

THALITA CREMONESI PEREIRA

**NÍVEIS DE ZINCO PLASMÁTICO E LEUCOCITÁRIO EM
ADOLESCENTES COM HEPATITE AUTO-IMUNE**

CAMPINAS

Unicamp

2009

THALITA CREMONESI PEREIRA

**NÍVEIS DE ZINCO PLASMÁTICO E LEUCOCITÁRIO EM
ADOLESCENTES COM HEPATITE AUTO-IMUNE**

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

ORIENTADOR: PROF. DR. GABRIEL HESSEL

*Dissertação escrita conforme as novas regras ortográficas do Decreto 6.583, de 29 de setembro de 2008

CAMPINAS

Unicamp

2009

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

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

P414n Pereira, Thalita Cremonesi
 Níveis de zinco plasmático e leucocitário em adolescents com
 hepatite auto-imune / Thalita Cremonesi Pereira. Campinas, SP :
 [s.n.], 2009.

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

1. .Hepatite auto imune 2. Zinco. 3. Adolescentes. 4.
Biomarcadores. 5. Glutathione. I. Hessel, Gabriel. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.
III. Título.

**Título em inglês : Plasma and leukocyte zinc levels in adolescents with
autoimmune hepatitis**

Keywords: • Autoimmune hepatitis
 • Zinc
 • Adolescents
 • Biomarkers
 • Glutathione

Titulação: Mestre em Saúde da Criança e do adolescente
Área de concentração: Saúde da Criança e do adolescente

Banca examinadora:

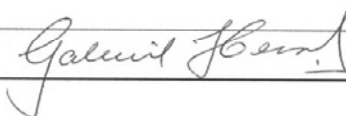
Prof. Dr. Gabriel Hessel
Profa. Dra. Maria Ângela Bellomo Brandão
Profa. Dra. Semiramis Martins Álvares Domene

Data da defesa: 26-02-2009

Banca Examinadora da Tese de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. Gabriel Hessel



Membros:

1. Prof.(a) Dr.(a) Semiramis Martins Alvares Domene



2. Prof.(a) Dr.(a) Maria Angela Bellomo Brandão



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

Data: Fevereiro/2009

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe Regina Marcia Rossi Cremonesi e ao meu pai Wilson Antonio Pereira pela dedicação à minha educação.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Gabriel Hessel pela oportunidade do trabalho, pela confiança depositada em mim e por ser um profissional e pesquisador altamente capacitado, sempre presente, contribuindo para o meio científico e para a melhora da qualidade de vida de seus pacientes.

À Dra. Nelci Fenalti Hoehr pela colaboração na realização desse trabalho e por seu entusiasmo sobre o tema dessa dissertação.

Ao Laboratório de Bioquímica do Hospital de Clínicas da Unicamp pela análise do zinco plasmático.

À nutricionista Dra. Margareth Lopes Galvao Saron pelo auxílio prestado nas análises sanguíneas.

Ao Centro de Investigação em Pediatria (CIPED), principalmente à equipe do Laboratório de Imunologia Pediátrica, representado pela coordenadora Profa. Dra. Maria Marluce Vilela, pelo apoio em materiais e equipamentos.

Às médicas do Ambulatório de Hepatologia Pediátrica Dra. Maria Angela Bellomo-Brandão e Dra. Adriana Maria Alves de Tommaso pelos auxílios e informações prestadas.

Ao Professor Dr. Wagner Alves de Carvalho da Faculdade de Química da Pontifícia Universidade Católica de Campinas pela análise em espectrofotômetro de absorção atômica.

Ao Marcelo Cremonesi Pereira, meu irmão, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Às Professoras Dra. Elizete Aparecida Lomazi da Costa Pinto e Dra. Lilia Rodrigues Freire de Souza Li pela ajuda na obtenção de adolescentes para o grupo controle da pesquisa.

Aos Professores Dr. Gil Guerra Júnior e Dr. André Moreno Morcillo pelo empréstimo do equipamento de bioimpedância elétrica.

Ao Paulo Paiva pela correção ortográfica e gramatical.

À Fapesp pelo Auxílio à pesquisa concedido a este trabalho.

À CAPES pela bolsa de estudos concedido à pesquisadora.

*“O único homem que está isento de erros,
é aquele que não arrisca acertar.”*

Albert Einstein

A deficiência de zinco em crianças ou adolescentes acarreta danos ao crescimento, desenvolvimento e ao sistema imune dos indivíduos. Essa deficiência ainda não foi investigada em pacientes com hepatite auto-imune que apresentam comprometimento hepático e utilizam medicamentos que podem causar a deficiência de vitaminas e minerais no organismo. Esta pesquisa teve por finalidade verificar a existência de deficiência de zinco plasmático e/ou leucocitário em adolescentes com hepatite auto-imune. Para isso, participaram do estudo 23 pacientes com hepatite auto-imune entre 10 e 18 anos atendidos no Ambulatório de Hepatologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Unicamp e 23 adolescentes com idade pareada com os pacientes formaram o grupo controle. Foi coletado sangue dos indivíduos dos dois grupos em quantidade suficiente para preencher dois tubos de heparina para a dosagem de zinco leucocitário e um tubo de EDTA para a análise de glutathione reduzida eritrocitária. O zinco plasmático foi analisado pelo HC/Unicamp como exame de rotina. Foi avaliado nos grupos o estado nutricional por meio da aferição de dados antropométricos como peso, altura, circunferência do braço, prega cutânea tricipital e subescapular. Somente no grupo de pacientes também foi realizado o exame de bioimpedância elétrica com aparelho que fornecia dados de resistência e reactância que foram utilizados em cálculos por equações preditivas para estimar a gordura corporal dos pacientes. A ingestão alimentar dos pacientes e do grupo controle foi avaliada pelo preenchimento, pelos próprios adolescentes, de três dias de diário alimentar. Os testes estatísticos empregados foram o de Mann Whitney, correlação de Spearman e análise de concordância interclasses. O nível de significância adotado foi de 5%. A média de zinco plasmático nos pacientes foi de 71.91 ± 11.79 µg/dl e no grupo controle foi de 80.74 ± 10.92 µg/dl, essa diferença foi significativa ($p=0.04$). O nível de zinco leucocitário nos pacientes foi igual a 222.33 ± 166.13 pmol/ 10^6 células e no grupo controle foi de 226.64 ± 217.81 pmol/ 10^6 células, não ocorrendo diferença estatisticamente significativa entre esses ($p=0.45$). A análise de glutathione mostrou média de 57.34 ± 25.95 mg/dl nos pacientes e de 52.55 ± 23.08 mg/dl no grupo controle, sem diferença estatística ($p=0.50$). A avaliação do estado nutricional mostrou que a eutrofia é prevalente nos pacientes e estes possuem maior

valor de gordura corporal que o grupo controle com diferença significativa. A ingestão alimentar média de zinco (mg/dia) foi de 9.40 ± 3.60 nos pacientes e de 10.94 ± 4.32 no grupo controle, sendo que esta diferença não foi significativa ($p=0.16$). Em comparação com as recomendações nutricionais, a ingestão de zinco e macronutrientes apresenta alta probabilidade de adequação tanto nos pacientes como no grupo controle. Entretanto, a proteína foi o único nutriente estudado que apresentou ingestão significativamente menor nos pacientes quando comparada ao grupo controle, mas ainda dentro do ideal. Conclui-se que os pacientes com hepatite auto-imune apresentam deficiência de zinco plasmático; não apresentam deficiência de zinco leucocitário; possuem ingestão alimentar adequada em relação à Zn, carboidratos, proteínas e lipídeos; não estão em estresse oxidativo e apresentam estado nutricional prevalente de eutrofia com tendência à obesidade.

Palavras-chave: hepatite auto-imune, zinco, adolescentes, biomarcadores, glutathione

Zinc deficiency in children and adolescents impairs their growing, development and immune system. This deficiency was still not investigated in patients with autoimmune hepatitis who present hepatic involvement and use medications that may cause vitamin and mineral deficiency in their organism. The aim of this research was to verify the existence of plasma and leukocyte zinc deficiency in adolescents with autoimmune hepatitis. The study comprised 23 patients with autoimmune hepatitis, aged 10-18 years, assisted at the Ambulatory Service of Pediatric Hepatology of the University of Campinas Teaching Hospital (HC/Unicamp); and adolescents with ages compatible with the patients' ages comprised the control group. Two blood tubes containing heparin for the dosage of leukocyte zinc and one tube with EDTA for analysis of reduced erythrocytic glutathione were collected from both groups. The plasma zinc was analyzed by HC/Unicamp as custom examination. The nutritional state in both groups was evaluated by anthropometric data measurement, such as weight, height, arm circumference, tricipital and subscapular cutaneous fold. Only the patient group underwent electrical bioimpedance examination with device that provided resistance and reactance data, which were used in calculations by predictive equations in order to estimate the patients' body fat. The alimentary ingestion of the group of patients and control group was evaluated by the application of a three-day alimentary inquiry, filled by adolescents. The following statistical tests were used: Mann Whitney, Spearman's correlation and interclass concordance analysis. The significance level adopted was 5%. The mean plasma zinc in patients was 71.91 ± 11.79 $\mu\text{g/dl}$, and in the control group, it was 80.74 ± 10.92 $\mu\text{g/dl}$, showing a significant difference ($p=0.04$). The leukocyte zinc level in patients was 222.33 ± 166.13 $\text{pmol}/10^6$ células, and in the control group, it was 226.64 ± 217.81 $\text{pmol}/10^6$ células; there was not statistical significance between them ($p=0.45$). The glutathione analysis showed a mean of 57.34 ± 25.95 mg/dl in patients and 52.55 ± 23.08 mg/dl in the control group; without statistical significance ($p=0.50$). The evaluation of the nutritional state showed that the eutrophy is prevalent in patients, and they presented a higher body fat value than the control group, with significant difference. The mean alimentary ingestion of zinc (mg/day) was of 9.40 ± 3.60 in patients,

and of 10.94 ± 4.32 in the control group; therefore, there was not a significant difference ($p=0.16$). In comparison with nutritional recommendations, zinc and macronutrient ingestion had a high probability of adequacy in group of patients and control group. However, the protein was the only nutrient studied that presented ingestion significantly lower in patients when compared with the control group, but within of recommended values. The results showed that patients with autoimmune hepatitis presented plasma zinc deficiency; did not present leukocyte zinc deficiency; and they showed adequate alimentary ingestion in relation to Zn, carbohydrates, proteins and lipids; as well as they were not in oxidative stress and presented prevalent nutritional state of eutrophy with obesity tendency.

Keywords: autoimmune hepatitis, zinc, adolescents, biomarkers, glutathione

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAA	anticorpo anti-actina
AAMFR	anticorpo anti-microsomal fígado-rim
AAML	anticorpo antimúsculo liso
AAN	anticorpos antinucleares
ACT	água corporal total
AI	<i>Adequate Intakes</i>
A/I	altura/idade
AIDS	síndrome da imunodeficiência adquirida
ALT	alanina aminotransferase
AST	aspartato aminotransferase
CB	circunferência do braço
CMB	circunferência muscular do braço
Cu	cobre
DEXA	<i>dual energy x-ray absorptiometry</i>
DNA	ácido desoxirribonucleico
DO1	densidade óptica da amostra antes da adição de DTNB
DO2	densidade óptica da amostra após a adição de DTNB
DP	desvio padrão
DRI	<i>Dietary Reference Intakes</i>
DTNB	<i>dithiobis nitrobenzoic acid</i>
EAR	<i>Estimated Average Requirement</i>
EDTA	<i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>
GC	gordura corporal
GGT	gama-glutamilttransferase
GO	glutathione oxidase
GPx	glutathione peroxidase
GR	glutathione reductase
GSH	glutathione reduzida
GSSG	glutathione oxidada

GST	glutathione S-transferase
%GC	porcentagem de gordura corporal
%GC1	porcentagem de gordura corporal analisada por somatória de pregas cutâneas
%GC2	porcentagem de gordura corporal analisada por bioimpedância elétrica
HAI	hepatite auto-imune
HIV	vírus da imunodeficiência humana
HC	Hospital de Clínicas
Ht%	valor de hematócrito em porcentagem
IgG	imunoglobulina G
IMC	índice de massa corporal
MLG	massa livre de gordura
NCHS	<i>national center for health statistics</i>
NHANES	<i>national health and nutrition examination survey</i>
p	valor da análise de significância de Mann Whitney ou da análise de correlação de Sperman ou da análise de concordância interclasses
P/A	peso/altura
PBS	<i>phosphate-buffered saline</i>
PCSE	prega cutânea subescapular
PCT	prega cutânea tricipital
P/I	peso/idade
RDA	<i>Recommended Dietary Allowance</i>
RNI	relação normatizada internacional da atividade de protrombina
SOD	superóxido dismutase
SPSS	<i>statistical package for social science</i>
TAC	<i>tris hydroxymethyl aminomethane-ammonium chloride solution</i>
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
UL	<i>tolerable upper intake level</i>
Unicamp	Universidade Estadual de Campinas
USDA	United States Department of Agriculture
VET	valor energético total
Zn	zinco

LISTA DE TABELAS

	PÁG.
Tabela 1- Média, desvio padrão e análise de significância (p) dos níveis de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH dos grupos de pacientes e controle.....	69
Tabela 2- Análise de correlação entre os indicadores de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH no grupo total de 46 indivíduos (grupo de pacientes com HAI + grupo controle).....	69
Tabela 3- Análise de correlação entre os indicadores de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH no grupo de pacientes com HAI e no grupo controle tomados separadamente.....	70
Tabela 4- Análise de correlação entre a dose de corticoide utilizada e os indicadores de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH no grupo de pacientes com HAI.....	70
Tabela 5- Média, desvio padrão e análise de significância (p) dos níveis de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH entre os grupos de pacientes com HAI que apresentaram (grupo A) e que não apresentaram (grupo B) sintomas que podem ser indicativos de deficiência de Zn.....	73
Tabela 6- Distribuição dos pacientes com HAI quanto aos z-escores dos índices P/A, P/I e A/I.....	74
Tabela 7- Distribuição dos pacientes com HAI quanto à classificação da PCT e PCSE.....	74
Tabela 8- Distribuição dos pacientes com HAI quanto à classificação da CMB.....	76
Tabela 9- Classificação da porcentagem de gordura corporal obtida pelos dados antropométricos (%GC1) dos pacientes com HAI.....	76

Tabela 10-	Valores médios, mínimos, máximos e desvio padrão (DP) da porcentagem de gordura corporal (%GC2), massa livre de gordura (MLG) e água corporal total (ACT) obtidos por bioimpedância elétrica no grupo de pacientes com HAI.....	76
Tabela 11-	Classificação da porcentagem de gordura corporal obtida por bioimpedância elétrica (%GC2) nos pacientes com HAI.....	77
Tabela 12-	Média e desvio padrão (DP) da ingestão energética conforme o gênero médias da idade, do peso e da altura dos pacientes com HAI e recomendação da ingestão energética.....	78
Tabela 13-	Valores de ingestão média e desvio padrão (DP) da energia, macronutrientes e Zn no grupo de pacientes com HAI e no grupo controle. Análise de significância (p) entre os grupos e valores de recomendação de energia, macronutrientes e Zn.....	80
Tabela 14-	Distribuição de pacientes com HAI quanto à adequação da ingestão de Zn e classificação desta ingestão.....	81
Tabela 15-	Comparação da ingestão dos pacientes com HAI (média±DP) com a recomendação nutricional acrescida de 30% para energia, macronutrientes e Zn.....	82

LISTA DE GRÁFICOS

	PÁG.
Gráfico 1- Correlação entre os níveis de Zn plasmático e albumina sanguínea em pacientes com HAI. Uma significativa correlação positiva foi encontrada ($r= 0.45$, $p=0.02$).....	71
Gráfico 2- Correlação entre os níveis de Zn plasmático e bilirrubina total em pacientes com HAI. Uma significativa correlação negativa foi encontrada ($r= - 0.46$, $p=0.03$).....	72
Gráfico 3- Concordância entre a porcentagem de gordura obtida com dados antropométricos (%GC1) e a obtida por bioimpedância elétrica (%GC2) em pacientes com HAI. Uma positiva concordância foi encontrada ($r= 0.87$, $p=0.027$).....	77
Gráfico 4- Correlação entre a ingestão diária de proteína e o nível de Zn plasmático no grupo total (grupo de pacientes com HAI + grupo controle). Uma significativa correlação positiva foi encontrada ($r= 0.30$, $p=0.046$).....	83
Gráfico 5- Correlação entre a ingestão de Zn e a MLG de pacientes com HAI. Uma significativa correlação positiva foi encontrada ($r= 0.56$, $p=0.01$).....	84
Gráfico 6- Correlação entre a ingestão de proteínas e a MLG de pacientes com HAI. Uma significativa correlação positiva foi encontrada ($r= 0.55$, $p=0.01$).....	85

	PÁG.
RESUMO.....	<i>xv</i>
ABSTRACT.....	<i>xvii</i>
1- REVISÃO DA LITERATURA.....	33
1.1- Hepatite Auto-Imune.....	35
1.2- Zinco.....	37
1.3- Glutathiona reduzida eritrocitária.....	47
2- OBJETIVOS.....	51
2.1- Geral.....	53
2.2- Específicos.....	53
3- POPULAÇÃO E MÉTODOS.....	55
3.1- População.....	57
3.2- Determinação de Zn plasmático.....	58
3.3- Determinação de Zn leucocitário.....	58
3.4- Determinação da GSH eritrocitária.....	59
3.5- Avaliação antropométrica.....	60
3.6- Bioimpedância elétrica.....	61
3.7- Avaliação do consumo alimentar.....	62
3.8- Outros dados utilizados.....	63
3.9- Análise estatística.....	64
4- RESULTADOS.....	65
4.1- Dados da população e do tratamento.....	67
4.2- Dados clínicos.....	67

4.3- Exames sanguíneos.....	68
4.4- Avaliação antropométrica.....	73
4.5- Composição corporal por bioimpedância elétrica.....	76
4.6- Avaliação da ingestão alimentar.....	78
5- DISCUSSÃO.....	87
6- CONCLUSÕES.....	105
7- CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES PARA PRÓXIMOS ESTUDOS.....	109
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113
9- ANEXOS.....	133
Anexo 1- Sistema de escore para o diagnóstico de HAI.....	135
Anexo 2- Parecer do comitê de ética da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp.....	138
10- APÊNDICES.....	141
Apêndice 1- Comparação dos indicadores Zn plasmático e sérico, Zn eritrocitário e Zn leucocitário quanto aos seus fatores favoráveis e limitantes apresentados pelos artigos revisados..	143
Apêndice 2- Ciclo metabólico da glutathiona.....	144
Apêndice 3- Modelo de inquérito alimentar entregue aos pacientes e grupo controle para serem preenchidos.....	145
Apêndice 4- Modelo de Questionário do grupo de pacientes.....	146
Apêndice 5- Modelo de Questionário do grupo controle.....	148

1- REVISÃO DA LITERATURA

1.1- Hepatite autoimune

A hepatite autoimune (HAI) é uma doença rara, com nível de incidência anual de 0.85 casos por 100.000 habitantes e prevalência na população de 10.93 casos por 100.000 habitantes. A HAI ocorre tanto em crianças como em adultos, sua prevalência é maior na faixa etária de 10 a 20 anos e de 45 a 70 anos, afetando em 75% dos casos o gênero feminino (Mackay et al., 1956; Cattani et al., 1957; Werner et al., 2008). A HAI caracteriza-se por ser uma doença inflamatória crônica de etiologia desconhecida, apresentando-se, em mais da metade dos casos, com sinais e sintomas parecidos com hepatite aguda viral (icterícia, colúria, anorexia). Nos outros pacientes, a apresentação é muito variável, às vezes de forma insidiosa, outras vezes com sinais de hipertensão portal e, mais raramente, como insuficiência hepática aguda (Gregorio et al., 1997). Em relação aos exames laboratoriais, observa-se na maioria das vezes presença de autoanticorpos não-órgão específicos, aumento significativo nos níveis de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e aumento discreto das enzimas canaliculares (fosfatase alcalina (FA) e gama-glutamilttransferase (GGT). Também, há elevação dos níveis séricos da gamaglobulina, imunoglobulina G e da bilirrubina direta nos casos com icterícia. Adicionalmente, há diminuição dos níveis de albumina e alargamento do tempo de protrombina (RNI) (Mowat, 1994; Porta, 2003; Bellomo-Brandão et al., 2006). Na biópsia hepática, os achados histológicos mostram frequentemente hepatite de interface, rosetas de hepatócitos e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário acentuado (Porta, 2000). O diagnóstico da HAI é feito por meio de um escore elaborado em 1993 pelo Grupo Internacional de Hepatite Autoimune e revisado pelo mesmo grupo em 1999 (Anexo 1). Este escore leva em consideração os achados clínicos, achados laboratoriais e a possibilidade de exclusão de outras causas de doenças hepáticas crônicas (Johnson e McFarlane, 1993; Alvarez et al., 1999).

A HAI é classificada em 3 tipos conforme a presença de autoanticorpos não-órgão específicos, sendo chamado de HAI tipo 1 quando se encontra o anticorpo antimúsculo liso (AAML) principalmente do tipo antiactina (AAA) e/ou anticorpos antinucleares (AAN). A HAI tipo 2 é classificada com o achado de anticorpo antimicrosomal fígado-rim (AAMFR) (Maggiore et al., 1986; Homberg et al., 1987). O

terceiro subgrupo da HAI é raro, prevalente em mulheres de 20 a 40 anos de idade, e se caracteriza pela presença do autoanticorpo solúvel do fígado e pâncreas (Strassburg e Manss, 2002).

No Brasil, a HAI apresenta frequência de 5 a 10% das doenças hepáticas na infância (Silva et al., 1986) e, assim como nos outros países, apresenta maior incidência no gênero feminino e prevalência do tipo 1 da doença (Porta, 2000; Czaja et al., 2002; Ferreira et al., 2002; Bellomo-Brandão et al., 2006). A média de idade dos pacientes brasileiros pediátricos e adultos no momento do diagnóstico é de 17 anos (Czaja et al., 2002) e entre os pacientes na faixa etária pediátrica esta média é de 8 a 11 anos (Ferreira et al., 2002; Bellomo-Brandão et al., 2006).

A HAI pode evoluir para cirrose hepática se não tratada corretamente, sendo a HAI tipo 2 com prognóstico mais grave (Homberg et al., 1987). O tratamento dessa doença baseia-se em imunossupressão por meio do uso de prednisona e azatioprina nas doses de 1 a 2 mg/kg/dia (máximo 60 mg/dia) e 1 a 2 mg/kg/dia (máximo 75 mg/dia), respectivamente. O esquema da administração constitui-se em doses altas no início do tratamento e redução destas a cada 2 meses ou conforme a evolução dos exames laboratoriais (Porta, 2003). Muitas vezes a prednisona é oferecida em dias alternados, o que diminui os efeitos colaterais da droga, tais como o aumento do apetite, fâcies cushingoide, obesidade, déficit do crescimento e da densidade óssea, hipertensão arterial, catarata e hipopotassemia. A azatioprina também tem seus efeitos deletérios, sendo que os mais comuns são trombocitopenia e leucopenia (Summerskill et al., 1975; Gregorio et al., 1997; Czaja, 2002); estudos em animais e adultos (sem HAI) mostram que esse medicamento também pode provocar alopecia (White et al., 2005; Sood et al., 2006).

A manutenção do estado nutricional nos pacientes com HAI é importante para se obter um melhor prognóstico, principalmente nos pacientes que serão submetidos a um transplante hepático. Na faixa etária pediátrica, os pacientes estão em fase de ganho de peso, crescimento e formação óssea. Entretanto, são raras as pesquisas que estudam esses parâmetros nesses pacientes e, quando o fazem, apenas há descrição do z-escore de peso/idade e z-escore de altura/idade (Ferreira et al., 2002; Bellomo-Brandão et al., 2006), sem um estudo de deficiências nutricionais específicas como a de oligoelementos.

1.2- Zinco (Zn)

1.2.1- Funções do Zn

O Zn é um mineral essencial que atua em diversas funções no organismo pelo fato de ser co-fator de mais de 300 enzimas e proteínas, dentre as quais se citam a anidrase carbônica, a fosfatase alcalina, as carboxipeptidases, a alcooldesidrogenase, a superoxidodismutase, a proteína C quinase, a acidoribonucleicopolimerase e a transcriptase reversa (Mocchegiani et al., 2000; Mafra e Cozzolino, 2004). Por isso, o Zn é importante em atividades do sistema imune, na prevenção de formação de radicais livres, no crescimento estatural, no desenvolvimento sexual e cognitivo e na síntese de DNA (Gibson, 1990; Mocchegiani et al., 2000; Wood, 2000; Mafra e Cozzolino, 2004).

1.2.2- Recomendações nutricionais e alimentos com maior quantidade de Zn

O Zn é obtido apenas por meio da alimentação, sendo encontrado em grandes quantidades nos produtos de origem animal e nos frutos do mar, principalmente nas carnes vermelhas, mariscos, ostras, fígado, miúdos e ovos (Mafra e Cozzolino, 2004). A recomendação de consumo de Zn para indivíduos saudáveis varia conforme a idade. Para lactentes a recomendação é de 2 a 3 mg/dia, para crianças e adolescentes entre 1 e 18 anos varia de 3 a 11 mg/dia, para adultos e idosos esta recomendação está entre 8 e 11 mg/dia e, para mulheres gestantes ou lactantes, o consumo ideal de Zn está entre 11 e 14 mg/dia (Institute of Medicine, 2002).

O Institute of Medicine, órgão responsável pelas recomendações de nutrientes nos EUA e Canadá, também estabeleceu o limite máximo tolerável (UL) para a ingestão de Zn em indivíduos saudáveis, a fim de evitar sinais clínicos do seu excesso no organismo, variável conforme a idade: 7-34 mg/dia para crianças e adolescentes, podendo chegar ao valor de 40 mg/dia para adultos (Institute of Medicine, 2002).

1.2.3- Biodisponibilidade e metabolismo de Zn

É importante considerar que nem toda quantidade de Zn ingerida pela alimentação é utilizada pelo organismo, pois sua biodisponibilidade pode ser afetada no processo de absorção intestinal ou já na circulação sanguínea. A absorção intestinal de Zn é diminuída por fatores antagonistas na alimentação como o fitato, o oxalato, os taninos e os polifenóis. Tal absorção, por outro lado, pode ser facilitada pela presença de aminoácidos (cisteína e histidina), fosfatos, ácidos orgânicos e proteína (Gibson, 1990; Aggett e Comerford, 1995; Lonnerdal, 2000). Na circulação pode haver competição do Zn com os minerais cobre e ferro, dependendo da quantidade desses elementos na corrente sanguínea (Mocchegiani et al., 2000).

A maior absorção de Zn parece ocorrer no jejuno, e a captação desse nutriente é regulada pela difusão ou por carreadores, sendo os últimos mais utilizados quando há baixa quantidade de Zn. Após a absorção e captação, o mineral é transportado no sangue portal, tendo o fígado a função de distribuí-lo aos outros tecidos (Jackson, 1989; Mafra e Cozzolino, 2004).

O Zn encontrado no organismo de adultos corresponde a cerca de 2 gramas, e 80% dessa quantidade está presente nos músculos e ossos (Gibson, 1990). Na corrente sanguínea, o Zn encontra-se nos eritrócitos (90%), no plasma (9%) e nos leucócitos (menos que 1%). Apesar de haver pouco Zn nos glóbulos brancos do sangue, a sua quantidade, quando calculada por número de células, é mais concentrada, sendo cerca de sete vezes maior do que nas células vermelhas (Hinks et al., 1983). O Zn encontrado no plasma está em sua maior parte ligado à albumina (80%) e os 20% restantes estão ligados à alfa-2-macroglobulina (Foote e Delves, 1983).

A eliminação do Zn do organismo é realizada por meio da urina e das fezes: por dia cerca de 0.5 mg de Zn é eliminado pela urina e 2mg de Zn é excretado pelas fezes. Contudo, quando é detectada ausência ou pequenas quantidades de Zn na alimentação, o organismo tenta conservar Zn nos tecidos e no sangue, para evitar a deficiência desse mineral e manter a homeostase do mineral. A forma como o organismo consegue realizar o mecanismo homeostático ainda permanece sem explicações definitivas, mas há evidências

de que ele se relaciona com o processo de absorção e excreção de Zn (Hambidge et al, 2000; Hambidge, 2003a; Krebs et al., 2003).

1.2.4- Deficiência de Zn

O primeiro relato de deficiência de Zn veio do Egito, em 1963, e refere que homens sofriam de retardo do crescimento e prejuízo da maturação sexual (hipogonadismo) consequente à deficiência do mineral. A ocorrência dessa deficiência, segundo os autores, provavelmente se originou de uma dieta rica em fitato, o qual pode ter inibido a absorção de Zn, aliada ao consumo alimentar com baixa concentração de Zn (Prasad et al., 1963).

Os sinais e sintomas clínicos da deficiência de Zn incluem, além dos dois fatores já citados, diminuição do apetite e paladar (hipogeusia), diminuição das funções cognitivas, acrodermatite enteropática (alopecia, diarreia, lesões na pele e imunodeficiência) e deficiências no sistema imune (Prasad, 1996; Mocchegiani et al., 2000; Wood, 2000; MacDonald, 2000).

É relatada na literatura especializada a dificuldade de se estabelecer um indicador confiável para determinar a deficiência de Zn, pois os indicadores existentes atualmente apresentam limitações que dificultam o diagnóstico correto, como as dificuldades encontradas nos processos analíticos e o mecanismo homeostático do Zn, o qual representa um fator de confundimento para interpretar os resultados (Gibson, 1990; Wood, 2000; Hambidge et al, 2000).

1.2.5- Avaliação laboratorial dos níveis de Zn

As dosagens de Zn plasmático e de Zn sérico são as mais utilizadas em pesquisas científicas devido à facilidade da análise bioquímica em estudos epidemiológicos de grande escala. Entretanto, alguns fatores podem alterar seus resultados como, por exemplo, a inflamação, o estresse e a infecção, que diminuem a quantidade de Zn no plasma, indicando uma falsa deficiência de Zn. A quantidade de Zn sérico e plasmático é

ainda afetada pela concentração de albumina, pela hemólise, pelo uso de anticoncepcionais e pelo controle homeostático (Hinks et al., 1982; Gibson, 1990; Wood, 2000; Hambidge et al., 2000). Os valores de referência para o Zn sérico e plasmático foram estabelecidos pelo estudo NHANES (1976-1980), sendo o ponto de corte de 70 µg/dl para o plasmático e a faixa de 84-96 µg/dl para o sérico conforme a idade estudada (Gibson, 1990), entretanto alguns autores utilizam outros pontos de corte para o Zn plasmático como 75 µg/dl ou 80 µg/dl (Mafra et al., 2004; Sheng et al., 2006; Yorbik et al., 2008).

A análise do Zn eritrocitário mostra-se mais elaborada que a análise do Zn plasmático e, por isso, seu uso fica limitado a populações pequenas e médias. A meia-vida dos eritrócitos é longa (120 dias) e a quantidade de Zn contida neles não reflete mudanças recentes (Gibson, 1990). Os estudos que analisaram o Zn nos eritrócitos são conflitantes, encontrando níveis muito diferentes numa mesma amostra, e tais diferenças não tiveram correlação com a idade dos indivíduos (Nishi, 1980; Gibson, 1990; Hambidge, 2003a). Em uma pesquisa com pacientes com doença renal crônica, o nível do Zn plasmático revelou-se baixo e o do Zn eritrocitário elevado em relação ao ponto de corte utilizado pelos autores (Mafra e Cozzolino, 2004). Diante desses resultados, parece que a quantidade de Zn nos eritrócitos não é constante em uma população de indivíduos semelhantes e não mantém correlação com os níveis de Zn plasmático, o que levanta problemas na interpretação dos resultados.

Quanto ao indicador Zn leucocitário, o primeiro estudo que utilizou os leucócitos como indicadores da quantidade de Zn corporal foi o de Vallee e Gibson em 1948 (Vallee e Gibson, 1948), e as dificuldades encontradas por esses autores estão presentes até hoje. Nos leucócitos e nos eritrócitos esse mineral é dosado apenas em grupos pequenos por ser de difícil análise, podendo ocorrer contaminação com o Zn presente no ambiente e na vidraria, além da possibilidade de restarem eritrócitos e plaquetas, o que superestimaria o valor do Zn leucocitário (Gibson, 1990). Apesar das dificuldades, alguns estudos têm afirmado que o Zn leucocitário é o biomarcador de maior confiança, quando comparado ao Zn plasmático e ao eritrocitário, pelo fato de refletir mudanças recentes do conteúdo de Zn, já que os leucócitos possuem meia-vida mais curta que os eritrócitos

(Caticha et al., 1996; Hambidge, 2003b). Para determinar o Zn leucocitário não há um consenso sobre a melhor técnica a ser utilizada, além do que há necessidade de grande volume sanguíneo, impossibilitando seu uso em crianças de menor idade (Gibson, 1990). Na presente revisão da literatura foram observadas variações muito grandes dos níveis médios de Zn leucocitário e seu desvio padrão, mesmo em indivíduos saudáveis (Vallee e Gibson, 1948; Hinks et al., 1982; Hambidge, 2003a), mostrando que o metabolismo do Zn dentro dos leucócitos talvez não seja constante na população saudável e que provavelmente a sua interpretação seja ainda mais difícil em pessoas doentes (Peretz et al., 1991).

Foram encontrados poucos estudos recentes que investigaram a quantidade de Zn presente nos leucócitos, já que atualmente investigações da espécie se concentram na área da nutrigenômica, na qual os pesquisadores tentam entender a variação da quantidade de Zn nos leucócitos por meio do comportamento da expressão dos genes relacionados ao Zn e aos leucócitos. Há evidências de que a homeostase de Zn nos leucócitos é regulada por diferentes expressões dos genes exportadores de Zn (Haase et al., 2007; Overbeck et al., 2008).

A tabela do Apêndice 1 faz uma comparação dos indicadores laboratoriais do estado de Zn mais utilizados nos artigos revisados, confrontando-se os fatores favoráveis e limitantes de cada indicador, conforme conclusões dos autores dos referidos artigos.

1.2.6- Outros indicadores de avaliação dos níveis de Zn

Outros indicadores que podem revelar o estado do Zn no organismo são avaliados por alguns pesquisadores como, por exemplo, a concentração de Zn na urina, nas fezes, no cabelo e na saliva, mas estes estudos mostraram não ser possível usar esses fatores como indicadores de confiança do real estado de Zn no organismo (Hambidge, 2003b; Kanabrocki et al., 2007). Algumas enzimas dependentes de Zn também são estudadas como bons indicadores, principalmente a fosfatase alcalina, a desidrogenase láctica e a ribonuclease, mas os estudos são controversos (Wood, 2000; McCall et al., 2000; Mafra e

Cozzolino, 2004). Um maior consenso parece existir em relação à metalotioneína eritrocitária, proteína dependente de Zn, que responde rapidamente a experimentos com dietas pobres em Zn e depois ricas em Zn na sequência do estudo. Um número significativo das pesquisas deixa claro que a quantidade de metalotioneína encontrada no sangue é diretamente proporcional à quantidade de Zn existente nessas dietas (Thomas et al., 1992; Sullivan et al., 1998; Hambidge, 2003b). Recentemente, estudos genéticos estão sendo realizados para encontrar os genes associados ao metabolismo do Zn e assim definir um indicador mais preciso do diagnóstico de deficiência desse mineral no organismo (Cousins e McMahon, 2000; Dieck et al., 2003; Cui et al., 2003; Cousins et al., 2003; Cousins et al., 2006; Mazzatti et al., 2007).

1.2.7- Deficiência de Zn em crianças com hepatopatias crônicas

São escassos os estudos que avaliam o nível de Zn em crianças e adolescentes portadores de doenças hepáticas crônicas. Para certas doenças, como a hepatite autoimune e a deficiência de alfa-1-antitripsina, não existem estudos exclusivos. A pesquisa dos níveis de Zn nestas duas doenças seria de grande interesse, já que a hepatite autoimune tem pico de incidência na adolescência e a deficiência de alfa-1-antitripsina é a doença de origem genética que mais causa problemas hepáticos. Existem algumas investigações que avaliam grupos de pacientes com diversas doenças hepáticas, como por exemplo, uma pesquisa de 2005 que analisou a concentração de Zn plasmático em 31 crianças e adolescentes com cirrose, das quais nove tinham o diagnóstico de hepatite autoimune. Entretanto os resultados são apresentados para o grupo total e não especificamente para os pacientes com hepatite autoimune. Os autores dessa pesquisa encontraram 42% de deficiência de Zn plasmático no grupo de pacientes. A deficiência foi relacionada com a gravidade da doença e a presença de colestase (Schneider et al., 2005).

Em outro estudo conduzido por Saner et al. em 2000, os níveis de Zn foram avaliados em crianças com doenças hepáticas crônicas, subdivididas em hepatite crônica ativa e hepatite crônica persistente. A média de Zn sérico foi significativamente menor nos pacientes do que no grupo controle, e, quando os níveis de Zn sérico foram comparados

entre os subgrupos de pacientes, observou-se que os pacientes com hepatite crônica ativa tiveram Zn sérico menor que aqueles com hepatite crônica persistente. O conteúdo de Zn nos fios de cabelos foi significativamente maior nos pacientes do que nos controles, sendo mais elevado naqueles com hepatite crônica ativa. A excreção urinária de Zn foi maior naqueles com hepatite crônica ativa do que nos portadores de hepatite crônica persistente. Verificou-se que uma maior gravidade da doença hepática altera o estado de Zn corporal, causando a deficiência de Zn, provavelmente por erros no mecanismo de distribuição e excreção desse nutriente. Por isso, os autores da pesquisa consideraram indispensável a suplementação de Zn nas doenças hepáticas crônicas (Saner et al., 2000).

Na hepatite B, o nível adequado de Zn das crianças parece ser um fator preditivo para uma boa resposta à terapia com interferon. Quanto maior o nível de Zn sérico nesses pacientes, melhor a resposta deles à terapia com interferon (Ozbal et al., 2002). Além disso, o nível de Zn sérico em crianças com hepatite B foi relacionado à atividade histológica e à inflamação portal, sendo de se observar que esses pacientes não apresentam deficiência de Zn, mas dependem de um alto valor de Zn sérico para uma boa resposta ao tratamento da doença (Selimoglu et al., 2001).

Na hepatite C, a suplementação com Zn melhorou a resposta ao tratamento com interferon e controlou o eritema acral necrolítico presente nesses pacientes. Antes da suplementação o nível de Zn sérico foi normal nos pacientes com hepatite C; mesmo assim optou-se pela suplementação de Zn sabendo-se do auxílio que este mineral fornece à resposta ao tratamento e ao controle das lesões cutâneas (El-Ghandour et al., 2006). Assim, nos pacientes com hepatite B ou C foi verificado que, apesar de o nível de Zn sérico apresentar-se na faixa adequada, a suplementação de Zn foi benéfica, principalmente para uma melhor resposta ao medicamento utilizado, podendo-se suspeitar que o ponto de corte para o Zn sérico nestes pacientes deveria ser maior que o utilizado para indivíduos saudáveis, para assim se diagnosticar mais deficiência de Zn em pacientes com hepatite B ou C.

Na doença de Wilson, caracterizada por erro no metabolismo de cobre (Cu), com a consequente ocorrência de excesso desse mineral no fígado, o enfoque quanto ao Zn é diferente do adotado para as demais doenças hepáticas crônicas, pois a suplementação

com Zn é uma das opções do tratamento dessa doença, devido à característica do Zn de competir com o cobre no processo de absorção intestinal. A alta eficácia do tratamento com Zn na doença de Wilson já é reconhecida na literatura e utilizada na maioria dos pacientes pediátricos (Hoogenraad, 2006; Merle et al., 2007). Por isso, os valores sanguíneos de Zn não são comumente analisados nos estudos de pacientes portadores de doença de Wilson. Entretanto, pode-se considerar que em portadores dessa hepatopatia crônica e não tratados seria provável a deficiência de Zn, já que o excesso de cobre provoca tal deficiência devido à competição dos dois metais na absorção intestinal. Por isso é muito importante tratar a doença de Wilson logo no início de suas manifestações clínicas, não só para controle da própria doença como também para evitar a deficiência de Zn nas crianças, impedindo futuras consequências ao crescimento e desenvolvimento destas.

Na Síndrome de Alagille, foi encontrado apenas um estudo a respeito do nível de Zn corporal, o qual foi realizado em uma mulher adulta. Nessa paciente, o Zn sérico resultou em valor abaixo da normalidade (Hofbauer et al., 1997). Uma pesquisa genética que teve como objetivo identificar e mapear os genes relacionados ao Zn humano mostrou que um destes genes foi localizado em região deficiente na Síndrome de Alagille, indicando a importância da avaliação da deficiência de Zn em pacientes portadores da referida síndrome (Tommerup e Vissing, 1995).

Narkewicz et al. (1999) mostraram que 48% das crianças hepatopatas crônicas que aguardam por transplante hepático apresentavam deficiência de Zn plasmático. Dentre as crianças que apresentaram deficiência de Zn, a excreção urinária do mineral mostrou-se alta, e a concentração de albumina, proteína ligante ao Zn plasmático, foi baixa. Após 14 dias da realização do transplante hepático, estas crianças anteriormente deficientes em Zn apresentaram valores plasmáticos normais e redução da perda de Zn na urina. Houve correlação do nível do Zn plasmático com a albumina, mas não com a fosfatase alcalina, enzima dependente de Zn. As doenças apresentadas pelas crianças desse estudo eram variadas, compreendendo atresia biliar, falência hepática fulminante não viral, hepatite autoimune, Síndrome de Alagille, colangite esclerosante primária, doença hepática metabólica, estreitamento do ducto biliar pós-transplante hepático, doença de Wilson e Síndrome de Budd Chiari. Infelizmente os autores não dizem quais destas doenças tinham

as crianças que apresentaram deficiência de Zn antes do transplante, mas concluem que essa deficiência é comum em crianças e adolescentes com doenças hepáticas crônicas de alta gravidade e à espera de transplante hepático. Os autores sugerem o uso de mais de um indicador do estado de Zn para interpretar melhor os dados, já que o Zn plasmático não é considerado um bom indicador. No caso, os autores utilizaram além do Zn plasmático, o Zn urinário, levantando a hipótese de que o fígado prejudicado pela doença é um importante fator de desregulação da homeostase renal de Zn, a qual é corrigida após o transplante hepático (Narkewicz et al., 1999).

Em outro trabalho com crianças portadoras de doença colestática hepática crônica no estágio final e à espera de transplante hepático, os autores observaram elevação do nível de Zn no tecido hepático, fato não entendido por eles (Phillips et al., 1996). Comparando-se esse aos outros estudos que avaliaram o Zn no sangue, pode-se sugerir que as crianças com doenças hepáticas crônicas têm um metabolismo de Zn alterado, acarretando uma aparente concentração desse mineral no fígado e sua incorreta distribuição aos outros tecidos do corpo, dentre eles o sangue, causando baixos valores de Zn no plasma e no soro. Entretanto, a quantidade de Zn dentro das células sanguíneas ainda não foi investigada nos estudos com crianças hepatopatas crônicas. Em adultos com doenças hepáticas crônicas, a investigação do nível de Zn é mais frequente, e tais estudos apresentam mais de um indicador do estado de Zn corporal, além de estar presente a polêmica do melhor biomarcador para diagnosticar a deficiência de Zn. Ressalta-se que o público-alvo mais importante para pesquisas referentes ao Zn são as crianças e adolescentes, já que, nos adultos, os sinais e sintomas da deficiência desse mineral são menos graves e intensos.

Peretz et al. (1991) estudaram adultos com cirrose alcoólica, mostrando que o Zn plasmático era baixo e o Zn leucocitário normal (frações de células mononucleadas e polimorfonucleadas). Os autores não encontraram correlação do Zn leucocitário com o Zn plasmático, com a idade dos pacientes, com o nível de albumina nem com a fosfatase alcalina (Peretz et al., 1991). Em outra pesquisa também se encontraram níveis de Zn plasmático baixos em pacientes com cirrose alcoólica ou não alcoólica, correlacionando-se com o nível de albumina sanguínea. Entretanto, o Zn leucocitário foi baixo somente na

fração de células polimorfonucleadas dos casos mais graves (presença de ascite, encefalopatia hepática, índices alterados de albumina, bilirrubina e tempo de protrombina). Nesta pesquisa, o Zn eritrocitário revelou-se elevado nos pacientes com cirrose alcoólica, mostrando que o Zn plasmático e o Zn leucocitário analisados ao mesmo tempo oferecem indicadores de maior confiança do que o Zn eritrocitário (Goode et al., 1990).

A mesma preocupação com os casos mais graves de cirrose hepática é relatada em outro estudo em que os pacientes cirróticos descompensados tiveram menor valor de Zn sérico, quando comparados aos controles e aos cirróticos compensados. Nos casos de cirrose descompensada, a excreção de Zn urinário mostrou-se maior e foi relacionada ao uso de diuréticos. A hiperzincúria foi tida como a principal responsável pelos baixos níveis de Zn sérico, juntamente com a pequena ingestão dietética de Zn e de proteínas e, ainda, com a má absorção intestinal de Zn. Também nessa pesquisa os autores verificaram que a suplementação com Zn levou à diminuição da amônia sanguínea, contribuindo para evitar a encefalopatia hepática nos pacientes com cirrose descompensada (Yoshida et al., 2001). Lembra-se que, na cirrose descompensada, há muitas vezes a orientação médica para uma dieta específica, com a exclusão, por exemplo, de alimentos de origem animal, a fim de diminuir a ingestão de aminoácidos que poderiam potencializar a sintomatologia clínica da doença. São justamente tais alimentos que contêm maior quantidade de Zn e, se não ingeridos, ensejam o estabelecimento de deficiência de Zn em pacientes mais graves.

Dentre todos os fatores que podem levar à deficiência de Zn, ressalta-se o uso de medicamentos diuréticos e corticoides, muitas vezes administrados em pacientes hepatopatas, os quais provocam a alta excreção de Zn pela urina (Peretz et al., 1989; Milanino et al., 1993). Além disso, as pesquisas referem que a deficiência de Zn plasmático muitas vezes é relacionada com a quantidade de ácido fítico presente nas refeições dos indivíduos, antagonista à absorção de Zn (Hambidge et al., 2003a). Não foram encontradas pesquisas que avaliem a quantidade de ácido fítico na alimentação de crianças ou adultos com doenças hepáticas crônicas. Um estudo brasileiro com crianças e adolescentes saudáveis entre 7 e 14 anos mostrou que a alimentação fornecida na escola continha baixo conteúdo de Zn e altas razões molares fitato:Zn e fitatoxcálcio:Zn/MJ, o que pode comprometer a biodisponibilidade do Zn alimentar desses indivíduos (Domene et al., 2008).

Dentre todas as funções do Zn, está a atividade de atuar como um antioxidante na defesa contra os radicais livres do organismo. Por isso, há interesse dos pesquisadores em estabelecer como é realizado esse mecanismo antioxidante do Zn e se tem relação com a glutathione, uma das principais substâncias antioxidantes presente no organismo, também responsável pelo combate aos radicais livres (Cousins et al., 2006).

1.3- Glutathione reduzida eritrocitária

A glutathione é um tripeptídeo (γ-L-glutamyl-L-cysteinyl-glycine) que possui ação antioxidante na remoção de radicais livres. O fígado é o principal local da síntese de glutathione, mas essa síntese depende da disponibilidade de cisteína e glutamylcisteína. A glutathione é mais encontrada no fígado, baço, rins, objetivas, eritrócitos e leucócitos, onde sua forma pode ser livre ou ligada a proteínas. A maior parte da glutathione livre está presente na sua forma reduzida (GSH), a qual durante o estresse oxidativo pode ser transformada para a forma oxidada (GSSG) pela ação da enzima glutathione peroxidase (GPx) ou glutathione oxidase (GO). Por sua vez, a forma oxidada de glutathione é revertida novamente para a forma reduzida por meio da enzima glutathione reductase (GR), formando assim um ciclo metabólico, sendo que, caso a capacidade da GR se exceda, a GSSG é exportada para as células. Esse ciclo metabólico da glutathione é demonstrado por meio de uma figura que consta no Apêndice 2. Outra enzima importante nesse ciclo é a glutathione S-transferase (GST), que catalisa a conjugação da GSH com compostos produzidos durante o estresse oxidativo. Muitos estudos examinam os níveis da glutathione e de suas formas enzimáticas em diversas situações, sendo seu princípio o de que níveis elevados de GSH indicam haver resistência adequada das células contra o estresse oxidativo, e de que o aumento da GSSG indica a ocorrência de estresse oxidativo no organismo. A primeira linha de defesa do organismo contra os radicais livres é formada pela GPx juntamente com a superoxidodismutase, que é uma enzima independente do ciclo da glutathione, e a segunda linha de defesa do organismo é formada pela GST (Beutler et al., 1963; Rover Júnior et al., 2001).

Pesquisas dos níveis de glutathione em seres humanos são feitas tanto em indivíduos saudáveis como em doentes, sendo que a maioria delas é realizada com adultos. Encontrou-se estresse oxidativo em pacientes com osteoartrite, AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida), hipertensão arterial sistêmica, doença celíaca e fibrose cística (Moreno et al., 2006; Pavao et al., 2006; Innis et al., 2007; Stojiljković et al., 2007; Surapaneni e Venkataramana, 2007). As pesquisas deixam evidente que pacientes hepatopatas crônicos apresentam distúrbio no sistema antioxidante relacionado à glutathione, o que pode prejudicar o prognóstico da doença (Czuczejko et al., 2003). Entre os pacientes com hepatopatias, a cirrose é um fator muito estudado como tendo correlação com os níveis de glutathione e tem-se encontrado maior estresse oxidativo nos pacientes com cirrose mais grave e nos pacientes mais idosos (Loguercio et al., 1996; Siqueira et al., 2008). Foi também encontrado prejuízo no metabolismo da glutathione em crianças com esteatose hepática não alcoólica (Nobili et al., 2005).

Em uma pesquisa com HAI, com a maior parte da amostra composta por adultos, encontraram-se níveis baixos de glutathione total (GSSG+GSH), mas a razão GSSG/GSH foi normal em relação aos controles, o que mostra que, apesar do nível da glutathione ser baixa, o ciclo da glutathione está equilibrado e, assim, está sendo eficiente para evitar o estresse oxidativo nesses pacientes (Pemberton et al., 2004). Outra pesquisa com adultos diagnosticados com HAI avaliou a expressão genética para GST e encontrou níveis normais desta (Kadokawa et al., 2007). Em alguns pacientes que sofreram transplante hepático e que apresentaram HAI após o mesmo, doença denominada como “de novo HAI”, foi encontrado um anticorpo diferente dos habitualmente encontrados nesta doença: tal anticorpo age contra a GST. Sendo assim, pesquisas referentes à glutathione são importantes também nos pacientes transplantados (Aguilera et al., 2001).

Alguns fatores são relacionados por melhorar ou prejudicar os níveis de glutathione, e o corticoide é um deles, tendo-se constatado, em uma pesquisa, que sua administração em ratos aumentou os níveis sanguíneos de GPx e de GSH (Yildirim et al., 2007), mas que não afetou os níveis sanguíneos de GR, segundo outra pesquisa (Ozmen, 2005). No tecido hepático o corticoide fez com que os níveis de GSH e GPx diminuíssem (Beytut e Aksakal, 2003). Estudos em humanos mostram que a aplicação

em adultos do corticoide em forma de creme melhorou os níveis de glutathione sanguínea (Kaur et al., 2003), mas a administração em comprimido diminuiu os níveis de GR no tecido pulmonar (Walther, 2004) e reduziu também a GPx nos eritrócitos em pacientes com problemas respiratórios (Varshavskiĭ et al., 2003). Portanto, os estudos com corticoides mostram alterações diferentes no nível de glutathione, as quais variam conforme o tipo de medicamento usado, a doença estudada e o tecido em que a glutathione foi analisada.

Um maior consenso é observado em relação à influência do uso de vitaminas e/ou minerais na melhora do sistema antioxidante da glutathione como, por exemplo, o benefício do uso de selênio e zinco nos níveis sanguíneos de GPx em ratos (Kesik et al., 2008), a melhora com o uso de vitamina E e selênio nos níveis hepáticos da glutathione em ratos tratados com corticoides (Beytut e Aksakal, 2003) e a melhora do combate aos radicais livres gerados no tecido hepático de ratos suplementados com as vitaminas A, C e E (Zaidi et al., 2005). Em humanos algumas pesquisas são feitas nesse sentido mostrando, por exemplo, a influência negativa da baixa ingestão alimentar de zinco e selênio nos níveis de GPx em idosas hospitalizadas (Schmuck et al., 1996), além do benefício da suplementação com proteínas do soro do leite em crianças com AIDS (Moreno et al., 2006) e o aumento da razão GSH/GSSG com o uso de colina em crianças com fibrose cística (Innis et al., 2007).

Considerando, por um lado, os benefícios de um adequado nível de Zn no organismo, principalmente em crianças e adolescentes, e, por outro, a escassez de pesquisas que avaliem o estado desse mineral em indivíduos com hepatite autoimune, é de grande valor a investigação dos níveis de Zn nesses pacientes, a fim de se estabelecer a magnitude da deficiência de Zn em crianças e adolescentes com hepatite autoimune e, em decorrência, sugerir a adoção de medidas preventivas ou terapêuticas para essa deficiência.

2- OBJETIVOS

2.1- Geral

Verificar a existência de deficiência de Zn plasmático e/ou Zn leucocitário em adolescentes com HAI.

2.2- Específicos

Verificar a ingestão alimentar de Zn, energia e macronutrientes dos pacientes e comparar com as recomendações nutricionais;

Verificar a existência de sinais clínicos indicadores da deficiência de Zn nos pacientes;

Analisar a ocorrência de estresse oxidativo nos pacientes por meio da análise da glutathiona reduzida (GSH) eritrocitária;

Avaliar o estado nutricional dos pacientes por meio de parâmetros antropométricos, além de analisar a porcentagem de gordura corporal desses pacientes através da bioimpedância elétrica;

Comparar os dados antropométricos, dietéticos e os exames sanguíneos (Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH eritrocitária) dos pacientes com os dados do grupo controle.

3- POPULAÇÃO E MÉTODOS

3.1- População

Esta pesquisa de delineamento transversal e descritivo foi aprovada pelo comitê de ética da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp conforme Parecer nº 676/2005 (Anexo 2), e todos os participantes deram seu consentimento para participação por meio da assinatura de seus pais e/ou responsáveis no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Avaliaram-se os pacientes com HAI de ambos os gêneros e de 10 a 18 anos que frequentavam o ambulatório de hepatologia pediátrica do Hospital de Clínicas (HC) da Unicamp para acompanhamento da doença, no período de janeiro de 2007 a março de 2008. Conforme os pacientes retornavam ao ambulatório, uma nova data era marcada para realização da coleta de sangue já que os pacientes deveriam estar em jejum de 8 horas e também era entregue aos mesmos o diário alimentar a ser preenchido. No mesmo dia da coleta de sangue foram obtidos os dados antropométricos, foi realizada a bioimpedância elétrica e ao pacientes devolveram o diário alimentar já preenchido.

Foi formado um grupo controle composto por indivíduos aparentemente saudáveis assemelhados por idade com o grupo de pacientes. Este grupo foi formado por irmãos saudáveis dos pacientes com HAI e por adolescentes acompanhados no HC da Unicamp por diagnóstico de constipação intestinal crônica funcional, doença que aparentemente não causa mudanças nos níveis de Zn. Foram realizadas nestes indivíduos as mesmas avaliações a que foi submetido o grupo de pacientes, exceto a bioimpedância elétrica.

Os critérios de inclusão no grupo de pacientes foram os seguintes: idade entre 10 e 18 anos, diagnóstico positivo de HAI, acompanhamento da doença no HC da Unicamp e aceitação da pesquisa, através de assinatura do TCLE por seus responsáveis. Já os critérios de inclusão dos indivíduos no grupo controle foram: idade entre 10 e 18 anos (desde que sua idade atual seja compatível com o grupo de pacientes variando no máximo em 6 meses em relação a estes), não possuírem doença grave, não utilização de medicamentos de uso contínuo ou suplementos alimentares e aceitação da pesquisa, através de assinatura do TCLE por seus responsáveis. Os critérios de exclusão dos indivíduos dos dois grupos foi não se adequarem com os critérios de inclusão descritos acima.

3.2- Determinação de Zn plasmático

A determinação de Zn plasmático foi feita pelo laboratório de bioquímica do HC da Unicamp pelo método de espectrofotometria de absorção atômica com o aparelho SpectrAA- 250 plus (Zeeman, Varian, Austrália). Um tubo com heparina sódica foi utilizado na coleta de 9 ml de sangue, e este foi levado a centrifugação por 10 minutos a 3000 rpm. Somente o plasma obtido pela centrifugação foi utilizado para a leitura da absorbância, após realizada a curva de calibração do aparelho. A unidade do resultado obtido foi em $\mu\text{g/dl}$, e o valor de normalidade de Zn plasmático foi o adotado pelo HC que varia de 80 a 120 $\mu\text{g/dl}$.

3.3- Determinação de Zn leucocitário

A análise do Zn leucocitário foi realizada pela pesquisadora. Toda a vidraria utilizada ficou em repouso, antes de sua utilização, por no mínimo 12 horas em solução de ácido nítrico a 10% para retirar dela qualquer resquício de Zn, e toda água utilizada foi deionizada.

Foram coletados 18 ml de sangue em tubos com heparina sódica, e o material foi analisado conforme o método de Hinks et al. (1982), adaptado por Caticha et al. (1996). Após o sangue ser transferido para um tubo Falcon, foram a ele adicionados 6 ml de dextran a 6% e 9 ml de solução salina a 0.9%. O tubo foi invertido cuidadosamente, permanecendo em repouso na posição vertical por 45 minutos. Em seguida, aspirou-se apenas o plasma, que foi transferido para outro tubo Falcon, e a ele foram adicionados 10 ml de solução fosfatada denominada *phosphate-buffered saline* (PBS), após o que o tubo foi levado à centrífuga (1200 rpm/6 minutos/4° C).

Depois de centrifugado foi descartado o soro, e ao pellet foram adicionados mais 10 ml de PBS e essa mistura foi levada para centrifugação. Esse mesmo procedimento com PBS e centrífuga foi repetido mais uma vez. Em seguida, ao pellet formado após a última centrifugação foram adicionados 4.5 ml da solução de lise denominada *tris hydroxymethyl aminomethane-ammonium chloride* (TAC), e a amostra foi levada ao agitador de tubos, permanecendo, em seguida, em banho-maria por 10 minutos a 37° C.

Imediatamente depois, a ela foram adicionados 15 ml de PBS e levada à centrífuga. Após a centrifugação, foi descartado o soro, e ao pellet branco formado foram adicionados mais 15 ml de PBS e essa mistura foi levada novamente à centrífuga. Em seguida, descartou-se novamente o soro e ao pellet branco foram adicionados 2 ml de PBS. Essa nova mistura foi levada ao agitador de tubos e imediatamente transferida para um tubo calibrado, completando com PBS até atingir 3 ml. Levou-se o tubo calibrado ao agitador de tubos, retiraram-se 10 µl para contagem celular em microscópio e os 2.99 ml restantes foram levados para centrifugação.

Após a centrifugação do tubo calibrado contendo 2.99 ml de amostra, descartou-se o soro formado, e ao pellet foram adicionados 100 µl de ácido nítrico e tal solução foi levada à estufa (155° C/ 30 minutos). Após esses 30 minutos, o tubo foi resfriado à temperatura ambiente, adicionaram-se a ele 2 ml de água deionizada, transferiu-se o conteúdo do tubo calibrado a um tubo de polietileno para congelamento e o mesmo foi congelado a -20° C até o momento da leitura de Zn. A leitura de Zn foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica com o aparelho Perkin Elmer- AAnalyst 300 (Waltham, Massachusetts, USA), após efetuada a curva de calibração do mesmo. A unidade do resultado obtido pela leitura foi em mg/l, e este transformado em pmol/l. Foi realizado um cálculo para transformar o resultado em pmol/l para pmol/10⁶ células conforme a fórmula de Hinks et al. (1982), que considera o volume da amostra e a contagem de leucócitos.

3.4- Determinação da GSH eritrocitária

A análise de GSH eritrocitária também foi realizada pela pesquisadora, com uma quantidade de 5 ml de sangue colhidos em tubo com *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), do qual foram utilizados 0.2 ml seguindo-se o método de Beutler et al. (1963), modificado por Penna (1995). A quantidade de 0.2 ml de sangue foi colocada em tubo de ensaio e foi adicionado 1.8 ml de água destilada e gelada realizando-se a hemólise. Em seguida, à amostra de sangue com água adicionaram-se 2.0 ml de solução precipitante (ácido metafosfórico). Essa mistura foi homogeneizada e permaneceu em repouso na posição vertical por 5 minutos para precipitação. Após esse tempo, filtrou-se a amostra em

filtro de papel e recolheu-se o filtrado em outro tubo de ensaio. Em 1.0 ml do filtrado foram adicionados 4.0 ml de fosfato de sódio bibásico 0.3M, 1.0 ml desta mistura foi transferida para cubeta (solução 1a) e mais 1.0 ml foi transferido para outra cubeta, adicionando-se 100 µl de solução de *dithiobis nitrobenzoic acid* (DTNB) (solução 1b). Para o preparo da solução “branca”, 1.0 ml de solução precipitante 2:5 recebeu a adição de 4.0 ml de fosfato de sódio bibásico 0.3M e desta mistura foi retirado 1.0 ml, que foi transferido para cubeta (solução 2a) e outro 1.0 ml, que foi transferido para outra cubeta com a adição de 100 µl de solução de DTNB (solução 2b). As quatro soluções (1a, 1b, 2a, 2b) foram levadas para leitura de densidade óptica. A leitura da densidade óptica foi obtida pelo espectrofotômetro Beckman DU- 70 (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) a 412 nm, e as leituras foram realizadas da seguinte maneira:

- 1º passo: leu-se a solução 2a e zerou-se o equipamento com o resultado obtido;
- 2º passo: leu-se a solução 1a, estabelecendo-se o valor DO1 (densidade óptica 1);
- 3º passo: leu-se a solução 2b e zerou-se o equipamento com o resultado obtido;
- 4º passo: leu-se a solução 1b, estabelecendo-se o valor DO2 (densidade óptica 2).

Depois de estabelecidos os valores de DO1 e DO2, foi realizado o cálculo da GSH, utilizando-se o valor do hematócrito (Ht%) do indivíduo. A fórmula utilizada e a seguir transcrita é a de Penna (1995):

$$(DO2 - DO1) \times \frac{31040}{Ht\%} = GSH(mg / dl)$$

3.5- Avaliação antropométrica

Nos grupos de pacientes e controle foram aferidos o peso corporal, com balança eletrônica Filizola com capacidade de 150 kg e divisões de 100 g, e a altura com estadiômetro vertical de madeira com régua graduada em centímetros. Também nos dois grupos foram aferidos a circunferência do braço (CB) com fita métrica graduada em mm TBW (São Paulo, SP, Brasil), a prega cutânea tricipital (PCT) e a prega cutânea

subescapular (PCSE) com adipômetro Lange com escala até 60 mm, precisão de 1 mm e pressão constante de 10g/mm²- TBW (São Paulo, SP, Brasil). As medidas de CB, PCT e PCSE foram realizadas no lado direito do corpo e, assim como para o peso e a altura, a técnica de aferição utilizada foi baseada no método padronizado por Lohman et al. (1988). A circunferência muscular do braço (CMB) foi obtida por equação com a CB e a PCT conforme Frisancho (1990) e foi classificada juntamente com a PCT e PCSE pelos percentis de Frisancho (1990).

Para PCT e PCSE foi considerada desnutrição percentil menor ou igual a 5, risco para desnutrição percentil entre 5 e 10, eutrofia os percentis entre 10 e 85 e obesidade percentil maior ou igual a 85. Para CMB foi considerada desnutrição percentil menor ou igual a 5, risco para desnutrição percentil entre 5 e 10, eutrofia percentil entre 10 e 95 e hipertrofia muscular percentil maior ou igual a 95. A porcentagem de gordura corporal (%GC) foi obtida pela equação de Slaughter et al. (1988) utilizando-se a PCT e a PCSE e foi classificada conforme adaptação dos dados de referência de Van Der Sluis et al. (2002).

O z-escore altura por idade (A/I) foi classificado conforme os novos dados internacionais de referência de 2007 (World Health Organization, 2007). Pelo fato das novas referências de 2007 ainda não trazerem o z-escore peso por altura (P/A) em seus resultados e incluir no z-escore peso por idade (P/I) apenas crianças de 5 a 10 anos, os z-escores P/A e P/I foram classificados conforme os dados de referência da NCHS de 2000 (National Center for Health Statistics, 2000). Foi considerada desnutrição z-escore menor ou igual a -2, eutrofia z-escore entre -2 e 2 e obesidade z-escore maior ou igual a 2. O índice de massa corporal (IMC) foi obtido por cálculo do peso e altura ($\text{peso}/\text{altura}^2$) e foi classificado conforme a idade pelos percentis de Must et al. (1991), que é o recomendado para a avaliação de adolescentes, considerando-se desnutrição percentil menor ou igual a 5, eutrofia percentil entre 5 e 85 e obesidade percentil maior ou igual a 85.

3.6- Bioimpedância elétrica

Os pacientes foram orientados a seguirem o protocolo para o exame de bioimpedância elétrica que incluía: jejum de 8 horas de comidas e bebidas, inclusive água; não fazer exercícios físicos a menos de 12 horas do exame; não consumir bebidas

alcoólicas a menos de 48 horas do exame; urinar 30 minutos antes do exame. Tal protocolo, assim como a técnica de aplicação da bioimpedância elétrica seguiram os métodos já padronizados por Heyward e Stolarczyk (2000). Todos os pacientes foram submetidos à avaliação da composição corporal por bioimpedância elétrica tetrapolar utilizando-se o aparelho Quantum II- 101-Q (RJL Systems, Detroit, EUA), que gera uma corrente de 800 microA com frequência de 50 kHz. Foram considerados apenas os dados dos pacientes sem ascite ou edema. Referido aparelho de bioimpedância determina os valores da resistência e reactância, e ambos os dados são utilizados em equações preditivas para se obterem os dados de água corporal total (ACT), massa livre de gordura (MLG) e gordura corporal (GC). As equações preditivas utilizadas foram as de Houtkooper et al. (1992) para MLG e a de Lohman (1989) para converter MLG em ACT. A GC foi calculada pela subtração entre a MLG e o peso corporal total e convertida em porcentagem (%GC). A %GC e a MLG foram classificadas conforme adaptação dos dados de Van Der Sluis et al. (2002). A %GC obtida pelo método de bioimpedância foi comparada ao valor de %GC resultante das pregas somente no grupo de pacientes, para verificar a concordância entre os dois métodos de avaliação da composição corporal.

3.7- Avaliação do consumo alimentar

Para a avaliação do consumo alimentar do grupo de pacientes e controle foi aplicado o método do “diário alimentar”. O modelo utilizado foi uma adaptação do modelo do “recordatório de 24 horas” desenvolvido por Thompson e Byers (1994) e consta no Apêndice 3. Seguindo a recomendação de Taylor e Dhawan (2005), relativa à conveniência da utilização de três dias alimentares para avaliação do consumo alimentar no caso de crianças com doenças hepáticas crônicas, foram entregues aos indivíduos de ambos os grupos três formulários a serem preenchidos, conforme orientação da pesquisadora fornecida aos mesmos, em três dias não consecutivos e excluindo o fim de semana. As informações fornecidas dizem respeito aos itens de sua alimentação bem como às quantidades ingeridas, em medidas caseiras.

Os dados de ingestão alimentar foram inseridos no software Diet Pro 4 (Agromídia, Viçosa, MG, Brasil), que se utiliza da tabela de composição de alimentos americana da United States Department of Agriculture (USDA). Os valores médios de ingestão de energia, macronutrientes e Zn do grupo de pacientes foram comparados com a recomendação atual das DRI (*Dietary Reference Intakes*) que traz valores em EAR (*Estimated Average Requirement*), RDA (*Recommended Dietary Allowance*), AI (*Adequate Intake*) e UL (*Tolerable Upper Intake Level*). Os valores em EAR são valores de ingestão diária para alcançar a necessidade de metade da população saudável com mesmo gênero e estágio da vida e, por meio de um cálculo, dá origem aos valores de RDA. Os valores em RDA ou AI podem ser usados como meta de ingestão para indivíduos saudáveis, sendo que foram estabelecidos para atender as necessidades de praticamente todos os indivíduos (97 a 98%) com mesmo gênero e mesmo estágio da vida. O RDA é um valor mais exato que o AI, já que este último é baseado em estudos menos sensíveis. O UL é o nível mais alto de ingestão diária contínua que se pode adotar para se evitar riscos de efeitos adversos à saúde de indivíduos saudáveis (Institute of Medicine, 2002, 2005a,b).

Os resultados de ingestão alimentar foram também comparados com a recomendação das DRI acrescidas de 30%, valor recomendado por alguns autores para crianças hepatopatas crônicas, devido ao seu hipermetabolismo (Pierro et al., 1989; Bavdekar et al., 2002; Greer et al., 2003).

3.8- Outros dados utilizados

Para coletar os demais dados da amostra foi elaborado um questionário constituído de informações pessoais, clínicas e bioquímicas para o grupo de pacientes (Apêndice 4) e outro com informações pessoais e bioquímicas para o grupo controle (Apêndice 5), os quais foram preenchidos pela pesquisadora conforme dados do prontuário de cada paciente e através das informações fornecidas por seus responsáveis. No caso de os indivíduos do grupo de pacientes ou do grupo controle não possuírem laudos de exame de hematócrito recentes, eles foram encaminhados ao HC da Unicamp, portando solicitação

para realização de rotina do referido exame, para sua posterior utilização no cálculo da GSH.

Entre as informações pessoais do grupo de pacientes destacam-se a informação do tempo de tratamento da HAI, a dose de corticoide utilizada no momento, o uso de outros medicamentos ou suplementos alimentares e o estágio puberal, este último classificado conforme Marshall e Tanner (1970). Dentre as informações bioquímicas estão os resultados recentes de exames de rotina, como hemograma, fosfatase alcalina, bilirrubina total, tempo de protrombina (RNI), gama-glutamiltransferase (GGT) e albumina plasmática. Nas informações clínicas foram avaliados sintomas comuns da doença como ascite, edema, diarreia, vômitos e os sintomas de deficiência de zinco (apetite diminuído, hipogeusia, acrodermatite e alopecia).

3.9- Análise estatística

Os dados estatísticos foram inseridos no programa SPSS (*Statistical Package for Social Science*) versão 7.5 para Windows.

Foi utilizada a análise de significância de Mann Whitney para comparar os dados do grupo de pacientes com os do grupo controle e também foi utilizada a análise de correlação de Sperman para verificar a existência de correlação entre diferentes variáveis. Os dados considerados significantes para análise de significância e correlação foram aqueles com $p < 0.05$. Apenas para comparar a %GC obtida pela antropometria com a %GC obtida pela bioimpedância elétrica foi utilizada a análise de concordância interclasses, por se tratar da comparação de dois métodos. Caso o valor de coeficiente (r) desta análise tivesse resultado acima de 0.8 seria considerado que os dois métodos de aferição da %GC apresentam concordância entre si (Siegel, 1975 a, b).

4- RESULTADOS

4.1- Dados da população e do tratamento

Foram incluídos no estudo 23 pacientes com HAI com média de idade de 12.93 ± 1.98 anos, sendo 17 do gênero feminino e 6 do gênero masculino. O grupo controle pareado por idade com os pacientes, compreendeu também 23 indivíduos com média de idade de 12.78 ± 1.99 anos.

No grupo de pacientes, dezessete pacientes foram diagnosticados com HAI tipo 1, dois pacientes com HAI tipo 2 e quatro pacientes com HAI sem classificação. As doenças associadas mais prevalentes foram a hipertensão portal, a osteopenia e a osteoporose.

Cerca de 52.2% dos pacientes (n=12) apresentaram tempo de tratamento da HAI no momento da entrevista entre 1 e 4 anos, 26.1% tinham mais que 5 anos de tratamento (n=6), 17.4% tinham menos que 1 ano (n=4) e apenas 1 paciente ainda não havia iniciado o tratamento no momento da entrevista e dos exames sanguíneos. O uso de medicamento à base de corticoide esteve presente em todos os casos de pacientes que estavam em tratamento (n=22), e a maioria deles (n=14) utilizavam o corticoide em dias alternados. A média da dose utilizada pelo grupo foi de 0.25 ± 0.22 mg/kg de peso corporal/dia, com mínimo de 0.05 e máximo de 0.9 mg/kg de peso corporal/dia. A maior parte dos pacientes em tratamento utilizava azatioprina (n=21), apenas um paciente em tratamento com corticoide ainda não utilizava azatioprina por se tratar de caso novo. Quanto à utilização de vitaminas e minerais, 78.3% dos pacientes (n=18) utilizavam ao menos um tipo de vitamina, todos os pacientes em tratamento utilizavam carbonato de cálcio (500 à 1000 mg por dia), apenas um paciente utilizava sulfato ferroso e nenhum paciente utilizava suplemento à base de Zn.

4.2- Dados clínicos

Em relação aos sintomas clínicos investigados que alteram a composição corporal como ascite, diarreia, vômitos e edema, apenas um deles, o edema, esteve presente (n=4; 17.4%) e, por esse motivo, os dados desses pacientes não foram considerados nos indicadores de composição corporal que utilizam o peso corporal.

Foram investigados alguns sinais que poderiam sugerir deficiência de Zn como apetite diminuído, hipogeusia, acrodermatite, alopecia e atraso na maturação sexual. O relato de apetite diminuído esteve presente em 21.7% dos casos (n=5), a hipogeusia em 1 caso, a alopecia ocorreu visivelmente em também 1 caso e não houve ocorrência de outros sintomas da acrodermatite. A avaliação da maturação sexual dos pacientes revelou que 82.6% destes (n=19) apresentaram maturação sexual adequada e apenas 17.4% (n=4) tiveram retardo na maturação sexual.

4.3- Exames sanguíneos

Os resultados da análise de Zn plasmático assim como os de Zn leucocitário e os de GSH são apresentados na Tabela 1, na qual se observa que o nível médio de Zn plasmático ($\mu\text{g/dl}$) no grupo de pacientes foi de 71.91 ± 11.79 e no grupo controle foi de 80.74 ± 10.92 , diferença essa considerada estatisticamente significativa ($p=0.04$). Em relação aos níveis de Zn leucocitário ($\text{pmol}/10^6$ células), observa-se na Tabela 1 que a média no grupo de pacientes foi de 222.33 ± 166.13 e no grupo controle foi de 226.64 ± 217.81 , e a diferença entre os grupos não foi significativa ($p=0.45$). Finalmente, a análise de GSH (mg/dl) apresentou valor médio de 57.34 ± 25.95 no grupo de pacientes e de 52.55 ± 23.08 no grupo controle, sem significância estatística ($p=0.50$).

Em relação aos valores de referência adotados pelo HC-Unicamp para o Zn plasmático, cuja faixa de normalidade corresponde ao intervalo de 80 até $120 \mu\text{g/dl}$, 65.2% (n=15) dos adolescentes com HAI apresentaram-se com deficiência de Zn plasmático. Dos 8 pacientes que apresentavam osteopenia ou osteoporose e utilizavam grande quantidade de suplementação de cálcio (1000 mg de sulfato de cálcio por dia), 6 tiveram deficiência de Zn plasmático.

As análises de correlação no grupo total (grupo de pacientes + grupo controle) são mostradas na Tabela 2. Verifica-se que os exames de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH não tiveram correlação entre si com valores de p igual a 0.29 para Zn plasmático e Zn leucocitário, 0.97 para Zn plasmático e GSH e 0.23 para Zn leucocitário e GSH.

Tabela 1- Média, desvio padrão e análise de significância (p) dos níveis de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH do grupo de pacientes com HAI e do grupo controle.

Variável	Média e Desvio padrão		p
	Grupo de pacientes (n=23)	Grupo de controle (n=23)	
Zn plasmático (µg/dl)	71.91±11.79	80.74±10.92	0.04*
Zn leucocitário (pmol/10 ⁶ células)	222.33±166.13	226.64±217.81	0.45
GSH (mg/dl)	57.34±25.95	52.55±23.08	0.50

* p<0.05: diferença estatisticamente significativa entre o grupo de pacientes e controle.

Tabela 2- Análise de correlação entre os indicadores de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH no grupo total de 46 indivíduos (grupo de pacientes com HAI + grupo controle).

Comparação entre variáveis	Índice de correlação (p)
Zn plasmático x Zn leucocitário	0.29
Zn plasmático x GSH	0.97
Zn leucocitário x GSH	0.23

A Tabela 3 mostra o resultado do teste de correlação realizado com os grupos separados, na qual se nota que no grupo de pacientes o valor de p entre Zn plasmático e Zn leucocitário foi de 0.62, entre Zn plasmático e GSH foi de 0.88 e entre Zn leucocitário e GSH de 0.47. Portanto, não houve correlação entre os três indicadores, quando analisado apenas o grupo de pacientes. Da mesma forma, observam-se na Tabela 3 os resultados de correlação dos indicadores de Zn e GSH, quando analisados apenas no grupo controle. Nela o valor de p entre o Zn plasmático e Zn leucocitário foi igual a 0.55, entre o Zn plasmático e GSH foi de 0.62 e entre o Zn leucocitário e a GSH foi 0.51. Portanto, também não houve correlação entre as variáveis quando o grupo controle foi analisado em separado.

Tabela 3- Análise de correlação entre os indicadores de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH no grupo de pacientes com HAI e no grupo controle tomados separadamente.

Comparação entre variáveis	Índice de correlação (p)	
	Grupo de pacientes	Grupo controle
Zn plasmático x Zn leucocitário	0.62	0.55
Zn plasmático x GSH	0.88	0.62
Zn leucocitário x GSH	0.47	0.51

A Tabela 4 mostra que a dose de corticoide utilizada pelos pacientes não se correlacionou com os seus níveis de Zn plasmático ($p=0.55$), Zn leucocitário ($p=0.92$) e GSH ($p=0.99$).

O grupo de pacientes foi subdividido entre aqueles que utilizavam a suplementação de vitaminas ($n=18$) e aqueles que não utilizavam vitaminas ($n=5$). Foi realizada análise de significância entre estes dois subgrupos em relação aos níveis de Zn leucocitário, Zn plasmático e GSH obtendo-se valores de p iguais a 0.26 para o Zn leucocitário, 0.39 para o Zn plasmático e 1.00 para a GSH. Sendo assim, nota-se que os níveis de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH não se alteram significativamente com o uso de vitaminas pelos pacientes.

Tabela 4- Análise de correlação entre a dose de corticoide utilizada e os indicadores de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH no grupo de pacientes com HAI.

Comparação entre variáveis	Índice de correlação (p)
Dose de corticoide x Zn plasmático	0.55
Dose de corticoide x Zn leucocitário	0.92
Dose de corticoide x GSH	0.99

Os outros exames sanguíneos realizados como rotina pelos pacientes com HAI como fosfatase alcalina, bilirrubina total, albumina e RNI também foram analisados quanto à correlação destes com os níveis de Zn leucocitário, Zn plasmático e GSH, encontrando-se apenas correlação positiva entre os níveis de albumina sanguínea e Zn plasmático com valor de p igual a 0.02 e coeficiente de correlação de 0.45 (Gráfico 1) e correlação negativa entre bilirrubina total e Zn plasmático com valor de p igual a 0.03 e coeficiente de correlação de -0.46 (Gráfico 2).

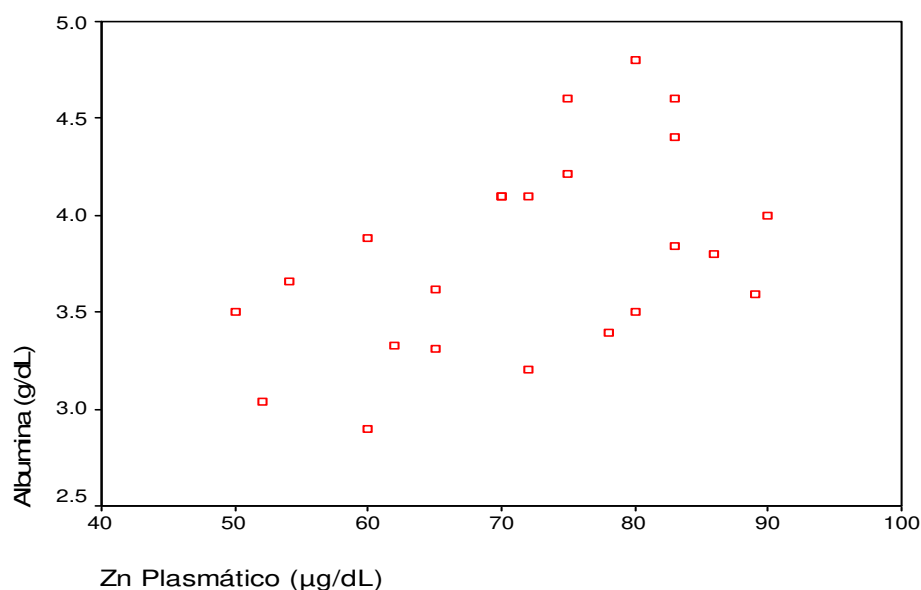


Gráfico 1- Correlação entre os níveis de Zn plasmático e albumina sanguínea em pacientes com HAI. Uma significativa correlação positiva foi encontrada ($r= 0.45$, $p=0.02$).

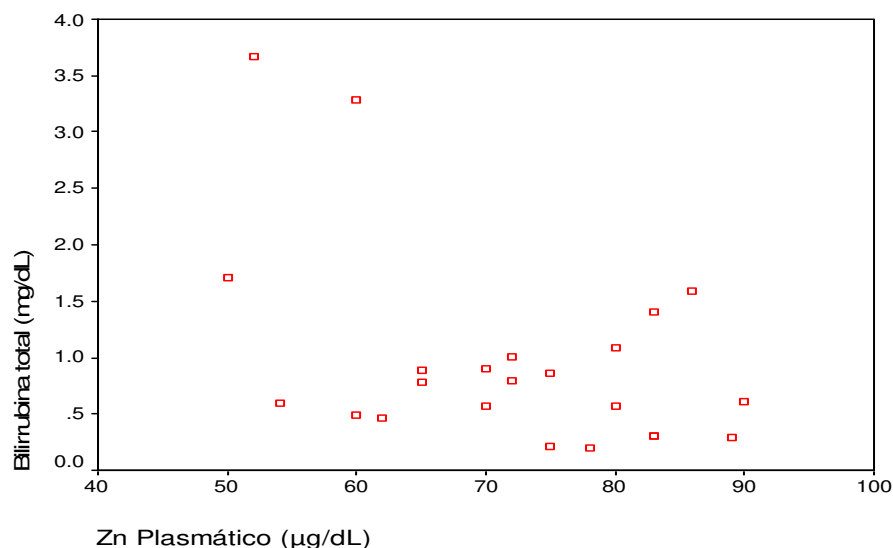


Gráfico 2- Correlação entre os níveis de Zn plasmático e bilirrubina total em pacientes com HAI. Uma significativa correlação negativa foi encontrada ($r = -0.46$, $p = 0.03$).

Os pacientes que relataram sintomas (Grupo A) que podem ser indicativos de deficiência de Zn, como perda de apetite, hipogeusia, alopecia e atraso na maturação sexual ($n=7$) tiveram seus níveis de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH comparados com os pacientes que não tiveram (Grupo B) esses sinais ($n=16$), revelando que a média dos dois níveis sanguíneos de Zn e do nível de GSH foi menor no grupo A, como mostra a Tabela 5 abaixo. Nessa tabela nota-se que o Zn leucocitário ($\text{pmol}/10^6$ células) foi igual a 170.40 ± 83.61 no grupo com sintomas e 245.05 ± 189.40 no grupo sem sintomas, o que representa uma redução de 30.46%, mas o valor de p não foi significativo ($p=0.50$). O Zn plasmático foi de 63.00 ± 9.78 $\mu\text{g/dl}$ para o grupo com sintomas e de 75.81 ± 10.59 $\mu\text{g/dl}$ para o grupo sem sintomas, ou seja, houve uma diminuição de 16.90% com diferença estatisticamente significativa ($p=0.02$). Em relação à GSH, a média do grupo com sintomas de deficiência de Zn também foi menor (56.34 ± 29.03 mg/dl) em relação ao grupo sem sintomas (57.77 ± 25.50 mg/dl), e essa redução representa 2.48%, sem diferença significativa entre os grupos ($p=0.74$). Com isso, nota-se que a presença dos sinais de perda de apetite, hipogeusia, alopecia ou atraso na maturação sexual dos adolescentes com HAI podem ser indicativo da deficiência de Zn plasmático.

Tabela 5- Média, desvio padrão e análise de significância (p) dos níveis de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH entre o grupo de pacientes com HAI que apresentaram (grupo A) e que não apresentaram (grupo B) sintomas que podem ser indicativos de deficiência de Zn.

Variável	Média e Desvio padrão		p
	Grupo A (n=7)	Grupo B (n=16)	
Zn plasmático (µg/dl)	63.00±9.78	75.81±10.59	0.02*
Zn leucocitário (pmol/10 ⁶ células)	170.40±83.61	245.05±189.40	0.50
GSH (mg/dl)	56.34±29.03	57.77±25.50	0.74

* p<0.05: diferença estatisticamente significativa entre o grupo A e B.

4.4- Avaliação antropométrica

Os dados de 4 pacientes que apresentavam edema não foram levados em consideração apenas para os índices de avaliação antropométrica que levam em consideração o peso corporal, para evitar que os resultados fossem superestimados. Por essa razão, o grupo de pacientes teve 19 pacientes, e o grupo controle continuou tendo 23 indivíduos para tais índices.

O IMC teve média de 21.93±5.30 kg/m² no grupo de pacientes (n=19) e de 18.65±2.53 kg/m² no grupo controle (n=23) sendo essa diferença estatisticamente significativa, com p igual a 0.02. Classificando-se o IMC dos pacientes conforme a idade pelos percentis de Must et al. (1991), verificou-se que 68.4% (n=13) deles estavam em eutrofia e 31.6% (n=6) em obesidade. Nenhum paciente apresentou desnutrição em relação ao IMC.

A classificação dos z-escores P/A, P/I e A/I dos pacientes está expressa na Tabela 6. Observa-se que a maioria dos pacientes apresentava-se em estado de eutrofia tanto para o índice P/A (73.7%) como P/I (89.4%) e A/I (87.0%). Apenas 5.3% dos pacientes foram classificados como apresentando obesidade conforme o índice P/I, e para o índice P/A a frequência de obesidade foi de 26.3%. A desnutrição aguda não esteve presente pelo índice P/A, mas pelo índice P/I foi diagnosticado 1 caso e para A/I foram

diagnosticados 2 casos de desnutrição crônica com déficit do crescimento estatural. O z-escore A/I não teve correlação com os níveis de Zn sanguíneos ($p=0.74$ entre o z-escore A/I e o Zn plasmático e $p=0.56$ entre o z-escore A/I e o Zn leucocitário).

Tabela 6- Distribuição dos pacientes com HAI quanto aos z-escores dos índices P/A, P/I e A/I.

Índices	z-escores			Total (n)
	Menor que -2	Entre -2 e 2	Maior que 2	
P/A	n=0	73.7% (n=14)	26.3% (n=5)	19
P/I	5.3% (n=1)	89.4% (n=17)	5.3% (n=1)	19
A/I	8.7% (n=2)	87.0% (n=20)	4.3% (n=1)	23

A avaliação da PCT nos grupos de pacientes e controle mostrou resultado de 16.35 ± 7.04 mm e 11.70 ± 4.35 mm, respectivamente, e essa diferença foi significativa ($p=0.02$). A média da PCSE no grupo de pacientes foi igual a 15.04 ± 7.22 mm e no grupo controle foi de 9.74 ± 4.00 mm e essa diferença entre os grupos também foi estatisticamente significativa ($p=0.003$). A distribuição do grupo de pacientes quanto à classificação da PCT e PCSE conforme os percentis de Frisancho (1990) encontra-se na Tabela 7, na qual se verifica que a PCT diagnosticou mais indivíduos em desnutrição, risco para desnutrição e obesidade que a PCSE. Conforme a classificação da PCT observa-se que 60.9% dos pacientes (n=14) estão em eutrofia, 26.1% (n=6) em obesidade, 8.7% (n=2) com risco para desnutrição e apenas 4.3% (n=1) com desnutrição.

Tabela 7- Distribuição dos pacientes com HAI quanto à classificação da PCT e PCSE.

Índices	Percentil				Total
	$P \leq 5$	P 5-15	P 15-90	$P \geq 90$	
PCT	4.3% (n=1)	8.7% (n=2)	60.9% (n=14)	26.1% (n=6)	23
PCSE	n= 0	n= 0	78.3% (n=18)	21.7% (n=5)	23

A CMB teve média no grupo de pacientes igual a 20.08 ± 2.34 cm e no grupo controle igual a 19.18 ± 2.42 cm e essa diferença não foi significativa ($p=0.24$). A distribuição dos pacientes quanto a CMB está na Tabela 8, a qual indica que 78.3% (n=18) dos pacientes estavam em eutrofia, 13.0% (n=3) em desnutrição proteica, nenhum paciente com risco de desnutrição e 8.7% (n=2) em hipertrofia muscular.

Tabela 8- Distribuição dos pacientes com HAI quanto à classificação da CMB.

CMB	Percentil				Total
	P $\leq$ 5	P 5-10	P 10-95	P $\geq$ 95	
	13.0% (n=3)	n= 0	78.3% (n=18)	8.7% (n=2)	23

A porcentagem de gordura corporal calculada para os grupos de pacientes e controle com os dados antropométricos (%GC1) pela equação de Slaughter et al. (1988) resultou em valor de $25.77 \pm 9.47\%$ para o grupo de pacientes e $18.99 \pm 6.40\%$ para o grupo controle, sendo essa diferença estatisticamente significativa ($p=0.01$). A classificação da %GC1 para o grupo de pacientes, conforme adaptação dos dados de referência de Van Der Sluis et al. (2002), está expressa na Tabela 9, onde se verifica que houve predomínio de eutrofia em 91.3% dos casos (n=21), apenas 8.7% (n=2) dos pacientes estão em obesidade e nenhum paciente apresentou valor de %GC abaixo do normal, indicativo de desnutrição energética.

Tabela 9- Classificação da porcentagem de gordura corporal obtida pelos dados antropométricos (%GC1) dos pacientes com HAI.

Classificação da %GC1			
Desnutrição energética	Eutrofia	Obesidade	Total
n= 0	91.3% (n=21)	8.7% (n=2)	23

Não se encontrou correlação do estado nutricional (IMC ou %GC1) com os níveis de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH no grupo de pacientes. Também não foi encontrada correlação entre a dose de corticoide utilizada e o estado nutricional dos

pacientes, tendo sido apurado o valor de p igual a 0.55 entre a dose utilizada e o IMC, igual a 0.33 entre a dose e a PCT, igual a 0.18 entre a dose e a PCSE e igual 0.23 entre a dose e a %GC1.

4.5- Composição corporal por bioimpedância elétrica

A bioimpedância elétrica, realizada apenas nos pacientes sem edema ou ascite, utilizando-se as equações preditivas de Houtkooper et al. (1992) e Lohman (1989), tem seus resultados expressos na Tabela 10, a qual mostra uma porcentagem de gordura corporal (%GC2) média de $28.50 \pm 7.62\%$, mínimo de 16.86% e máximo de 45.62%, massa livre de gordura (MLG) com média de 38.00 ± 8.58 kg e água corporal total (ACT) com média de 29.10 ± 6.57 kg.

Tabela 10- Valores médios, mínimos, máximos e desvio padrão (DP) da porcentagem de gordura corporal (%GC2), massa livre de gordura (MLG) e água corporal total (ACT) obtidos por bioimpedância elétrica no grupo de pacientes com HAI.

Variável	Média±DP	Mínimo	Máximo
%GC2 (%)	28.50 ± 7.62	16.86	45.62
MLG (kg)	38.00 ± 8.58	26.72	63.09
ACT (kg)	29.10 ± 6.57	20.47	48.32

A classificação da %GC2, feita conforme os dados de referência de Van Der Sluis et al. (2002), mostra que 73.7% (n=14) dos pacientes estavam em eutrofia, 15.8% (n=3) apresentaram perda de gordura corporal e 10.5% (n=2) foram classificados em obesidade (Tabela 11). A análise de concordância entre os dados de porcentagem de gordura obtido pelo método de antropometria (%GC1) e os dados de porcentagem de gordura obtido por bioimpedância elétrica (%GC2) dos pacientes mostrou que estes métodos apresentam correlação positiva com valor de coeficiente igual a 0.87 e p igual a 0.027 (Gráfico 3).

Tabela 11- Classificação da porcentagem de gordura corporal obtida por bioimpedância elétrica (%GC2) nos pacientes com HAI.

Classificação da %GC2			
perda de gordura corporal	eutrofia	obesidade	total
15.8% (n=3)	73.7% (n=14)	10.5% (n=2)	19

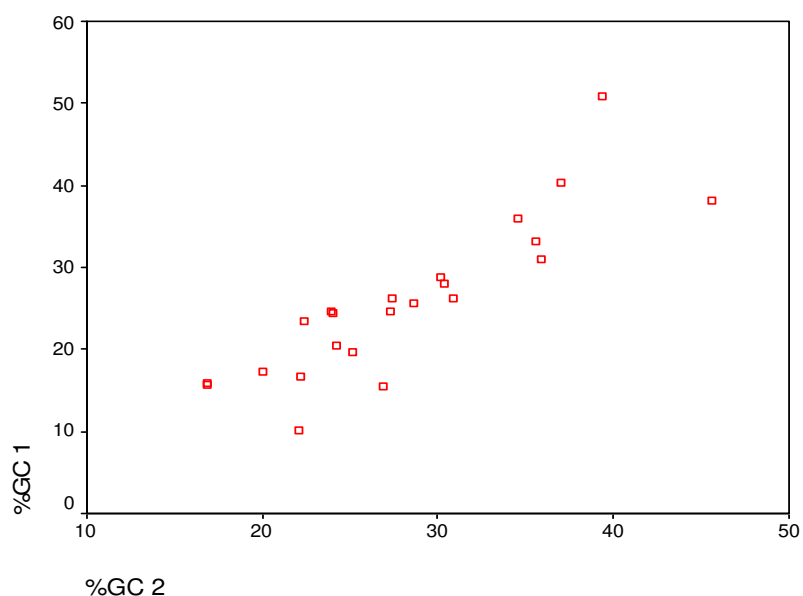


Gráfico 3- Concordância entre a porcentagem de gordura obtida com dados antropométricos (%GC1) e a obtida por bioimpedância elétrica (%GC2) em pacientes com HAI. Uma positiva concordância foi encontrada ($r= 0.87$, $p=0.027$).

A %GC 2 dos pacientes não mostrou correlação com os níveis de Zn plasmático ($p=0.34$), Zn leucocitário ($p=0.49$) e GSH ($p=0.35$). Também não houve correlação da %GC2 com a dose de corticoide utilizada pelos pacientes ($p=0.20$).

4.6- Avaliação da ingestão alimentar

O inquérito alimentar de três dias na forma de diário alimentar foi devolvido por todos os indivíduos dos grupos de pacientes e controle. Para as recomendações do Institute of Medicine, que possuem valores diferentes para a faixa etária de 10 a 18 anos, foi utilizada a média aritmética das recomendações para cada idade. Como ainda não existe recomendação de lipídeos para adolescentes pelas DRI, foi utilizado apenas o valor recomendado pelas DRI em relação à sua distribuição percentual dentro do valor energético total (VET), ou seja, a % do VET. Para a comparação da ingestão de energia dos pacientes com as recomendações nutricionais, o grupo de pacientes foi separado por gênero, já que o cálculo para obtenção das recomendações de energia difere conforme àquele critério. Para esse cálculo também são necessários os dados de idade, peso e altura; por isso foram utilizados os dados médios dessas variáveis conforme o gênero, tendo sido selecionado o nível de atividade física aquele de intensidade pouco ativa.

A ingestão média de energia para os gêneros masculino e feminino foi de 1976.18 ± 646.31 kcal e 1757.44 ± 518.34 kcal, respectivamente, e essa diferença entre os grupos não foi significativa ($p=0.40$). A recomendação de energia por dia é de 2343.51 kcal para o gênero masculino e de 2054.70 kcal para o feminino (Tabela 12).

Tabela 12- Média e desvio padrão (DP) da ingestão energética conforme o gênero; médias da idade, do peso e da altura dos pacientes com HAI e recomendação da ingestão energética.

Gênero	Ingestão de energia (Kcal/dia) *	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	Recomendação** (Kcal/dia)
Masculino (n=6)	1976.18±646.31	14.05	55.15	1.59	2343.51
Feminino (n=17)	1757.44±518.34	12.53	51.81	1.55	2054.70

*Análise de significância da ingestão energética diária entre os grupos do gênero masculino e feminino: $p=0.40$ (não significativa estatisticamente).

**Institute of Medicine (2005a)

A ingestão média de energia, macronutrientes e Zn, a análise de significância entre os grupos de pacientes e controle para essas ingestões e os valores de recomendação do Institute of Medicine (2002, 2005b) estão na Tabela 13.

Pode-se verificar que a média de ingestão de energia (kcal/dia) foi de 1814.50 ± 547.70 no grupo de pacientes e 1993.81 ± 614.05 no grupo controle, sendo que a recomendação de energia é de 2199.10 kcal/dia (média das recomendações por gênero expressas na tabela 12); a diferença do consumo energético entre os grupos de pacientes e controle não foi estatisticamente significativa ($p=0.46$).

A média de ingestão de carboidratos (g/dia) nos grupos de pacientes e controle foram 262.52 ± 84.28 (57.90% do VET) e 283.49 ± 151.86 (56.90% do VET), respectivamente, e a diferença da ingestão de carboidratos entre os grupos não teve significância estatística ($p=0.94$). O valor de recomendação da DRI para carboidratos de 130 g/dia levou em consideração o grande avanço da utilização da população de dietas para emagrecimento com restrição radical de carboidratos e alta ingestão de proteínas e lipídeos (dieta cetogênica), por isso o valor recomendado pela DRI em gramas para carboidratos seria o mínimo de ingestão que um indivíduo deve ter para se evitar as reações cetogênicas no organismo. Devido a este fato, seria melhor comparar a ingestão de carboidrato do grupo da presente pesquisa com os valores de recomendação da DRI em porcentagem do VET que compreende a uma faixa de 45 a 65% do VET.

A ingestão média de proteínas (g/dia) foi de 72.94 ± 23.85 (16.08% do VET) no grupo de pacientes e 94.51 ± 31.80 (18.96% do VET) no grupo controle e a diferença entre os grupos foi significativa ($p=0.02$). A recomendação da DRI para proteínas é de 41.50 g/dia ou 10 a 30% do VET.

A ingestão de lipídeos (g/dia) teve média no grupo de pacientes de 58.33 ± 24.68 (28.93% do VET) e no grupo controle de 70.22 ± 36.02 (31.70% do VET), sem diferença significativa ($p=0.28$). A recomendação de lipídeos por dia é de 25-35% do VET.

Quanto ao valor médio de Zn (mg) ingerido pela alimentação, este foi de 9.40 ± 3.60 no grupo de pacientes e de 10.94 ± 4.32 no grupo controle, sem diferença significativa ($p=0.16$), lembrando-se que a recomendação média de ingestão diária de Zn é de 9.00 mg por dia.

O UL foi proposto apenas para alguns nutrientes (Institute of Medicine, 2002, 2005b), não tendo sido ainda estabelecido tal valor para proteínas, lipídeos e carboidratos, portanto comparou-se a ingestão destes nutrientes com a respectiva recomendação em % do VET. Verificou-se que a ingestão de todos os macronutrientes está dentro da faixa recomendada e não ultrapassa o máximo recomendado em % do VET como mostra a tabela 13.

Tabela 13- Valores de ingestão média e desvio padrão (DP) da energia, macronutrientes e Zn no grupo de pacientes com HAI e no grupo controle. Análise de significância (p) entre os grupos e valores de recomendação de energia, macronutrientes e Zn.

Nutrientes	Ingestão (média±DP)		p	Recomendação**
	Grupo de pacientes (n=23)	Grupo controle (n=23)		
Energia (Kcal/dia)	1814.50±547.70	1993.81±614.05	0.46	2199.10
Carboidratos (g/dia)	262.52±84.28	283.49±151.86	0.94	130.00
	ou	ou		ou
	57.90% do VET	56.90% do VET		45-65% do VET
Proteínas (g/dia)	72.94±23.85	94.51±31.80	0.02*	41.50
	ou	ou		ou
	16.08% do VET	18.96% do VET		10-30% do VET
Lipídeos (g/dia)	58.33±24.68	70.22±36.02	0.28	-----
	ou	ou		
	28.93% do VET	31.70 % do VET		25-35% do VET
Zn (mg/dia)	9.40±3.60	10.94±4.32	0.16	9.00

* p<0.05: diferença estatisticamente significativa entre o grupo de pacientes e controle.

** Institute of Medicine (2002, 2005b)

Para o Zn, o UL é de 23 mg para crianças entre 9 e 13 anos e de 34 mg para adolescentes entre 14 e 18 anos, portanto, a ingestão média de Zn dos pacientes (9.40 mg/dia) não ultrapassa o UL.

A distribuição da ingestão de Zn dos pacientes dentre os parâmetros de recomendação da DRI e sua respectiva classificação estão na tabela 14. Foi feita uma média do valor de EAR recomendado para a ingestão de Zn entre a faixa etária de 9 a 13 anos e 14 a 18 anos resultando no valor de 7.7 mg/dia. Apenas 6 pacientes (26.1%) apresentaram ingestão de Zn abaixo do EAR, ou seja, esses pacientes possuem alta probabilidade de inadequação de Zn. O mesmo número de pacientes apresentou ingestão de Zn entre o EAR e o RDA (n=6, 26.1%), logo, estes pacientes apresentaram baixa probabilidade de adequação. A maior parte dos pacientes (n=11, 47.8%) teve ingestão de Zn maior que o RDA, apresentando alta probabilidade de adequação de Zn.

Tabela 14- Distribuição de pacientes com HAI quanto à adequação da ingestão de Zn e classificação desta ingestão.

Comparação da ingestão de Zn (mg/dia) com os valores de recomendação (mg/dia)*	Número de pacientes (%)	Classificação da ingestão de Zn
Ingestão de Zn < EAR	6 (26.1%)	Alta probabilidade de inadequação
EAR < ingestão de Zn < RDA	6 (26.1%)	Baixa probabilidade de adequação
Ingestão de Zn > RDA	11 (47.8%)	Alta probabilidade de adequação

* Institute of Medicine (2002)

Foram adicionados 30% às recomendações nutricionais para a comparação destas com a ingestão dos pacientes (Tabela 15). Os novos valores de recomendação foram de 2858.83 kcal para energia, 169.00 g/dia (58.50 à 84.50% do VET) para carboidratos, 53.95 g/dia para proteínas, 32.5 à 45.5% do VET para lipídeos e 11.70 mg/dia para o Zn.

Tabela 15- Comparação da ingestão dos pacientes com HAI (média±DP) com a recomendação nutricional acrescida de 30% para energia, macronutrientes e Zn.

Nutrientes	Média±DP	Recomendação* + 30%
Energia (Kcal/dia)	1814.50±547.70	2858.83
Carboidratos (g/dia)	262.52±84.28	169.00
	ou	ou
	57.90% do VET	58.50 – 84.50 % do VET
Proteínas (g/dia)	72.94±23.85	53.95
Lipídeos (% do VET)	28.93	32.5 - 45.5
Zn (mg/dia)	9.40±3.60	11.70

* Institute of Medicine (2002, 2005a, b).

A comparação da ingestão de Zn no grupo total (grupo de pacientes + grupo controle) com os valores de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH não mostrou correlação entre nenhuma variável, com valores de p de 0.05, 0.64 e 0.48, respectivamente. A análise de correlação exclusiva do grupo de pacientes em relação à ingestão de Zn com as variáveis Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH também não mostrou significância, com valores de p iguais a 0.23, 0.90 e 0.39, respectivamente. Da mesma forma, não se obteve correlação dessas variáveis na análise exclusiva do grupo controle, tendo valores de p entre ingestão de Zn e níveis de Zn plasmático, Zn leucocitário e GSH iguais a 0.54, 0.20, 0.99, respectivamente.

Em relação à ingestão de proteínas do grupo total (grupo de pacientes + grupo controle), não se encontrou correlação entre esta e o Zn leucocitário (p=0.19) nem com a GSH (p=0.66), mas houve correlação positiva da ingestão de proteínas com os níveis de Zn plasmático, com valor de p igual a 0.046 e coeficiente de correlação de 0.30 (Gráfico 4).

A análise estatística da ingestão de proteínas com os níveis plasmático e leucocitário de Zn apenas do grupo de pacientes mostrou que não houve correlação da proteína com o Zn plasmático (p=0.07), Zn leucocitário (p=0.06) nem com a GSH (p=0.52). Da mesma forma, essa análise realizada somente no grupo controle também não mostrou correlação entre ingestão de proteína e Zn plasmático (p=0.60), ingestão de proteína e Zn leucocitário (p=0.16) e ingestão de proteína e GSH (p=0.80).

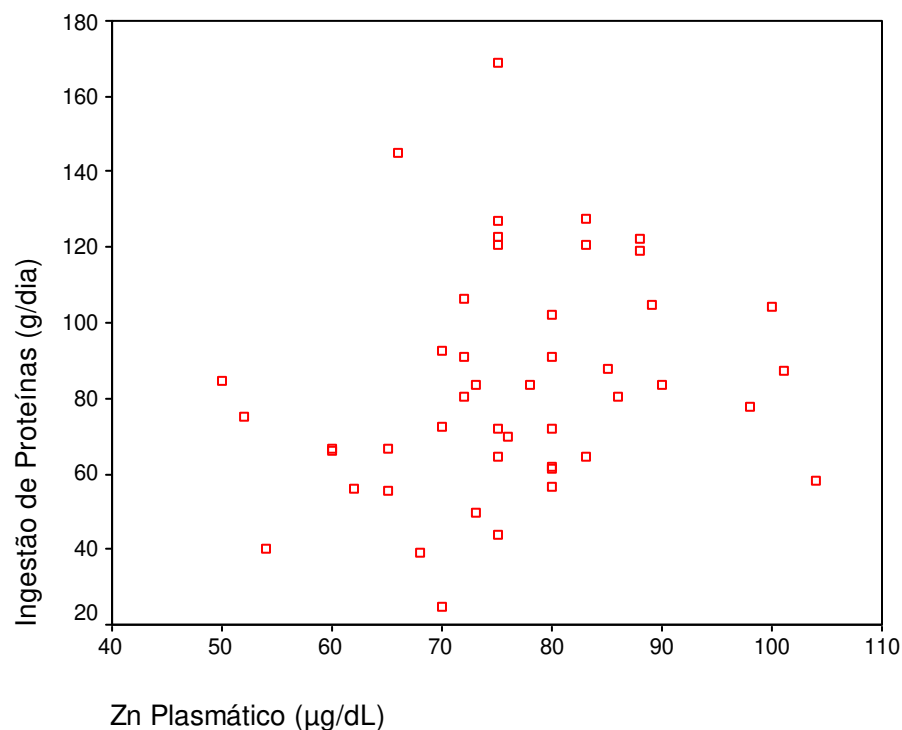


Gráfico 4- Correlação entre a ingestão diária de proteína e o nível de Zn plasmático no grupo total (grupo de pacientes com HAI + grupo controle). Uma significativa correlação positiva foi encontrada ($r= 0.30$, $p=0.046$).

Não foi encontrada correlação entre a dose de corticoide utilizada pelos pacientes e a ingestão diária de energia ou Zn, com valor de p igual a 0.79 entre a dose de corticoide e a ingestão de energia e valor de p igual a 0.29 entre a dose de corticoide e a ingestão de Zn.

Os pacientes que relataram falta de apetite ($n=5$) tiveram ingestão energética de 1640.35 ± 403.08 kcal, enquanto o grupo de pacientes que não relataram esse sintoma ($n=18$) teve média de 1862.88 ± 581.88 kcal (diferença de 11.92%). A ingestão média de proteínas do grupo com o relato de falta de apetite foi de 60.50 ± 21.95 g, enquanto no grupo sem o relato a ingestão foi igual a 76.41 ± 23.76 g (diferença de 20.82%). O consumo diário de Zn no grupo com relato de falta de apetite foi de 8.29 ± 3.06 mg e no grupo sem esse relato foi igual a 9.71 ± 3.76 mg (diferença de 14.62%).

A comparação da ingestão alimentar com o estado nutricional dos pacientes, mostrou que o z-escore A/I não teve correlação com a ingestão de Zn ($p=0.58$). A ingestão de energia não se correlacionou com a %GC2 e MLG dos pacientes. As ingestões de Zn e proteínas não se correlacionaram com a %GC2, mas tiveram correlação positiva com a MLG dos pacientes, a saber, p igual a 0.01 e coeficiente de correlação de 0.56 entre ingestão de Zn e a MLG (Gráfico 5) e p igual a 0.01 e o coeficiente de correlação de 0.55 entre ingestão de proteínas e a MLG (Gráfico 6).

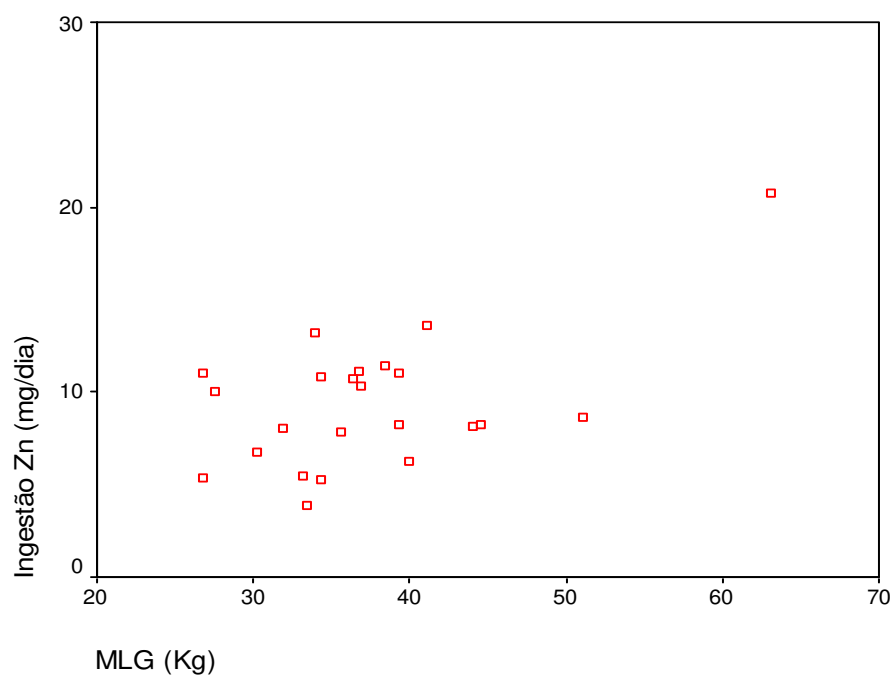


Gráfico 5- Correlação entre a ingestão de Zn e a MLG de pacientes com HAI. Uma significante correlação positiva foi encontrada ($r= 0.56$, $p=0.01$).

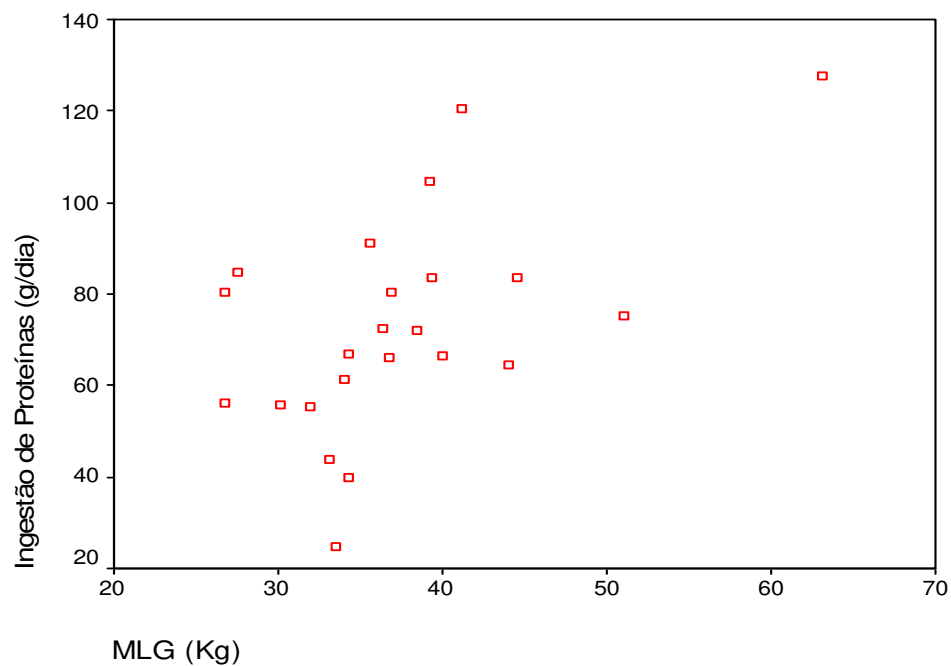


Gráfico 6- Correlação entre a ingestão de proteínas e a MLG de pacientes com HAI. Uma significante correlação positiva foi encontrada ($r= 0.55$, $p=0.01$).

5- DISCUSSÃO

A importância de estudos em relação ao estado do Zn em seres humanos, principalmente em crianças e adolescentes, é destacada na literatura devido às inúmeras atividades das quais participa o Zn no organismo, principalmente favorecendo reações enzimáticas relacionadas ao crescimento e desenvolvimento das crianças e adolescentes (Mafra e Cozzolino, 2004; Silva et al., 2006). As pesquisas que estão sendo desenvolvidas atualmente destacam a dificuldade de se encontrar um indicador seguro para determinar a deficiência de Zn em seres humanos, e muitas delas recorrem aos estudos genéticos para tentar encontrar os genes relacionados ao metabolismo do Zn e investigar como estes podem auxiliar a estabelecer um indicador preciso para a deficiência desse mineral no corpo humano. Os autores que estudam esse oligoelemento revelam que o mecanismo homeostático desse mineral é o principal fator que prejudica o estabelecimento de um bom marcador e também afirmam que o Zn plasmático não é um bom bioindicador. Entretanto, nenhum outro indicador é tão prático e simples de se analisar como o Zn plasmático, o que cria, de certa forma, uma urgência para que outros marcadores de Zn sejam estabelecidos (Wood, 2000; Hambidge, 2003b; Dieck et al., 2003; Cousins et al., 2006).

A dificuldade de se encontrarem indicadores confiáveis da deficiência de Zn foi igualmente observada no presente estudo, pois notou-se deficiência de Zn plasmático, mas não de Zn leucocitário nos adolescentes com HAI quando a média destes indicadores foi confrontada com a do grupo controle, além do que os dois indicadores do nível de Zn não tiveram correlação entre si.

A mesma falta de correlação pode ser observada em dois estudos com pacientes adultos portadores de doenças hepáticas crônicas e cirrose. Goode et al. (1990) estudaram os níveis de Zn plasmático e leucocitário em 13 adultos com cirrose alcoólica e 17 com cirrose não alcoólica e verificaram que o Zn plasmático foi baixo nos dois grupos enquanto o Zn leucocitário foi normal quando comparados aos do grupo controle. Entretanto, quando os pacientes com doença mais grave (presença de ascite, níveis alterados de albumina e bilirrubina) foram analisados separadamente, encontrou-se deficiência de Zn leucocitário. Adicionalmente, esses autores encontraram correlação positiva do Zn plasmático com o nível de albumina sanguínea e correlação negativa de Zn plasmático com os níveis de bilirrubina, resultados que também foram obtidos no presente estudo.

Em outra pesquisa em adultos com cirrose hepática alcoólica, Peretz et al. (1991) encontraram deficiência de Zn plasmático no grupo, mas não houve deficiência de Zn leucocitário. Esses autores também não encontraram correlação do Zn leucocitário com a albumina sérica, a fosfatase alcalina e o Zn plasmático, razão por que esses autores concluem que o Zn leucocitário não foi um bom indicador da deficiência de Zn em hepatopatas adultos. Acrescente-se que não foi possível utilizar nesta pesquisa, para efeito de comparação, os valores de Zn leucocitário utilizados por Peretz et al., por serem oferecidos em unidade diferente daquela utilizada pela pesquisadora.

Na presente casuística, os níveis séricos de albumina, bilirrubina total e RNI foram, na maioria, normais, provavelmente porque a maior parte dos pacientes estavam em tratamento há muito tempo. Dessa forma, não foi possível separar os pacientes em dois subgrupos com gravidades distintas para estudar o estado do zinco nessas situações. Parece que é comum esta dificuldade em se diagnosticar deficiência de Zn nos leucócitos, pois estudos genéticos estão sendo realizados para tentar entender a variação do conteúdo de Zn dentro dos glóbulos brancos do sangue (Haase et al., 2007; Overbeck et al., 2008). Dessa forma, é possível que o indicador do Zn leucocitário não seja o *método-ouro*, como referido por alguns autores.

Foram encontrados apenas estudos antigos que oferecem o valor de Zn leucocitário para fins de comparação, mas não com hepatopatas crônicos. Esse fato pode estar relacionado com a dificuldade da análise do Zn leucocitário, o que teria levado os pesquisadores a buscar outros indicadores para estabelecer a deficiência de Zn. O valor médio de Zn leucocitário ($\text{pmol}/10^6$ células) nos pacientes da presente casuística foi de 222.33 ± 166.13 e encontra-se dentro da faixa de variação de 68 a 246 apurada por Hinks et al. (1982) em adultos saudáveis. O resultado do presente estudo, porém, foi maior que a média de 197 ± 50 (valor transformado em $\text{pmol}/10^6$ células) apurada por Nishi (1980) em grupo de crianças e adultos e também maior que o encontrada em adultos saudáveis (116 ± 31) por Hinks et al. (1983), os quais demonstraram em uma grande amostra que o valor de Zn leucocitário não varia com o gênero e idade. O resultado de Zn leucocitário do presente estudo foi muito próximo da média encontrada em adultos saudáveis por Dennes et al. (1961) de 214 ± 29 (valor transformado em $\text{pmol}/10^6$ células) os quais, assim como no presente estudo, também encontraram dificuldades em separar totalmente os

leucócitos do sangue, restando alguns eritrócitos. O estudo mais recente encontrado na literatura foi o de Caticha et al. (1996), estudo esse que verificou deficiência de Zn leucocitário em adultos com insuficiência renal crônica quando comparadas as suas médias com as do grupo controle, com os seguintes valores, por sinal muito abaixo dos encontrados na presente pesquisa: 84.79 ± 12.58 pmol/ 10^6 células para homens e 84.38 ± 19.73 pmol/ 10^6 células para mulheres.

O valor médio do Zn plasmático ($\mu\text{g/dl}$) dos pacientes desta casuística foi de 71.91 ± 11.79 , sendo estatisticamente menor que o encontrado no grupo controle, denotando a deficiência de Zn plasmático. Esse resultado está de acordo com os estudos em adultos hepatopatas crônicos, nos quais se apurou o valor de 78 ± 24 $\mu\text{g/dl}$ em pacientes com cirrose não alcoólica (Valberg et al., 1985) e 78 ± 7 $\mu\text{g/dl}$ naqueles com hepatite crônica ativa (Keeling et al., 1980). Muitos autores consideram o Zn plasmático como um indicador não muito sensível para diagnosticar a deficiência de Zn, já que o Zn no plasma sofre influência do mecanismo homeostático e varia conforme a concentração de albumina sanguínea e ainda com a presença de infecção. Ainda existem dúvidas de como o Zn se comporta no organismo de pessoas afetadas por doenças e qual a necessidade de Zn destas pessoas (Hambidge et al., 2000; Hambidge, 2003a,b). Parece que o Zn plasmático pode ser utilizado nas pesquisas como uma triagem de pacientes com deficiência de Zn, mas não como um indicador da real deficiência de Zn nos indivíduos, devido aos fatores que interferem no seu resultado (Hess et al., 2007). Contudo, os pacientes do presente estudo apresentavam albumina, RNI e bilirrubina total normais e não estavam em vigência de infecção, o que minimiza os fatores que prejudicariam o exame de Zn plasmático, sendo, portanto provável que, em idênticas situações, o nível de Zn plasmático possa ser considerado mais fidedigno.

Existe uma necessidade de estudos relacionados ao nível de Zn em crianças ou adolescentes com doenças hepáticas crônicas, já que esses são raros e, quando realizados, têm como objeto indivíduos com diferentes diagnósticos de doenças hepáticas, dificultando o estabelecimento de relação entre a doença específica e os níveis de Zn. Philips et al. (1996) encontraram alta concentração de Zn hepático em crianças entre 22 meses e 8 anos com doença hepática no estágio final (pré-transplante), já Narkewicz et al. (1999) encontraram níveis baixos de Zn plasmático (média de 61 $\mu\text{g/dl}$) em crianças também no aguardo de transplante hepático, e essa hipozincemia foi corrigida após o transplante.

Assim como na presente pesquisa, os autores também encontraram correlação do nível de Zn plasmático com o nível de albumina sérica, mas não com a fosfatase alcalina, uma das enzimas das quais o Zn participa como co-fator, nem como com outras substâncias dosadas em exames de rotina realizados em pacientes hepatopatas. Schneider et al. (2005) avaliaram a concentração de Zn plasmático em 31 crianças e adolescentes com cirrose (9 delas com HAI), e encontraram 42% dos pacientes com deficiência de Zn plasmático, ocorrendo correlação positiva com a gravidade da doença e a presença de colestase. Observa-se que a frequência de deficiência de Zn plasmático na presente casuística (65.2%) foi maior que o estudo citado. Isso pode sugerir que os pacientes com HAI são mais suscetíveis a ter uma deficiência de Zn que os pacientes com outros diagnósticos de doenças hepáticas crônicas. Verifica-se, em todas essas pesquisas em pacientes hepatopatas, que o Zn parece concentrar-se em altos níveis no fígado e apresenta reduzidos níveis no plasma. Dessa forma, outros tecidos seriam afetados por uma distribuição anormal.

A presença de sinais clínicos possivelmente indicadores de deficiência de Zn nos adolescentes com HAI esteve presente em alguns casos, e a média do Zn plasmático e Zn leucocitário desses pacientes com sintomas foi menor que aquela do grupo de pacientes sem sintomas. O biomarcador de Zn mais divergente entre os grupos foi o Zn leucocitário (diferença de 30.46%), mas não teve significância estatística, enquanto o Zn plasmático teve significância estatística entre os grupos com e sem sintomas. Esses dados mostram que os adolescentes que já manifestam sintomas associados à deficiência de Zn, provavelmente estão com deficiência de Zn leucocitário, mas a análise do Zn nos leucócitos não foi capaz de confirmar essa deficiência, provavelmente devido ao pequeno tamanho da amostra e ao grande desvio padrão da média que pode ter se derivado de erros na separação dos leucócitos durante a análise e/ou da possibilidade do Zn leucocitário variar conforme a idade dos pacientes, o que não foi visto por Hinks et al. (1983), mas conforme estudo epidemiológico (NHANES, 1976-1980) este fato ocorre com o Zn sérico (Gibson, 1990). O alto desvio padrão da média não representa um problema para a análise de significância de Mann Whitney, pois esta análise estatística não utiliza a média e sim a mediana dos valores para comparação entre os grupos. O tempo em que os exames de Zn demoram em diagnosticar sua deficiência também foi observado por Hambidge (2003b), pois neste estudo as dietas pobres em Zn oferecidas a ratos levaram a um prejuízo do crescimento dos

ratos antes mesmo de se detectar diminuição de Zn nos tecidos, ou seja, o déficit estatural é uma consequência da deficiência de Zn, anterior à detecção de níveis reduzidos de Zn no sangue.

Um dos sintomas da deficiência de Zn é a falta ou diminuição do apetite dos indivíduos, o que foi relatado por alguns pacientes da presente pesquisa. Considerou-se muito subjetivo o relato de falta de apetite por parte dos pacientes. A ingestão de energia, proteínas e Zn dos pacientes com o relato foi menor do que a dos pacientes sem o relato, mas a diferença entre elas se mostrou tão pequena que resulta difícil a comprovação de uma real falta de apetite e de sua influência na ingestão alimentar. Uma forma de se saber se a falta de apetite relatada ocorre pela deficiência de Zn seria verificar a resposta dos pacientes após a suplementação de Zn. A suplementação de Zn iria minimizar todos os sintomas relacionados à deficiência desse mineral. Como o presente estudo não foi de intervenção, essa comprovação não foi realizada. Aconselham-se estudos deste tipo para verificar com mais exatidão a relação existente entre esse sintoma e a deficiência de Zn.

Yoshida et al. (2001) encontraram deficiência de Zn sérico em pacientes com cirrose descompensada e chegaram a supor que a deficiência de Zn poderia ter relação com o uso de corticoides, sem, no entanto, investigar a correlação entre essas duas variáveis. No presente estudo investigou-se tal relação, mas não se encontrou correlação entre a dose de corticoide utilizada pelos pacientes e os níveis de Zn plasmático ou leucocitário, o que sugere que esse medicamento, em doses de manutenção, não influencia os níveis de Zn sanguíneos dos pacientes com HAI. Entretanto, foi encontrado prejuízo nos níveis de Zn plasmático em pacientes portadores de doenças não hepáticas aos quais foram administrados corticoides (Peretz et al., 1989; Milanino et al., 1993). É provável que a falta de correlação, nesta pesquisa, da real influência do uso de corticoide sobre os níveis de Zn sanguíneos se deva ao fato de os pacientes utilizarem baixa dose do medicamento por dia, por se encontrarem há algum tempo em tratamento, o que não prejudicaria o metabolismo do Zn.

A elevação dos níveis do Zn plasmático foi verificada com o uso de suplementos alimentares em idosos (Ramos et al., 2007), mas tais níveis não se alteraram em experimentos com animais que ingeriram suplementos de vitaminas e de ácidos graxos

(de Moffarts et al., 2007). Os resultados da presente pesquisa estão de acordo com o estudo experimental no que se refere a animais, uma vez que foram comparados os níveis de Zn plasmático e leucocitário dos pacientes que usavam vitaminas com os dos pacientes que não as utilizavam, observando-se que os pacientes que faziam o uso de vitaminas não tiveram valores de Zn estatisticamente diferentes daqueles de pacientes que não as utilizavam.

Alguns fatores presentes na alimentação podem diminuir a absorção intestinal de Zn e, assim, reduzir os níveis sanguíneos desse oligoelemento como, por exemplo, o alto conteúdo de ácido fítico, fator que não foi investigado neste trabalho. Mas é sabido que a ingestão de refeições ricas em cereais integrais ou leguminosas, que contêm grandes quantidades de fitato, juntamente com a baixa ingestão de Zn por refeições pobres em alimentos de origem animal, levam a altas razões molares fitato:Zn ou fitato:Ca:Zn, de modo que, quando essas ultrapassam os valores de 15 e 22, respectivamente, ocorre diminuição da absorção de Zn (Gibson e Hotz, 2001).

A suplementação de cálcio também pode levar à diminuição do Zn sanguíneo, devido à competição dos dois minerais na absorção intestinal (Wood e Zheng, 1997). Embora levando-se em consideração essa possibilidade, todos os pacientes com HAI do presente trabalho eram suplementados com carbonato de cálcio para evitar ou tratar a perda óssea induzida pelo uso de corticoides, e possivelmente essa suplementação de cálcio tenha concorrido para os baixos níveis de Zn plasmático dos pacientes, já que 6 dos 8 pacientes com grande quantidade de suplementação de cálcio (por estarem em osteopenia ou osteoporose), apresentaram deficiência de Zn plasmático.

A avaliação da ingestão alimentar da presente pesquisa apresenta como limitações o fato de se ter utilizado o diário alimentar para coletar os dados de ingestão, método que pode subestimar ou superestimar a ingestão dos alimentos por ser preenchido pelos próprios indivíduos que podem ter diferentes intenções no momento do registro e ainda, o fato de se ter calculado a ingestão dos nutrientes com uma tabela de composição de alimentos norte-americana presente no software adotado e não uma tabela de composição de alimentos brasileira, já que é sabido que a composição nutricional dos alimentos,

sobretudo dos micronutrientes como o Zn, pode variar dependendo da origem, meio de cultivo, temperatura e clima em que os alimentos foram produzidos.

Alguns autores interrogam se a deficiência de Zn presente nos pacientes com doenças hepáticas crônicas tem como uma das causas a baixa ingestão de Zn (Valberg et al., 1985; Yoshida et al., 2001). Para aclarar essa questão, investigou-se, dentro das limitações desta pesquisa, o nível de ingestão desse oligoelemento pelos pacientes e obteve-se como resultado uma ingestão média igual a 9.40 ± 3.60 mg/dia, ou seja, maior que a recomendação de 9.00 mg/dia (Institute of Medicine, 2002); além disso, 47.8% dos pacientes apresentaram ingestão de Zn maior que o RDA. Verifica-se, pois, alta probabilidade de adequação da ingestão alimentar de Zn nos adolescentes com HAI, além do que não se constatou diferença estatística entre a ingestão de Zn dos pacientes e a ingestão de Zn do grupo controle.

A ingestão média de carboidratos, proteínas e lipídeos pelo grupo de pacientes também se verificou dentro as recomendações das DRI (Institute of Medicine, 2005b), concluindo-se por uma alta probabilidade de adequação alimentar desses nutrientes. O único macronutriente que teve sua média de ingestão estatisticamente diferente entre o grupo de pacientes e o grupo controle foi a proteína, a qual teve consumo alimentar médio entre os pacientes de 72.94 ± 23.85 g/dia e entre o grupo controle de 94.51 ± 31.80 g/dia, com valor de p igual a 0.02. A ingestão de proteínas pelos pacientes foi menor que o grupo controle, entretanto, a ingestão desse nutriente ainda está dentro do valor recomendado pela DRI, como já dito. Sabe-se que as proteínas presentes na alimentação atuam como um fator agonista à absorção de Zn, pois em pH neutro intestinal o Zn liga-se a elas e, com isso, tem a sua absorção facilitada. Portanto, uma baixa ingestão de proteínas, principalmente as de origem animal, leva à diminuição da absorção intestinal de Zn (Etcheverry et al., 2006), causando, assim, baixa quantidade desse mineral no sangue e em outros tecidos e podendo levar à deficiência de Zn. Isso pode ser demonstrado pela correlação que se verificou neste estudo entre a ingestão de proteína e os níveis de Zn plasmático, embora essa correlação não se tenha verificado quando os grupos de pacientes e controles foram separados, sugerindo que o número de indivíduos na amostra é determinante para se encontrar tal correlação.

Em relação à ingestão média de energia pelos pacientes com HAI foi verificado que ela foi menor que a recomendação nutricional (Institute of Medicine, 2005a), tanto nos meninos quanto nas meninas. Suspeita-se que as novas recomendações nutricionais (DRI) superestimem a necessidade de energia, já que no presente trabalho a ingestão de todos os macronutrientes mostrou-se dentro do recomendado, fato que nos leva a concluir que não teria ocorrido baixa ingestão energética por parte desses pacientes, já que são os macronutrientes que fornecem a energia total da alimentação. Além disso, os pacientes apresentaram bom estado nutricional, o que indica adequada ingestão alimentar. Tal ilação é corroborada por um estudo brasileiro com pacientes portadores de fibrose cística no qual também se observou que menos que a metade dos pacientes apresentava-se com adequação da ingestão de energia, mas quase todos os pacientes tinham adequação de ingestão de proteínas (Fiates et al., 2001).

São raros os estudos da ingestão dietética em pacientes com doença hepática crônica, apesar de ser relatada a importância de uma boa alimentação para a manutenção do estado nutricional e melhora da doença hepática (Manguso et al., 2005). A baixa ingestão de energia e proteínas em pacientes com cirrose hepática foi observada por alguns autores e associada com a desnutrição energético-proteica (Campillo et al., 2003; Carvalho e Parise, 2006).

Bavdekar et al. (2002) e Greer et al. (2003) demonstraram que ocorre hipermetabolismo em crianças com doenças hepáticas crônicas e recomendam que a ingestão de energia e nutrientes desses pacientes seja 30% maior que o recomendado para crianças saudáveis. A comparação do presente trabalho entre a ingestão alimentar dos pacientes e as recomendações das DRI acrescidas em 30% mostrou que a ingestão energética obviamente continua baixa e as ingestões de carboidratos, lipídeos e Zn passaram a serem inferiores ao recomendado. A ingestão de proteínas continuou sendo superior às recomendações. Ocorreu, assim, alta probabilidade de inadequação de energia, carboidratos, lipídeos e Zn e alta probabilidade de adequação de proteínas. São necessários estudos específicos em pacientes com HAI para determinar se eles também apresentam hipermetabolismo e necessitam, conseqüentemente, de acréscimo nas recomendações de energia e nutrientes da mesma forma que os pacientes da pesquisa referida no início deste

parágrafo, os quais apresentavam diagnóstico de atresia biliar. Caso os pacientes com HAI necessitem de acréscimo de 30% sobre as necessidades nutricionais, é possível que a deficiência de Zn plasmático detectada na presente casuística esteja relacionada com a ingestão de Zn alimentar, a qual situa-se abaixo do necessário, quando feito o acréscimo às recomendações. Entretanto, é necessária cautela caso se estabeleça um hipermetabolismo nesses pacientes, para que não se estimule erroneamente o maior consumo alimentar nos pacientes que apresentam tendência à obesidade, fator observado com frequência pelos resultados da presente pesquisa. Por isso, a melhor solução para esses casos seria a suplementação específica dos nutrientes com risco de deficiência.

A correlação verificada entre a ingestão de Zn e o exame de Zn plasmático no grupo total (grupo1 + grupo2) situou-se nas proximidades da significância estatística ($p=0.051$), mas quando os grupos foram analisados separadamente, o valor de p aumentou, mostrando que o tamanho amostral, como já apontado mais acima, é determinante para se encontrar correlação entre as variáveis consideradas.

A utilização de altas doses de medicamentos à base de corticoides pode levar a um aumento do apetite dos pacientes conforme descrito por Trevillian (2006). No presente trabalho não se verificou correlação entre a dose de corticoide e a ingestão de energia ou Zn, o que leva a pensar ser improvável que tenha ocorrido aumento do consumo energético devido a um aumento de apetite provocado pelo medicamento utilizado. A ausência de correlação deveu-se, muito provavelmente, ao fato de que foram pequenas as doses utilizadas na maioria dos pacientes, por estarem eles em tratamento há muito tempo, e, ainda, que a administração de corticoide ocorreu em dias alternados e associado à azatioprina, esquema de tratamento que diminui os efeitos colaterais do corticoide, conforme visto por outros autores (Summerskill et al., 1975; Czaja, 2002).

Há grande interesse em avaliar se os pacientes com doença hepática crônica apresentam estresse oxidativo em consequência da doença, considerando-se que esse estresse oxidativo foi observado em adultos com cirrose alcoólica, que tiveram baixos níveis de GSH plasmática (Siqueira et al., 2008), e em crianças com fibrose cística, que apresentaram GSH plasmática baixa e GSSG plasmática alta (Innis et al., 2007). As pesquisas que analisam a GSH em áreas do sangue como plasma, sangue total ou

eritrócitos, expressam os resultados com unidades diferentes da utilizada na presente pesquisa, pois não utilizam o hematócrito para o cálculo da GSH, razão pela qual a comparação dos níveis de GSH eritrocitária do presente estudo com outros trabalhos fica prejudicada. A média da GSH dos eritrócitos aqui analisada não mostrou diferença estatisticamente significativa entre o grupo de pacientes com HAI (57.34 ± 25.95 mg/dl) e o grupo controle (52.55 ± 23.08 mg/dl), podendo-se levantar a hipótese de que os pacientes não estão em estresse oxidativo e provavelmente possuem boa defesa contra os radicais livres (espécies reativas de oxigênio). A pesquisa de Moreno et al. (2006) avaliou o nível de GSH eritrocitária e levou em consideração o hematócrito para o cálculo. Nesse estudo foram analisados os níveis de GSH em crianças de 1 a 6 anos infectadas pelo vírus HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) e elas apresentaram estresse oxidativo, com valor médio de GSH de 53.12 mg/dl nos pacientes e 73.06 mg/dl no grupo controle. O valor de GSH dos pacientes com HIV foi similar ao valor encontrado no presente trabalho com pacientes com HAI, mas o valor correspondente ao grupo controle foi menor neste estudo do que na referida pesquisa provavelmente devido à diferença de idade das crianças incluídas nos dois estudos. São raros os estudos em crianças com doenças hepáticas crônicas, mas em adultos com doenças hepáticas os níveis de GSH são mais estudados, e relata-se a existência de estresse oxidativo em pacientes com cirrose não alcoólica, cirrose por hepatite C e cirrose alcoólica, devido à diminuição dos níveis de GSH eritrocitária e plasmática; entretanto, na hepatite crônica sem cirrose o nível de GSH apresenta-se preservado (Loguercio et al., 1996, 1998; Loguercio e Federico, 2003). Em outro estudo, foram avaliadas crianças com Doença de Wilson e verificaram-se baixos níveis de GSH plasmática comparados aos do grupo controle, comprovando assim o estresse oxidativo nesses pacientes (Geetha et al., 2007). A pesquisa de Nobili et al. (2005) demonstrou que crianças com esteatohepatite não alcoólica apresentaram maior nível de GSH no sangue total que o grupo controle, e esta diferença entre os grupos não foi significativa, indicando provavelmente que as crianças com esteatohepatite não apresentam estresse oxidativo, assim como ocorreu com os pacientes com HAI do presente estudo.

Apesar de alguns estudos terem investigado a GSH em pacientes com HAI, os grupos foram compostos em sua maior parte de indivíduos com idade adulta, e nenhuma das pesquisas encontradas foi exclusiva em adolescentes com HAI. Pemberton et al. (2004)

verificaram redução estatisticamente significativa dos níveis de glutathiona total (GSH+GSSG) nos pacientes com HAI entre 15 e 79 anos, quando comparados aos do grupo controle. Entretanto, a razão GSSG/GSH revelou-se normal, mostrando que provavelmente a GSH dos pacientes seja similar à do grupo controle e, assim, embora a glutathiona total esteja baixa, o ciclo de redução da glutathiona, representado pela razão GSSG/GSH, está sendo eficiente para combater os radicais livres nesse tipo de paciente. Apesar disso, os autores recomendam o uso de suplementação com nutrientes antioxidantes para os pacientes com HAI.

Em outra pesquisa, avaliaram-se pacientes com doenças hepáticas crônicas entre 17 e 85 anos, três dos pacientes tinham diagnóstico de HAI, mas os dados da pesquisa são apresentados para o grupo total de pacientes. A GSH eritrocitária destes não se mostrou significativamente diferente em relação ao grupo controle, mas a GPx foi estatisticamente significativa, o que sugere que os pacientes não estavam em estresse oxidativo (Czuczejko et al., 2003). A GST também parece estar preservada em pacientes adultos com HAI, fato atribuído à prevenção ao dano do ducto biliar desses pacientes (Kadokawa et al., 2007). Em pacientes que apresentaram “de novo HAI” foi encontrado anticorpo contra a GST ao invés de se encontrarem os autoanticorpos comuns a essa doença (Aguilera et al., 2001).

Existe muito interesse na literatura em investigar a atividade antioxidante do Zn e se existe relação dela com a GSH ou com outras formas da glutathiona. Esse interesse tem estimulado a realização de muitos estudos, inclusive de nutrigenômica sobre o tema (Cousins et al., 2006). A função do Zn como antioxidante está associada à ação da superoxidodismutase (SOD), enzima antioxidante, dependente de Zn e cobre, que reduz as espécies reativas de oxigênio para moléculas de oxigênio e peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio, por sua vez, é reduzido para álcool ou água pela ação da GPx e da GSH, razão pela qual o nível de Zn pode influenciar a síntese de SOD e os níveis dos outros componentes da reação de combate aos radicais livres, dentre eles a GPx e a GSH (Klotz et al., 2003). Provavelmente por isso, a suplementação de Zn teria elevado os níveis de GPx e GSH em estudos experimentais com animais (Kesik et al., 2008; Cortese et al., 2008), mas os autores não investigam se a quantidade de Zn ingerida

somente pela alimentação (sem considerar o uso de suplementos) possui correlação com a GSH. Nesse sentido, foi verificado que a restrição energética de dietas para ratos não alterou seus níveis de glutathione (Vianna et al., 2000), corroborando o resultado da presente pesquisa, que não encontrou correlação da quantidade de Zn ingerida pela alimentação e os níveis de GSH nos adolescentes com HAI.

A investigação pela literatura da correlação entre os níveis sanguíneos de Zn com os níveis de glutathione na maioria das vezes é realizada apenas com as formas enzimáticas da glutathione, como a GPx, cujos níveis não apresentaram correlação com os de Zn sérico em adultos saudáveis (Magalova et al., 1997). Também não houve correlação da GPx com o Zn plasmático em idosos (Mariani et al., 2006) nem com os níveis de Zn plasmático e Zn eritrocitário em adultos saudáveis (Rukgauer et al., 2001). Não foram encontrados dados de investigação do gênero em crianças e adolescentes e também não existem dados da relação do Zn leucocitário com a GSH. Nesta pesquisa não se encontrou correlação entre os níveis de GSH e os níveis de Zn plasmático ou Zn leucocitário, indicando, pois, concordância deste trabalho com os citados estudos que avaliaram a GPx. Além disso, a média de GSH no grupo de pacientes com sintomas de deficiência de Zn foi apenas levemente menor (2.48% de diferença) que a média de GSH no grupo de pacientes sem sintomas.

Algumas pesquisas experimentais envolvendo ratos ou indivíduos com doenças respiratórias referem que os níveis de glutathione nas formas GSH, GPx ou GR são prejudicados pelo uso de medicamentos à base de corticoides (Varshavsky et al., 2003; Beytut e Aksakal, 2003; Walther, 2004; Ozmen, 2005). Contudo, outras pesquisas dão conta de que o tratamento com corticoide melhora os níveis de glutathione, ao elevar os níveis de GSH e GPx (Kaur et al., 2003; Yildirim et al., 2007). Este trabalho não encontrou correlação dos níveis de GSH com a dose de corticoide utilizada pelos pacientes com HAI e, por isso, não confirma a pesquisa de Pemberton et al. (2004), que observaram melhora nos níveis de GSH, GSSG e glutathione total nos pacientes com HAI em tratamento com corticoide e/ou azatioprina quando esses níveis foram comparados aos dos pacientes com HAI que não estavam em tratamento com corticoide. Pode-se levantar a hipótese de que os pacientes com HAI não sofrem efeito do corticoide em seus níveis de GSH quando esse

medicamento é oferecido, frise-se, em baixas doses após o controle da doença e de que, quando administrado em altas doses no início da doença, atua na etiologia do processo mórbido que, se não tratado convenientemente, poderia gerar estresse oxidativo e redução dos níveis de glutathiona.

A suplementação de vitaminas parece melhorar os níveis de glutathiona: animais suplementados com vitamina E e/ou vitamina C tiveram seus níveis de GSH, GPx e GST aumentados (Beytut e Aksakal, 2003; Zaidi et al., 2005). Os autores afirmam, ainda, que o uso de vitamina E ou C é efetivo tanto para a prevenção da formação de radicais livres como para o tratamento do estresse oxidativo já presente. Em crianças com fibrose cística, a suplementação com colina teve como efeito a elevação dos níveis de GSH e o rebaixamento dos níveis de GSSG, de forma que a razão GSH/GSSG aumentou de 4.60 para 8.09, contribuindo para a defesa contra os radicais livres nesses pacientes (Innis et al., 2007). Em contrapartida, na presente pesquisa não houve diferença estatisticamente significativa nos níveis médios de GSH entre o grupo de pacientes com HAI que utilizavam vitaminas e o grupo de pacientes que não as utilizavam. Ressalve-se, porém, que este estudo não foi delineado para controlar a real suplementação de vitaminas e sua interferência nos níveis de GSH, além do que a suplementação de vitaminas foi tão-somente relatada pelos pacientes e/ou responsáveis.

A suplementação dietética de proteínas ricas em cisteína, aminoácido essencial que regula a síntese de GSH, parece ser favorável à melhora do estado antioxidante, como sugerem pesquisas com crianças com AIDS onde se observou aumento dos níveis de GSH eritrocitária de 53.12 para 77.65 mg/dl (Moreno et al., 2006). Da mesma forma, em experimentos com animais, observou-se aumento de GPx hepática, GSH sanguínea e GSH hepática (Blouet et al., 2007; Lin e Yin, 2008) com a suplementação de cisteína ou proteínas ricas em cisteína. A suplementação com histidina (aminoácido essencial) provocou a elevação dos níveis de GSH e GPx e o rebaixamento dos níveis de GSSG hepáticos em ratos com doença hepática crônica induzida pelo uso de álcool, o que sugere que também a histidina melhora a defesa contra os radicais livres (Liu et al., 2008). Não foram encontradas pesquisas que investigam se há correlação do nível de proteínas ingeridas somente através da alimentação com os níveis de GSH. No presente estudo, os níveis de GSH não tiveram correlação com a ingestão dietética de proteínas.

Poucos estudos avaliam o estado nutricional dos pacientes com HAI, apesar de sua importância ser evidente para o favorecimento do controle da doença e para a melhora da qualidade de vida dos pacientes (Norman et al., 2006). Ferreira et al. (2002) observaram que crianças e adolescentes com HAI em tratamento há 5 anos, apresentaram nesse período uma redução significativa do z-escore A/I, e os autores suspeitam que esse fato possa estar associado ao uso diário de corticoide. Entretanto, Porta (1993) não encontrou diferença de peso ou altura em crianças que utilizavam corticoide em dias alternados, e Bellomo-Brandão et al. (2006) não observaram baixa estatura nos pacientes com HAI tanto do tipo 1 como do tipo 2, tendo ocorrido apenas um z-escore A/I significativamente maior no grupo de pacientes com HAI tipo 2 em comparação com pacientes com HAI tipo 1. Este estudo está de acordo com as duas últimas pesquisas citadas, já que apenas 2 dos 23 pacientes analisados apresentaram z-escore A/I abaixo de -2, sendo classificados então como portadores de desnutrição crônica com retardo do crescimento. Essa baixa frequência de desnutrição crônica com déficit de altura, apesar de todos os pacientes usarem corticoide, pode ser explicada pelo uso desse medicamento em dias alternados e associado com a azatioprina. Essa associação permite que a dose do corticoide seja reduzida rapidamente e faz com que os efeitos colaterais sejam minimizados, dentre eles o déficit de crescimento em crianças (Summerskill et al., 1975; Porta, 1993).

Neste trabalho verificou-se que, de acordo com a classificação do IMC, 68.4% dos pacientes estavam em eutrofia e 31.6% em obesidade e que nenhum paciente encontrava-se em desnutrição. Semelhantemente, o z-escore P/A também não apontou nenhum caso de desnutrição. Já o z-escore P/I encontrou 1 caso de desnutrição aguda e o z-escore A/I, como já mencionado, sinalizou 2 casos de desnutrição crônica. Este último fato está em conformidade com Schneider et al. (2007), que aplicaram o método antropométrico em crianças e adolescentes cirróticos e observaram que o z-escore A/I é o mais sensível para detectar desnutrição. Pacientes com deficiência crônica de Zn geralmente apresentam déficit estatural (Walker e Black, 2007; Borges et al., 2007; Weisstaub et al., 2008), fato que não foi encontrado nos pacientes desta pesquisa, já que o z-escore A/I não foi correlacionado com a ingestão ou níveis sanguíneos de Zn, e, dentre os 15 pacientes com deficiência de Zn plasmático, apenas 2 tiveram déficit estatural.

As médias da PCT e PCSE dos pacientes foram estatisticamente maiores que as médias do grupo controle, enquanto a CMB não diferiu significativamente da do grupo controle, mostrando que esses pacientes com HAI tinham sua estrutura muscular preservada e apresentavam aumento da gordura corporal. A PCT diagnosticou mais desnutrição e obesidade que a PCSE, o que está de acordo com Schneider et al. (2007), que mostraram a PCT e a CMB como os melhores parâmetros para avaliação de adolescentes hepatopatas crônicos, mesmo daqueles que utilizam corticoides, já que, segundo os autores, a retenção de fluidos ocasionada pelo medicamento se dá em menor extensão nos membros superiores. Comprovadamente, os pacientes com HAI possuem maior valor de gordura corporal que os adolescentes do grupo controle, já que não só a PCT e a PCSE, como também a %GC1 foram estatisticamente maiores nos pacientes (25.77% de gordura corporal) que no grupo controle (18.99% de gordura corporal). Alguns autores mostram que o uso de corticoides aumenta a gordura corporal (Nordborg et al., 1998; Lippuner et al., 1998; Murphy et al., 2006), mas neste trabalho não se observou correlação entre a dose de corticoide utilizada com os dados de IMC, PCT, PCSE, %GC1 ou %GC2, o que está em consonância com a pesquisa de Valentini et al. (2008) que não observaram relação entre IMC e a dose de corticoide utilizada por adultos com Doença de Crohn ou colite ulcerativa.

De acordo com a %GC2, o nível médio de gordura corporal dos pacientes é de 28.50%, variando de 16.86 a 45.62%. A classificação da %GC2 mostra que 73.70% dos pacientes estão em eutrofia, 10.50% em obesidade e 15.80% em desnutrição energética. A faixa da porcentagem de gordura desta pesquisa equipara-se com a apurada por Dung et al. (2007), que avaliaram crianças e adolescentes enfermos com idade de 2 a 18 anos, obtendo %GC média de 24.80%, variando de 5.80 à 51.30%, mas é superior aos resultados de algumas pesquisas com adolescentes saudáveis (Fagundes et al., 2002; Van Der Sluis et al., 2002). Tal fato pode ser explicado pela alteração que as doenças, como a HAI, provocam no metabolismo e composição corporal dos pacientes, o que não ocorre com indivíduos saudáveis. Até o momento, não existem dados de análise da porcentagem de gordura corporal em pacientes com HAI.

Apesar de a %GC2 ter sinalizado 3 pacientes com desnutrição energética, que a %GC1 não apontou, a análise de concordância estatística entre os dois métodos indica que eles se correlacionam positivamente, assim como verificado na pesquisa de Valentini et al.

(2008). Isto prova que, para a estimativa da gordura corporal de adolescentes com HAI, podem ser utilizadas indiferentemente a aferição de pregas cutâneas ou a bioimpedância elétrica, pois fornecem resultados semelhantes. Lembra-se que essa concordância entre os dois métodos pode ter sido alcançada pela correta aferição das pregas cutâneas por profissional capacitado e também pelo fato de não terem sido utilizados os dados de bioimpedância elétrica dos pacientes com edema ou ascite: segundo Heyward e Stolarczyk (2000), tais cuidados diminuem o erro dos métodos. Para saber qual dos dois métodos é o mais exato, aquele que afere mais fielmente a real quantidade de gordura corporal do indivíduo, é necessário o uso de outro método de referência que ofereça dados padrões como, por exemplo, o *dual energy x-ray absorptiometry* (DEXA), considerado *método-ouro*, muito utilizado atualmente e que tem demonstrado ser a bioimpedância elétrica mais exata que a aferição de pregas cutâneas (Dung et al., 2007; Sobhonslidsuk et al., 2007).

Algumas pesquisas mostram que indivíduos com maior valor de IMC ou maior quantidade de gordura corporal apresentam redução da GSH sanguínea (Rukgauer et al., 2001; Cardona et al., 2008). Entretanto, esse fato não foi observado na presente pesquisa, já que não houve correlação do IMC, %GC1 ou %GC2 com os níveis de GSH dos pacientes. Outras pesquisas mostram que indivíduos obesos possuem menor quantidade de Zn corporal, mas não existe unanimidade em torno dessa afirmação, pois os estudos ainda são controversos (Skalnaya e Demidov, 2007; Weisstaub et al., 2007). Na presente pesquisa não se encontrou correlação entre IMC ou gordura corporal com os níveis de Zn plasmático ou leucocitário.

Houve correlação positiva da ingestão de proteínas e Zn com a MLG dos pacientes, a qual é composta por água, músculos, ossos, tecidos e órgãos. Tal correlação está de acordo com as pesquisas da área, que mostram que uma maior ingestão de proteína, logo de Zn, que tem como sua principal fonte os alimentos proteicos, beneficia a manutenção ou o aumento da MLG (Farnsworth et al., 2003; Paddon-Jones et al., 2008; Noakes, 2008).

6- CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos com 23 adolescentes portadores de hepatite autoimune conclui-se que:

1. os pacientes apresentaram deficiência de zinco plasmático;
2. não ocorreu deficiência de zinco leucocitário;
3. a ingestão alimentar de Zn, carboidratos, proteínas e lipídeos esteve dentro das recomendações e somente a ingestão de proteína foi significativamente menor no grupo de pacientes quando comparado ao grupo controle, mas ainda dentro das recomendações. A ingestão de energia dos pacientes apresentou-se inferior ao recomendado;
4. os seguintes sinais e sintomas clínicos indicadores de deficiência de Zn estiveram presentes entre alguns pacientes: diminuição do apetite, hipogeusia, alopecia e atraso na maturação sexual;
5. os pacientes não apresentam estresse oxidativo, já que a glutatona reduzida eritrocitária não foi deficiente;
6. houve prevalência de eutrofia com tendência à obesidade, conforme indicadores de peso, altura e pregas cutâneas; a porcentagem de gordura obtida por bioimpedância elétrica mostrou prevalência de eutrofia, com poucos casos em desnutrição ou obesidade;
7. comparando-se os dados dos pacientes com o grupo controle, verifica-se que houve diferença estatisticamente significativa nas seguintes variáveis: exame de Zn plasmático (menor nos pacientes); valores de IMC, PCT, PCSE e %GC (maior nos pacientes); ingestão de proteínas pela alimentação (menor nos pacientes).

7- CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES PARA PRÓXIMOS ESTUDOS

Sugere-se que seja desenvolvido outro marcador do estado de Zn corporal em pacientes com hepatite autoimune, já que a literatura especializada relata que o Zn plasmático não é um bom indicador e que a análise do Zn leucocitário constitui-se em um método muito difícil e pode ter seus resultados superestimados com a possibilidade de não se conseguir amostras isentas de glóbulos vermelhos do sangue. Existe a urgência de se estabelecer um indicador do estado de Zn mais preciso, com análise simples, prática e confiável para se determinar o real estado desse nutriente no organismo e que seja aplicável em grandes amostras e em populações de menor idade. É sugerido também a realização do balanço de Zn por meio das dosagens da quantidade de Zn ingerida e excretada.

Aconselha-se verificar o estresse oxidativo de forma mais completa por meio da análise de outras formas de glutathione, como as formas enzimáticas e a glutathione oxidada. Da mesma forma, em relação ao estado nutricional é recomendada a aplicação de um *método-ouro* para se comprovar os resultados encontrados pela bioimpedância elétrica, como, por exemplo, o DEXA, o mais utilizado atualmente.

São necessárias mais pesquisas com adolescentes ou crianças com hepatite autoimune em relação aos níveis de micronutrientes essenciais, como o zinco, para avaliar a necessidade da suplementação desses nutrientes nos pacientes. Um bom estado nutricional e uma ingestão adequada de energia e nutrientes atuam juntos com o tratamento medicamentoso para propiciar a melhora da doença hepática e para evitar prejuízos ao crescimento e desenvolvimento das crianças e adolescentes. Por isso considera-se também muito importante o monitoramento periódico do estado nutricional e da ingestão dietética dos pacientes ao longo do tratamento ambulatorial ou hospitalar.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aggett PJ, Comerford JG. Zinc in human health. *Nutr Rev* 1995; 53(9 Pt 2):16-22.
- Aguilera I, Wichmann I, Sousa JM, Bernardos A, Franco E, Garcia-Lozano JR, et al. Antibodies against glutathione S-transferase T1 (GSTT1) in patients with de novo immune hepatitis following liver transplantation. *Clin Exp Immunol* 2001; 126(3):535-9.
- Alhaj E, Alhaj N, Alhaj NE. Diffuse alopecia in a child due to dietary zinc deficiency. *Skinmed* 2007; 6(4):199-200.
- Alvarez F, Berg PA, Bianchi L, Burroughs AK, Cançado EL, Chapman RW, et al. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31(5):929-38.
- Arnon R, Calderon JF, Schilsky M, Emre S, Shneider BL. Wilson disease in children: serum aminotransferases and urinary copper on triethylene tetramine dihydrochloride (trientine) treatment. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; 44(5):596-602.
- Bavdekar A, Bhawe S, Pandit A. Nutrition management in chronic liver disease. *Indian J Pediatr* 2002; 69(5):427-31.
- Bellomo-Brandão MA, Costa-Pinto EAL, De Tommaso AMA, Hessel G. Clinical and biochemical features of autoimmune hepatitis in 36 pediatric patients. *Arq gastroenterol* 2006; 43(1):45-9.
- Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; (61):882-8.
- Beytut E, Aksakal M. Effects of dietary vitamin E and selenium on antioxidative defense mechanisms in the liver of rats treated with high doses of glucocorticoid. *Biol Trace Elem Res* 2003; 91(3):231-41.
- Blouet C, Mariotti F, Azzout-Marniche D, Mathé V, Mikogami T, Tomé D, et al. Dietary cysteine alleviates sucrose-induced oxidative stress and insulin resistance. *Free Radic Biol Med* 2007; 42(7):1089-97.

Borges CVD, Veiga APB, Barroso GDS, de Jesus EF, Serpa RFB, Moreira S, et al. Association among serum concentration of minerals, anthropometric indices and diarrhea in low-income children in the metropolitan region of Rio de Janeiro, Brazil. *J Nutr* 2007; 20(2):159-69.

Campillo B, Richardet JP, Scherman E, Bories PN. Evaluation of nutritional practice in hospitalized cirrhotic patients: Results of a prospective study. *Nutrition* 2003; 19(6): 515-21.

Cardona F, Tunez I, Tasset I, Montilla P, Collantes E, Tinahones FJ. Fat overload aggravates oxidative stress in patients with the metabolic syndrome. *Eur J Clin Invest* 2008; 38(7):510-5.

Carvalho L, Parise ER. Evaluation of nutritional status of nonhospitalized patients with liver cirrhosis. *Arq Gastroenterol* 2006; 43(4):269-74.

Cattan R, Vesin P, Bodin H. Cirrhoses dysproteinémiques d'origine inconnue chez la femme.

Caticha O, Norato DY, Tambascia MA, Santana A, Stephanou A, Sarlis NJ. Total body zinc depletion and its relationship to the development of hyperprolactinemia in chronic renal insufficiency. *J Endocrinol Invest* 1996; 19(7):441-8.

Chappell S, Hadzic N, Stockley R, Guetta-Baranes T, Morgan K, Kalsheker N. A polymorphism of the alpha1-antitrypsin gene represents a risk factor for liver disease. *Hepatology* 2008; 47(1):127-32.

Cortese MM, Suschek CV, Wetzel W, Kroncke KD, Kolb-Bachofen V. Zinc protects endothelial cells from hydrogen peroxide via Nrf2-dependent stimulation of glutathione biosynthesis. *Free Radic Biol Med* 2008; 44(12):2002-12.

Cousins RJ, Blanchard RK, Moore JB, Cui L, Green CL, Liuzzi JP, et al. Regulation of zinc metabolism and genomic outcomes. *J Nutr* 2003; 133(5 Suppl 1):1521-6.

Cousins RJ, Liuzzi JP, Lichten LA. Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *J Biol Chem* 2006; 281(34):24085-9.

Cousins RJ, McMahon RJ. Integrative aspects of zinc transporters. J Nutr 2000; 130(5 Suppl 1):1384-7.

Cui L, Blanchard RK, Cousins RJ. The permissive effect of zinc deficiency on uroguanylin and inducible nitric oxide synthase gene upregulation in rat intestine induced by interleukin 1 α is rapidly reversed by zinc repletion. J Nutr 2003; 133(1):51-6.

Czaja AJ. Treatment of autoimmune hepatitis. Semin Liver Dis 2002; 22(4):365-77.

Czaja AJ, Souto EOO, Bittencourt P, Cançado ELR, Porta G, Golberg AC, Donaldson PT. Clinical distinctions and pathogenic implication of type 1 autoimmune hepatitis in Brazil and United States. J Hepatol 2002; 37:302-8.

Czuczejko J, Zachara BA, Staubach-Topczewska E, Halota W, Kedziora J. Selenium, glutathione and glutathione peroxidases in blood of patients with chronic liver diseases. Acta Biochim Pol 2003; 50(4):1147-54.

de Moffarts B; Portier K; Kirschvink N, Coudert J, Fellmann N, van Erck E, et al. Effect of exercise and oral antioxidant supplementation enriched in (n-3) fatty acids on blood oxidant markers and erythrocyte membrane fluidity in horses. Vet J 2007; 174(1):113-21.

Dennes E, Tupper R, Wormall A. The zinc content of erythrocytes and leucocytes of blood from normal and leukaemic subjects. Biochem J 1961; 78(3):578-87.

Dieck HT, Doring F, Roth HP, Daniel H. Changes in rat hepatic gene expression in response to zinc deficiency as assessed by DNA arrays. J Nutr 2003; 133(4):1004-10.

Domene SMA, Pereira TC, Arrivillaga RK. Estimativa da disponibilidade de Zn em refeições com preparações padronizadas da alimentação escolar do município de Campinas. Rev Nutr 2008; 21(2):161-7.

Dung NQ, Fusch G, Armbrust S, Jochum F, Fusch C. Impedance index or standard anthropometric measurements, which is the better variable for predicting fat-free mass in sick children?. Acta Paediatr 2007; 96(6):869-73.

El-Ghandour TM, Sakr MA, El-Sebai H, El-Gammal TF, El-Sayed MH. Necrolytic acral erythema in Egyptian patients with hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21(7):1200-6.

Etcheverry P, Hawthorne KM, Liang LK, Abrams SA, Griffin IJ. Effect of beef and soy proteins on the absorption of non-heme iron and inorganic zinc in children. *J Am Coll Nutr* 2006; 25(1):34-40.

Fagundes U, Oliva CAG, Fagundes-Neto U. Avaliação do estado nutricional das crianças índias do Alto Xingu. *J Pediatr* 2002; 78(5):383-8.

Farnsworth E, Luscombe ND, Noakes M, Wittert G, Argyiou E, Clifton PM. Effect of a high-protein, energy-restricted diet on body composition, glycemic control, and lipid concentrations in overweight and obese hyperinsulinemic men and women. *Am J Clin Nutr* 2003; 78(1):31-9.

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

Fiates GM, Rataichesk BE, Auler F, Feiten SF, Miranda F. Estado nutricional e ingestão alimentar de pessoas com fibrose cística. *Rev Nutr* 2001; 14(2):95-101.

Foote JW, Delves HT. Distribution of zinc amongst human serum proteins determined by affinity chromatography and atomic-absorption spectrophotometry. *Analyst* 1983; 108(1285):492-504.

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

Geetha A, Jeyachristy SA, Narmadha Selvamathy SMK, Ilavarasi S, Surendran R. A study on the concentrations of serum zinc, non-ceruloplasmin copper, reactive oxygen and nitrogen species in children with Wilson's disease. *Clinica Chimica Acta* 2007; 383(1-2):165-7.

Gibson RS. Principles of nutritional assessment. New York: Oxford University Press; 1990. p.511-553: Assessment of trace-element status.

Gibson RS, Hotz C. Dietary diversification/modification strategies to enhance micronutrient content and bioavailability of diets in developing countries. *Br J Nutr* 2001; 85 Suppl 2:159-66.

Goode HF, Kelleher J, Walker BE. Relation between zinc status and hepatic functional reserve in patients with liver disease. *Gut* 1990; 31(6):694-7.

Greer R, Lehnert M, Lewindon P, Cleghorn GJ, Shepherd RW. Body composition and components of energy expenditure in children with end-stage liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36(3):358-63.

Gregorio GV, Portmann B, Reid F, Donaldson PT, Doherty DG, McCartney M, et al. Autoimmune hepatitis in childhood: a 20 years experience. *Hepatology* 1997; 25(3): 541-547.

Grider A, Bailey LB, Cousins RJ. Erythrocyte metallothionein as an index of zinc status in human. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87(4):1259-62.

Haase H, Mazzatti DJ, White A, Ibs KH, Engelhardt G, Hebel S, et al. Differential gene expression after zinc supplementation and deprivation in human leukocyte subsets. *Mol Med* 2007; 13(7-8):362-70.

Hambidge M. Underwood Memorial Lecture: human zinc homeostasis: good but not perfect. *J Nutr* 2003a; 133(5 Suppl 1):1438-42.

Hambidge M. Biomarkers of trace mineral intake and status. *J Nutr* 2003b; 133 Suppl 3:948-55.

Hambidge M, Cousins RJ, Costello RB. Introduction. *J Nutr* 2000; 130(5 Suppl 1):1341-3.

Hess SY, Pearson JM, King JC, Brown KH. Use of serum zinc concentration as an indicator of population zinc status. *Food Nutr Bull* 2007; 28(3 Suppl 1):403-29.

Heyward VH, Stolarczyk LM. Avaliação da composição corporal aplicada. São Paulo: Manole; 2000. p.47-60: Método de Impedância Bioelétrica.

Hinks LJ, Clayton BE, Lloyd RS. Zinc and copper concentrations in leucocytes and eritrocytes in healthy adults and the effect of oral contraceptives. J Clin Pathol 1983; 36(9):1016-21.

Hinks LJ, Colmsee M, Delves HT. Determination of zinc and copper in isolated leucocytes. Analyst 1982; 107(1276):815-23.

Hofbauer LC, Mrozek-Lasota A, Jelinek T, Schworm HD, Zimmermann D, Heufelder AE. Endocrinologic and metabolic complications of Alagille syndrome. Med Klin (Munich) 1997; 92(9):528-33.

Homberg JC, Abuaf N, Bernard O, Islam S, Alvarez F, Khalil S, et al. Chronic active hepatitis associated with antiliver/kidney microsome antibody type 1: a second type of “autoimmune” hepatitis. Hepatology 1987; 7(6):1333-1339.

Hoogenraad TU. Paradigm shift in treatment of Wilson's disease: zinc therapy now treatment of choice. Brain Dev 2006;28:141-6.

Houtkooper LB, Going SB, Lohman TG, Roche AF, Van Loan M. Bioelectrical impedance estimation of fat-free body mass in children and youth: a cross-validation study. J Appl Physiol 1992; 72(1):366-73.

Innis SM, Davidson AG, Melynck S, James SJ. Choline-related supplements improve abnormal plasma methionine-homocysteine metabolites and glutathione status in children with cystic fibrosis. Am J Clin Nutr 2007; 85(3):702-8.

Institute of Medicine. National Academy Of Sciences On Dietary Reference Intakes (dris) - Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington: National Academy Press; 2002. p.442-501: Zinc.

Institute of Medicine. National Academy Of Sciences On Dietary Reference Intakes (dris) - Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients). Washington: National Academy Press; 2005a. p.107-264: Energy.

Institute of Medicine. National Academy Of Sciences On Dietary Reference Intakes (dris) - Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients). Washington: National Academy Press; 2005b. p.1319- 1331: Summary tables, dietary reference intakes.

Jackson MJ. Physiology of zinc: general aspects. In: Mills CF, editors. Zinc in human biology. London: Springer-Verlag; 1989. p.323-33.

Johnson PJ, McFarlane IG. Meeting Report: International Autoimmune Hepatitis Group. Hepatology 1993; 18(4):998-1005.

Kadokawa Y, Ohba K, Omagari K, Akazawa S, Hayashida K, Ohnita K, et al. Intracellular balance of oxidative stress and cytoprotective molecules in damaged interlobular bile ducts in autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis: In situ detection of 8-hydroxydeoxyguanosine and glutathione-S-transferase-pi. Hepatol Res 2007; 37(8): 620–7.

Kanabrocki EL, Ryan MD, Marks G, Friedman NC, Kaplan E, Nemchausky BA. Twenty-nine year study on circadian distribution of urinary zinc levels of same male subjects. Clin Ter 2007; 158(5):403-8.

Kaur S, Eisen M, Zilmer M, Rehema A, Kullisaar T, Vihalemm T, et al. Emollient cream and topical glucocorticoid treatment of chronic hand dermatitis: influence on oxidative stress status of the skin. J Dermatol Sci 2003; 33(2):127-9.

Keeling PW, Jones RB, Hilton PJ, Thompson RP. Reduced leucocyte zinc in liver disease. Gut 1980; 21(7):561-4.

Kesik V, Lenk MK, Kurekci AE, Acikel CH, Akgul EO, Aydin A, et al. Do Zinc and Selenium Prevent the Antioxidant, Hepatic and Renal System Impairment Caused by Aspirin in Rats?. Biol Trace Elem Res 2008; 123(1-3):168-78.

Klotz LO, Kroncke KD, Buchczyk DP, Sies H. Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress. *J Nutr* 2003; 133 (5 Suppl 1):1448-51.

Krebs NF, Hambidge M, Westcott JE, Miller LV, Sian L, Bell M, et al. Exchangeable zinc pool size in infants is related to key variables of zinc homeostasis. *J Nutr* 2003; 133 (5 Suppl 1):1498-501.

Kwun IS, Cho YE, Lomeda RA, Kwon ST, Kim Y, Beattie JH. Marginal zinc deficiency in rats decreases leptin expression independently of food intake and corticotrophin-releasing hormone in relation to food intake. *Br J Nutr* 2007; 98(3):485-9.

Lin CC, Yin MC. Effects of cysteine-containing compounds on biosynthesis of triacylglycerol and cholesterol and anti-oxidative protection in liver from mice consuming a high-fat diet. *Br J Nutr* 2008; 99(1):37-43.

Lippuner K, Casez JP, Horber FF, Jaeger P. Effects of deflazacort versus prednisone on bone mass, body composition, and lipid profile: a randomized, double blind study in kidney transplant patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(11):3795-802.

Liu WH, Liu TC, Yin MC. Beneficial effects of histidine and carnosine on ethanol-induced chronic liver injury. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(5):1503-9.

Loguercio C, Caporaso N, Tuccillo C, Morisco F, Blanco GDV, Blanco CDV. Alpha-glutathione transferases in HCV-related chronic hepatitis: a new predictive index of response to interferon therapy?. *J Hepatol* 1998; 28(3):390-5.

Loguercio C, Federico A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. *Free Radic Biol Med* 2003; 34(1):1-10.

Loguercio C, Taranto D, Vitale LM, Beneduce F, Del Vecchio Blanco C. Effect of liver cirrhosis and age on the glutathione concentration in the plasma, erythrocytes, and gastric mucosa of man. *Free Radic Biol Med* 1996; 20(3):483-8.

Lohman TG. Assessment of body composition in children. *Pediatr Exerc Sci* 1989; 1(1): 19-30.

Lohman T, Roche A, Martorell R. Anthropometric standardization manual. Champaign: Human Kinetics Book; 1988. 177p.

Lonnerdal B. Dietary factors influencing zinc absorption. J Nutr 2000; 130(5 Suppl 1):1378-83.

MacDonald RS. The role of zinc in growth and cell proliferation. J Nutr 2000; 130 (5 Suppl 1):1500-8.

Mackay IR, Taft LI, Cowling DC. Lupoid hepatitis. Lancet 1956;2:1323-1326.

Mafrá D, Cozzolino SMF. Importância do zinco na nutrição humana. Rev Nutr 2004; 17(1):79-87.

Mafrá D, Cuppari L, Fávaro DI, Cozzolino SM. Zinc levels after iron supplementation in patients with chronic kidney disease. J Ren Nutr 2004; 14(3):164-9.

Magalova T, Beno I, Brtkova A, Mekinova D, Volkovova K, Staruchova M, et al. Levels of Cu, Zn, Se and their relation to levels of ceruloplasmin and the activity of antioxidative enzymes. Bratisl Lek Listy 1997; 98(1):8-11.

Maggiore G, Veber F, Bernard O, Hadchouel M, Homberg JC, Alvarez F, et al. Liver disease associated with anti-liver-kidney microsome antibody in children. J Pediatr 1986; 108(3):399-404.

Manguso F, D'Ambra G, Menchise A, Sollazzo R, D'Agostino L. Effects of an appropriate oral diet on the nutritional status of patients with HCV-related liver cirrhosis: A prospective study. Clin Nutr 2005; 24(5):751-9.

Marcellini F, Giuli C, Papa R, Gagliardi C, Dedoussis G, Herbein G, et al. Zinc status, psychological and nutritional assessment in old people recruited in five European countries: Zincage study. Biogerontology 2006; 7(5-6):339-45.

Mariani E, Cornacchiola V, Polidori MC, Mangialasche F, Malavolta M, Cecchetti R, et al. Antioxidant enzyme activities in healthy old subjects: influence of age, gender and zinc status: results from the Zincage Project. Biogerontology 2006; 7(5-6):391-8.

Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1970; 45(239):13-23.

Martino HS, Martin BR, Weaver CM, Bressan J, Esteves EA, Costa NM. Zinc and iron bioavailability of genetically modified soybeans in rats. *J Food Sci* 2007; 72(9):689-95.

Mazzatti DJ, Malavolta M, White AJ, Costarelli L, Giacconi R, Muti E, et al. Differential effects of in vitro zinc treatment on gene expression in peripheral blood mononuclear cells derived from young and elderly individuals. *Rejuvenation Res* 2007; 10(4):603-20.

McCall KA, Huang C, Fierke CA. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. *J Nutr* 2000; 130(5 Suppl 1):1437-46.

Merle U, Schaefer M, Ferenci P, Stremmel W. Clinical presentation, diagnosis and long-term outcome of Wilson's disease: a cohort study. *Gut*. 2007; 56(1):115-20.

Milanino R, Frigo A, Bambara LM, Marrella M, Moretti U, Pasqualicchio M, et al. Copper and zinc status in rheumatoid arthritis: studies of plasma, erythrocytes, and pharmacological treatment. *Clin Exp Rheumatol* 1993; 11(3):271-81.

Mocchegiani E, Muzzioli M, Giacconi R. Zinc and immunoresistance to infection in aging: new biological tools. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21(6):205-8.

Moreno YF, Sgarbieri VC, da Silva MN, Toro AA, Vilela MM. Features of whey protein concentrate supplementation in children with rapidly progressive HIV infection. *J Trop Pediatr* 2006; 52(1):34-8.

Mowat AP. Autoimmune chronic active hepatitis. In: Mowat AP. *Liver disorders in childhood*. 3 ed. Oxford: Butterworth-Heinemann; 1994. p.187-96.

Murphy AJ, Wells JCK, Williams JE, Fewtrell MS, Davies PSW, Webb DK. Body composition in children in remission from acute lymphoblastic leukemia. *Am J Clin Nutr* 2006; 83(1):70-4.

Must A, Dallal GE, Dietz WH. Reference data for obesity: 85th and 95th percentiles of body mass index (wt/ht²) and triceps skinfold thickness. *Am J Clin Nutr* 1991; 53(4): 839-46.

Narkewicz MR, Krebs N, Karrer F, Orban-Eller K, Sokol RJ. Correction of hypozincemia following liver transplantation in children is associated with reduced urinary zinc loss. *Hepatology* 1999; 29(3):830-3.

National Center for Health Statistics - 2000. Centers for Disease Control and Prevention [online]. Growthcharts [acesso 2009 Janeiro 28]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/growthcharts>.

Nishi Y. Zinc levels in plasma, erythrocyte and leukocyte in healthy children and adults. *Hiroshima J Med Sci* 1980; 29(1):7-13.

Noakes M. The role of protein in weight management. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008; 17 Suppl 1:169-71.

Nobili V, Pastore A, Gaeta LM, Tozzi G, Comparcola D, Sartorelli MR, et al. Glutathione metabolism and antioxidant enzymes in patients affected by nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Chim Acta* 2005; 355(1-2):105-11.

Nordborg E, Schaufelberger C, Bosaeus I. The effect of glucocorticoids on fat and lean tissue masses in giant cell arteritis. *Scand J Rheumatol* 1998; 27(2):106-11.

Norman K, Kirchner H, Lochs H, Pirlich M. Malnutrition affects quality of life in gastroenterology patients. *World J Gastroenterol* 2006; 12(21):3380-5.

Overbeck S, Uciechowski P, Ackland ML, Ford D, Rink L. Intracellular zinc homeostasis in leukocyte subsets is regulated by different expression of zinc exporters ZnT-1 to ZnT-9. *J Leukoc Biol* 2008; 83(2):368-380.

Ozbal E, Helvaci M, Kasirga E, Akdenizoglu F, Kizilgunesler A. Serum zinc as a factor predicting response to interferon-alpha2b therapy in children with chronic hepatitis B. *Biol Trace Elem Res* 2002; 90(1-3):31-8.

Ozmen I. Evaluation of effect of some corticosteroids on glucose-6-phosphate dehydrogenase and comparative study of antioxidant enzyme activities. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2005; 20(1):19-24.

Paddon-Jones D, Westman E, Mattes RD, Wolfe RR, Astrup A, Westerterp-Plantenga M. Protein, weight management, and satiety. *Am J Clin Nutr* 2008; 87(5 Suppl 1):1558-61.

Pavao ML, Figueiredo T, Santos V, Lopes PA, Ferin R, Santos MC, et al. Whole blood glutathione peroxidase and erythrocyte superoxide dismutase activities, serum trace elements (Se, Cu, Zn) and cardiovascular risk factors in subjects from city of Ponta Delgada, Island of San Miguel, The Azores Archipelago, Portugal. *Biomarkers* 2006; 11(5):460-71.

Pemberton PW, Aboutwerat A, Smith A, Burrows PC, McMahon RF, Warnes TW. Oxidant stress in type I autoimmune hepatitis: the link between necroinflammation and fibrogenesis?. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1689(3):182-9.

Penna SC. Níveis de glutatona reduzida e atividade da catalase, superóxido dismutase e glicose-6-fosfato desidrogenase em indivíduos expostos ao vapor de mercúrio [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1995.

Peretz A, Nève J, Famaey JP. Effects of chronic and acute corticosteroid therapy on zinc and copper status in rheumatoid arthritis patients. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1989; 3(2):103-8.

Peretz A, Nève J, Jeghers O, Leclercq N, Praet JP, Vertongen F, et al. Interest of zinc determination in leucocyte fractions for the assessment of marginal zinc status. *Clinica Chimica Acta* 1991; 203(1):35-46.

Phillips MJ, Ackerley CA, Superina RA, Roberts EA, Filler RM, Levy GA. Excess zinc associated with severe progressive cholestasis in Cree and Ojibwa-Cree children. *Lancet* 1996; 347(9005):866-8.

Pierro A, Koletzko B, Carnielli V. Resting energy expenditure is increased in infants and children with extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Surg* 1989; 24(6):534-8.

Porta G. Hepatite auto-imune na infância: análise clínico-laboratorial, histológica e evolutiva [Tese – Livre Docência]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 1993.

Porta G. Hepatite Auto-Imune. J Pediatr 2000; 76 Suppl 2:181-6.

Porta G. Hepatite auto-imune. In: Ferreira CT, de Carvalho E, Silva LR. Gastroenterologia e hepatologia em pediatria: diagnóstico e tratamento. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica; 2003. p.573-80.

Prasad AS. Zinc deficiency in women, infants and children. J Am Coll Nutr 1996; 15(2):113-20

Prasad AS, Halsted JA, Nadimi M. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. Am J Med 1961; (31): 532-46.

Prasad AS, Miale A, Farid Z, Sandstead HH, Schlert AR. Zinc metabolism in normals and patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism and hypogonadism. J Lab Clin Med 1963; (6)1:537-48.

Ramos HRI, Atalah SE, Urteaga RC, Castaneda LR, Orozco LM, Avila L, et al. Effect of the consumption of a food supplement on plasma zinc concentrations of free-living Chilean elderly adults. Rev Med Chile 2007; 135(8):1015-24.

Rover Júnior L, Hoehr NF, Vellasco AP, Kubota LT. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. Quim Nova 2001; 24(1):112-9.

Rukgauer M, Neugebauer RJ, Plecko T. The relation between selenium, zinc and copper concentration and the trace element dependent antioxidative status. J Trace Elem Med Biol 2001; 15(2-3):73-8.

Saner G, Suoglu OD, Yigitbasi M, Sokucu S, Elkabes B. Zinc nutrition in children with chronic liver disease. J Trace Elem Exp Med 2000;13:271-6.

Schmuck A, Roussel AM, Arnald J, Ducros V, Favier A, Franco A. Analyzed dietary intakes, plasma concentrations of zinc, copper, and selenium, and related antioxidant enzyme activities in hospitalized alderly women. J Am Coll Nutr 1996; 15(5):462-8.

Schneider ACR, Pinto RB, Froehlich PE, Borges AP, Maldonado A, da Silveira TR. Zinco plasmático em crianças e adolescentes com cirrose. Resumo do XII Congresso Brasileiro de Gastroenterologia Pediátrica e II Congresso Brasileiro de Hepatologia Pediátrica; 2005 Nov 5-9; Gramado, Brasil. p. 16.

Schneider ACR, Pinto RB, Silveira TR. Determinação de risco nutricional e desnutrição por antropometria em crianças e adolescentes com cirrose. *Arq Gastroenterol* 2007; 44(4):345-9.

Selimoglu MA, Aydogdu S, Unal F, Yüce G, Yagci RV. Serum zinc status in chronic hepatitis B and its relationship to liver histology and treatment results. *Pediatr Int* 2001; 43(4):396-9.

Sheng XY, Hambidge KM, Zhu XX, Ni JX, Bailey KB, Gibson RS, et al. Major variables of zinc homeostasis in Chinese toddlers. *Am J Clin Nutr* 2006; 84(2):389-94.

Siegel S. O caso de duas amostras independentes. In: Siegel S. Estatística não-paramétrica. São Paulo: McGraw-Hill; 1975. p.106-16 a.

Siegel S. Medidas de correlação e suas provas de significância. In: Siegel S. Estatística não-paramétrica. São Paulo: McGraw-Hill; 1975. p.228-40 b.

Silva AP, Vitolo MR, Zara LF, Castro CF. Effects of zinc supplementation on 1- to 5-year old children. *J Pediatr* 2006; 82(3):227-31.

Silva LC, Carrilho FJ, Di Pietro A, Granato C, Corrêa NS, Antonelli R, et al. Chronic hepatitis in São Paulo, Brazil. General data and clinical forms. *Gastrointest Hepatol* 1986; (9):340-3.

Siqueira C, de Moura MC, Pedro AJ, Rocha P. Elevated nitric oxide and 3',5' cyclic guanosine monophosphate levels in patients with alcoholic cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2008; 14(2):236-42.

Skalnaya MG, Demidov VA. Hair trace element contents in women with obesity and type 2 diabetes. *J Trace Elem Med Biol* 2007; 21 Suppl 1:59-61.

Slaughter MH, Lohman TG, Boileau RA, Horswill CA, Stillman RJ, Van Loan MD, et al. Skinfold equations for estimation of body fatness in children and youth. *Human Biology* 1988; 60(5):709-23.

Sobhonslidsuk A, Jongjirasiri S, Thakkestian A, Wisedopas N, Bunnag P, Puavilai G. Visceral fat and insulin resistance as predictors of non-alcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13(26):3614-8.

Sood A, Midha V, Sood N, Bansal M. Long term results of use of azathioprine in patients with ulcerative colitis in India. *World J Gastroenterol* 2006; 12(45):7332-6.

Stewart-Knox BJ, Simpson EE, Parr H, Rae G, Polito A, Intorre F, et al. Taste acuity in response to zinc supplementation in older Europeans. *Br J Nutr* 2008; 99(1):129-36.

Stojiljković V, Todorović A, Radlović N, Pejić S, Mladenović M, Kasapović J, Pajović SB. Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation in peripheral blood of children affected by coeliac disease. *Ann Clin Biochem* 2007; 44(Pt 6):537-43.

Strassburg CP, Manss MP. Auto antibodies and auto antigens in autoimmune hepatitis. *Seminars Liver Dis* 2002; 22(4):339-51.

Sullivan VK, Burnett FR, Cousins RJ. Metallothionein expression is increased in monocytes and erythrocytes of young men during zinc supplementation. *J Nutr* 1998; 128(4):707-13.

Summerskill WHJ, Korman MG, Ammon HV, Baggenstoss AH. Prednisone for chronic active liver disease: dose titration, standard dose, and combination with azathioprine compared. *Gut* 1975; 16(11): 876-83.

Surapaneni KM, Venkataramana G. Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in patients with osteoarthritis. *Indian J Med Sci* 2007; 61(1):9-14.

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

Thomas EA, Bailey LB, Kauwell GA, Lee DY, Cousins RJ. Erythrocyte metallothionein response to dietary zinc in humans. *J Nutr* 1992; 122(12):2408-14.

Thompson FE, Byers T. Dietary assessment resource manual. *J Nutr* 1994; 124(11 Suppl 1):2245-317.

Tommerup N, Vissing H. Isolation and fine mapping of 16 novel human zinc finger-encoding cDNAs identify putative candidate genes for developmental and malignant disorders. *Genomics* 1995; 27(2):259-64.

Trevillian P. Immunosuppressants - Clinical applications. *Aust Prescr* 2006; 29(4):102-8.

Universidade Estadual de Campinas. Núcleo de estudos e pesquisas em alimentação (NEPA). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). Campinas: NEPA-UNICAMP; 2006. 2. ed. 113p.

Valberg LS, Flanagan PR, Ghent CN, Chamberlain MJ. Zinc absorption and leukocyte zinc in alcoholic and nonalcoholic cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1985; 30(4):329-33.

Valentini L, Schaper L, Buning C, Hengstermann S, Koernicke T, Tillinger W, et al. Malnutrition and impaired muscle strength in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis in remission. *Nutrition* 2008; 24(7-8):694-702.

Vallee BL, Gibson JG. The zinc content of normal human whole blood, plasma, leucocytes, and erythrocytes. *J Biol Chem* 1948; (176):445-57.

Van Der Sluis IM, de Ridder MAJ, Boot AM, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SMPF. Reference data for bone density and body composition measured with dual energy x ray absorptiometry in white children and young adults. *Arch Dis Child* 2002; 87(4):341-7.

Varshavsky BY, Trubnikov GV, Galaktionova LP, Korenyak NA, Kolodeznaya IL, Oberemok AN. The oxidative-antioxidative status in patients with bronchial asthma in inhaled and oral glucocorticoid therapy. *Ter Arkh* 2003; 75(3):21-4.

Vianna OIM, Paulo RHY, Fujimori E. Efeito da restrição energética na atividade hepática da gama-glutamyltranspeptidase e nos níveis de glutatona. *Rev Nutr* 2000; 13(1):51-6.

Walker CLF, Black RE. Functional indicators for assessing zinc deficiency. *Food Nutr Bull* 2007; 28(3 Suppl 1):454-79.

Walther UI. Changes in the glutathione system of lung cell lines after treatment with hydrocortisone. *Arch Toxicol* 2004; 78(7):402-9.

Wang SC, Chen YS, Chen SM, Young TK. Possible site of decreased intestinal zinc absorption in chronic uremic rats. *Nephron* 2001; 89(2):208-14.

Weisstaub G, Hertrampf E, de Romana DL, Salazar G, Bugueno C, Castillo-Duran C. Plasma zinc concentration, body composition and physical activity in obese preschool children. *Biol Trace Elem Res* 2007; 118(2):167-74.

Weisstaub G, Medina M, Pizarro F, Araya M. Copper, iron, and zinc status in children with moderate and severe acute malnutrition recovered following WHO protocols. *Biol Trace Elem Res* 2008; 124(1):1-11.

Werner M, Prytz H, Ohlsson B, Almer S, Bjornsson E, Bergquist A. Epidemiology and the initial presentation of autoimmune hepatitis in Sweden: A nationwide study. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2008; 43 (10): 1232-40

White SD, Maxwell LK, Szabo NJ, Hawkins JL, Kollias-Baker C. Pharmacokinetics of azathioprine following single-dose intravenous and oral administration and effects of azathioprine following chronic oral administration in horses. *Am J Vet Res* 2005; 66(9):1578-83.

Wood RJ. Assessment of marginal zinc status in humans. *J Nutr* 2000; 130(5 Suppl 1):1350-4.

Wood RJ, Zheng JJ. High dietary calcium intakes reduce zinc absorption and balance in humans. *Am J Clin Nutr* 1997; 65(6):1803-9.

World Health Organization – 2007. Growth reference 5-19 years [acesso 2009 Janeiro 28]. Disponível em: http://www.who.int/growthref/who2007_height_for_age/en/index.html.

Yildirim A, Sahin YN, Suleyman H, Yilmaz A, Yildirim S. The role of prednisolone and epinephrine on gastric tissue and erythrocyte antioxidant status in adrenalectomized rats. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58(1):105-16.

Yorbik O, Ozdag MF, Olgun A, Senol MG, Bek S, Akman S. Potential effects of zinc on information processing in boys with attention deficit hyperactivity disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32(3):662-7. Epub 2007 Nov 17. Disponível em: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18083281>

Yoshida Y, Higashi T, Nouse K, Nakatsukasa H, Nakamura S, Watanabe A, et al. Effects of zinc deficiency/zinc supplementation on ammonia metabolism in patients with decompensated liver cirrhosis. *Acta Med Okayama* 2001; 55(6):349-55.

Yu HH, Shan YS, Lin PW. Zinc deficiency with acrodermatitis enteropathica-like eruption after pancreaticoduodenectomy. *J Formos Med Assoc* 2007; 106(10):864-8.

Zaidi SM, Al-Qirim TM, Banu N. Effects of antioxidant vitamins on glutathione depletion and lipid peroxidation induced by restraint stress in the rat liver. *Drugs R D* 2005; 6(3): 157-65.

9- ANEXOS

ANEXO 1- Sistema de escore para o diagnóstico de HAI

Parâmetros	Escore*
Sexo	
Feminino	+2
Relação FA/AST ou ALT	
<1,5	+2
1,5-3,0	0
>3,0	-2
Níveis séricos de globulinas ou gamaglobulinas ou IgG (número de vezes acima do limite normal)	
>2,0	+3
1,5-2,0	+2
1,0-1,5	+1
<1,0	0
Auto-anticorpos (títulos por IFI em cortes de rato) FAN, AML, AMFR-1	
>1/80	+3
1/80	+2
1/40	+1
<1/40	0
AM	-4

Marcadores virais (VHA, VHB, VHC, CMV, EB)

Positivos	-3
Negativos	+3

História de drogas (recente ou uso contínuo ou suspeita de drogas hepatotóxicas)

Positiva	-4
Negativa	+1

Consumo alcoólico

<25 g/dia	+2
>60 g/dia	-2

Histologia

Hepatite por interface	+3
Rosetas de hepatócitos	+1
Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário acentuado	+1
Nenhum dos acima	-5
Alterações biliares	-3

Outras alterações:

granulomas, siderose e depósitos de cobre sugestivo de diferente etiologia	-3
--	----

Outras doenças auto-imunes (pacientes ou familiares de primeiro grau) +2

Soropositividade para outro autoanticorpo definido	+2
--	----

(pANCA, anticitosol-1, anti-AHS, anti-ASGP-R, antiantígeno de membrana plasmática de hepatócito humano ou glicosfingolípide da membrana plasmática de hepatócitos, anti-sulfatide)

HLA DR3 ou DR4 (HLA de diferentes populações podem ser consideradas) +1

Resposta terapêutica

Completa +2

Recaídas +3

* Interpretação do escore:

1. Pré-tratamento:

a. Definitivo >15

b. Provável 10-15

2. Pós-tratamento:

a. Definitivo >17

b. Provável 12-17

ANEXO 2- Parecer do comitê de ética da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp



CEP, 22/11/05.
(Grupo III)

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas, SP.

(0_19) 3788-8936

FAX (0_19) 3788-7187

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

cep@fcm.unicamp.br

PARECER PROJETO: Nº 676/2005

CAAE: 1611.0.146.000-05

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “DEFICIÊNCIA DE ZINCO EM CRIANÇAS PORTADORAS DE DOENÇAS HEPÁTICAS CRÔNICAS”

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Thalita Cremonesi Pereira

INSTITUIÇÃO: HC/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 04/11/2005

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 22/11/06

II - OBJETIVOS

Verificar a existência de deficiência de zinco em crianças hepatopatas crônicas por meio da análise dos níveis sanguíneos desse mineral, correlacionando com ingesta alimentar, dados antropométricos e distúrbios do apetite, bem como comparar os níveis sérico e leucocitário de zinco em crianças com valores normais para idade e gênero e analisar o consumo alimentar de zinco.

III - SUMÁRIO

A pesquisadora explica que não se sabe se os pacientes portadores de doenças hepáticas apresentam o diagnóstico de deficiência de zinco, visto que exames sanguíneos de medida da concentração desse mineral não são relacionados com a ingestão alimentar e características antropométricas dos pacientes. O projeto prevê um estudo transversal com 30 crianças de ambos os gêneros e com idade entre 10 e 18 anos, com diagnóstico de hepatopatia crônica acompanhadas no ambulatorio e Hepatologia Pediátrica e Transplante Hepático do HC/Unicamp. Os sujeitos serão submetidos a uma entrevista por questionário semi-estruturado e exames sanguíneos compreendendo dosagem de zinco sérico, eletroforese de proteínas, hemograma e fosfatase alcalina (os quais fazem parte da rotina de assistência do referido ambulatorio). No mesmo dia da punção, serão coletados mais 17 ml de amostra de sangue para dosagem de zinco leucocitário por método descrito na literatura. Serão incluídas na amostra as crianças que preenchem a descrição acima, sendo excluídas as que tiverem questionário incompletamente preenchido ou não autorização dos responsáveis para participação.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O projeto é claro e os procedimentos são simples, sem acarretar em riscos adicionais aos sujeitos, pois envolvem a coleta de dados por entrevista e por exame antropométrico, além de

compilação de dados de exames habitualmente realizados no acompanhamento médico regular ambulatorial. Está prevista a coleta de uma quantidade extra de sangue periférico, a qual deverá ser feita durante a coleta dos demais exames para minimizar riscos e desconforto. O TCLE, voltado para o responsável legal pelos sujeitos menores de idade, é bastante sucinto, porém escrito em linguagem clara e detalhando aspectos como voluntariedade, não remuneração, sigilo, descontinuidade sem prejuízo e direito a informação.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

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

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

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

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

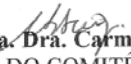
O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e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

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

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

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na XI Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 22 de novembro de 2005.


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

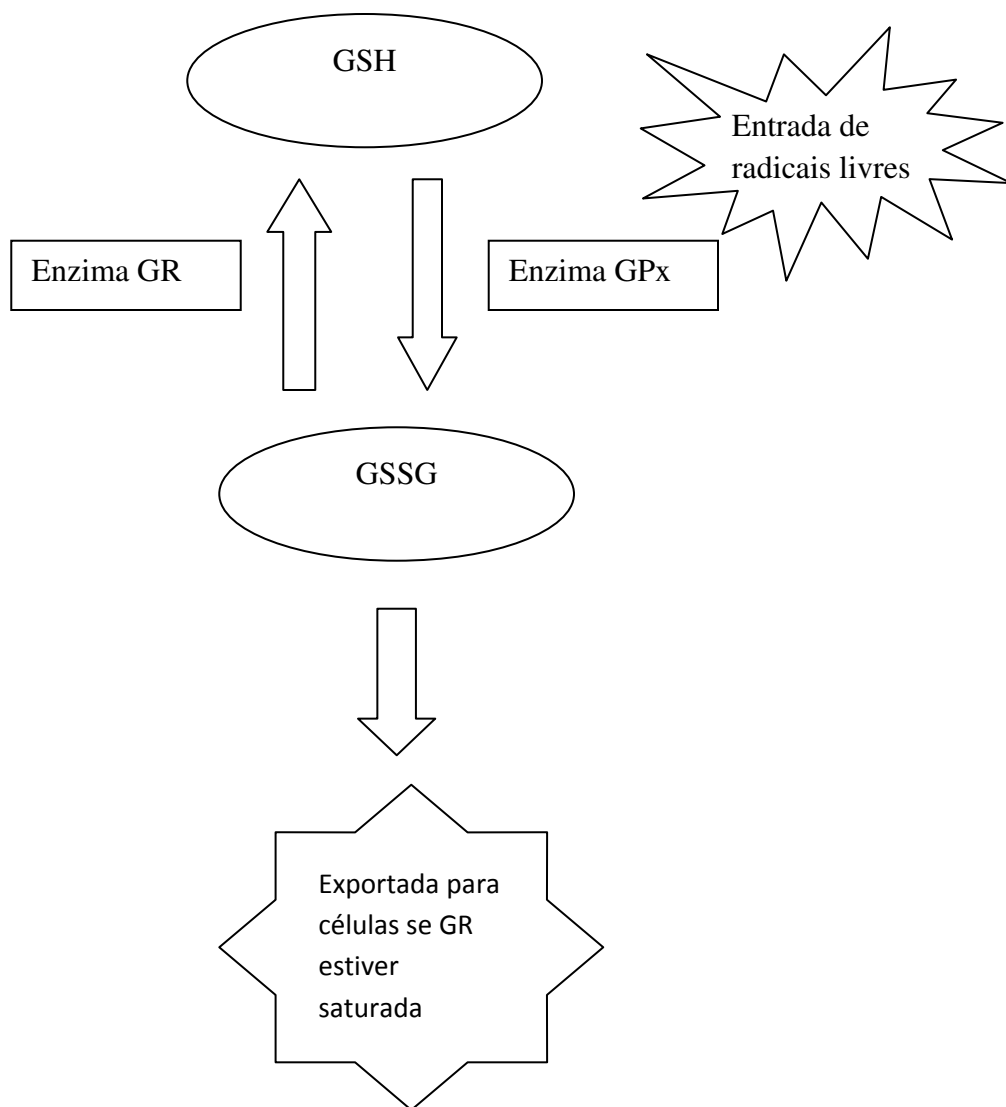
10- APÊNDICES

APÊNDICE 1- Comparação dos indicadores Zn plasmático e sérico, Zn eritrocitário e Zn leucocitário quanto aos seus fatores favoráveis e limitantes apresentados pelos artigos revisados

INDICADORES	FATORES FAVORÁVEIS	FATORES LIMITANTES
Plasmático e Sérico	- Facilidade da análise - Aplicável a grandes populações - Único indicador com valor de referência estabelecido pelo NHANES	- Inflamação, estresse, infecção, hemólise e uso de anticoncepcionais alteram a quantidade de Zn no plasma e soro. - Quantidade de albumina sanguínea altera a concentração de Zn plasmático.
Eritrocitário	- Altas concentrações de Zn nos eritrócitos - Facilidade regular da análise - Aplicável em médias populações	- Meia vida longa dos eritrócitos - Em uma população formada por indivíduos semelhantes, são encontrados níveis muito diferentes de Zn eritrocitário
Leucocitário	- Reflete mudanças recentes devido ao fato dos leucócitos terem meia vida curta - Quantidade de Zn por número de glóbulo branco é maior que a quantidade de Zn por número de glóbulo vermelho	- Análise difícil pela contaminação com hemácias ou plaquetas - Aplicável apenas a pequenas populações - Necessita de grande volume sanguíneo, o que limita aplicação em crianças pequenas - Dentro de uma população homogênea semelhante, são encontrados níveis muito diferentes de Zn leucocitário

Os dados desta tabela refletem compilação dos resultados apresentados pelos artigos revisados.

APÊNDICE 2- Ciclo metabólico da glutatona



APÊNDICE 3- Modelo de inquérito alimentar entregue aos pacientes e grupo controle para serem preenchidos

Data: __/__/__

Refeições	Alimentos	Medida caseira	Peso (g)
Café da manhã			
Colação			
Almoço			
Lanche da tarde			
Jantar			
Ceia			

APÊNDICE 4- Modelo de Questionário do grupo de pacientes

A) Dados pessoais

Data da entrevista: __/__/__

Iniciais do nome:

HC:

Sexo:

Data de nascimento:

Idade:

Desenvolvimento puberal:

Data do início do tratamento:

Tempo de tratamento até a data atual:

Dose atual de corticóide: ____ mg

Outras doenças:

Outros medicamentos utilizados:

Vitaminas em uso:

Medicamentos a base de zinco:

Outros suplementos alimentares:

B) Dados clínicos

Incidência de:

() ascite

() diarreia

() vômitos

() apetite diminuído

() hipogeusia

() acrodermatite

() alopecia

() edema

C) Dados Bioquímicos

Data do exame: ____/____/____

1. Eletroforese de proteínas: _____

2. Hemograma

Hb: _____

Ht (%): _____

Leucócitos totais: _____

3. Fosfatase alcalina: _____

4. Bilirrubina: _____

5. RNI: _____

6. Albumina: _____

7. GGT: _____

8. Zinco plasmático: _____

APÊNDICE 5- Modelo de Questionário do grupo controle

A) Dados Pessoais

Data da entrevista: __/__/__

Iniciais do nome:

Sexo:

Data de nascimento:

Idade:

Utilização de algum medicamento:

Vitaminas ou outros suplementos em uso:

B) Dados Bioquímicos

Data do exame de sangue: __/__/__

1. Hemograma

Hb: _____

Ht (%): _____

2. Zinco plasmático: _____

