30DR positivo é 31 vezes superior quando o RDR é positivo (Odds ratio= 31,03; IC 95% (7,74-124,48)). O índice Kappa relacionando o método RDR com o +S30DR foi de 0,62.

Tabela 4- Comparação dos testes RDR e +S30DR

RDR	+S30DR	
	Negativo	Positivo
Negativo (n=75)	64 (85,3%)	11 (14,7%)
Positivo (n=19)	3 (15,8%)	16 (84,2%)
Total (n=94)	67 (71,3%)	27 (28,7%)

Considerando-se o teste RDR como padrão-ouro, foi elaborada a tabela 5, que apresenta resultados referentes a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo (VPN) com seus respectivos intervalos de confiança (IC) dos métodos retinol basal e +S30DR em relação ao RDR.

Tabela 5- Sensibilidade, Especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo dos métodos +S30DR e retinol basal considerando-se como o nível de corte do retinol basal, os valores 1,05 $\mu\text{mol/l}$ e 0,7 $\mu\text{mol/l}$

	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
	(IC 95%)	(IC 95%)	(IC 95%)	(IC 95%)
Retinol basal	63,2%	85,3%	52,2%	90,1%
1,05 $\mu\text{mol/l}$	(38,4% - 83,7%)	(75,3% - 92,5%)	(30,6% - 73,2%)	(80,7% - 96,0%)
Retinol basal	21,1%	98,7%	80,0	83,1%
0,7 $\mu\text{mol/l}$	(12,9%-28,3%)	(96,4%-100,0%)		
+S30DR	84,2%	85,3%	59,3%	95,5%
	(60,4%-96,6%)	(75,3% - 92,5%)	(38,8% - 77,6%)	(87,5% - 99,1%)

Apesar de apresentar boa especificidade (98,7%), ao considerar-se crianças com DVA somente aquelas que apresentarem o retinol basal $< 0,7 \mu\text{mol/l}$, este método apresenta baixa sensibilidade (21,1%) para detecção, mesmo que indireta, dos estoques hepáticos de vitamina A, subestimando assim, grande parcela dos casos com DVA subclínica (tabela 5).

Sendo esta uma população de risco para a DVA subclínica, já que não foram encontradas crianças com evidências de alterações oculares causadas pela DVA, para efeitos de comparação com o +S30DR, foi feita análise estatística utilizando-se o ponto de corte igual

a 1,05 $\mu\text{mol/l}$. Ao considerar-se crianças com DVA aquelas que apresentaram retinol basal < 1,05 $\mu\text{mol/l}$, este indicador foi considerado menos sensível que o +S30DR (63,2% versus 84,2%, respectivamente; $p= 0,15$). Retinol basal e +S30DR tiveram especificidades semelhantes (85,3% versus 85,3%, respectivamente; $p=1,00$). Os valores preditivos positivos foram semelhantes (52,2% versus 59,3%, respectivamente; $p=0,85$). Os valores preditivos negativos foram semelhantes (90,1% versus 95,5%, respectivamente; $p=0,66$), conforme pode ser verificado na tabela 5.

Na tabela 6 são observadas as médias e os desvios padrão das idades em cada método analisado. Não foi encontrada diferença significativa conforme o método t de *Student* ($p>0,05$).

Tabela 6- Médias, desvios padrão e respectivos *p* das idades das crianças em cada método analisado

Método	Média (anos)	Desvio padrão (anos)	p value
Retinol basal $\geq 1,05 \mu\text{mol/l}$	8,01	1,48	
Retinol basal < 1,05 $\mu\text{mol/l}$	8,30	1,55	0,43
RDR negativo	8,16	1,50	
RDR positivo	7,79	1,49	0,35
+S30DR negativo	8,17	1,51	
+S30DR positivo	7,87	1,46	0,39

Quando a variável analisada é o sexo, não se encontra diferença significativa no método do retinol basal ($X^2=0,36$; $p=0,58$). Quando o método é o RDR, apesar de não haver diferença significativa, existe certa tendência de que o grupo deficiente apresente maior

percentual de crianças do sexo masculino (meninos: 68,4% *versus* meninas: 31,6%) em relação ao grupo sem deficiência (meninos: 46,7% *versus* meninas: 53,3%). $X^2=2,87$; $p=0,09$. Odds ratio=2,43; IC 95% (0,85-7,21). Quando o método analisado é o +S30DR, o grupo com DVA apresenta marcadamente maior número de crianças do sexo masculino (meninos: 66,7% *versus* meninas: 33,3%) em relação ao grupo sem DVA (meninos: 44,8% *versus* meninas: 55,2%) $X^2=3,69$ $p=0,05$. Odds ratio=2,47 IC 95% (1,00-6,28), portanto a chance de ter teste +S30DR positivo é aproximadamente 2,5 x maior quando o sexo é masculino (tabela 7).

Tabela 7- Distribuição das crianças de acordo com o sexo em cada método analisado

Método	Sexo feminino	Sexo masculino
Retinol basal < 1,05 $\mu\text{mol/l}$	36 (50,7%)	35 (49,3%)
Retinol basal \geq 1,05 $\mu\text{mol/l}$	10 (43,5%)	13 (56,5%)
RDR negativo	40 (53,3%)	35 (46,7%)
RDR positivo	6 (31,6%)	13 (68,4%)
+S30DR negativo	37 (55,2)	30 (44,8%)
+S30DR positivo	9 (33,3%)	18 (66,7%)

A classificação nutricional antropométrica das crianças pesquisadas é apresentada na tabela 8, onde pode se verificar que, através do critério analisado, houve baixa ocorrência de desnutrição: nenhuma criança apresentando baixa estatura (altura/idade < -2 escores z), 1 criança apresentando-se emagrecida (peso/altura < - 2 escores z) e 2 crianças apresentando baixo peso (peso/idade < -2 escores z), dentre as crianças consideradas desnutridas, nenhuma apresentou DVA de acordo com o método RDR.

Tabela 8- Indivíduos classificados de acordo com o estado nutricional e respectivas porcentagens

Variável	N	%
Baixa estatura	0	0
Sem baixa estatura	91	100
Emagrecido	1	5
Sem emagrecimento	19	95
Baixo peso	2	2
Sem Baixo peso	91	98

3.2- DVE

Concentrações plasmáticas de alfa-tocoferol inferiores a 12 $\mu\text{mol/l}$ e inferiores a 7 $\mu\text{mol/l}$ foram observadas respectivamente em 32,98% (31/94) e 7,4% (7/94) das crianças ao iniciarem o estudo. Resultados de alfa-tocoferol inferiores a 7 $\mu\text{mol/l}$ são os mais aceitos na literatura e serão utilizados neste estudo na consideração de populações pediátricas deficientes de vitamina E (figura 2).

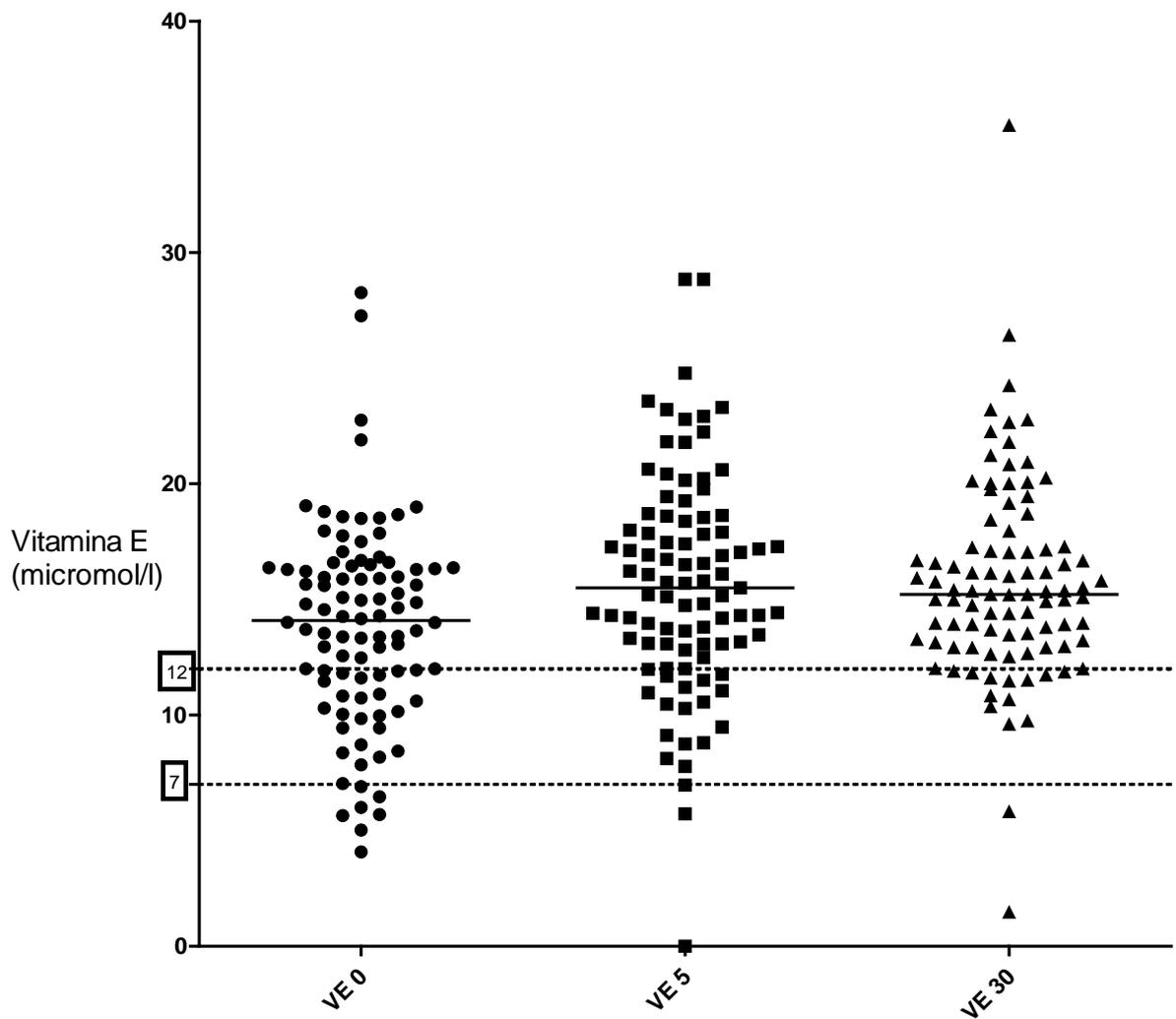


Figura 2- Concentrações plasmáticas de α -tocoferol nas crianças ao início do estudo (VE₀), 5 horas após a administração de 1000 μ g de palmitato de transretinil (PTR) (VE₅) e 30 a 45 dias após a administração de 200000 UI de PTR (VE₃₀)

Dentre as crianças com DVE, 28,6% (2 de 7) eram meninos e 71,4% (5 de 7) meninas. Não houve diferença significativa entre meninos (2 de 48) ou meninas (5 de 46) em relação à prevalência de DVE ($p= 0,26$) (tabela 9). Também não houve diferença significativa quando foi comparada a mediana das idades de crianças com e sem DVE, respectivamente 7,08 e 7,92 anos ($p=0,35$).

Tabela 9- Número de indivíduos com ou sem DVE de acordo com o sexo e respectivas porcentagens

Sexo	DVE		Total
	Sim	Não	
Masculino	2 (28,6%)	46 (52,9%)	48
Feminino	5 (71,4%)	41 (47,1%)	46
Total	7 (100,0%)	87 (100,0%)	94

Dentre as 7 crianças com DVE, ao início do estudo, 2 apresentaram retinol < 1,05µmol/l, 1 teve o teste RDR positivo e 2 tiveram testes +S30DR positivo (tabela 10).

Tabela 10- Situação de cada criança com DVE em relação ao estado de vitamina A e IGF-1 (ng/ml) nos três métodos analisados

Criança	Retinol basal	RDR	+S30DR	IGF-1 inicial	IGF-1 (30-45d)
1	≥1,05 µmol/litro	Negativo	Negativo	360 ng/ml	400 ng/ml
2	≥1,05 µmol/litro	Negativo	Negativo	345 ng/ml	335 ng/ml
3	<1,05 µmol/litro	Positivo	Positivo	95 ng/ml	310 ng/ml
4	<1,05 µmol/litro	Negativo	Positivo	120 ng/ml	180 ng/ml
5	≥1,05 µmol/litro	Negativo	Negativo	335 ng/ml	335 ng/ml
6	≥1,05 µmol/litro	Negativo	Negativo	220 ng/ml	180 ng/ml
7	≥1,05 µmol/litro	Negativo	Negativo	260 ng/ml	290 ng/ml

Ao ser realizada análise de acordo com o teste de Wilcoxon, verificou-se que não houve diferença estatística nos resultados de IGF-1 antes e após a suplementação de vitamina A nas crianças com DVE (crianças 1 a 6) (p= 0,24), tampouco houve alteração dos

resultados de IGF-1 antes em relação a após a suplementação de vitamina A, naquelas crianças com DVE porém sem DVA (pacientes 1,2,5,6 e 7) $p=1,00$, ver tabela 10.

As médias e os desvios padrão dos valores de VE_0 nas crianças com e sem DVA estão demonstrados na tabela 11, verificando-se que as crianças sem DVA têm resultados superiores de vitamina E (*Mann-Whitney*; $p=0,01$) em relação àquelas com DVA.

Tabela 11- Médias e os desvios padrão dos valores de VE_0 nas crianças com DVA e sem DVA de acordo com o retinol basal, RDR e +S30DR

Método	Vitamina E	p value
	Média ± desvio padrão ($\mu\text{mol/l}$)	
Retinol basal $\geq 1,05 \mu\text{mol/l}$	14,42 \pm 4,41	
Retinol basal $<1,05 \mu\text{mol/l}$	11,94 \pm 3,62	0,01
RDR negativo	14,23 \pm 3,82	
RDR positivo	12,18 \pm 4,4	0,08
+S30DR negativo	14,55 \pm 4,36	
+S30DR positivo	11,99 \pm 3,80	0,0076

De acordo com o teste t de Student, observa-se que existe diferença significativa entre as médias e desvios padrão em $\mu\text{mol/l}$ entre os grupos VE_0 (13,82 \pm 4,35) e VE_{30} (15,73 \pm 4,41) com resultados superiores no segundo grupo ($t=2,89$ $p=0,005$). Na tabela 12, os resultados das variáveis VE_0 e VE_{30} são agrupados em duas categorias (resultados iguais ou superiores a 7 $\mu\text{mol/l}$ e inferiores a 7 $\mu\text{mol/l}$) e, de acordo com o teste de Mc Nemar existe certa tendência que em VE_{30} ocorra aumento dos resultados iguais ou superiores a 7 $\mu\text{mol/l}$ em relação a VE_0 (97,8% *versus* 92,5%) ($p=0,08$).

Tabela 12- Classificação dos resultados de vitamina E (VE) em crianças sem DVE (≥ 7 $\mu\text{mol/l}$) e deficientes (< 7 $\mu\text{mol/l}$), nos tempos zero (VE_0) e 30 – 45 dias após a primeira coleta (VE_{30})

	$\text{VE}_{30} \geq 7 \mu\text{mol/l}$	$\text{VE}_{30} < 7 \mu\text{mol/l}$	Total
$\text{VE}_0 \geq 7 \mu\text{mol/l}$	85 (91,4%)	1 (1,1%)	86 (92,5%)
$\text{VE}_0 < 7 \mu\text{mol/l}$	6 (6,4%)	1 (1,1%)	7 (7,5%)
Total	91 (97,8%)	2 (2,2%)	93 (100%)

De acordo com o teste de Kruskal-Wallis, pode-se verificar que os pacientes considerados como deficientes de vitamina A, apresentaram aumento significativo das concentrações séricas de vitamina E 30 - 45 dias após a suplementação de vitamina A (VE_{30}) nos 3 métodos de detecção de DVA estudados (retinol basal: $p=0,0031$; RDR: $p= 0,0028$; +S3DR: $p=0,0002$). Não houve variação significativa nos valores de vitamina E após 30- 45 dias da suplementação de vitamina A naqueles indivíduos não deficientes de vitamina A ($p>0,05$). Ver figuras 3 a 6.

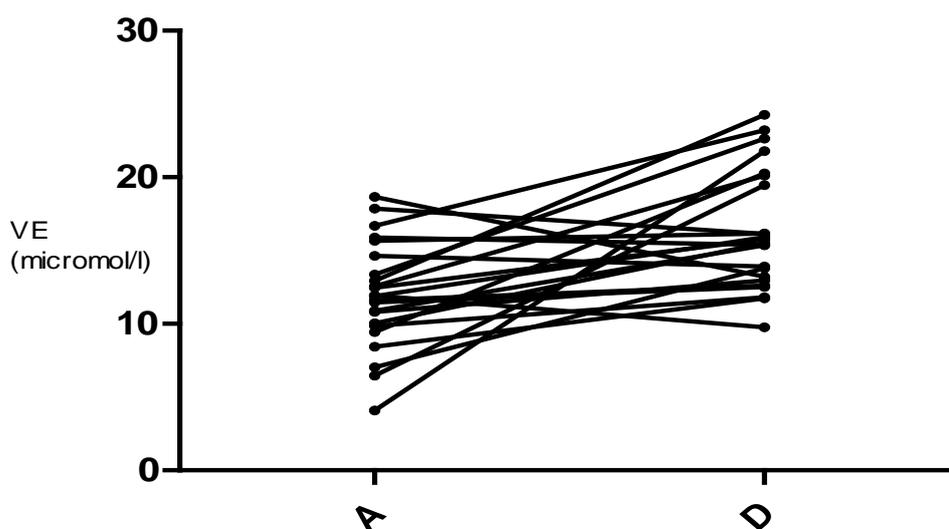


Figura 3: Concentrações séricas de vitamina E antes (A) e entre 30 e 45 dias depois (D) da suplementação com vitamina A em crianças com retinol sérico $< 1,05 \mu\text{mol/litro}$

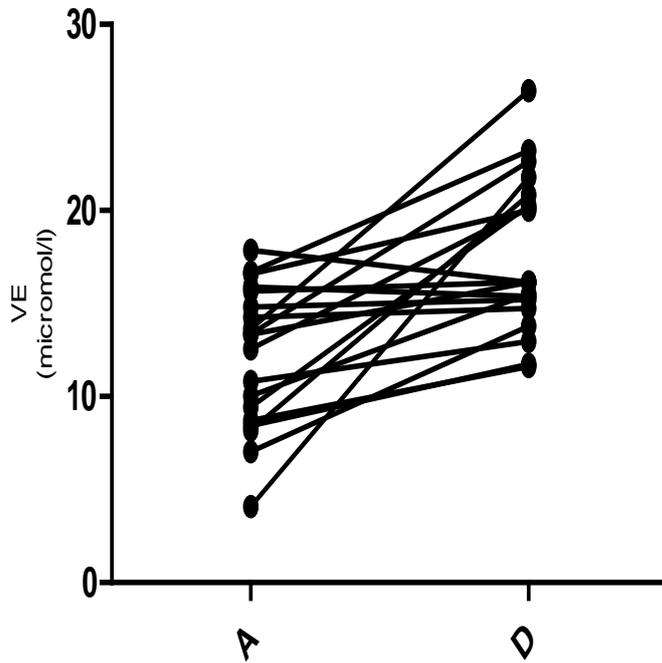


Figura 4- Concentrações séricas de vitamina E antes (A) e entre 30 e 45 dias depois (D) da suplementação com vitamina A em crianças com testes RDR positivos

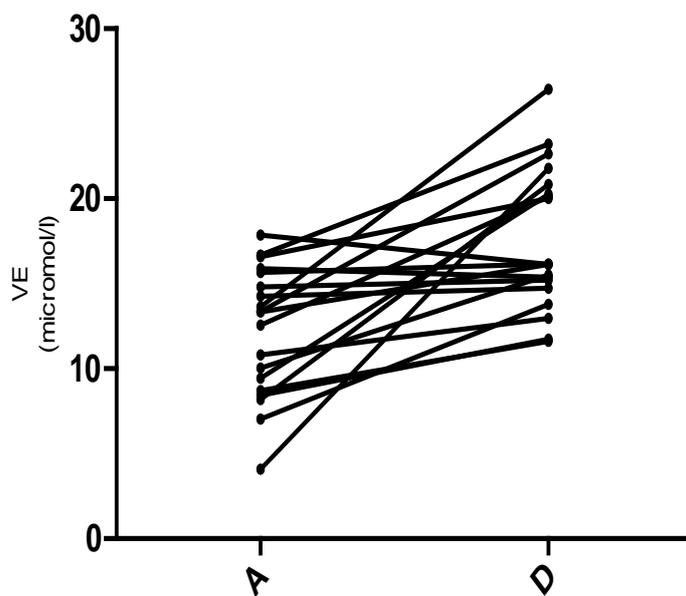


Figura 5: Concentrações séricas de vitamina E antes (A) e entre 30 e 45 dias depois (D) da suplementação com vitamina A em crianças com DVA de acordo com o teste +S30DR

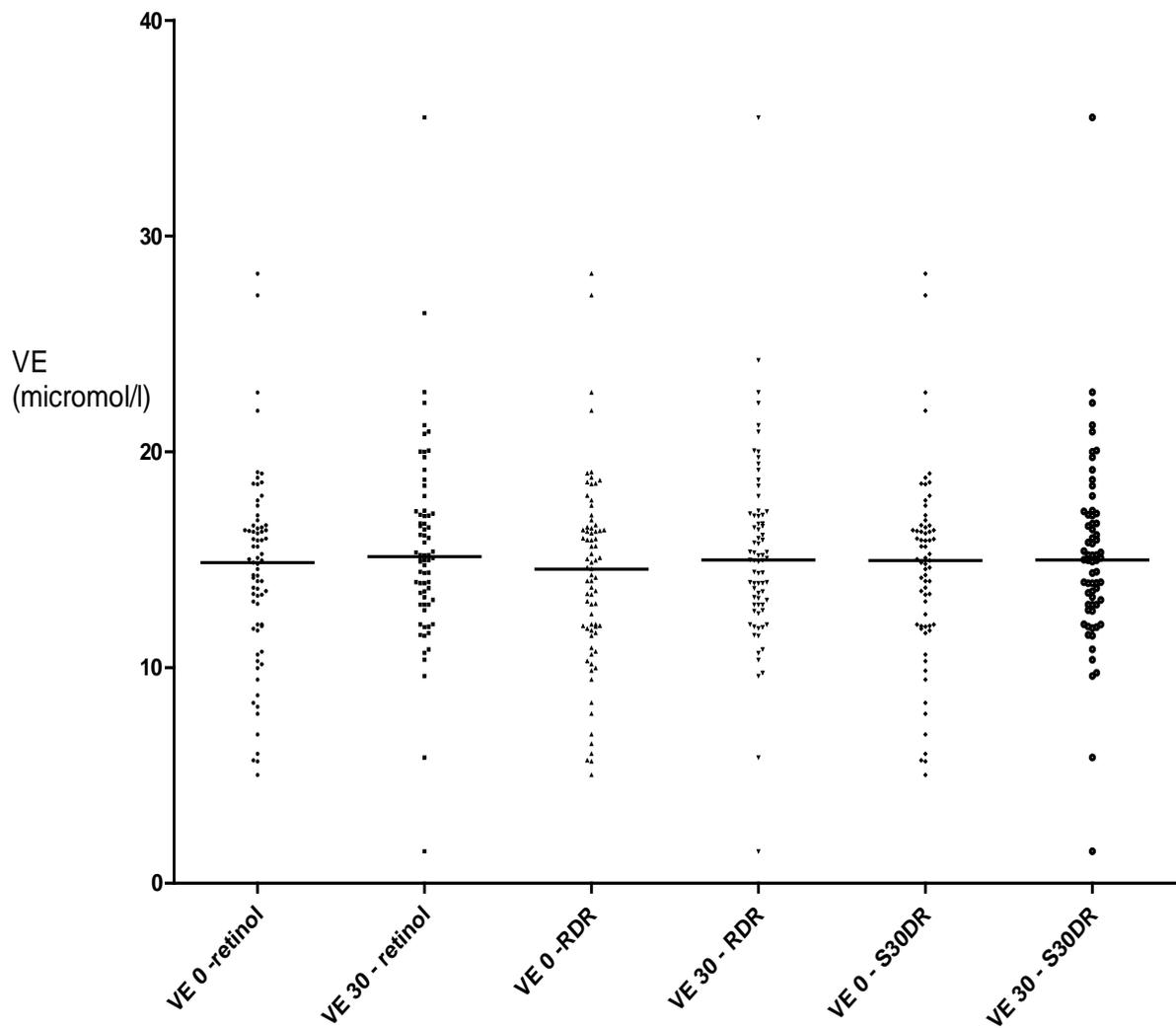


Figura 6- Concentrações séricas de Vitamina E (VE) antes (VE_0) e depois (VE_{30}) da suplementação com vitamina A em crianças sem DVA de acordo com o método do retinol basal ($\geq 1,05 \mu\text{mol/l}$) e testes de resposta à dose RDR e +S30DR negativos

3.3- IGF-1

O mesmo comportamento verificado com a vitamina E nas crianças com DVA também ocorre com o IGF-1, isto é, após 30 dias da suplementação de vitamina A também foi verificado incremento nos valores sanguíneos de IGF-1.

Quando foi realizado o teste t de Student, na primeira amostra colhida no tempo zero (IGF_0) e na segunda amostra, realizada aproximadamente 30 dias após a

administração de 200000 UI de vitamina A (IGF₃₀), encontrou-se diferença significativa entre as médias e desvios padrão em µg/l entre IGF₀ (256,01 ± 115,64) e IGF₃₀ (276,11 ± 107,24) com resultados superiores no segundo grupo (t=2,48 p=0,02), estes valores foram obtidos do grupo total das crianças, isto é, independentes de terem apresentado ou não DVA.

De acordo com o método t de *Student*, o grupo considerado como DVA pelo retinol basal, 30 – 45 dias após a suplementação de vitamina A, passa a apresentar resultados semelhantes de IGF-1 em relação ao grupo sem DVA (t=0,58; p=0,56), ver tabela 13 e figura 7.

Sendo assim, a tabela 13 demonstra que as crianças diagnosticadas como DVA apresentam tendência, de acordo com o método t de *Student*, a ter resultados inferiores de IGF-I em relação às aquelas sem DVA no início do estudo, não havendo diferença significativa após 30 dias da suplementação de vitamina A. Este fato também pode ser verificado nas figuras 7 e 8.

Tabela 13: Médias e desvios padrão dos resultados de IGF₀ e IGF₃₀ nos três métodos de detecção de DVA aplicados

Método	IGF₀	IGF₃₀	p value
	Média ± SD	Média ± SD	
	(µg/l)	(µg/l)	
Retinol basal > 1,05 µmol/l	270,12 ± 116,99	272,29 ± 111,76	0,05
Retinol basal ≤ 1,05 µmol/l	214,30 ± 102,90	287,39 ± 93,96	
RDR negativo	264,28 ± 115,82	277,82 ± 113,10	0,17
RDR positivo	222,44 ± 111,80	269,17 ± 81,53	
+S30DR negativo	270,66 ± 107,60	275,03 ± 107,25	0,06
+S30DR positivo	219,38 ± 128,65	278,81 ± 109,29	

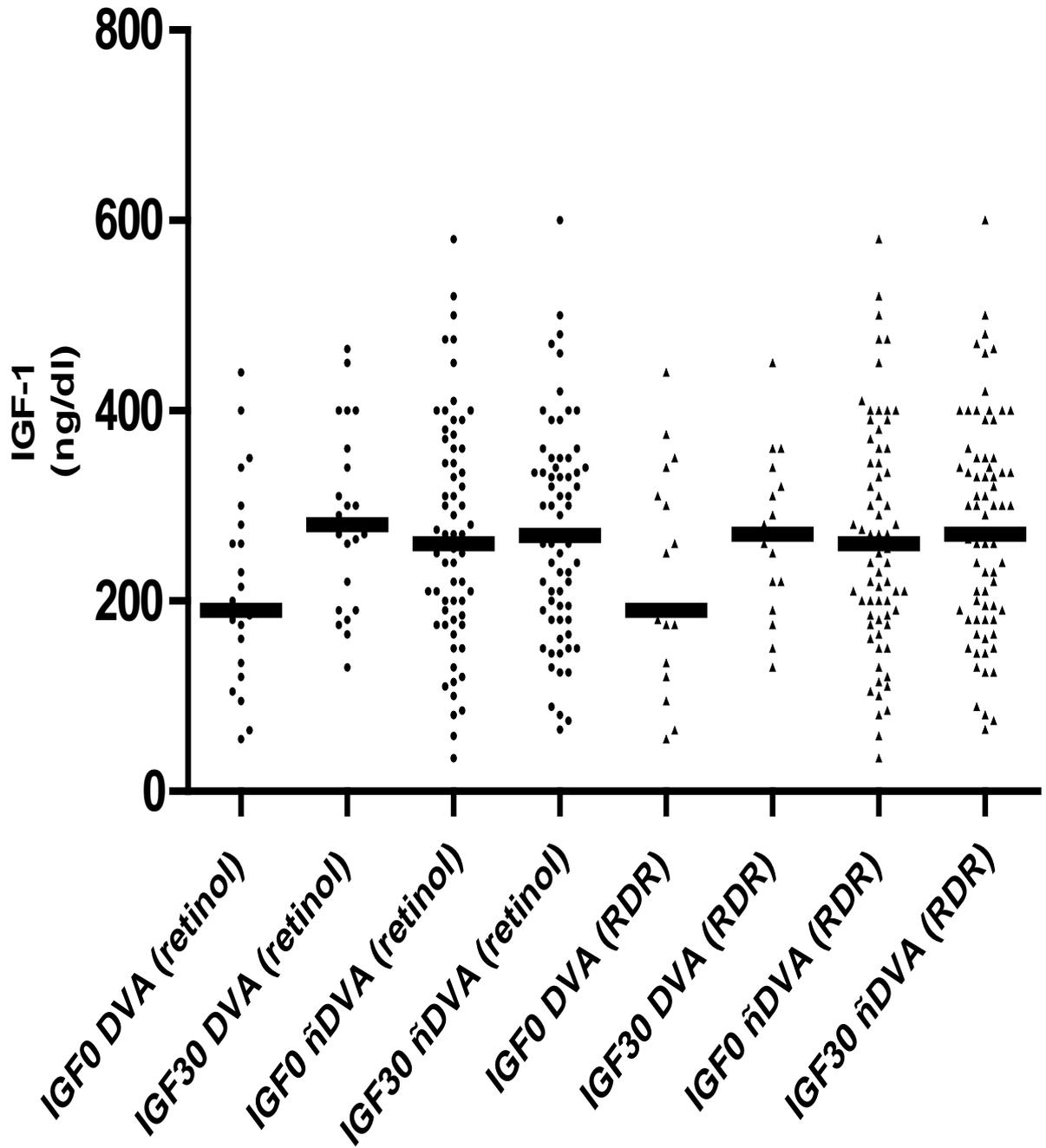


Figura 7- Concentrações séricas iniciais de IGF-1 (IGF0) e finais (IGF30) em crianças com (DVA) e sem DVA (ñDVA) através dos métodos do retinol basal e RDR (As barras representam as medianas)

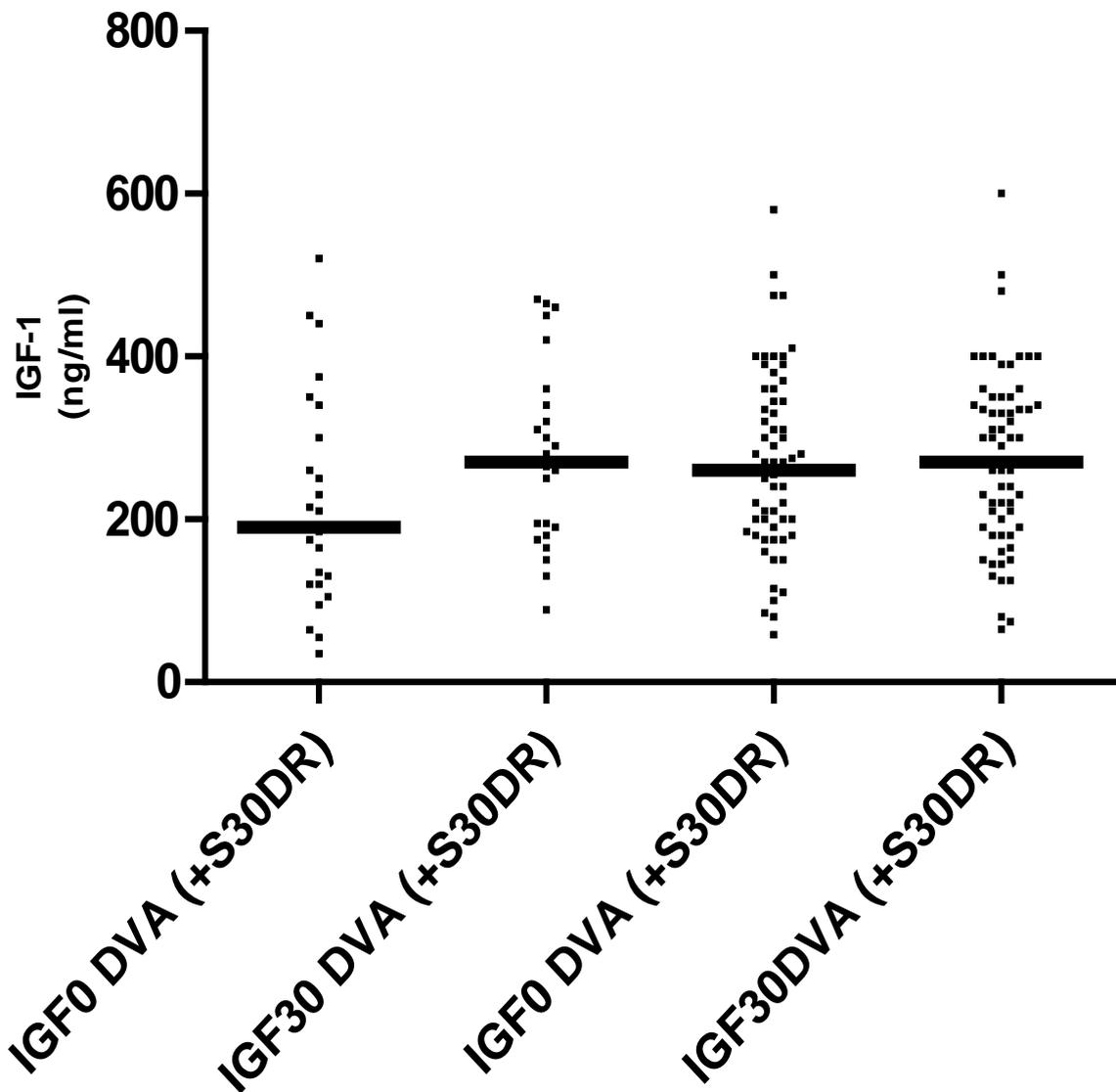


Figura 8- Concentrações séricas iniciais de IGF-1 em crianças com DVA e sem DVA diagnosticadas pelo teste +S30DR. (As barras representam as medianas)

As medianas dos resultados de IGF₀ são significativamente inferiores aos resultados encontrados em IGF₃₀, de acordo com o teste de Wilcoxon, qualquer que seja o método de detecção de hipovitaminose A aplicado. Tal fato não ocorre nas crianças sem DVA, conforme pode ser verificado na tabela 14.

Tabela 14- Medianas dos resultados de IGF₀ e IGF₃₀ nos três métodos de detecção de DVA aplicados

Método	IGF₀	IGF₃₀	p value
	Mediana (µg/l)	Mediana (µg/l)	
Retinol basal ≥ 1,05 µmol/l	260	269	0,5902
Retinol basal < 1,05 µmol/l	190	280	0,0013
RDR negativo	260	270	0,1195
RDR positivo	190	270	0,0253
+S30DR negativo	260	270	0,3723
+S30DR positivo	190	270	0,0041

As figuras 9, 10 e 11 apresentam os resultados de IGF-1 nas crianças com DVA, podendo se verificar que em grande parte das crianças ocorre incremento de IGF-1 30 dias após a suplementação de vitamina A.

A figura 9 demonstra o comportamento das concentrações de IGF-1 nas crianças com DVA, de acordo com o método do retinol basal, verificando-se aumento nos valores de IGF-1 após a suplementação de vitamina A, p=0,0013.

A figura 10 demonstra o aumento das concentrações de IGF-1 ocorrido nas crianças com DVA, de acordo com o método RDR, após a suplementação de vitamina A, p=0,002.

A figura 11 demonstra o comportamento das concentrações de IGF-1 nas crianças com DVA, de acordo com o método +S30DR, verificando-se aumento nos valores de IGF-1 após a suplementação de vitamina A, p=0,0041.

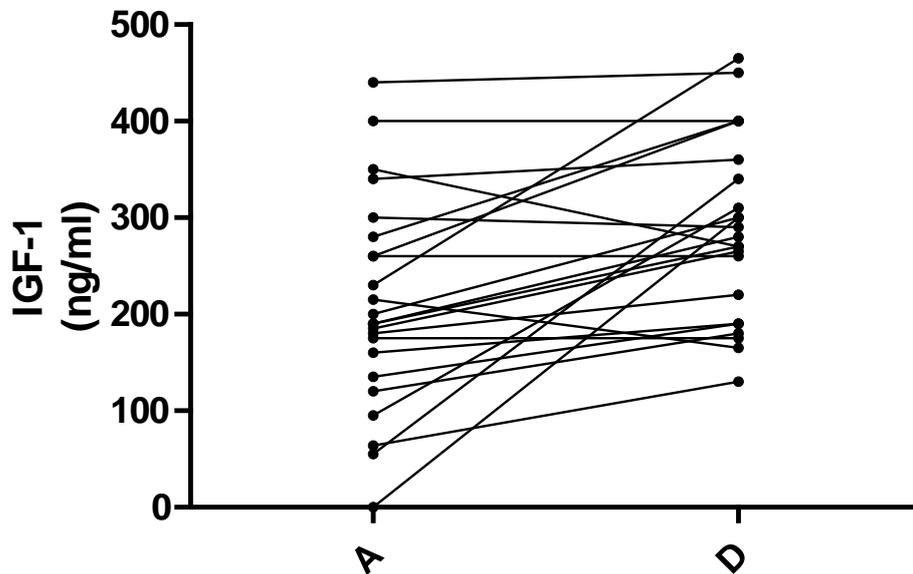


Figura 9- Concentrações séricas de IGF-1 nas crianças com DVA, de acordo com o método do retinol basal, antes (A) e cerca de 30 depois (D) da suplementação de vitamina A

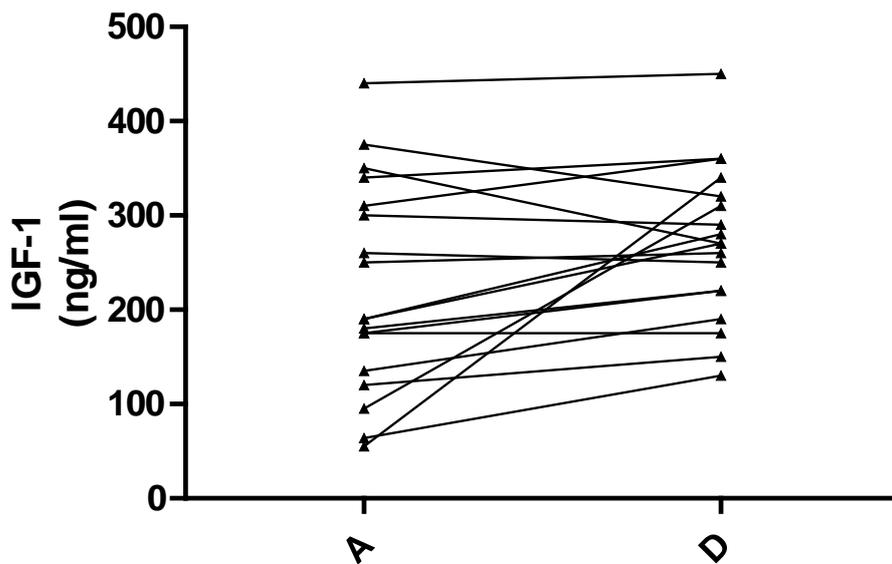


Figura 10: Concentrações séricas de IGF-1 nas crianças com DVA, de acordo com o método RDR, antes (A) e aproximadamente 30 dias depois da suplementação de vitamina A (D)

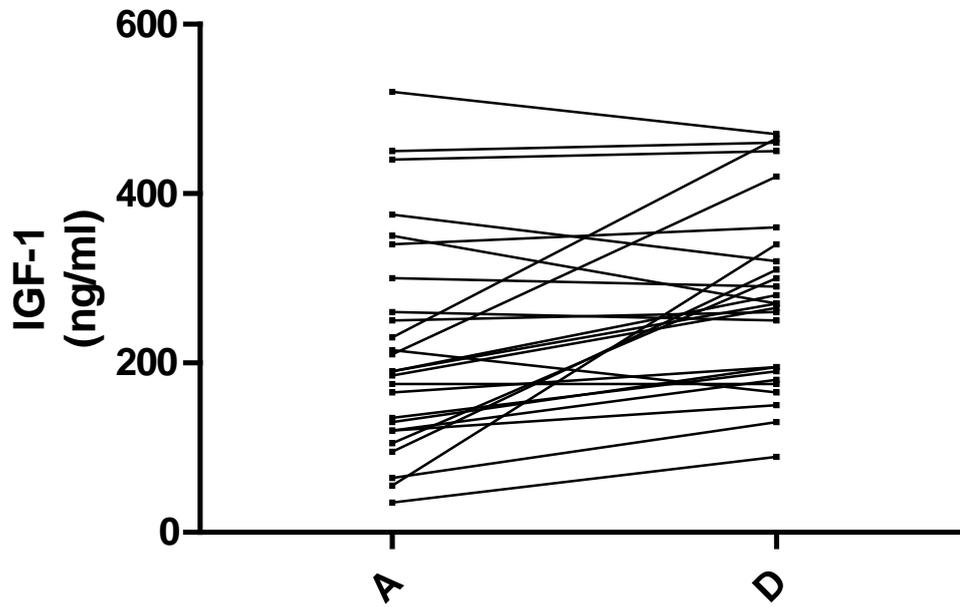


Figura 11- Concentrações séricas de IGF-1 antes e após 30 dias da suplementação de VA em crianças com DVA de acordo com o método +S30DR

4- DISCUSSÃO

4- DISCUSSÃO

A deficiência de micronutrientes, particularmente de vitamina A, vem sendo bastante estudada principalmente em países em desenvolvimento (Ferraz et al., 2000, 2004; Custodio et al., 2009; Lander et al., 2009).

A faixa etária de maior prevalência de deficiência de vitamina A (DVA) é a de pré-escolares (Ferraz et al., 2004), entretanto nos últimos anos tem sido pesquisada e detectada também a ocorrência dessa deficiência vitamínica em outras idades, como por exemplo em lactentes (Ferraz et al., 2000; Weinman et al., 2007) e escolares (Singh; West Jr, 2004, Custodio et al., 2009; Maslova et al., 2009). O presente estudo, foi realizado em crianças de 6,5 a 10 anos, cuja média de idade foi de aproximadamente 8 anos.

O estado de vitamina A de um indivíduo é idealmente avaliado através de biópsia hepática, uma vez que a maior parte dessa vitamina no organismo é armazenada no fígado (McLaren; Frigg, 2001). Contudo, pela óbvia dificuldade técnica, em estudos populacionais este método não costuma ser realizado (Fujita et al., 2009).

Dessa maneira, ainda que todos os métodos bioquímicos disponíveis apresentem algumas limitações, em estudos epidemiológicos o retinol basal é o indicador bioquímico mais frequentemente utilizado para o diagnóstico da DVA devido à sua facilidade de execução. (Underwood, 1990; Dolinsky; Ramalho, 2003). Todavia, costumam-se empregar também outros métodos, como os testes de resposta à dose, preferidos em áreas de deficiência subclínica de vitamina A como é o caso do presente trabalho.

Em relação ao retinol basal, quando seus valores se apresentarem mais elevados (acima ou igual a $0,7 \mu\text{mol/l}$), encontrados em 94,7% das crianças deste estudo, raramente se detectam indivíduos com alterações histológicas oculares decorrentes da DVA (Olson, 1992). Ao contrário, quando este micronutriente apresentar concentrações plasmáticas

inferiores a $0,35 \mu\text{mol/l}$, existem grandes chances de lesões oculares estarem associadas (Sommer; Muhilal, 1982).

Neste trabalho, o menor valor encontrado para o retinol basal foi $0,47 \mu\text{mol/l}$, não sendo detectadas evidências de quaisquer alterações oculares decorrentes de DVA. A ausência de casos clínicos de DVA já fora documentada previamente nesta região por Ferraz et al. (2004).

Ainda Ferraz et al. (2004), avaliando pré-escolares da mesma região do presente estudo, apesar de também não ter detectado qualquer caso de DVA clínica, verificou a existência de vários casos de DVA subclínica, reforçando a teoria de que os casos de DVA clínica representam a ponta do *iceberg*, sob a qual se encontra a grande porcentagem dos casos de deficiência marginal de vitamina A, representante do sério problema nutricional conhecido como fome oculta (Lima, 2009).

Na literatura, apesar da limitação do emprego do retinol basal isoladamente, principalmente porque nem sempre apresenta correlação com as reservas hepáticas de vitamina A (Flores et al., 1984), o nível de corte mais aceito, abaixo do qual são encontradas as crianças deficientes de vitamina A, é de $0,7 \mu\text{mol/l}$ (World Health Organization, 1996; Sommer; Davidson, 2002).

Entretanto, a adoção desse valor ($<0,70 \mu\text{mol/l}$) para a definição da DVA (World Health Organization, 1996) permite questionamento sobre os possíveis casos de subnotificação desse diagnóstico no país e no mundo, conduzindo a uma reflexão quanto aos atuais valores de prevalência em âmbito populacional, os quais podem ser ainda mais elevados do que os atualmente relatados (Ramalho et al., 2008).

Existem alguns estudos que apontam que a faixa de valores mais provável de se encontrar a maior prevalência DVA subclínica ocorre quando as concentrações séricas de retinol basal estiverem entre $0,7$ e $1,05 \mu\text{mol/l}$ (Olson, 1992).

Valores intermediários (retinol basal entre 0,7 e 1,05 $\mu\text{mol/l}$) são mais difíceis de serem interpretados (Flores et al., 1984; Ferraz et al., 2004). Sabe-se que indivíduos são capazes de manter o retinol sérico dentro de valores normais, mesmo após longos períodos de ingestão inadequada (Kelleher; Lonnerdal, 2001) e isso pode ser devido ao controle homeostático dessa substância, uma vez que as concentrações séricas do retinol só começam a diminuir quando as reservas hepáticas se encontrarem muito baixas, conforme já descrito anteriormente por Tanumihardjo (2004).

Concentração sérica de retinol $< 1,05 \mu\text{mol/l}$ é sugerida atualmente como o valor mais adequado para a identificação da DVA subclínica (Sommer; Davidson, 2002; West, 2002), baseando-se na ideia de que resultados superiores apresentem menor probabilidade de depleção dos estoques hepáticos de vitamina A (Ferraz et al., 2004).

Ao se analisar os três métodos, verifica-se melhor concordância entre os testes quando se utiliza o ponto de corte de 1,05 $\mu\text{mol/l}$ para o retinol basal. Estes dados são semelhantes a outros estudos (Ferraz et al., 2004) reforçando a hipótese de que é importante a utilização do ponto de corte $< 1,05 \mu\text{mol/l}$, de forma a possibilitar a detecção de mais casos de DVA subclínica (Ramalho et al., 2008). Desse modo, o valor de corte do retinol basal considerado neste trabalho para comparação com os demais métodos diagnósticos utilizados neste estudo para a avaliação de DVA subclínica foi, na maior parte das vezes, de 1,05 $\mu\text{mol/l}$.

Semelhantemente ao descrito previamente por (Flores et al., 1984; Ferraz et al., 2004), houve 13 crianças que apresentaram concentrações séricas de retinol basal dentro da normalidade ($\geq 1,05 \mu\text{mol}$), porém com testes de resposta à dose positivos. Estas também devem ser consideradas como deficientes de vitamina A, uma vez que os testes de resposta à dose são considerados superiores em relação ao retinol basal na detecção DVA (Flores et al., 1984). Tal fato pode ser explicado pelo fato de que apesar de apresentarem retinol basal

considerado normal, estas crianças podem apresentar baixas reservas hepáticas de vitamina A (Ferraz et al., 2004).

A concordância dos métodos, contudo, é a situação mais verificada quando se trata das crianças consideradas sem DVA: quando o retinol basal é superior ou igual a 1,05 μmol (verificado em 71 das 94 crianças), foram encontrados 64 deles com RDR negativos e 60 com +S30DR negativos. 58 das 71 crianças tiveram tanto RDR como +S30DR negativos.

Particularizando cada método, a percentagem de indivíduos com DVA foi de 24,5%, 20,2% e 28,2%, respectivamente, de acordo com o retinol basal, RDR e +S30DR. Apesar dos métodos apresentarem resultados semelhantes nesta população, com boa correlação entre si, estes indicadores não identificaram sempre os mesmos indivíduos de risco, resultado semelhante ao encontrado anteriormente por outros estudos: Tanumihardjo et al. (1994) e Makdani et al. (1996), comparando em ambos os estudos os métodos do retinol basal e o teste RDR e Ferraz et al. (2004) avaliando o retinol basal e o teste +S30DR.

Os motivos pelos quais grande parte destas crianças apresentaram DVA não foram estudados neste trabalho. Contudo uma hipótese provável é o consumo de alimentos pobres em vitamina A, fato documentado principalmente em países em desenvolvimento, cuja fonte principal deste nutriente são os carotenoides, alimentos de origem vegetal, que de modo geral, também costumam apresentar taxas de absorção inferiores à vitamina A pré-formada, de origem animal (principal fonte de vitamina A em países desenvolvidos).

Das 22 crianças (24,5%) que apresentaram ao início do estudo concentrações séricas de retinol inferiores a 1,05 $\mu\text{mol/l}$, 30 dias após a suplementação de vitamina A, somente três persistiram com concentrações inferiores a 1,05 $\mu\text{mol/l}$. Este incremento nas concentrações séricas de vitamina A após sua suplementação pode reforçar a ideia de que a ingestão inadequada de vitamina A seja o principal causador da DVA.

O encontro de DVA nessa população reforça a hipótese de que essa carência nutricional não é uma situação exclusiva daquelas regiões de extrema pobreza do país e/ou das camadas sociais menos favorecidas e/ou das crianças pré-escolares, tornando a DVA presente independente do mapa histórico do país, sendo necessário incluir também os escolares nos programas públicos de combate às deficiências de micronutrientes e de educação nutricional (Ramalho et al., 2008).

Apesar de a DVA nessa região ser considerada um problema de saúde público moderado uma vez que a frequência dos testes de resposta a dose positivos esteve entre 20,2% e 28,2%, e a prevalência de DVA de acordo com o retinol basal ter sido de 24,5%, não foram detectados casos clínicos de DVA. Desse modo, os testes de resposta à dose devem ser priorizados nessa população por serem capazes de melhor identificar os indivíduos com maior chance de apresentar reservas hepáticas deficientes de VA.

Além disso, através de trabalho de revisão sobre métodos de detecção de vitamina A, Underwood (1990) relata que duas dosagens séricas de retinol (antes e após a suplementação de vitamina A), realizadas, por exemplo, através dos métodos RDR ou +S30DR são superiores para identificar o estado de vitamina A ao se comparar com a dosagem isolada do retinol basal quer seja num indivíduo ou numa população.

Sendo assim, os testes de resposta à dose, que são minimamente invasivos em relação à biópsia hepática e por serem capazes de representar indiretamente as reservas hepáticas de vitamina A, são considerados padrão-ouro na identificação dos indivíduos de risco em estudos populacionais (Flores et al., 1984, World Health Organization, 1996).

O RDR tem sido considerado como um bom método de referência funcional e é o teste de resposta à dose mais comumente utilizado (Loerch et al., 1979; Flores et al., 1984; Amédée-Manesme et al., 1987; Tanumihardjo et al., 1994; Makdani et al., 1996; Stephensen et al., 2002; Dolinsky; Ramalho, 2003; Custodio, 2007; Weinman et al., 2007).

Sendo assim, para a análise de sensibilidade, especificidade, valores preditivo positivo e negativo, o teste RDR foi considerado como padrão-ouro neste estudo. Com isso, o +S30DR apresentou melhor sensibilidade do que a avaliação pelo retinol basal isolada. Os valores de especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo foram semelhantes. Dessa forma, o retinol basal apesar de ser o teste laboratorial mais utilizado em estudos com grande número de indivíduos, não apresenta sensibilidade suficiente para confirmar grande parte dos casos subclínicos de DVA, fato também já descrito anteriormente por Ramalho et al. (2008).

Uma vez que o RDR apresenta como maior desvantagem a necessidade de coleta de duas amostras de sangue no mesmo dia e o retinol basal não refletir as reservas hepáticas de vitamina A, já que podem ser encontradas concentrações séricas adequadas de retinol em indivíduos com baixas reservas hepáticas de VA (Flores et al., 1984; Weinman et al., 2007; Ramalho et al., 2008), o +S30DR pode ser uma boa alternativa uma vez que apresenta boa sensibilidade em relação ao RDR, pode apresentar melhor aceitação pelos indivíduos uma vez que não há necessidade de duas coletas de sangue no mesmo dia do exame e, capacidade de ser usado em populações que apresentem muitos indivíduos com hipovitaminose A subclínica como a encontrada.

O +S30DR além de ser um bom teste diagnóstico conforme já descrito anteriormente (Flores et al., 1984; Ferraz et al., 2004), é considerado também adequado para prevenir a DVA em crianças, uma vez que a administração de 200000 UI de vitamina A é capaz de aumentar as concentrações séricas de retinol e mantê-las em valores superiores aos encontrados pré-suplementação por até 6 meses da administração dessa dose (Assis; Barreto, 2002), sendo capaz de prevenir a tão prevalente deficiência subclínica de vitamina A e suas consequências (Perlas, 1996; World Health Organization, 1996).

Dentre os três métodos estudados, o +S30DR foi o único que demonstrou ser o sexo masculino um fator de risco para a DVA, resultado semelhante ao encontrado por grandes inquéritos epidemiológicos (Yamamura et al., 2004). Além disso, foi positivo sempre que se detectou retinol basal com concentrações inferiores a $0,7\mu\text{mol/l}$, talvez refletindo ainda melhor que o RDR os indivíduos que realmente apresentavam baixas reservas hepáticas de vitamina A.

A importância de se detectar o mais precoce e precisamente possível a deficiência de algumas vitaminas, particularmente da vitamina A, vem ao encontro aos estudos concernentes às consequências da DVA subclínica para o organismo, principalmente no Brasil onde ainda é baixa a prevalência de alterações oculares decorrentes da DVA (Ramalho et al., 2008).

Nos últimos anos, principalmente em decorrência do fenômeno da inversão nutricional, cada vez menos têm sido encontradas crianças com desnutrição proteico-calórica primária (Lipton, 2001), tal fato também foi verificado neste trabalho, detectando-se dentre as crianças estudadas somente uma com emagrecimento e duas com baixo peso. Nenhuma teve baixa estatura.

A desnutrição proteico-calórica pode estar associada com a deficiência de micronutrientes, dentre eles, a vitamina A (Ramalho et al., 2008), no entanto, neste trabalho, dentre as crianças consideradas deficientes dessa vitamina, nenhuma apresentou desnutrição proteico-calórica, possivelmente pelo pequeno número de crianças desnutridas.

O encontro de pequeno número de crianças desnutridas e sua não relação com DVA também foi descrito anteriormente por Ferraz et al. (2004) estudando pré-escolares na mesma região onde foi realizado este trabalho. Tal fato reforça a hipótese de que a DVA no Brasil apresenta uma história independente da evolução da desnutrição energética e proteica do país (Ramalho et al., 2008).

São antigos os estudos que evidenciam ser a alimentação um dos fatores capazes de modular o crescimento somático, porém pouco se sabe ainda sobre o papel de cada nutriente na regulação do crescimento, quer seja através do GH (hormônio do crescimento) ou do IGF-1 (*insulin growth factor - 1*) (Mendez, 1985).

Mesmo não tendo sido encontradas crianças apresentando baixa estatura nesta população, dada a prevalência de DVA subclínica e da ocorrência de estudos relacionando a vitamina A com o crescimento é importante aprofundar o conhecimento sobre a influência dessa deficiência vitamínica para o crescimento (Mendez, 1985).

Em recente estudo realizado em adolescentes do sexo feminino em Bangladesh, após a suplementação diária de micronutrientes no período de um ano (foi oferecido 50% das necessidades diárias de vitamina A, além de outros nutrientes), verificou-se que após 6 meses de estudo houve melhora do ganho ponderal, índice de massa corporal e circunferência braquial (Hyder et al., 2007).

Apesar de não ter sido possível determinar se o responsável por esse incremento foi um nutriente isolado ou associação de vitaminas e minerais, pôde-se verificar também que houve melhora das concentrações séricas de vitamina A, contudo, este trabalho não foi suficiente para elucidar o real papel da vitamina A em melhorar o crescimento (Hyder et al., 2007).

Alguns estudos têm sido feitos no sentido de verificar o efeito da suplementação da vitamina A em crianças, e em alguns, foi observado melhora do crescimento naquelas com DVA (Bahl et al., 1997; Donnen et al., 1998; Hadi et al., 2000), uma provável explicação para esse incremento estatural verificado nas crianças com DVA pode ser devido ao aumento das concentrações séricas de IGF-1, fato corroborado recentemente por Kheirvari et al. (2008) que verificaram aumento nas concentrações séricas

de NGF (fator de crescimento nervoso) após a suplementação de vitamina A em ratos com deficiência dessa vitamina.

Em cobaias alimentadas com dietas com DVA, Fu et al. (2001, 2002) observaram redução do peso corporal, baixas concentrações séricas de IGF-1 e, conforme eram mantidas dietas pobres em vitamina A, também ocorria retardo de crescimento somático. Estes autores sugeriram que a redução sérica do IGF-I deve ter sido causada pela diminuição hepática do RNA-mensageiro de IGF-1.

O presente trabalho também observou o efeito da suplementação da vitamina A, desta vez nas concentrações séricas de IGF-1 em escolares com e sem DVA, tendo verificado que 30 dias após a administração de vitamina A, nos indivíduos apresentando hipovitaminose A ocorreu incremento das concentrações séricas de IGF-1, o mesmo não acontecendo nas crianças com estado adequado de vitamina A ou naquelas apresentando DVE.

Sendo assim, são necessários mais estudos para identificar se o papel desempenhado pela vitamina A é na regulação da secreção IGF-1 ou ainda, se apresenta alguma ação na proliferação de células somatotrofas ou na secreção de GH. Estudos recentes têm apontado que o IGF1R pode também constituir um outro ponto de regulação da vitamina A sobre o sistema IGF (Decensi et al., 2009).

Os receptores dos fatores de crescimento são expressos em várias células, atuando, por exemplo, na diferenciação e multiplicação celulares, não se conhecendo, entretanto como esses diferentes fatores de crescimento interagem entre si, e tampouco, suas interações na célula, de forma a promover as respostas fisiológicas (Kheirvari et al., 2008; Martin et al., 2008).

Nossos resultados sugerem que a vitamina A possa de alguma forma contribuir para o crescimento longitudinal do indivíduo, contudo devido ao curto período de seguimento dessas crianças, não foi possível a confirmação desse dado.

Conforme já verificado em diversos estudos, a associação da deficiência das vitaminas A e E pode ser encontrada, principalmente em países subdesenvolvidos (Leotsinidis et al., 2000; Schulpis et al., 2004; Dzieniszewski et al., 2005; Gouado et al., 2005; Obeid et al., 2006. Kwena; Nyandieka, 2006; Weiss; Litonjua, .2008). O presente trabalho, além das crianças apresentando DVA, também detectou crianças com DVE.

Ao início da pesquisa, 7,5% das crianças apresentaram concentrações séricas de α -tocoferol aquém do recomendado (inferiores a 7 $\mu\text{mol/l}$), esta baixa prevalência pode ser devido ao consumo de feijão, além do acréscimo de óleo de soja no preparo dos alimentos, considerados boas fontes de vitamina E (World Health Organization, 1998).

Apesar da existência de diversos trabalhos apontando a associação da deficiência de vitaminas lipossolúveis, as interações bioquímicas entre esses micronutrientes não foram completamente elucidadas e vários trabalhos tem sido feitos no sentido de compreender melhor essas vias (Lietz; Hesketh, 2009).

O impacto da suplementação da vitamina A sobre alguns micronutrientes foi verificado previamente por Jimenez et al. (2009), onde foi verificado que após 30 dias da administração de 200000UI de vitamina A a pré-escolares ocorreu incrementos nas concentrações de hemoglobina, volume corpuscular médio e retinol basal em relação aos valores ocorridos pré-suplementação.

O presente trabalho verificou que, ao final de um mês da suplementação de vitamina A, além de incremento das concentrações de retinol e IGF-1, foi encontrada tendência de melhora das concentrações séricas de vitamina E ($p < 0,10$), melhora significativa

nas concentrações séricas de vitamina E ocorre quando as crianças deficientes de vitamina A são analisadas ($p < 0,05$). Até o momento, entretanto, não existem estudos em crianças na idade escolar realizados com o objetivo de avaliar o estado de vitamina E após a suplementação de vitamina A.

Sabe-se, contudo que as vitaminas A e E são requeridas em importantes processos fisiológicos tais como a gravidez e o crescimento e que as vitaminas A e E têm efeito anti-oxidante (Schulpis et al., 2004; Black et al., 2008).

Na prematuridade pode ocorrer aumento da peroxidação lipídica causado por radicais livres de oxigênio os quais podem ocasionar sérias consequências a esses pacientes. A suplementação somente de vitamina E não exerce efeito algum nesses prematuros, contudo naqueles com DVA, a suplementação dessa vitamina exerce potente papel anti-oxidante. (Schwarz et al., 1997), sugerindo que a vitamina E isolada não tem papel protetor no stress oxidativo.

Em gestantes infectadas pelo HIV, após a suplementação de vitamina A, não foi verificado aumento das concentrações séricas de vitamina E em seus recém-nascidos (Baylin, 2005), contudo tal fato pode ter sido devido a baixa eficiência na transferência placentária de vitamina E (Brigelius-Flohe et al, 2002).

Apesar de não ter sido o escopo principal do trabalho de Lin et al. (2009) ao analisarem os fígados de 24 ratos alimentados com três tipos de dietas: controle (dieta padrão do laboratório), dieta com 30% de etanol e dieta com 30% de etanol acrescida de 10% de beta-caroteno, encontraram, respectivamente $81,03 \pm 25,85$, $78,78 \pm 15,29$ e $82,16 \pm 16,67 \mu\text{g}$ de α -tocoferol/g de fígado. Ainda que não houvesse diferença estatística entre os três grupos ($p > 0,05$), talvez pelo pequeno número de ratos do estudo, pode se verificar que houve certo aumento na concentração de α -tocoferol hepática, devido provavelmente à suplementação de vitamina A.

Sabe-se que as vitaminas A e E exercem papel importante na prevenção do stress oxidativo, porém o mecanismo para que essa proteção ocorra ainda não foi totalmente elucidado (Alpsoy et al., 2009).

Uma vez que nosso trabalho verificou que a suplementação de vitamina A provoca aumento nas concentrações séricas de vitamina E nas crianças com DVA ($p < 0,005$), podemos supor que pelo menos parte do efeito anti-oxidante da vitamina A deve ser mediado através do incremento nos índices séricos de vitamina E.

5- CONCLUSÕES

5- CONCLUSÕES

A DVA subclínica foi prevalente nesta população e considerada um problema de saúde público moderado, apesar do encontro de pequeno número de crianças consideradas desnutridas.

O retinol basal ainda é muito empregado em estudos populacionais contudo, os testes de resposta à dose são superiores devido à sua capacidade de refletir indiretamente os estoques hepáticos. O teste de resposta à dose mais utilizado na detecção de DVA subclínica é o RDR, no entanto o +S30DR pode ser uma boa alternativa em escolares, pois além de apresentar uma boa capacidade diagnóstica é considerado terapêutico por até 6 meses após a execução do teste.

Houve aumento das concentrações séricas de IGF-1 e vitamina E nas crianças com DVA suplementadas com vitamina A. Por outro lado, não houve variação significativa nas concentrações de IGF-1 ou de vitamina E nos indivíduos não deficientes de vitamina A. Tal fato pode sugerir um papel importante da vitamina A nas vias do metabolismo humano dependentes de IGF-1 ou de vitamina E.

6- Referências Bibliográficas ⁴

⁴ De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver Style) – Grupo de Vancouver

Referências Bibliográficas

- Akazawa N, Taniguchi K, Mikami S. Effects of vitamin A deficiency on the function of pituitary-gonadal system in male rats. *Nippon Juigaku Zasshi*. 1989;51(6):1209-1217.
- Akbay E, Arbağ H, Uyar Y, Ozturk K. Oxidative stress and antioxidant factors in pathophysiology of allergic rhinitis. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*. 2007;17(4):189-196.
- Al-Saleh I, El-Doush I, Billedo G, Mohamed Gel-D, Yosef G. Status of selenium, vitamin E, and vitamin A among Saudi adults: potential links with common endemic diseases. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2007;26(3):221-243.
- Alpsoy L, Yildirim A, Agar G. The antioxidant effects of vitamin A, C, and E on aflatoxin B1-induced oxidative stress in human lymphocytes. *Toxicol Ind Health*. 2009;25(2):121-127.
- Amédée-Manesme O, Mourey MS, Hanck A, Therasse J. Vitamin A relative dose response test: validation injection in children with liver disease. *Am J Clin Nutr*. 1987;46(2): 286-289.
- Arnaud J, Fortis I, Blachier S, Kia D, Favier A. Simultaneous determination of retinol, α -tocopherol and β -carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*. 1991;572(1-2):103-116.
- Bahl R, Bhandari N, Taneja S, Bhan MK. The impact of vitamin A supplementation on physical growth of children is dependent on season. *Eur J Clin Nutr*. 1997;51:26–29.
- Assis AMO, Barreto ML. Suplementação com vitamina A: impacto na morbidade e efeitos adversos. *Rev Bras Epidemiol*. 2002; 5(1): 84-92.
- Baqui AH, Black RE, Yunus MD, Hoque ARZ, Chowdhury HR, Sack RB. Methodological issues in diarrhoeal diseases epidemiology: definition of diarrhoeal episodes. *Int J Epidemiol*. 1991;20(4):1057-1063.
- Bardi G, Bottazzi C, Demori I, Palmero S. Thyroid hormone and retinoic acid induce the synthesis of insulin-like growth factor-binding protein-4 in prepubertal pig sertoli cells. *Eur J Endocrinol*. 1999;141(6):637-643.
- Baylin A, Villamor E, Rifai N, Msamanga G, Fawzi WW. Effect of vitamin supplementation to HIV-infected pregnant women on the micronutrient status of their infants. *Eur J Clin Nutr*. 2005;59(8):960-968.

Bedo G, Santisteban P, Aranda A. Retinoic acid regulates growth hormone gene expression. *Nature*. 1989;339(6221):231–234.

Bellovino D, Apreda M, Gragnoli S, Massimi M, Gaetani S. Vitamin A transport: in vitro models for the study of RBP secretion. *Mol Aspects Med*. 2003;24(6):411-420.

Binder H, Spiro HM, Finch SC. Autohemolysis in tocopherol deficiency secondary to steatorrhea. *Am J Med Sci*. 1966;252(6):686-8.

Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2007;297(8):842-857.

Black RE, Allen LH, Bhutta ZA, Caulfield LE, de Onis M, Ezzati M, et al. Maternal and Child Undernutrition Study Group. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet*. 2008;371(9608):243-260.

Blomhoff R, Green MH, Green JB, Berg T, Norum KR. Vitamin A metabolism: new perspectives on absorption, transport and storage. *Physiol Rev*. 1991;71(4):951-990.

Boaz M, Smetana S, Weinstein T, Matas Z, Gafter U, Iaina A, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in end stage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2000;356(9237):1213–1218.

Brigelius-Flohe R, Kelly FJ, Salonen JT, Neuzil J, Zingg JM, Azzi A. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am. J. Clin. Nutr*. 2002;76:703–716.

Brown BG, Crowley J. Is there any hope for vitamin E? *JAMA*. 2005;293(11):1387-1390.

Buyukgebiz A, Bober E, Buyukgebiz B. Vitamin A and beta carotene levels in constitutional delay of growth and puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 1997;10(1):51-54.

Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway: review. *Science*. 2002;296(5573):1655-1657.

Carr SB, McBratney J. The role of vitamins in cystic fibrosis. *J R Soc Med.* 2000;93(38 Suppl):14-19.

Centers for Disease Control and Prevention. Growth charts for the United States: methods and development. Atlanta: Series report 11(246); 2002. 201 p.

Chen L, Khillan JS. A Novel Signaling by Vitamin A/Retinol Promotes Self Renewal of Mouse ES Cells by Activating PI3K/Akt Signaling Pathway Via IGF-1 Receptor Stem Cells. 2009 Nov 4; [Epub ahead of print].

Cortez AP, de Moraes MB, Speridião PD, da Motta Mattar RH, Calanca F, Neto UF. Food Intake, Growth and Body Composition of Children and Adolescents With Autoimmune Hepatitis. *J Clin Gastroenterol.* 2009 Oct 12; [Epub ahead of print].

Custodio VI, Daneluzzi JC, Custodio RJ, Del Ciampo LA, Ferraz IS, Martinelli CE Jr, et al. Vitamin A deficiency among Brazilian school-aged children in a healthy child service. *Eur J Clin Nutr.* 2009;63(4):485-490.

Daniel WW. *Biostatistics: a foundation for analysis in the health Sciences.* 5^a ed. Nova Iorque: Wiley; 1991. 740p.

Dean AG. Epi Info and Epi Map: current status and plans for Epi Info 2000. *J Public Health Manag Pract (Hagerstown)* 1999;5(4):54-57.

Demissie T, Ali A, Mekonnen Y, Haider J, Umata M. Demographic and health-related risk factors of subclinical vitamin A deficiency in Ethiopia. *J Health Popul Nutr.* 2009;27(5):666-673.

Demori I, Balocco S, Gerdoni E, Fugassa E, Voci A. Retinoic acid increases insulin-like growth factor-binding protein-4 expression in cultured rat hepatocytes. *Horm Metab Res.* 2004;36(1):7-13.

Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF Jr. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med* 1997;337(6):408-416.

Dolinsky M, Ramalho A. Deficiência de vitamina A: uma revisão atualizada. *Compacta-Temas em nutrição e Alimentação.* 2003;4(2):7-18.

Donnen P, Brasseur D, Dramaix M, et al. Vitamin A supplementation but not deworming improves growth of malnourished preschool children in eastern Zaire. *J Nutr.* 1998;128:1320–1327.

Dupont J, Le Roith D. Insulin-like growth factor 1 and oestradiol promote cell proliferation of MCF-7 breast cancer cells: new insights into their synergistic effects. *Mol Pathol.* 2001;54(3):149-154.

Dzieniszewski J, Jarosz M, Szczygiel B, Dlugosz J, Marlicz K, Linke K, et al. Nutritional status of patients hospitalised in Poland. *Eur J Clin Nutr.* 2005;59(4):552-560.

Ernst B, Thurnheer M, Schmid SM, Schultes B. Evidence for the Necessity to Systematically Assess Micronutrient Status Prior to Bariatric Surgery. *Obes Surg.* 2009;19(1):66-73.

Evain-Brion D, Porquet D, Therond P, Fjellestad-Paulsen A, Greneche MO, Francois L, et al. Vitamin A deficiency and nocturnal growth hormone secretion in short children. *Lancet.* 1994;343(8889):87-88.

Evans HM, Emerson OH, Emerson GA. The isolation from wheat germ oil of an alcohol, alpha-tocopherol, having the properties of vitamin E. *J Biol Chem.* 1936;113(1):319-332.

Farrell PM, Levine SL, Murphy MD, Adams AJ. Plasma tocopherol levels and tocopherol-lipid: relationships in a normal population of children as compared to healthy adults. *Am J Clin Nutr.* 1978;31(10):1720-1726.

Feki M, Souissi M, Mebazaa A. Vitamin E deficiency: etiopathogenesis, clinical, histopathologic, and electrical features, and main etiologies. *Ann Med Interne.* 2001;152(6):392-397.

Ferraz IS, Daneluzzi JC, Vannucchi H. Vitamin A deficiency in children aged 6 to 24 months in São Paulo State, Brazil. *Nutr Res.* 2000;20(6):757-768.

Ferraz IS, Daneluzzi JC, Vannucchi H, Jordao AA Jr, Ricco RG, Del Ciampo LA, et al. Detection of vitamin A deficiency in brazilian preschool children using the serum 30-day dose-response test. *Eur J Clin Nutr.* 2004;58(10):1372-1377.

Fleiss JL. *Statistical methods for rates and proportions.* 2^a ed. Nova Iorque: John Wiley & Sons Inc; 1981. 342p.

Flores H, Campos F, Araujo RC, Underwood BA. Assessment of marginal vitamin A deficiency in Brazilian children using the relative dose response procedure. *Am J Clin Nutr.* 1984;40(6):1281-1289.

Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. 1^a ed. Washington D.C.: National Academy Press; 2000. 529p.

Fu Z, Noguchi T, Kato H. Vitamin A deficiency reduces insulin-like growth factor (IGF)-I gene expression and increases IGF-I receptor and insulin receptor gene expression in tissues of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *J Nutr.* 2001;131(4):1189-94.

Fu Z, Yoneyama M, Noguchi T, Kato H. Response of the insulin-like growth factor system to vitamin A depletion and repletion in rats. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2002;48(6):453-60.

Fujita M, Brindle E, Rocha A, Shell-Duncan B, Ndemwa P, O'Connor KA. Assessment of the relative dose-response test based on serum retinol-binding protein instead of serum retinol in determining low hepatic vitamin A stores. *Am J Clin Nutr.* 2009;90(1):217-24.

Gonçalves-Carvalho CMR, Amaya-Farfan J, Wilke BC, Venconvsy R. Prevalência de hipovitaminose A em crianças da periferia do município de Campinas, São Paulo, Brasil. *Cad. Saúde Pública.* 1995;11(1):85-96.

Gouado I, Ejoh RA, Kenne M, Ndifor F, Mbiapo FT. Serum concentration of vitamins A and E and lipid in a rural population of north Cameroon. *Ann Nutr Metab.* 2005;49(1):26-32.

Hadi H, Stoltzfus RJ, Dibley MJ, Moulton LH, West KP Jr, Kjolhede CL et al. Vitamin A supplementation selectively improves the linear growth of Indonesian preschool children: results from a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:507-13.

Hyder SM, Haseen F, Khan M, Schatzel T, Jalal CS, Rahman M, et al. A multiple-micronutrient-fortified beverage affects hemoglobin, iron, and vitamin A status and growth in adolescent girls in rural Bangladesh. *J Nutr.* 2007;137(9):2147-2153.

Hakim F, Kerem E, Rivlin J, Bentur L, Stankiewicz H, Bdolach-Abram T, et al. Vitamins A and E and pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007;45(3):347-353.

Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied Logistic Regression.* 1^a ed. Nova Iorque: Wiley; 1989. 307p.

Jelliffe DB. Evaluación del estado de nutrición de la comunidad: serie de monografías, 53. Ginebra: Organización Mundial de Saúde; 1968. 191p.

Jimenez C, Leets I, Puche R, Anzola E, Montilla R, Parra C et al. A single dose of vitamin A improves haemoglobin concentration, retinol status and phagocytic function of neutrophils in preschool children. *Br J Nutr.*:1-5. [Epub ahead of print]

Jones JJ, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev.* 1995;16(1):3-34.

Kheirvari S, Uezu K, Yamamoto S, Nakaya Y. High-dose dietary supplementation of vitamin A induces brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor production in mice with simultaneous deficiency of vitamin A and zinc. *Nutr Neurosci.* 2008;11(5):228-34

Kelleher SL, Lönnerdal B. Long-term marginal intakes of zinc and retinol affect retinol homeostasis without compromising circulating levels during lactation in rats. *J Nutr.* 2001;131(12):3237-42.

Kim YN, Lora KR, Giraud DW, Driskell JA. Nonsupplemented children of Latino immigrants have low vitamin E intakes and plasma concentrations and normal vitamin C, selenium, and carotenoid intakes and plasma concentrations. *J Am Diet Assoc.* 2006;106(3):385-391.

Kogai T, Ohashi E, Jacobs MS, Sajid-Crockett S, Fisher ML, Kanamoto Y et al. Retinoic acid stimulation of the sodium/iodide symporter in MCF-7 breast cancer cells is mediated by the insulin growth factor-I/phosphatidylinositol 3-kinase and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(5):1884-1892.

Kwena AM, Nyandieka HS. Diagnostic potential of serum vitamin E tocopherol and cholesterol levels in children with protein energy malnutrition in western Kenya. *J Nutr Biochem (Nova Iorque)* 2006;17(2):132-8.

Lander R, Enkhjargal T, Batjargal J, Bolormaa N, Enkhmyagmar D, Tserendolgor U et al. Poor dietary quality of complementary foods is associated with multiple micronutrient deficiencies during early childhood in Mongolia. *Public Health Nutr.* 2009; 28:1-10.

Lefebvre P, Martin PJ, Flajollet S, Dedieu S, Billaut X, Lefebvre B. Transcriptional activities of retinoic acid receptors, *Vitam Horm.* 2005; 70: 199–264.

Lehninger AL. Vitaminas e microelementos na função de enzimas. In: Lehninger AL. *Princípios de Bioquímica*. 6^a ed. São Paulo: Sarvier; 1990. p. 195-203.

Leotsinidis M, Alexopoulos A, Schinas V, Kardara M, Kondakis X. Plasma retinol and tocopherol levels in greek elderly population from an urban and a rural area: associations with the dietary habits. *Eur J Epidemiol*. 2000;16(11):1009-1016.

Li CH, Papkoff H. Preparation and properties of growth hormone from human and monkey pituitary glands. *Science*. 1956;124(3235):1293-1294.

Lietz G, Hesketh J. A network approach to micronutrient genetics: interactions with lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2009;20(2):112-20.

Lima ES. Quantity, quality, harmony and adaption: the guiding principles of a society without hunger in Josué de Castro. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2009;16(1):171-194.

Lin WT, Huang CC, Lin TJ, Chen JR, Shieh MJ, Peng HC et al. Effects of beta-carotene on antioxidant status in rats with chronic alcohol consumption. *Cell Biochem Funct*. 2009;27(6):344-50.

Lipton M. Challenges to meet: food and nutrition security in the new millennium. *Proc Nutr Soc*. 2001;60(2):203-214.

Loerch JD, Underwood BA, Lewis KC. Response of plasma levels of vitamin A to a dose of vitamin A as an indicator of hepatic vitamin A reserves in rats. *J Nutr*. 1979;109(5):778-786.

Makdani D, Sowell AL, Nelson JD, Apgar J, Gunter EW, Hegar A, et al. Comparison of methods of assessing vitamin A status in children. *J Am Coll Nutr*. 1996;15(5):439-449.

Maraini G, Williams SL, Sperduto RD, Ferris FL, Milton RC, Clemons TE, et al. Effects of multivitamin/mineral supplementation on plasma levels of nutrients. Report No. 4 of the Italian-American clinical trial of nutritional supplements and age-related cataract. *Ann Ist Super Sanita*. 2009;45(2):119-27.

Martin B, Brenneman R, Golden E, Walent T, Becker KG, Prabhu VV, et al. Growth factor signals in neural cells: coherent patterns of interaction control multiple levels of molecular and phenotypic responses. *J Biol Chem*. 2008;284(1): 2493-2511.

Martinelli Jr CE, Custódio RJ, Aguiar-Oliveira MH. Fisiologia do eixo GH-Sistema IGF. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. 2008;52(5):717-725.

Martins MC, Santos LMP, Assis AMO. Prevalência da hipovitaminose A em pré-escolares do estado de Sergipe, 1998. *Rev. Saúde Públ.* 2004;38(4):537-542.

Marzani B, Balage M, Venien A, Astruc T, Papet I, Dardevet D et al. Antioxidant supplementation restores defective leucine stimulation of protein synthesis in skeletal muscle from old rats. *J Nutr.* 2008; 138(11): 2205–2211.

Maslova E, Mora-Plazas M, Forero Y, López-Arana S, Baylin A, Villamor E. Are vitamin A and iron deficiencies re-emerging in urban Latin America? A survey of schoolchildren in Bogota, Colombia. *Food Nutr Bull.* 2009;30(2):103-111.

McLaren DS, Frigg M. Sight and life manual on vitamin A deficiency disorders. 2^a ed. Basel: Task Force Sight and Life; 2001. 176p.

Mendez H. Introduction to the study of pre-and postnatal growth in humans: a review. *Am J Med Genet.* 1985;20(1):63–85.

Miles LE, Lipschitz DA, Bieber CP, Cook JD. Measurement of serum ferritin by a 2-site immunoradiometric assay. *Anal Biochem.* 1974;61(1): 209-224.

Mogi C, Goda H, Mogi K, Takaki A, Yokoyama K, Tomida M, et al. Multistep differentiation of GH-producing cells from their immature cells. *J Endocrinol.* 2005;184(1):41–50.

Morin B, Narbonne JF, Ribera D, Badouard C, Ravanat JL. Effect of dietary fat-soluble vitamins A and E and proanthocyanidin-rich extract from grape seeds on oxidative DNA damage in rats. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(2):787-796.

Morita S, Fernandez-Mejia C, Melmed S. Retinoic acid selectively stimulates growth hormone secretion and messenger ribonucleic acid levels in rat pituitary cells. *Endocrinology.* 1989;124(5):2052–2056.

Nogami H, Hiraoka Y, Inoue K, Aiso S, Hisano S. Regulation of 5'-promoter activity of the rat growth hormone and growth hormone-releasing hormone receptor genes in the MtT/S and MtT/E cells. *Neuroendocrinology.* 2006;84(1):31-41.

Obeid OA, Al-Ghali RM, Khogali M, Hwalla N. Vitamins A and E status in an urban Lebanese population: a case study at Dar Al-Fatwa area, Beirut. *Int J Vitam Nutr Res*. 2006;76(1):3-8.

Okura Y, Tawara S, Kikusui T, Takenaka A. Dietary vitamin E deficiency increases anxiety-related behavior in rats under stress of social isolation. *Biofactors*. 2009;35(3):273-8.

Oldewage-Theron WH, Samuel FO, Djoulde RD. Serum concentration and dietary intake of vitamins A and E in low-income South African elderly. *Clin Nutr*. 2009 Aug 26. [Epub ahead of print].

Olson JA. Vitamin A. In: Rucker RB, Suttie JW, McCormick DB, Machlin L J. *Handbook of vitamins*. 2^a ed. Nova Iorque: Marcel Dekker Inc; 1991. p. 1-59.

Olson JA. Measurement of vitamin A status. *Neth J Nutr*. 1992;53(7):163-167.

Organización Mundial de la Salud. El estado físico: uso e interpretación de la antropometría. Ginebra: OMS (Serie de Informes Técnicos); 1995, 854p.

Oudit GY, Sun H, Kerfant BG, Crackower MA, Penninger JM, Backx PH. The role of phosphoinositide-3 kinase and PTEN in cardiovascular physiology and disease. *J Mol Cell Cardiol*. 2004;37(2):449-71.

Paiva AA, Rondó PHC, Gonçalves-Carvalho CMR, Illison VK, Pereira JA, Vaz-de-Lima LRA et al. Prevalência de deficiência de vitamina A e fatores associados em pré-escolares de Teresina, Piauí, Brasil. *Cad. Saúde Pública* 2006; 22(9):1979-1987.

Perlas LA, Florentino RF, Fuertes RT, Madriaga JR, Cheong RL, Desnacido JA, et al. Vitamin A status of Filipino preschool children given a massive oral dose. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*; 1996;27(4):785-791.

Raifen R, Altman Y, Zadik Z. Vitamin A levels and growth hormone axis. *Horm Res* 1996;46(6):279-281.

Ramalho RA, Flores H, Saunders C. Hypovitaminosis A in Brazil: a public health problem. *Rev Panam Salud Publica*. 2002;12(2):117-122.

Ramalho A, Padilha P, Saunders C. Critical analysis of Brazilian studies about vitamin A deficiency in maternal-child group. *Rev. Paul. Pediatr*. 2008;26(4):392-399.

Rino Y, Suzuki Y, Kuroiwa Y, Yukawa N, Saeki H, Kanari M, et al. Vitamin E malabsorption and neurological consequences after gastrectomy for gastric cancer. *Hepatogastroenterology*. 2007;54(78):1858-1861.

Ross AC. Vitamina A e retinóides. In: Shils ME, Olson, JA, Shike M, Ross AC. *Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença*. 9^a ed. São Paulo: Manole; 2002. p. 325-350.

Salmon WD Jr, Daughaday WH. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. *J Lab Clin Med*. 1957;49(6):825-36.

Santos LMP, Dricot JM, Ascitti LS, Dricot-d'Ans C. Xerophthalmia in the state of Paraíba, northeast of Brazil: clinical findings. *Am J Clin Nutr*. 1983;38(1):139-144.

Sabat R, Guthmann F, Rustow B. Formation of reactive oxygen species in lung alveolar cells: effect of vitamin E deficiency. *Lung*. 2008;186(2):115-122.

Serra-Majem L, Ribas L, Ngo J, Aranceta J, Garaulet M, Carazo E, et al. Risk of inadequate intakes of vitamins A, B1, B6, C, E, folate, iron and calcium in the Spanish population aged 4 to 18. *Int J Vitam Nutr Res*. 2001;71(6):325-331.

Schulpis KH, Michalakakou K, Gavrili S, Karikas GA, Lazaropoulou C, Vlachos G, et al. Maternal-neonatal retinol and alpha-tocopherol serum concentrations in Greeks and Albanians. *Acta Paediatr*. 2004;93(8):1075-1080.

Schwarz KB, Cox JM, Sharma S, Clement L, Humphrey J, Gleason C, Abbey H, et al. Possible antioxidant effect of vitamin A supplementation in premature infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1997;25(4):408-414.

Schwenke DC. Nutrition and metabolism: alpha-tocopherol to prevent cardiovascular disease-deficiency, dose, delivery, and developing context. *Curr Opin Lipidol*. 2008;19(2):203-207.

Shirahata A. Hepatobiliary and pancreatic disorders as risk factors for fat-soluble vitamin deficiencies. *Nippon Rinsho*. 1999;57(10):2371-2375.

Shute WE, Shute EV, Vogelsang AB. Vitamin E in angina pectoris. *Lancet*. 1948;1(6495):301.

Siegel S, Castellan NJ Jr. Nonparametrics statistics. 2^a ed. Nova Iorque: Mc Graw-Hill Int; 1988. p.399.

Singh, V, West KP Jr. Vitamin A deficiency and xerophthalmia among school-aged children in Southeastern Asia. *Eur J Clin Nutr.* 2004;58(10):1342-1349.

Sommer A, Muhilal P. Nutritional factors in corneal xerophthalmia and keratomalacia. *Arch Ophthalmol.* 1982;100(3):399-403.

Sommer A, Davidson FR. Assesment and control of vitamin A deficiency: the Anney Accords. *J Nutr.* 2002;132(9 suppl):2845-2851.

Souza WA, Vilas Boas OMGC. Vitamin A deficiency in Brazil: an overview. *Pan Am J Public Health.* 2002;12(3):173-179.

Stephensen CB, Franchi LM, Hernandez H, Campos M, Colarossi A, Gilman RH, et al. Assessment of vitamin A status with the relative-dose-response test in Peruvian children recovering from pneumonia. *Am J Clin Nutr.* 2002;76(6):1351-1357.

Supplementation with Multiple Micronutrients Intervention Trial (SUMMIT) Study Group, Shankar AH, Jahari AB, Sebayang SK, Aditiawarman, Apriatni M, Harefa B, et al.. Effect of maternal multiple micronutrient supplementation on fetal loss and infant death in Indonesia: a double-blind cluster-randomised trial. *Lancet* 2008;371(9608):215-227.

Tanumihardjo SA, Permaesih D, Dahro AM, Rustan E, Karyadi D, Olson JA. Comparison of vitamin A status assessment techniques in children from two Indonesian villages. *Am J Clin Nutr.* 1994;60(1):136-141.

Tanumihardjo SA. Assessing vitamin A status: past, present and future. *J Nutr.* 2004;134(1 suppl):290-293.

Teixeira JC, Heller L. Fatores ambientais associados à desnutrição infantil em áreas de invasão, Juiz de Fora, MG. *Rev. bras. epidemiol.* 2004;7(3):270-278.

Thissen JP, Ketelslegers JM, Underwood LE. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocr Rev.* 1994;15(1):80-101.

Thurnham DI, McCabe GP, Northrop-Clewes CA, Nestel P. Effects of subclinical infection on plasma retinol concentrations and assessment of prevalence of vitamin A deficiency: meta-analysis. *Lancet*. 2003;362(9401):2052-2058.

Tijerina-Sáenz A, Innis SM, Kitts DD. Antioxidant capacity of human milk and its association with vitamins A and E and fatty acid composition. *Acta Paediatr*. 2009;98(11):1793-1798.

Traber MG, Frei B, Beckman JS. Vitamin E revisited: do new data validate benefits for chronic disease prevention? *Curr Opin Lipidol*. 2008;19(1):30-38.

Underwood BA. Methods for assessment of vitamin A status. *J Nutr*. 1990;120(11 suppl):1459-1463.

Underwood BA. Vitamin A deficiency disorders: international efforts to control a preventable "pox". *J Nutr*. 2004;134(1 suppl):231-236.

Weinman AR, Jorge SM, Martins AR, de Assis MG, Martinez FE, Camelo JS Jr. Assessment of vitamin A nutritional status in newborn preterm infants. *Nutrition*. 2007;23(6):454-460.

Weiss ST, Litonjua AA. Childhood asthma is a fat-soluble vitamin deficiency disease. *Clin Exp Allergy*. 2008;38(3):385-387.

West CE, Eilander A, van Lieshout M. Consequences of revised estimates of carotenoid bioefficacy for dietary control of vitamin A deficiency in developing countries. *J Nutr*. 2002;132(9 suppl):2920-2926.

West KP Jr. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *J Nutr*. 2002;132(9 suppl):2857-2866.

World Health Organization. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes: report of a joint. Geneva: WHO/UNICEF (Micronutrient series,WHO/NUT/96.10); 1996. 66p.

World Health Organization. Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition. Second Edition: report of a joint. Bangkok: FAO/WHO Expert consultation. FAO/WHO non-series publication. Rome: Food and Agriculture organization; 1998. 340p.

Wright ME, Lawson KA, Weinstein SJ, Pietinen P, Taylor PR, Virtamo J, et al. Higher baseline serum concentrations of vitamin E are associated with lower total and cause-specific

mortality in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(5):1200-1207.

Yamamura CM, Sullivan KM, van der Haar F, Auerbach SB, Iohp KK. Risk factors for vitamin A deficiency among preschool aged children in Pohnpei, federated states of Micronesia. *J Trop Pediatr.* 2004;50(1):16-19.

Yang Y, Wang W, Su Y. Retinoic acid regulated insulin-like growth factor gene expression in cord blood lymphocytes. *Chin Med J (Engl)* 2001;114(2):170-172.

Zadik Z, Sinai T, Zung A, Reifen R Vitamin A and iron supplementation is as efficient as hormonal therapy in constitutionally delayed children. *Clin Endocrinol.* 2004; 60(6):682-687.

Zile MH. Function of vitamin A in vertebrate embryonic development. *J Nutr.* 2001;131(3):705-708.

Anexo A- Aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Apêndice A- Modelo do termo de consentimento livre e esclarecido utilizado no trabalho

Centro Médico Social Comunitário de Vila Lobato
 Departamento de Puericultura e Pediatria
 Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
 Universidade de São Paulo
 Fones: (16) 621-6513 (residência)
 (16) 630-0006 (Vila Lobato)
 (16) 9134-5852 (celular)

Termo de Consentimento

Nome da pesquisa:

"Avaliação de deficiência de vitamina A em escolares através dos métodos RDR e de alguns fatores de risco associados".

Pesquisadores:

Viviane Imaculada do Carmo Custódio, CRM-SP nº 97599
 Julio Cesar Daneluzzi, CRM-SP nº 13261 - orientador

Informações gerais:

Gostaria de solicitar a sua autorização para que o(a) seu (sua) filho(a) participe de um estudo de pesquisa. Esta participação é voluntária e o Sr.(a) irá receber informação atualizada durante o estudo. Se o Sr.(a) e seu (sua) filha quiserem participar, o Sr.(a) deverá entender e assinar esse documento. Caso o(a) Sr.(a) ou seu (sua) filho não concordem em participar ou quiserem desistir do estudo, isto poderá ser feito a qualquer hora, sem haver prejuízo do atendimento de seu(sua) filho(a) neste Centro de Saúde.

Motivo da pesquisa

A vitamina A é encontrada no fígado, nas gorduras animais, nos alimentos de cor amarela como na cenoura e abóbora e nas verduras de folhas verde-escuras como couve, agrião e brócoli.

A vitamina A ajuda a manter o corpo saudável. Anemia, olhos secos, dificuldade para enxergar à noite e infecções são alguns dos sinais de falta de vitamina A.

As crianças são as principais vítimas dessa falta de vitamina. Aqui no posto de Vila Lobato, foram encontradas muitas crianças com esse problema até os 6 anos de idade.

Esta pesquisa servirá para saber quantas são as crianças com falta de vitamina A na idade de 6 aos 10 anos, além disso, também serão feitos outros exames que podem estar associados com a falta de vitamina A no corpo.

Procedimentos

Para realizar esta pesquisa é necessário que o(a) Sr.(a) concorde em trazer seu filho em jejum para ser colhido sangue no braço de seu (sua) filho (a), entre 7h e 7h30min da manhã neste posto de saúde. Logo depois será dado 1 gota de vitamina A e o(a) Sr.(a) poderá ir para casa e 5 horas depois, o Sr.(a) deverá retornar com seu (sua) filho (a), para nova coleta de sangue.

Deverá ser colhido, cerca de 16 a 18 ml de sangue na primeira coleta (mais ou menos uma colher de sobremesa), e outros 2 ml na segunda coleta. Essa quantidade não fará falta no corpo de sua criança.

Na primeira coleta será medida a vitamina A e serão feitos exames para anemia, dosagem de zinco e avaliar presença de infecção. A segunda coleta de sangue será para ver se a vitamina A do

organismo da criança aumentou (e nesse caso a criança tinha falta de vitamina A) ou não aumentou, e nesse caso a criança não tinha falta de vitamina A.

Antes da primeira coleta de sangue, será procurada secura nos olhos do seu filho, que pode ser um dos sinais de falta de vitamina A. Nessa ocasião, seu filho será pesado e medido também.

O(a) Sr.(a) deverá trazer o cartão de vacinas de seu(sua) filho(a) e caso haja atraso, se não existirem contra-indicações, as vacinas serão atualizadas.

Serão feitos exames de fezes para verificar se a criança tem vermes e se for o caso, será feito o tratamento.

Se o(a) Sr.(a) quiser participar do estudo, o(a) Sr.(a) deverá responder uma entrevista. As perguntas da entrevista serão lidas pelo(a) Sr.(a) ou por nós.

Riscos e/ou desconfortos esperados

O único desconforto para seu (sua) filha será o da picada. A agulha, a seringa e os tubos de sangue serão descartáveis. A vitamina dada por nós é segura, sem riscos esperados. Em doses muito superiores (acima de 250 gotas de uma vez) pode haver vômitos, dor de cabeça e portanto o Sr.(a) não deverá dar nem tomar a vitamina A sem orientação médica.

O Sr.(a) será ressarcido por gastos adicionais relativos a transporte e alimentação relacionados a pesquisa.

Confidencialidade

Os seus dados e os dados de seu (sua) filho(a) durante a pesquisa são confidenciais. As informações pessoais não serão liberadas sem a sua permissão por escrito. Vocês não serão identificados pessoalmente em nenhuma publicação sobre o estudo.

Custos

Não haverá custos para o(a) Sr.(a) por sua participação na pesquisa.

Lesão relacionada com a pesquisa

Não há risco de lesão física ou psicológica com o estudo, entretanto, caso o(a) Sr.(a) e/ou seu (sua) filho(a) necessitem de atendimento médico em função deste estudo, o Centro Médico Social Comunitário de Vila Lobato ou o Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto lhes dará o atendimento necessário e imediato, sob minha supervisão.

Benefícios

Esta pesquisa é importante para saber quantas crianças têm falta de vitamina A no corpo, para que no futuro sejam tomadas providências para prevenir essa doença.

Seu filho irá receber vitamina A em dose segura e os exames que serão feitos poderão revelar, por exemplo, anemia, presença de vermes, e se for o caso, também serão tratados.

Após o término do estudo, os resultados serão divulgados em revistas médicas para que mais pessoas possam se beneficiar deste conhecimento, porém os dados que possam identificar o Sr.(a) ou seu (sua) filho(a) serão mantidos em segredo.

Problemas ou perguntas

Caso você tenha alguma pergunta sobre este estudo ou no caso de problemas de saúde relacionadas à pesquisa, entre em contato com Dra. Viviane Imaculada do Carmo Custódio neste posto de Saúde ou pelo telefone 9134-5852 ou 6216513.

Assinaturas

Se tiver lido todo o consentimento livre e esclarecido e/ou se ele tiver sido explicado para o(a) Sr.(a) e tiver entendido a informação, e concorda voluntariamente em participar deste estudo, por favor assine embaixo:

nome do responsável
(datilografado ou em letra de fôrma)

assinatura do responsável
data

nome da testemunha
(datilografado ou em letra de fôrma)

assinatura da testemunha
data

Eu expliquei o propósito deste estudo ao responsável pela criança. Estou certo de que ele(a) entendeu o propósito, os procedimentos, riscos e benefícios deste estudo.

Assinatura _____ Data:
Nome da pesquisadora Viviane Imaculada do Carmo Custódio

Apêndice B- Trabalho publicado pela autora durante a realização do doutorado

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)