

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM ATENÇÃO À SAÚDE**

FÁBIO DA VEIGA UED

**HÁBITOS ALIMENTARES E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE VITAMINAS
ANTIOXIDANTES EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS COM E SEM
DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA**

UBERABA – MG

2014

FÁBIO DA VEIGA UED

**HÁBITOS ALIMENTARES E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE VITAMINAS
ANTIOXIDANTES EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS COM E SEM
DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Atenção à Saúde, área de concentração Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Virgínia Resende Silva Weffort

Uberaba – MG

2014

FÁBIO DA VEIGA UED

**HÁBITOS ALIMENTARES E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE VITAMINAS
ANTIOXIDANTES EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS COM E SEM
DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Atenção à Saúde, área de concentração Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Uberaba, 09 de Janeiro de 2014.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Virgínia Resende Silva Weffort – Orientadora
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof^a. Dr^a. Elizabeth Barichello
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof. Dr. Gabriel Hessel
Universidade Estadual de Campinas

Dedico este trabalho a minha família,
amigos, colegas e professores que admiram e
acreditam na arte de fazer ciência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força e inspiração.

À minha mãe Helenice, que sempre foi conforto, incentivo, ânimo e fé. Agradeço pela paciência, pela convivência e pela compreensão.

Aos meus irmãos Fernando e Flávia pelas vivências de fraternidade e amizade.

À minha orientadora, Professora Dr^a. Virgínia Resende Silva Weffort, meu muito obrigado pelas contribuições, pelos conhecimentos transmitidos, pela experiência, sabedoria e, acima de tudo, pelo incentivo, pela paciência, atenção e dedicação com a pesquisa.

Aos professores Dr. Gabriel Hessel, Dr^a. Elizabeth Barichello, Dr^a. Ana Lúcia de Assis Simões e Dr. Joel Alves Lamounier por participarem como membros da banca examinadora.

Um agradecimento especial à Dra. Ângela Regina Leonesi Maluf e à Prof^a. Ms. Sylvana Araújo Barros Luz pela convivência diária nas tardes de Ambulatório, por auxiliarem com a coleta de dados, pelo respeito, atenção e conhecimento compartilhado.

Ao professor Dr. Vanderlei José Haas, pelo auxílio prestado com as análises estatísticas.

Aos professores Dr. Guilherme Vannucchi Portari e Dr. Daniel Ferreira da Cunha por permitirem a realização das análises bioquímicas em seus laboratórios.

Aos colegas e alunos de Iniciação Científica, Andrew Bassi e Aline Rosa Oliveira, por disponibilizarem tempo e paciência para as coletas de dados, pelo auxílio e pela companhia durante toda esta etapa.

Aos funcionários do Hospital de Clínicas, especialmente do Laboratório de Análises Clínicas, do Ambulatório de Obesidade Infantil e da Disciplina de Pediatria, pelo auxílio diário durante a execução do projeto.

A todas as crianças e adolescentes participantes da pesquisa, pois sem a colaboração dos mesmos esta pesquisa não se realizaria.

A todos os professores do Mestrado pelos constantes ensinamentos que com certeza foram engrandecedores.

Aos meus amigos e colegas de Mestrado pelo apoio, carinho e atenção.

A todos, que direta ou indiretamente permitiram que este sonho se concretizasse.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Teresa de Calcuta

RESUMO

UED, F. V. **Hábitos alimentares e níveis plasmáticos de vitaminas antioxidantes em crianças e adolescentes obesos com e sem doença hepática gordurosa não alcoólica**. 2014. 99 f. Dissertação (Mestrado em Atenção à Saúde) – Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Atenção à Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2014.

Introdução: O aumento das taxas de prevalência de obesidade na faixa etária pediátrica contribui para o surgimento de comorbidades associadas, tais como a doença hepática gordurosa não alcoólica. A DHGNA trata-se de uma doença potencialmente letal, capaz de progredir para esteato-hepatite e cirrose. O tratamento com vitaminas antioxidantes, objetivando a redução da peroxidação lipídica e progressão da doença, vem sendo amplamente investigado por pesquisadores e especialistas. **Objetivo:** Analisar o consumo alimentar e os níveis plasmáticos de vitaminas antioxidantes em crianças e adolescentes obesos com e sem DHGNA. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal observacional, composto por 37 crianças e adolescentes, divididos em dois grupos após o exame de ultrassonografia: Grupo de crianças obesas com esteatose e Grupo de crianças obesas sem esteatose. **Resultados:** Comparou-se entre os grupos o perfil lipídico, os níveis séricos de proteína C reativa, de transaminases e de vitaminas antioxidantes, bem como a ingestão dietética destas vitaminas. Além disso, para cada exame alterado, verificou-se o risco de esta alteração significar uma maior chance de desenvolver esteatose hepática. A presença da doença esteve associada ao aumento dos valores de IMC, circunferência abdominal, colesterol total, LDL-c, triglicérides, AST, ALT e PCR. Além disso, esteve associada à redução dos níveis séricos de HDL-c, betacaroteno, ácido ascórbico e alfa tocoferol. Os níveis séricos de ácido ascórbico apresentaram uma redução significativa no grupo com DHGNA, e a proteína C reativa esteve significativamente elevada no mesmo grupo. O grupo de obesos com esteatose também apresentou maior redução da ingestão de vitaminas antioxidantes. Ainda assim, as alterações dietéticas e dos exames bioquímicos não estiveram associadas a um risco significativo de desenvolvimento da DHGNA. **Conclusão:** Os hábitos alimentares de crianças obesas com esteatose evidenciam

um baixo consumo de vitaminas antioxidantes. Além disso, níveis plasmáticos de betacaroteno, ácido ascórbico e alfa tocoferol também se encontram reduzidos neste grupo. Contudo, não é possível afirmar que estas alterações nos exames analisados sejam a causa do desenvolvimento da DHGNA, sendo necessários novos estudos para investigação.

Palavras-chave: obesidade, fígado gorduroso, criança, vitamina antioxidante.

ABSTRACT

UED, F. V. **Dietary habits and plasma levels of antioxidant vitamins in obese children and adolescents with and without non-alcoholic fatty liver disease.** 2014. 99 f. Dissertation (Masters in Health Care) - Post-graduate studies in Health Care, Federal University of Triangulo Mineiro, Uberaba, 2014.

Introduction: The increasing prevalence of obesity in the pediatric age group contributes to the emergence of comorbidities, such as nonalcoholic fatty liver disease. NAFLD it is a potentially lethal disease, can progress to steatohepatitis and cirrhosis. Treatment with antioxidant vitamins, aiming at the reduction of lipid peroxidation and progression of the disease, has been widely investigated by researchers and specialists. Objective: To evaluate the dietary intake and plasma levels of antioxidant vitamins in obese children and adolescents with and without NAFLD. Methods: This was a cross sectional observational study composed of 37 children, divided into two groups after ultrasound: group of obese children with steatosis and group of obese children without steatosis. Results: Were compared between groups lipid profile, serum levels of C-reactive protein, transaminases and antioxidant vitamins, as well as dietary intake of these vitamins. In addition, for each abnormal test, it was found the risk of this change means a greater chance of developing hepatic steatosis. The presence of the disease was associated with increased BMI, waist circumference, total cholesterol, LDL-c, triglycerides, AST, ALT and CRP. Furthermore, was associated with reduced serum levels of HDL-c, beta-carotene, ascorbic acid and alpha tocopherol. Serum levels of ascorbic acid exhibited a significant decrease in the group with NAFLD and C-reactive protein was significantly higher in the group. The obese group with steatosis also showed greater reduction in intake of antioxidant vitamins. Still, dietary changes and biochemical tests were not associated with a significant risk of developing NAFLD. Conclusion: The dietary habits of obese children with fatty liver showed a low intake of antioxidant vitamins. Furthermore, plasma levels of beta-carotene, ascorbic acid and alpha-tocopherol are also reduced in this group. However, it is not possible to say that

these changes analyzed in exams are the cause of the development of NAFLD, other studies are necessary to investigate.

Keywords: obesity, fatty liver, children, antioxidant vitamin.

RESUMEN

UED, F. V. **Los hábitos alimentarios y los niveles plasmáticos de vitaminas antioxidantes en niños y adolescentes obesos con y sin enfermedad de hígado graso no alcohólico**. 2014. 99 f. Tesis (Maestría en Atención de la Salud) - Estudios de Postgrado en Atención de la Salud, Universidad Federal de Triangulo Mineiro, Uberaba, 2014.

Introducción: La creciente prevalencia de la obesidad en la edad pediátrica contribuye a la aparición de comorbilidades, como la enfermedad de hígado graso no alcohólico. Hígado graso no alcohólico es una enfermedad potencialmente mortal, puede progresar a la esteatohepatitis y cirrosis. El tratamiento con vitaminas antioxidantes, con miras a la reducción de la peroxidación lipídica y la progresión de la enfermedad, ha sido ampliamente estudiado por los investigadores y expertos. Objetivo: Evaluar los niveles de consumo y de plasma diaria de vitaminas antioxidantes en niños y adolescentes obesos con y sin EHNA. Métodos: Se realizó un estudio observacional de corte transversal, que comprende 37 niños , divididos en dos grupos después de la ecografía: Grupo de niños obesos con esteatosis y el grupo de niños obesos y sin esteatosis. Los resultados se compararon entre los grupos de perfil de lípidos, los niveles séricos de proteína C-reactiva, las transaminasas y vitaminas antioxidantes, así como la ingesta dietética de estas vitaminas. Además, para cada examen cambiado, había el riesgo de que este cambio significa una mayor probabilidad de desarrollar esteatosis hepática. La presencia de la enfermedad se asoció con mayor índice de masa corporal, circunferencia de la cintura, colesterol total, LDL -c, triglicéridos, AST, ALT y PCR . Además, se asoció con una reducción de los niveles séricos de HDL-c, el beta-caroteno, ácido ascórbico y alfa-tocoferol. Los niveles séricos de ácido ascórbico mostraron una disminución significativa en el grupo con hígado graso no alcohólico y la proteína C reactiva fue significativamente mayor en el grupo. El grupo de obesos con esteatosis también mostró una mayor reducción en la ingesta de vitaminas antioxidantes. Sin embargo, cambios en la dieta y pruebas bioquímicas no se asociaron con un riesgo significativo de desarrollo de hígado graso no alcohólico . Conclusión: Los hábitos alimenticios de los niños obesos con esteatosis revelan una

baja ingesta de vitaminas antioxidantes. Además, los niveles plasmáticos de beta-caroteno, ácido ascórbico y alfa-tocoferol también se reducen en este grupo. Sin embargo, no es posible decir que estos cambios se analizan en los exámenes debido al desarrollo de hígado graso no alcohólico, otros estudios son necesarios para investigar.

Palabras clave: obesidad, hígado graso, niño, vitamina antioxidante.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Sexo e faixa etária de crianças e adolescentes obesos participantes da pesquisa.	47
Tabela 2:	Composição dos grupos segundo sexo e faixa etária.	48
Tabela 3:	Média e desvio padrão das medidas de peso, estatura, IMC, e circunferência abdominal entre os grupos com e sem DHGNA.	49
Tabela 4:	Classificação da circunferência abdominal de crianças e adolescentes obesos com e sem esteatose.	50
Tabela 5:	Risco de esteatose segundo classificação da circunferência abdominal entre os grupos com e sem DHGNA.	51
Tabela 6:	Média e desvio padrão dos valores do lipidograma entre os grupos com e sem DHGNA.	52
Tabela 7:	Risco de esteatose hepática segundo alterações do perfil lipídico entre os grupos com e sem DHGNA.	54
Tabela 8:	Média e desvio padrão dos valores das enzimas hepáticas e proteína C reativa entre os grupos com e sem DHGNA.	55
Tabela 9:	Média e desvio padrão dos valores séricos de vitaminas antioxidantes entre os grupos com e sem DHGNA.	56
Tabela 10:	Risco de esteatose hepática segundo valores séricos de vitaminas antioxidantes entre os grupos com e sem DHGNA.	57
Tabela 11:	Média e desvio padrão dos valores de ingestão das vitaminas A, C e E entre os grupos com e sem DHGNA.	58
Tabela 12:	Risco de esteatose hepática segundo valores de ingestão dietética de vitaminas antioxidantes entre os grupos com e sem DHGNA.	59
Tabela 13:	Correlação entre valores de ingestão e níveis séricos de vitaminas antioxidantes entre os grupos com e sem DHGNA.	61

Tabela 14:	Correlação entre valores de ingestão de vitamina A e perfil lipídico entre os grupos com e sem DHGNA.	62
Tabela 15:	Correlação entre valores de ingestão de vitamina C e perfil lipídico entre os grupos com e sem DHGNA.	62
Tabela 16:	Correlação entre valores de ingestão de vitamina E e perfil lipídico entre os grupos com e sem DHGNA.	63
Tabela 17:	Correlação entre os níveis séricos de retinol, transaminases e PCR, entre os grupos com e sem DHGNA.	64
Tabela 18:	Correlação entre os níveis séricos de betacaroteno, transaminases e PCR, entre os grupos com e sem DHGNA.	64
Tabela 19:	Correlação entre os níveis séricos de ácido ascórbico, transaminases e PCR, entre os grupos com e sem DHGNA.	65
Tabela 20:	Correlação entre os níveis séricos de alfa tocoferol, transaminases e PCR, entre os grupos com e sem DHGNA.	65

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E QUADROS

Figura 1:	Representação esquemática da composição da amostra.	48
Quadro 1:	Nível de ingestão dietética recomendada (RDA) para vitaminas antioxidantes, segundo a ingestão diária recomendada (DRI).	36
Quadro 2:	Níveis séricos recomendados de vitaminas A, E e C em crianças e adolescentes.	42
Quadro 3:	Níveis séricos recomendados de betacaroteno em crianças e adolescentes.	42
Quadro 4:	Valores de perfil lipídico em crianças e adolescentes (acima de 2 anos).	43
Quadro 5:	Níveis séricos recomendados de proteína C reativa em crianças e adolescentes.	43
Quadro 6:	Níveis séricos recomendados de AST e ALT em crianças e adolescentes.	43

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

α : Alfa

AGL: Ácidos graxos livres

ALT: Alanina-aminotransferase

AST: Aspartato-aminotransferase

β : Beta

CA: Circunferência abdominal

cm: Centímetros

CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CT: Colesterol total

DHGNA: Doença hepática gordurosa não alcoólica

DRIs: Dietary Reference Intakes – ingestões diárias recomendadas

EHNA: Esteato-hepatite não alcoólica

ENDEF: Estudo Nacional de Despesas Familiares

ESPGHAN: European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition – Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica

g: Grama

HC: Hospital de Clínicas

HDL: High-density lipoprotein – lipoproteína de alta densidade

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC: Intervalo de confiança

IL-6: Interleucina-6

IMC: Índice de massa corporal

IMC/I: Índice de massa corporal por idade

kg: Quilogramas

LDL: Low-density lipoprotein – lipoproteína de baixa densidade

m: Metros

mg: Miligrama

mg/dL: Miligrama por decilitro

mhZ: Mega-hertz

min: Minuto

mL: Mililitro

n: Número de indivíduos

NAFLD: Nonalcoholic fatty liver disease - doença hepática gordurosa não alcoólica

NASH: Nonalcoholic steatohepatitis - esteato-hepatite não alcoólica

nm: Nanômetro

PA: Pressão arterial

PAI-1: Plasminogênio 1

PCR: Proteína C reativa

PNDS: Pesquisa Nacional sobre Demografia e Saúde

r: Magnitude do coeficiente de correlação de Pearson

RCP: Razão de chance de prevalência

RDA: Recommended Dietary Allowance – nível de ingestão dietética recomendada

RP: Razão de prevalência

rpm: Rotação por minuto

SBP: Sociedade Brasileira de Pediatria

SBC: Sociedade Brasileira de Cardiologia

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

TG: Triglicerídeo

TGO: Transaminase glutâmico-oxalacética

TGP: Transaminase glutâmico-pirúvica

TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa

UFTM: Universidade Federal do Triângulo Mineiro

μg : Micrograma

μL : Microlitro

U/L: Unidades por litro

US: Ultrassonografia

$\mu\text{mol/L}$: Micromol por litro

VLDL: Very-low-density lipoprotein – lipoproteína de muito baixa densidade

WHO / OMS: World Health Organization / Organização Mundial da Saúde

|r|: Módulo da razão de prevalência

>: Maior que

<: Menor que

$^{\circ}\text{C}$: Graus célsius

H_2O_2 : Peróxido de hidrogênio

H_2SO_4 : Ácido sulfúrico

NO: Óxido nítrico

O_2^- : Ânion superóxido

OH: Radical hidroxila

ONOO^- : Peroxinitrito

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
1.1 EPIDEMIOLOGIA DA OBESIDADE	20
1.2 COMORBIDADES ASSOCIADAS À OBESIDADE	20
1.3 DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA	21
1.4 EPIDEMIOLOGIA DA DHGNA	23
1.5 DIAGNÓSTICO DA DHGNA	24
1.6 FISIOPATOLOGIA DA DHGNA	25
1.7 TRATAMENTO DA DHGNA	27
1.8 VITAMINAS ANTIOXIDANTES E DHGNA	27
2 JUSTIFICATIVA	32
3 OBJETIVOS	33
3.1 OBJETIVO GERAL	33
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4 MÉTODOS	34
4.1 TIPO DE ESTUDO	34
4.2 LOCAL DO ESTUDO	34
4.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA	34
4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	34
4.5 ASPECTOS ÉTICOS	35
4.6 PROCEDIMENTO PARA COLETA DE DADOS	35
4.6.1 Avaliação Nutricional	35
4.6.1.1 Avaliação do consumo alimentar de crianças e adolescentes obesos	35
4.6.1.2 Registro Alimentar de 3 dias	37
4.6.1.3 Antropometria e avaliação clínica	37
4.6.1.4 Classificação do Estado Nutricional	38
4.6.2 Exames Laboratoriais	39
4.6.2.1 Dosagem das vitaminas antioxidantes	39
4.6.2.2 Avaliação do perfil lipídico	40
4.6.2.3 Dosagem das transaminases e proteína C reativa	41
4.6.2.4 Valores de referência para os exames bioquímicos	42
4.6.3 Exame Ultrassonográfico	43
4.7 VARIÁVEIS DO ESTUDO	44
4.7.1 Caracterização da população	44
4.7.2 Diagnóstico de esteatose hepática	45
4.7.3 Avaliação antropométrica e do estado nutricional	45
4.7.4 Avaliação do perfil lipídico	45
4.7.5 Avaliação das transaminases e proteína C reativa	45

4.7.6 Vitaminas A, E, C e betacaroteno	45
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
5 RESULTADOS	47
5.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO	47
5.2 PREVALÊNCIA DE DHGNA	47
5.3 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	49
5.4 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA	51
5.4.1 Perfil lipídico	51
5.4.2 Enzimas hepáticas e proteína C reativa	54
5.4.3 Vitaminas antioxidantes	55
5.5 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR	57
5.6 CORRELAÇÕES ENTRE VARIÁVEIS	60
5.6.1 Ingestão de vitaminas x Níveis séricos de vitaminas	60
5.6.2 Ingestão de vitaminas x Perfil lipídico	61
5.6.3 Níveis séricos de vitaminas x Marcadores de lesão hepática	63
6 DISCUSSÃO	66
7 CONCLUSÃO	77
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
REFERÊNCIAS	80
APÊNDICES	90
APÊNDICE A	91
APÊNDICE B	93
ANEXOS	94
ANEXO 1	95
ANEXO 2	96
ANEXO 3	97
ANEXO 4	98

1 INTRODUÇÃO

1.1 EPIDEMIOLOGIA DA OBESIDADE

O Estudo Nacional de Despesas Familiares (ENDEF), a Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição (*National Health and Nutrition Examination Survey*) e a Pesquisa Nacional sobre Demografia e Saúde (PNDS) apontam o declínio progressivo da desnutrição e o avanço do sobrepeso e da obesidade em todo o território brasileiro (JESUS et al., 2010).

No Brasil, ao longo das últimas décadas, a prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes encontra-se em crescente aumento. Em 2008, 33,5% das crianças de cinco a nove anos apresentavam excesso de peso. Entre adolescentes de 10 a 19 anos, a prevalência de excesso de peso era de 20,5%. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) registram que o número de crianças acima do peso mais que dobrou entre 1989 e 2009, passando de 15% para 34,8%. O número de obesos aumentou mais de 300% nesse mesmo grupo etário, aumentando de 4,1% em 1989 para 16,6% em 2008-2009. Entre as meninas, essa variação foi ainda maior, de 11,9% para 32% (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010).

1.2 COMORBIDADES ASSOCIADAS À OBESIDADE

O aumento alarmante das taxas de prevalência de obesidade na faixa etária pediátrica determina o aparecimento significativo de morbidades associadas, tais como: hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias, alterações no metabolismo glicídico, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), alterações ortopédicas, dermatológicas, síndrome da apneia obstrutiva do sono, síndrome dos ovários policísticos, além de problemas psicossociais. Estas morbidades associadas à obesidade necessitam de cuidadosa avaliação para sua detecção e tratamento (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012).

Relatos da literatura documentam complicações metabólicas, cardiovasculares, pulmonares, traumatológicas, psicológicas e algumas formas de câncer decorrentes da obesidade. Não obstante, sabe-se que o excesso de peso na infância é um importante fator de risco para o desenvolvimento da obesidade na vida

adulta; e as morbidades associadas, importantes preditores que contribuem para a redução da qualidade de vida (MENEZES et al., 2011).

Dentre as morbidades apresentadas, a dislipidemia relacionada com a obesidade apresenta frequência elevada e graves desfechos. É caracterizada por aumento dos níveis de triglicérides, queda dos níveis de HDL-colesterol e composição anormal de LDL-colesterol. O aumento de VLDLs e triglicérides, a redução do HDL-colesterol e o aumento do LDL-colesterol, rico em partículas pequenas e densas, constituem um perfil lipídico bastante aterogênico. Há de se destacar ainda o papel das citocinas secretadas pelo próprio tecido adiposo – como a interleucina 6, o fator de necrose tumoral e o inibidor do ativador de plasminogênio 1 – na atividade inflamatória vascular, predispondo à formação de estrias e placas ateromatosas. Por se tratar de uma alteração assintomática, no exame físico deve-se atentar para a presença de xantomas e *acanthosis nigricans*, o que pode sugerir hiperinsulinismo. Dentre os exames bioquímicos, solicita-se a dosagem de triglicérides, colesterol total e frações após 12 horas de jejum; e, para o tratamento, destaque para as alterações dietéticas e atividade física (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012).

Outra morbidade previamente citada e relevante, que por vezes esta acompanhada do processo de dislipidemia, é a DHGNA. As lesões hepáticas que acompanham a obesidade são frequentes e decorrentes de mecanismos combinados, que envolvem a resistência insulínica e o estresse oxidativo.

Em decorrência da obesidade, a DHGNA pode estar fortemente associada à resistência a insulina, diabetes *mellitus* tipo 2, hipertensão e dislipidemia, componentes associados à Síndrome Metabólica (MANCO et al., 2008). Alguns destes são fatores preditivos para doenças cardiovasculares, o que demonstra a importância do acompanhamento da doença na faixa pediátrica, a fim de estabelecer intervenções para reduzir os riscos inerentes às morbidades associadas (PACIFICO et al., 2011).

1.3 DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

A DHGNA é caracterizada por achados histopatológicos compatíveis com doença hepática alcoólica, em indivíduos sem história de consumo significativo de álcool, porém com um perfil epidemiológico e clínico diferente (NEUSCHWANDER-

TETRI, 2000). Pode ser notada pela presença de hepatomegalia, transaminases elevadas e modificações histológicas (FELDSTEIN et al., 2009). É uma doença comum em adultos obesos ou diabéticos, e estima-se que essa alteração hepática seja responsável por 10% dos encaminhamentos de adultos para centros de referência em hepatologia. A maioria dos pacientes com DHGNA, tanto adultos como crianças, são obesos. Mas ainda assim, dados sobre o prognóstico de DHGNA em crianças permanecem escassos, apesar de sua prevalência em todo o mundo continuar a aumentar com a crescente epidemia de obesidade (VERNON; BARANOVA; YOUNOSSI, 2011).

Segundo Vajro *et al.* (2012), as definições clínico patológicas da esteatose hepática, publicadas no Consenso da *European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition* (ESPGHAN), são:

- DHGNA: Doença hepática gordurosa não alcoólica, ou NAFLD (*nonalcoholic fatty liver disease*). É a forma mais benigna da doença, o estágio 1, ou esteatose simples, com leve inflamação; ou termo resumido para todo o espectro da doença.

- EHNA: Esteato-hepatite não alcoólica, ou NASH (*nonalcoholic steatohepatitis*), o segundo estágio da doença. Em pediatria, é a esteatose hepatocelular macrovesicular com inflamação portal, com ou sem fibrose portal, na ausência de balonização e fibrose perissinusoidal.

- Cirrose: é o estágio mais avançado da fibrose - estágio 3, ou seja, fibrose estendida até os portais adjacentes, fibrose em ponte; e estágio 4, ou seja, cirrose, com perda da estrutura normal do fígado.

Antes uma doença habitualmente observada em adultos, hoje a doença hepática gordurosa não alcoólica é uma doença evolutiva e potencialmente letal que tem sido reconhecida em pacientes pediátricos. Feldstein *et al.* (2009) foram os primeiros a descrever a sobrevida a longo prazo de crianças com DHGNA, realizando um acompanhamento por 20 anos. O estudo demonstra que a doença em crianças é potencialmente progressiva, onde algumas apresentaram evolução para cirrose, outras evoluíram para fibrose e cirrose avançada, e algumas desenvolveram doenças consideradas de estágio final, com a consequente necessidade de transplante hepático. A pesquisa mostra que DHGNA em crianças está associada significativamente a uma menor sobrevida a longo prazo, em relação à sobrevida esperada pela população em geral da mesma idade e sexo; as crianças com DHGNA tiveram um risco 13,8 vezes maior de morrer ou de requerem transplante de

fígado, do que a população geral de mesma idade e sexo. O mesmo achado foi feito por Tominaga *et al.* (2009), onde verificaram que 20% dos pacientes obesos com esteatose hepática desenvolveram cirrose ou carcinoma hepatocelular.

1.4 EPIDEMIOLOGIA DA DHGNA

A DHGNA é a causa mais comum de doença hepática crônica na faixa etária pré-adolescente e adolescente, na maioria do mundo ocidental. Estudo de Schwimmer *et al.* (2006) revelou que 9,6% da população americana com idade entre 2 a 19 anos têm DHGNA, e este número aumentou para 38% entre aqueles que apresentavam obesidade. Estudos com dados similares também foram encontrados na Ásia (TOMINAGA *et al.*, 2009).

Dados recentes de uma revisão sistemática que abrangeu 14 estudos de seis países diferentes, dentre eles Alemanha, Brasil, China, Estados Unidos, Itália e Israel, remetem a uma faixa de prevalência da doença que varia entre 3,0% e 60,3%, em crianças e adolescentes obesos. Ainda assim, a real prevalência de DHGNA na faixa pediátrica ainda é desconhecida (PADILHA *et al.*, 2010).

Nota-se que a esteatose hepática pediátrica vem sendo um crescente problema de saúde pública em diversos países, visto que a doença permanece por um longo período subdiagnosticada. A triagem em larga escala na população de alto risco, especialmente crianças com excesso de peso, deve ser considerada, incluindo a análise de transaminases séricas e ultrassom hepático. Tal fato é crucial para o tratamento desta condição, logo que possível, a fim de evitar a progressão para doença hepática terminal (BERARDIS; SOKAL, 2013).

1.5 DIAGNÓSTICO DA DHGNA

Quanto à classificação, a DHGNA pode ser classificada em dois grupos distintos: *Primária*: quando a doença está relacionada à obesidade; *Secundária*: quando relacionada com outra causa específica, tal como drogas, doenças metabólicas ou procedimentos cirúrgicos (KNEEMAN; MISDRAJI; COREY, 2012).

O diagnóstico da doença hepática gordurosa não alcoólica primária baseia-se na ausência do consumo de álcool, exclusão de outras causas de doença hepática crônica, e histopatologia hepática (KNEEMAN; MISDRAJI; COREY, 2012). Como

diagnóstico diferencial deve-se considerar: uso de drogas hepatotóxicas (ácido valproico, tetraciclina, amiodarona, perexilina, tamoxifeno, corticosteroides e metotrexato), intoxicações (tetracloro de carbono, fósforo amarelo), doenças metabólicas (síndrome de Reye, doença de Wilson, glicogenose tipo I, galactosemia, abetalipoproteinemia, deficiência de α 1-antitripsina, fibrose cística) e hepatites virais (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012).

Dentre os exames laboratoriais, a elevação do nível sérico das aminotransferases alanina-aminotransferase (ALT) ou transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) e aspartato-aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) é, na maioria das vezes, responsável pelo início da investigação diagnóstica (SORBI; BOYNTON; LINDOR, 1999). O índice AST/ALT permite diferenciar os pacientes com DHGNA daqueles com hepatite alcoólica. Na doença hepática alcoólica o índice AST/ALT geralmente é maior que 1 e, na maioria das vezes, é superior a 2. Já na DHGNA este índice tende a ser inferior a 1 (ZAMIN JUNIOR et al., 2002).

Devido aos índices alarmantes de prevalência desta doença na faixa pediátrica, é de suma importância o diagnóstico precoce e não invasivo. Dentre os métodos de imagem para diagnóstico de DHGNA, o Ultrassom é o primeiro método a ser solicitado por ser capaz de identificar o fígado gorduroso, sendo uma alternativa mais acessível e econômica, bem como isenta de efeitos colaterais (LUPSOR; BADEA, 2005), podendo ser utilizada em larga escala. A ultrassonografia tem sensibilidade de 89% e especificidade de 93% na detecção de esteatose hepática (JOSEPH et al., 1991). Entretanto, ainda assim, nenhum exame de imagem é capaz de distinguir a DHGNA da esteatose hepática alcoólica. A histopatologia hepática (biópsia) constitui o padrão-ouro para o diagnóstico da DHGNA (RESELLINI; SPAHR, 2012). Contudo, por ser um método diagnóstico invasivo, a biópsia ainda tem sido pouco empregada na população pediátrica, exceto em casos especiais (HAMER et al., 2006). Dentre as limitações estão principalmente o sangramento e a obtenção de amostras inadequadas, limitando o estudo histopatológico. Além disso, a peça anatômica tem caráter amostral e não representa a totalidade do tecido hepático (VAN WERVEN et al., 2010).

Jee *et al.* (2011) propuseram comparar os achados ultrassonográficos com os histopatológicos de pacientes pediátricos com DHGNA, bem como encontrar associações entre as características clínicas e os exames laboratoriais após ambos

os métodos. O estudo demonstrou que os níveis séricos de triglicérides e achados ultrassonográficos estão altamente correlacionados com os achados histopatológicos em crianças com DHGNA.

A maioria dos estudos classifica a graduação da esteatose hepática na ecografia em três aspectos: leve, moderado e acentuado. A classificação baseia-se na hiperecogenicidade do tecido hepático, no aumento da discrepância entre a eco-amplitude do fígado em relação ao rim e na perda dos ecos das paredes dos vasos portais (HAMAGUCHI et al., 2007). A maior limitação do uso do ultrassom é por ser um método dependente de operador (SODER; BALDISSEROTTO, 2009).

1.6 FISIOPATOLOGIA DA DHGNA

Apesar das constantes pesquisas, o mecanismo fisiopatológico da DHGNA ainda é mal definido. Aspectos relacionados com a ingestão de alimentos e regulação do metabolismo corpóreo por meio de hormônios, fatores de transcrição e vias metabólicas de lipídios são considerados os eixos para o desenvolvimento da doença.

Atualmente uma teoria sugere que o processo de instalação da doença ocorra em dois momentos (MARTEL et al., 2012). O primeiro está relacionado a distúrbios na absorção, síntese, degradação e secreção de ácidos graxos pelo fígado, resultando em esteatose macrovesicular. A esteatose macrovesicular surge do aumento da síntese hepática de ácidos graxos, da esterificação destes ácidos graxos em triglicérides, e do decréscimo do transporte de triglicérides para fora do fígado. Haveria, portanto, um desvio dos mecanismos de lipólise em favor da lipogênese (REID, 2010). A resistência periférica à insulina também contribui para o aumento da entrada de ácidos graxos livres no fígado, o que causa desequilíbrio entre a oxidação e a exportação dos ácidos graxos livres e resulta em acúmulo de gordura no parênquima hepático. (MCAVOY; FERGUSON; CAMPBELL, 2006). O segundo momento é caracterizado pelos danos causados por essas alterações hepáticas, decorrentes do estresse oxidativo, cujo processo final da peroxidação de lípidos é a causa responsável pela expressão das citocinas, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), resultando em atividade inflamatória e progressão da doença (REID, 2010). O nível elevado de espécies reativas de oxigênio é proveniente da ativação das vias do citocromo microssomal P450, das

lipooxigenases peroxissomais e da beta-oxidação mitocondrial. Este processo causa necrose e apoptose dos hepatócitos, lesões inflamatórias imunomediadas, além de ativarem as células de Ito para a síntese de colágeno, induzindo à EHNA e fibrose hepática (MCAVOY; FERGUSON; CAMPBELL, 2006).

Acredita-se que a resistência à insulina, o estresse oxidativo e a cascata inflamatória, desempenhem um papel essencial na patogênese e na progressão da doença. A resistência à insulina resulta no aumento da produção de ácidos graxos livres (AGL) que são absorvidos pelo fígado promovendo a esteatose. Além destes fatos, há uma série de interações entre os hepatócitos, as células estreladas, células adiposas, células de Kupffer, mediadores inflamatórios e espécies reativas ao oxigênio resultando em inflamação ou cirrose. Em estados de resistência a insulina as células adiposas e musculares tem preferência por oxidar lipídios, resultando na liberação de AGL que podem então serem tomados pelo fígado resultando em esteatose (LEWIS; MOHANTY, 2010).

O estresse oxidativo gera radicais hidroxila e superóxidos que reagem com o excesso de lipídios para formar os peróxidos. Este aumento da peroxidação estaria relacionado com a dieta, o meio ambiente, infecções, drogas, toxinas e com a predisposição genética. Um dos produtos finais da peroxidação é o malondialdeído, que ativa a produção de colágeno com conseqüente fibrose (LAVINE et al., 2000).

O tecido adiposo é considerado uma fonte de mediadores pró-inflamatórios que contribuem para a injúria vascular, resistência insulínica e aterogênese. As adipocinas secretadas incluem fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6), leptina, inibidor do ativador de plasminogênio (PAI-1), angiotensinogênio, resistina e proteína C reativa (PCR) (GOMES et al., 2010).

A PCR é uma proteína de fase aguda sintetizada pelo fígado, regulada pelos níveis circulantes de IL-6 e eleva-se rapidamente em resposta ao trauma, à inflamação e à infecção (QURESHI; SINGER; MOORE, 2009). Níveis plasmáticos circulantes de PCR são elevados em obesos, o que pode ser explicado devido à presença de inflamação, relacionando-se diretamente a quantidade de gordura corpórea, obesidade visceral, circunferência abdominal, resistência insulínica, síndrome metabólica e diabetes *mellitus* (GIORDANO et al., 2011; GOMES et al., 2010; NORRIS et al., 2011). A PCR pode ser importante preditor precoce de risco de doença crônica e pró-aterogênico, mesmo na infância (SANTOS et al., 2008; RETNAKARAN et al., 2006).

1.7 TRATAMENTO DA DHGNA

A terapêutica para a doença ainda está pouco definida. Entretanto, parece haver benefícios com programas de redução de peso corporal ou através do uso de antioxidantes, na tentativa de evitar a evolução da esteatose para fibrose e cirrose hepática. A alta prevalência da DHGNA é provavelmente devido ao estilo de vida contemporâneo (LEWIS; MOHANTY, 2010; ZELBER-SAGI; RATZIU; OREN, 2011).

O perfil de eficácia e segurança da farmacoterapia no tratamento da DHGNA ainda permanece incerto. Dentre as opções para tratamento farmacológico, destaca-se a utilização dos sensibilizadores de insulina (metformina e tiazolidinedionas), dos incretinomiméticos, de ácidos biliares (ácido ursodesoxicólico), de antagonistas de TNF- α (pentoxifilina), e até mesmo o tratamento com antioxidantes (SATAPATHY; SANYAL, 2010).

Embora as pesquisas sejam emergentes, permanece incerto se as dietas enriquecidas com certos tipos de alimentos ou nutrientes antioxidantes estão mais propensas a prevenir a DHGNA do que outros tipos de dietas (ZELBER-SAGI; RATZIU; OREN, 2011).

Apesar dos mecanismos de interação entre os compostos não estar bem estabelecido, sabe-se que os pacientes com EHNA apresentam níveis mais elevados de marcadores de estresse oxidativo em comparação a pacientes que apresentam esteatose simples (MACHADO et al., 2008), e podem apresentar uma diminuição dos níveis plasmáticos de antioxidantes quando comparados com grupos controle saudáveis. As razões poderiam ser devido a uma depleção de antioxidantes de modo a contrabalancear o estresse oxidativo, ou devido a uma baixa ingestão oral de alimentos fontes, o que sugere a terapia antioxidante como tratamento racional (ERHARDT et al., 2011).

1.8 VITAMINAS ANTIOXIDANTES E DHGNA

Em uma alimentação saudável e balanceada é possível obter as principais vitaminas com propriedades antioxidantes como as vitaminas A, C e E. O β -caroteno, a vitamina C e a vitamina E estão entre os principais nutrientes da dieta com função antioxidante. Estas vitaminas têm recebido uma atenção considerável nos estudos clínicos de prevenção de câncer e doença cardiovascular em virtude do

seu potencial em proteger as células dos danos oxidativos ocasionados por estas doenças (MCNULTY; JACOB; MASON, 2008; VINCENT; TAYLOR, 2006).

Os carotenóides são pigmentos coloridos, lipossolúveis, sintetizados por plantas e microrganismos, presentes em alimentos como frutas, vegetais e peixes. Existem mais de 600 tipos de carotenóides e apenas 10% têm atividade pró-vitamina A, que é a capacidade de conversão dos carotenóides em retinol. Os carotenóides mais conhecidos são: β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina, luteína e zeaxantina e o licopeno. Desses, o β -caroteno é o mais potente precursor de retinol (KIRSH et al., 2006). O retinol, por sua vez, é um composto encontrado somente em alimentos de origem animal, sob a forma de palmitato de retinila, o qual, após a absorção, pode ser armazenado no fígado.

O β -caroteno por meio de sua atividade de pró vitamina A, tem potencial para formar 2 moléculas de retinol (PAIVA; RUSSELL, 1999). Suas principais fontes dietéticas são alimentos de origem vegetal, como: cenoura, damasco, manga, mamão, pimenta vermelha, espinafre e brócolis (VOUTILAINEN et al., 2006).

Após o consumo de alimentos fontes de carotenóides, estes nutrientes são liberados da matrix do alimento e incorporados em micelas de ácido biliar. A quantidade de carotenóides incorporada nas micelas depende da polaridade do carotenóide e da composição e saturação dos ácidos graxos contidos nas micelas. Os carotenóides são absorvidos na mucosa do intestino delgado (principalmente no duodeno) por difusão passiva e são então incorporados nos quilomicrons. A conversão do β -caroteno em retinol acontece no fígado (YEUM; RUSSELL, 2002).

As propriedades antioxidantes dos carotenóides, em especial do β -caroteno, estão associadas com sua capacidade de capturar espécies reativas em baixas concentrações e em baixa pressão parcial de oxigênio, condições encontradas nos sistemas biológicos. A melhor ação antioxidante documentada para os carotenóides é sua capacidade de quelar o oxigênio singlete. Além disso, os carotenóides parecem proteger lipoproteínas de baixa densidade (LDL) contra a oxidação, impedindo a formação de placas de ateroma. Também, estão associados com a inibição da peroxidação lipídica por terem a propriedade de se incorporarem nas membranas celulares (PAIVA; RUSSELL, 1999).

De acordo com Paiva e Russel (1999), os carotenóides (incluindo o β -caroteno) podem promover a saúde quando tomado em níveis dietéticos, mas podem causar efeitos adversos quando tomado em doses elevadas e por este

motivo, a definição das doses diárias recomendadas devem ser o foco de futuros estudos.

O termo vitamina C, criado em 1938, é usado para descrever de maneira geral todos os compostos que exibem atividade biológica do ácido ascórbico (MANELA-AZULAY et al., 2003).

A vitamina C ocorre naturalmente nos alimentos sob 2 formas: forma reduzida (designada ácido ascórbico) e a forma oxidada (conhecida como ácido dehidroascórbico). No organismo estas duas formas apresentam-se na forma ionizada e são chamados então de ascorbato e dehidroascorbato. Cerca de 80 a 95% da vitamina C consumida é absorvida pelo organismo quando se ingere 100 mg/ dia. (WILSON, 2005). As principais fontes dietéticas são: acerola, morango, laranja, limão, mamão, goiaba, brócolis, repolho e espinafre (NAIDU, 2003).

A vitamina C, por sua vez, exerce várias funções. Ela participa na produção e na manutenção do colágeno; aumenta a biodisponibilidade e a absorção do ferro das fontes de ferro não-heme por meio da redução do ferro férrico em ferro ferroso; aumenta a biodisponibilidade do selênio; participa da hidroxilação da cartinina, essencial para o metabolismo dos ácidos graxos; é cofator da enzima dopamina beta hidroxilase que realiza a conversão de dopamina em norepinefrina; cataliza outras reações enzimáticas que promovem a atividade máxima dos hormônios ocitocina, vasopressina, colecistoquinina e alfa-melanotropina. Entretanto, a propriedade mais importante da vitamina C é a sua função antioxidante (NAIDU, 2003).

O ácido ascórbico é um potente antioxidante hidrossolúvel capaz de sequestrar/ neutralizar uma série de espécies reativas de oxigênio, como OH, H₂O₂, e O₂⁻; além de espécies derivadas de nitrogênio, como NO e ONOO⁻, mesmo em concentrações muito baixas. A forma oxidada do ascorbato são os radicais ascorbil e dehidroascorbato, os quais podem ser regenerados pelas enzimas redutases (SIES; STAHL, 1995).

Uma outra função importante do ácido ascórbico é sua capacidade de regenerar outros antioxidantes como o alfa tocoferol, promovendo ação protetora a esta substância e aumentando a defesa antioxidante (PADAYATTY et al., 2003; NWOSE et al., 2008).

Além disso, a vitamina C reduz espécies reativas na fase de iniciação da peroxidação lipídica, evitando danos maiores à membrana. Participa também na

proteção contra o processo de aterogênese, evitando a oxidação da LDL. A ação antioxidante do ascorbato se estende aos carboidratos, proteínas e ácido nucléicos (PADAYATTY et al., 2003).

O termo vitamina E é designado a duas diferentes famílias de compostos que ocorrem na natureza: os tocoferóis e os tocotrienóis, que exibem, qualitativamente, a atividade biológica do α -tocoferol. Este último é o composto mais potente e mais predominante. As principais fontes dietéticas são os óleos vegetais, castanhas e grãos (JIANG et al., 2001).

A absorção da vitamina E acontece no intestino delgado e requer secreções biliares e pancreáticas normais, formação de micelas e do transporte através das membranas intestinais. A absorção intestinal é geralmente baixa, atingindo aproximadamente 20%. No fígado, uma proteína de transferência de α -tocoferol, a α -TTP, seleciona preferencialmente o α -tocoferol e contribui para seu acúmulo neste órgão. Esta mesma enzima promove a incorporação de α -tocoferol nas lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) para seu transporte na circulação. A principal via de excreção da vitamina E é a eliminação fecal (TRABER; ARAI, 1999).

Sabe-se que a vitamina E (α -tocoferol) age também como substância antioxidante por atuar como um agente redutor no organismo. O α -tocoferol é capaz de neutralizar os radicais livres, doando os seus próprios elétrons e fazendo com que o organismo interrompa o processo de oxidação entre as demais moléculas, estabilizando, assim, os compostos de radicais livres e prevenindo a peroxidação lipídica (ABUDU et al, 2004; ZINGG, 2007).

Segundo Erhardt *et al.* (2011), os níveis de α -tocoferol e de β -caroteno se encontram significativamente diminuídos em pacientes com DHGNA, o que poderia contribuir para a evolução da doença a fibrose e cirrose hepática. O uso de uma substância antioxidante, tal como a vitamina E, poderia bloquear ou minimizar a lesão celular.

Na última década muitos esforços notáveis têm sido feitos para amenizar o dano hepático na DHGNA, contudo os resultados para a suplementação de vitaminas antioxidantes ainda são controversos. Enquanto alguns autores (NOBILI et al., 2006; NOBILI et al., 2008) encontraram benefícios na suplementação de vitamina E e C, outros não obtiveram resultados semelhantes. Um estudo realizado com crianças e adolescentes não encontrou os efeitos positivos esperados na suplementação de vitamina E (embora esta tenha melhorado o processo de

balonização dos hepatócitos), em comparação com a metformina (um sensibilizador de insulina), e com grupo placebo (LAVINE et al., 2011).

2 JUSTIFICATIVA

Crianças e adolescentes obesos que supostamente apresentam uma alimentação inadequada, com alta ingestão de energia, gorduras saturadas e baixa ingestão de vitaminas antioxidantes estão propensos a alterações no lipidograma, menores níveis séricos de vitaminas antioxidantes, incluindo ácido ascórbico, alfatocoferol, retinol e betacaroteno, além da possibilidade de apresentarem o diagnóstico confirmado de esteatose hepática.

Dentre os diversos tratamentos existentes, o tratamento nutricional vem ganhando destaque em estudos duplo-cego randomizados, envolvendo o potencial dos antioxidantes frente à prevenção da progressão da doença hepática gordurosa não alcoólica para esteato-hepatite e cirrose hepática.

A crescente utilização de vitaminas antioxidantes como suplementação para tratamento da DHGNA vem sendo discutido na literatura. A suplementação vitamínica se justifica pelo baixo consumo dietético e baixos níveis de vitaminas circulantes no plasma, acarretando, portanto, na ausência de antioxidantes para combater a peroxidação lipídica. Para confirmar o exposto, um estudo nacional demonstrou níveis reduzidos de retinol sérico em crianças com DHGNA (SOUZA, 2008). Estudos internacionais também demonstram uma ingestão dietética inadequada de vitaminas antioxidantes, relacionada com o grau de esteatose em crianças (MAGER, 2010; VOS, 2012).

Sendo assim, crianças e adolescentes obesos que apresentam uma ingestão dietética de vitaminas A, C e E abaixo das recomendações, e níveis plasmáticos de concentração das referidas vitaminas abaixo dos valores de referência, estariam predispostos ao risco de desenvolvimento da DHGNA.

Nota-se que a presença da DHGNA esta relacionada aos hábitos de vida do paciente. A detecção precoce de erros alimentares pode auxiliar na conduta clínica quanto ao retardo e à prevenção de complicações crônicas futuras da esteatose.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os hábitos alimentares e os níveis plasmáticos das vitaminas antioxidantes em crianças e adolescentes obesos com e sem doença hepática gordurosa não alcoólica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Verificar através do exame de Ultrassonografia a presença ou não de esteatose hepática em crianças e adolescentes obesos.
- b) Comparar os dados antropométricos entre as crianças e adolescentes com e sem esteatose.
- c) Verificar os níveis séricos de colesterol total, frações e triglicérides (perfil lipídico) nas crianças e adolescentes com e sem esteatose;
- d) Verificar os níveis séricos de PCR e transaminases nas crianças e adolescentes com e sem esteatose;
- e) Verificar os níveis séricos das vitaminas A, E, C e betacaroteno nas crianças e adolescentes com e sem esteatose;
- f) Verificar a adequação da ingestão dietética das vitaminas A, C e E conforme as DRIs (*Dietary Reference Intakes*) nas crianças e adolescentes com e sem esteatose;
- g) Correlacionar os níveis séricos e o consumo de vitaminas antioxidantes com a presença de esteatose hepática nas crianças e adolescentes obesos.
- h) Correlacionar os dados de ingestão com os níveis séricos das vitaminas A, E, C e beta caroteno;
- i) Correlacionar os dados de ingestão das vitaminas A, E, C com o perfil lipídico.
- j) Correlacionar os níveis séricos de PCR e transaminases com os níveis séricos de vitaminas A, E, C e betacaroteno nas crianças e adolescentes obesos.

4 MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal observacional com abordagem quantitativa.

4.2 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no Ambulatório de Pediatria da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, em conjunto com as atividades do Ambulatório de Obesidade Infantil. Foram aplicados no local os questionários sobre a ingestão alimentar, e realizada a avaliação nutricional das crianças e adolescentes obesos. A consulta foi realizada em uma sala privativa para que houvesse sigilo e confidencialidade dos dados. Os pacientes foram avaliados individualmente.

4.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

A população do estudo foi composta por todos os casos novos (pacientes em primeira consulta) atendidos no Ambulatório de Obesidade Infantil da UFTM, no período de Dezembro de 2012 a Maio de 2013, com idades entre 7 e 14 anos. Nenhum participante recebeu aconselhamento nutricional e médico antes da análise bioquímica e dietética. A população foi constituída por 37 pacientes. Todos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A). Os participantes do estudo foram distribuídos em dois grupos, conforme a presença ou não de esteatose hepática, sendo um grupo caracterizado com doença hepática gordurosa não alcoólica (grupo com DHGNA), e outro grupo sem doença hepática gordurosa não alcoólica (grupo sem DHGNA).

4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Crítérios de inclusão: crianças e adolescentes obesos, pacientes do Ambulatório de Obesidade, com idade entre 7 e 14 anos, atendidos em primeira

consulta no Ambulatório de Obesidade Infantil da UFTM, no período de Dezembro de 2012 a Maio de 2013.

Critérios de exclusão: pacientes que possuíssem o diagnóstico de obesidade e/ou de esteatose hepática não alcoólica advindos de causas secundárias, ou seja, que não derivavam de causas nutricionais, seja por utilização de fármacos (estrógenos, corticoides, etc) ou por história de doenças endócrinas ou genéticas como Doença de Wilson, Abetalipoproteinemia, Hipobetalipoproteinemia, Doença de Weber-Christian, Lipodistrofia pelo uso de antiretrovirais, Deficiência de carnitina, Síndrome de Schwachman, e Doença de Refsum.

4.5 ASPECTOS ÉTICOS

Os dados referentes à identificação dos pacientes, antropometria e consumo alimentar foram coletados no ambiente ambulatorial. As coletas de amostras sanguíneas para as dosagens bioquímicas foram realizadas no laboratório do referido hospital. O protocolo da pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFTM – número 2584 (Anexo 4). Todos os responsáveis pelos participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e estavam cientes dos objetivos e técnicas da pesquisa.

4.6 PROCEDIMENTO PARA COLETA DE DADOS

Foram aplicados às crianças e adolescentes questionários abordando o consumo alimentar, e as medidas antropométricas foram coletadas no momento da consulta ambulatorial. Para a coleta de sangue e realização do exame de Ultrassonografia, os mesmos permaneceram, respectivamente, a cargo do Laboratório Central e do serviço de Radiologia do HC/UFTM.

4.6.1 Avaliação Nutricional

4.6.1.1 Avaliação do consumo alimentar de crianças e adolescentes obesos

O consumo alimentar dos pacientes foi obtido por meio da aplicação do Registro Alimentar de 3 dias (vide item 4.6.1.2, pág. 37). Após o preenchimento do

referido Registro, o mesmo foi recolhido e conferido pelos pesquisadores para analisar o correto preenchimento.

Em seguida foi elaborado um banco de dados no programa de avaliação dietética *Avanutri*®, para o qual foram repassadas as informações do Registro Alimentar de 3 dias, para análise da quantidade ingerida de vitaminas antioxidantes.

Os valores de ingestão obtidos no programa *Avanutri*® foram anotados e transportados para o programa *MsExcel 2010*®, no qual foram calculadas as médias do consumo de vitaminas para cada paciente. O valor obtido com a média de ingestão de três dias foi o valor utilizado para o cálculo das análises estatísticas do presente estudo.

Para classificar o consumo em adequado ou inadequado, utilizou-se os valores de recomendação da RDA (*Recommended Dietary Allowance* – nível de ingestão dietética recomendada), inseridos nas recomendações das DRIs (*Dietary Reference Intakes* – ingestões diárias recomendadas), referentes ao ano de 2011 (THE INSTITUTE OF MEDICINE, 2011).

Em relação à ingestão de vitamina A, foram classificados como consumo reduzido ou inadequado, os valores de ingestão abaixo de 400 ou 600 µg/dia, respeitando a recomendação segundo a idade e sexo da criança. Quanto a ingestão de vitamina C, foram classificados como consumo reduzido os valores de ingestão abaixo de 25 ou 45 mg/dia. E em relação a ingestão de vitamina E, foram classificados como consumo reduzido os valores de ingestão abaixo de 7 ou 11 mg/dia.

Os valores de recomendação da ingestão dietética diária das vitaminas A, C e E, estão sintetizados no Quadro 1 a seguir.

Quadro 1 – Nível de ingestão dietética recomendada (RDA) para vitaminas antioxidantes, segundo a ingestão diária recomendada (DRI).

Sexo e faixa etária	Vitamina A (µg/dia)	Vitamina C (mg/dia)	Vitamina E (mg/dia)
Homens			
4 a 8 anos	400	25	7
9 a 14 anos	600	45	11
Mulheres			
4 a 8 anos	400	25	7
9 a 14 anos	600	45	11

Fonte: The Institute of Medicine, 2011.

4.6.1.2 Registro Alimentar de 3 dias

Trata-se de um método de investigação do consumo alimentar no qual o indivíduo anota todos os alimentos e bebidas, e suas respectivas quantidades ingeridas, durante um período de 3 dias intercalados, compreendendo dois dias durante a semana (terça-feira e quinta-feira) e um dia no final de semana (domingo). (Apêndice B).

Todos os participantes da pesquisa foram orientados quanto à forma correta de anotar os alimentos, como discriminar os tipos de refeições, preparações, porcionamentos, medidas caseiras, quantidades e horários em que as mesmas foram consumidas. Com o Registro Alimentar também foi possível observar se a alimentação do paciente contemplava os conceitos de quantidade, qualidade, harmonia e adequação.

Este método não depende da memória, logo, é provavelmente o método mais válido para mensurar a ingestão alimentar. Orienta-se que o paciente registre o que ingeriu imediatamente após o consumo. Envolve mais tempo, compreensão e motivação do entrevistado, e é totalmente dependente de sua cooperação.

Uma vantagem da utilização desse método é o fato de que o registro é feito na hora em que o alimento está sendo consumido, assim, ele não se baseia na memória do indivíduo. Além disso, pode fornecer informações detalhadas sobre alimentos e padrões alimentares. O treinamento prévio do indivíduo minimiza possíveis erros.

As limitações do uso dessa técnica residem no fato de que a ingestão pode ser alterada durante o período de registro, sendo que a exatidão geralmente diminui após alguns dias consecutivos. É necessário que o indivíduo seja alfabetizado, além de estar altamente motivado para que o registro seja confiável (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010).

4.6.1.3 Antropometria e avaliação clínica

As medidas antropométricas analisadas foram: medidas de peso corporal em quilogramas (kg); estatura em metros (m); circunferência abdominal em centímetros (cm); e Índice de Massa Corporal (IMC) dado pela divisão do peso em quilogramas

pelo quadrado da altura em metros. Todas as medidas foram aferidas individualmente durante as consultas.

A pesagem dos pacientes foi realizada utilizando-se uma balança Filizola® (Indústrias Filizola S/A, São Paulo-SP, Brasil), previamente calibrada, com precisão de 100 gramas, estando o paciente com roupas leves, descalço, na posição ereta no centro da plataforma da balança, e com membros superiores rentes ao corpo.

A estatura dos participantes foi aferida em um estadiômetro vertical, graduado em centímetros e milímetros. Os pacientes foram posicionados descalços, com os calcanhares unidos e os pés formando um ângulo de 45°, em posição ereta, com os braços pendentes ao longo do corpo, e a posição da cabeça foi orientada de modo que a linha de visão permanecesse perpendicular ao corpo e paralela ao solo. A leitura foi mensurada no centímetro mais próximo, no momento em que a haste horizontal da barra vertical da escala de estatura encosta na cabeça da criança.

A circunferência abdominal foi aferida com o paciente apoiado em ambos os pés, separados entre si de 25 a 30 cm, após localizar o ponto médio entre a borda inferior da última costela e a crista ilíaca. A medição foi feita com fita métrica flexível e inelástica de 0,5 cm de largura, ao final da expiração não forçada, sem comprimir o abdômen, passando a fita ao redor do abdômen, rente a pele. A circunferência abdominal foi classificada em percentis, segundo sexo e idade, de acordo com o proposto por Freedman *et al.* (1999), conforme apresentado no Anexo 1.

4.6.1.4 Classificação do Estado Nutricional

A classificação do estado nutricional dos participantes da pesquisa foi realizada de acordo com as curvas de crescimento recomendadas pela OMS (2007), conforme demonstrado no Anexo 2. O parâmetro antropométrico analisado foi o Índice de Massa Corporal (IMC). A obesidade foi classificada segundo os valores do IMC para sexo e idade (IMC/I). O critério estabelecido para obesidade foi o IMC entre os percentis 97 e 99,9 ou escore z entre +2 e +3; e para obesidade grave os valores acima do percentil 99,9 ou o escore z maior que +3, (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012), apresentado no Anexo 3.

4.6.2 Exames Laboratoriais

Foram realizados exames laboratoriais para dosagem das vitaminas A, E, C e betacaroteno, lipidograma (colesterol total, HDL-c, LDL-c e triglicerídeos), níveis de aspartato aminotransferase (AST/ TGO), alanina aminotransferase (ALT/ TGP) e marcador inflamatório (PCR), no Laboratório Central e no Laboratório de Nutrologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC/UFTM).

Para a realização dos exames, as crianças e adolescentes permaneceram em jejum por doze horas, e posteriormente compareceram ao laboratório para coleta de sangue. As amostras de sangue foram coletadas por profissionais habilitados do laboratório do HC/UFTM, por venopunção, e o sangue foi coletado por sistema a vácuo em tubos com e sem anticoagulante.

4.6.2.1 Dosagem das vitaminas antioxidantes

Dois tubos coletores específicos foram identificados com o código do paciente e protegidos da luz com papel alumínio para a dosagem das vitaminas A (retinol sérico e betacaroteno), vitamina C (ácido ascórbico) e vitamina E (α -tocoferol). O sangue retirado foi centrifugado a 1600 rpm por 10 minutos, o soro aliquoteado em tubos tipo eppendorf e armazenado em *freezer* até a dosagem. À alíquota referente a vitamina C foi acrescentado ácido tricloroacético e posteriormente, armazenada à mesma temperatura. As amostras foram analisadas em um período de 30 dias.

A extração das vitaminas A, E e betacaroteno foi realizada em ambiente sem luz artificial, em tubos de vidro também protegidos com folha de alumínio para minimizar a degradação dos micronutrientes pela presença de luz, através dos seguintes passos:

- a) 100 μ L de etanol 100% e 100 μ L de etanol 100% contendo padrão interno (acetato de tocoferila) foram adicionados a 200 μ L de soro. A mistura foi agitada em vórtex por 5 segundos;
- b) foi acrescentado 400 μ L de hexano e realizado agitação em vórtex por 2 minutos para a extração das vitaminas;
- c) após a agitação, os tubos foram centrifugados a 10.000 rpm por 5 minutos, a uma temperatura de 4°C;

d) das três fases encontradas foram extraídos 200 µL da camada superior de hexano e transferidos para outro tubo de vidro, provocando a evaporação até secura com ajuda de uma bomba de vácuo;

e) o resíduo foi dissolvido em 200 µL de fase móvel (metanol, diclorometano, acetonitrila), agitado por 1 minuto em vórtex e 50 µL serão imediatamente injetados no cromatógrafo.

A eluição foi realizada com fluxo de 1,2 ml/min de fase móvel constituída de metanol/diclorometano/acetonitrila (10:20:70, em volume). A monitorização do eluente foi realizada por detector UV-Vis com a seguinte programação:

a) de 0 a 3,5 minutos programados com comprimento de onda de 325 nm para determinação do retinol;

b) 3,5 a 7 minutos programados com comprimento de onda 292 nm para determinação α -tocoferol e acetato de tocoferila (padrão interno);

c) a 12 minutos programados a 450 nm para determinação do β -caroteno.

A linha de base foi ajustada para zero a cada mudança de comprimento de onda. A identificação e quantificação de cada vitamina foi realizada por meio de padrões externos. As vitaminas foram expressas em micromol/L (μ mol/L).

A determinação da vitamina C foi realizada por reação colorimétrica com 2,4 – dinitrofenilhidrazina e posterior leitura espectrofotométrica no comprimento de onda de 520 nm. No preparo da amostra, foi adicionado 4mL de ácido tricloroacético (5%) a 1 mL de soro. Após a centrifugação em centrífuga refrigerada por 10 minutos a 2500 rpm, foi retirado 0,3 mL do sobrenadante (em duplicata) para um tubo de ensaio e adicionado 0,1 mL do reagente de cor (DTC – dinitrofenilhidrazina + tiouréia + sulfato de cobre). Após 4 horas de reação em banho de água a 37° C, foi adicionado 0,5mL de H₂SO₄ 65%. A leitura foi realizada após 20 minutos. A concentração de vitamina C foi realizada por meio de uma curva de calibração (BESSEY, 1960). A vitamina foi expressa em mg/dL.

4.6.2.2 Avaliação do perfil lipídico

Para a avaliação das concentrações séricas de triglicerídeos, colesterol total, HDL-colesterol, e LDL-colesterol, o sangue foi coletado após 12 horas de jejum, e analisado segundo método enzimático.

Para análise dos triglicérides séricos (TG), utilizou-se o método enzimático para

determinação de triglicérides no plasma, com o auxílio do kit TG color GPO/PAPAA, do laboratório Wiener®. Após a diluição, levaram-se as amostras para o homogeneizador de tubos tipo vórtex e após a mistura se tornar homogênea, as amostras foram levadas ao espectrofotômetro para análise.

Para análise do colesterol total (CT), utilizou-se o método enzimático para determinação do colesterol em soro ou plasma, com auxílio do kit Colestat Enzimático AA líquida, do laboratório Wiener®. As amostras foram homogeneizadas no homogeneizador de tubos tipo vórtex e após a mistura se tornar homogênea, as amostras foram armazenadas em banho-maria a 37°C por cinco minutos e posteriormente transferidas ao espectrofotômetro para análise. Os níveis séricos de triglicerídeos, colesterol total, HDL-c, e LDL-c foram expressos em mg/dL.

4.6.2.3 Dosagem das transaminases e proteína C reativa

Para a dosagem das transaminases, as mesmas foram analisadas via Método Colorimétrico de Reitman-Frankel (1957). Para a determinação da atividade enzimática, adotou-se os seguintes procedimentos: adicionar 0,5ml de substrato para TGO e 0,5ml de substrato para TGP; Colocar em banho maria a 37°C, durante 2 minutos; Adicionar 100µl de amostra coletada (TGP) ou 200µl de amostra (TGO); Homogeneizar e incubar a 37°C, durante 30 minutos; Adicionar 0,5ml de reagente de cor; Homogeneizar e deixar em repouso, à temperatura ambiente (20-30°C), durante 20 minutos; Acrescentar 5,0ml de hidróxido de sódio 0,4M; Misturar e deixar repousar durante 2 minutos, à temperatura de 20-30°C. Ler as absorvâncias ou transmissões, em espectrofotômetro ou fotocolorímetro, em 505nm ou filtro verde, acertando o zero com água destilada. Utilizando a curva de calibração, procurar os valores em unidades TGP e TGO.

Para análise da proteína C reativa (PCR), utilizou-se o método de aglutinação do látex. Primeiramente, as amostras (soro) atingiram a temperatura ambiente. Em uma área de placa de reação, pipetou-se 25 µl de soro a ser analisado. O látex PCR (antígeno) foi homogeneizado e pipetou-se em cada área 25 µl de látex PCR próximo aos soros. Misturou-se com ajuda de um palito descartável. A placa foi agitada a 100 RPM durante dois minutos. Imediatamente após, verificou-se a presença ou não de aglutinação macroscópica. A PCR foi expressa em mg/dL, sendo considerada elevada acima de 0,5 mg/dL, de acordo com o método utilizado.

4.6.2.4 Valores de referência para os exames bioquímicos

Os Quadros 2 e 3 demonstram os valores de referência para os níveis séricos de vitaminas A, E, C e betacaroteno para crianças e adolescentes.

Quadro 2 – Níveis séricos recomendados de vitaminas A, E e C em crianças e adolescentes.

Vitamina	Idade	Valores normais
Retinol (vitamina A)	–	1,05 a 4,2 µmol/L
α- tocoferol (vitamina E)	<11 anos	7,0 a 35 µmol/L
	>11 anos	14,0 a 42 µmol/L
Ácido ascórbico (vitamina C)	–	0,6 a 2,0 mg/dL

Fonte: Koletzko, 2008.

Quadro 3 – Níveis séricos recomendados de betacaroteno em crianças e adolescentes.

Vitamina	Valores normais
Betacaroteno	0,9 a 4,6 µmol/L

Fonte: World Health Organization, 1996.

Quanto aos valores de referência dos exames do lipidograma, estes estão definidos pela Sociedade Brasileira de Cardiologia, na I Diretriz de prevenção da aterosclerose na infância e adolescência (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2005) e também estão retratados no Manual “Obesidade na infância e adolescência: Manual de Orientação”, da Sociedade Brasileira de Pediatria, sendo utilizados como padrões de referência e classificação (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012).

Em relação aos níveis séricos de colesterol total, no presente estudo foram classificados como alterados os exames com valores iguais ou acima de 150 mg/dL. Os valores abaixo de 150 mg/dL foram classificados como normais. Quanto aos níveis séricos de HDL-c, foram classificados como reduzidos os exames com valores abaixo de 45 mg/dL. Os demais valores, iguais ou acima de 45 mg/dL, foram classificados como normais. Para a classificação dos níveis séricos de LDL-c e

triglicerídeos, foram classificados como elevados os exames com valores iguais ou acima de 100 mg/dL. Os valores abaixo de 100 mg/dL foram classificados como normais.

O Quadro 4 demonstra os valores recomendados quanto ao perfil lipídico para crianças.

Quadro 4 – Valores de perfil lipídico em crianças e adolescentes (acima de 2 anos).

Lipoproteínas (mg/dL)	Desejáveis	Limítrofes	Aumentados
Colesterol total	< 150	150 a 169	≥ 170
HDL-c	≥ 45		
LDL-c	< 100	100 a 129	≥ 130
Triglicerídeos	< 100	100 a 129	≥ 130

Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2005.

Os Quadros 5 e 6 demonstram os valores de referência para os níveis séricos de proteína C reativa, AST e ALT, para crianças e adolescentes.

Quadro 5 – Níveis séricos recomendados de proteína C reativa em crianças e adolescentes.

Marcador bioquímico	Valores normais
Proteína C reativa (PCR)	< 0,5 mg/dL

Fonte: Koletzko, 2008.

Quadro 6 – Níveis séricos recomendados de AST e ALT em crianças e adolescentes.

Marcadores bioquímicos	Valores normais
AST	< 40 U/L
ALT	< 55 U/L

Fonte: Thapa e Walia, 2007.

4.6.3 Exame Ultrassonográfico

O exame de ultrassonografia abdominal foi realizado pelo setor de Radiologia do Hospital de Clínicas da UFTM. Utilizou-se um aparelho ACCUVIX V10, com

sonda convexa multifrequencial (3,0 a 5,0 mhz). Os exames foram realizados por dois médicos residentes, e conferidos por um médico-staff. A avaliação consistiu na análise de cortes ultrassonográficos transversos, longitudinais e oblíquos dos diversos órgãos citados no laudo com suas respectivas medidas. O preparo do exame consiste apenas em jejum de 6 horas.

A presença da esteatose no laudo foi descrita como aumento da ecogenicidade do parênquima hepático, sendo classificada em grau I, II ou III. Contudo, no presente estudo, a classificação foi dicotomizada em ausência ou presença de esteatose. Não se buscou diferenciar a doença hepática gordurosa não alcoólica da esteato-hepatite não alcoólica (EHNA). Sendo assim, a presença de esteatose hepática foi referida apenas como presença de DHGNA.

Para a realização do exame ultrassonográfico e detecção da esteatose hepática, o seguinte laudo padrão é utilizado como protocolo, no qual se descreve o exame de Ultrassom de Abdome Total:

Fígado de contornos regulares e ecogenicidade homogênea.

Vias biliares intra e extra-hepáticas de calibre normal.

Vesícula biliar de contornos e ecogenicidade preservada.

Baço de dimensões e ecogenicidade preservada.

Rim de topografia habitual, contornos regulares e espessura cortical preservadas, com boa distinção cortico-medular. Ausência de dilatação do sistema pielocalinal. Não foram visualizados cálculos. As dimensões estão dentro da normalidade, medindo aorta e veia cava inferior de aspecto normal.

Ausência de líquido livre na cavidade abdominal.

4.7 VARIÁVEIS DO ESTUDO

Os dados do presente estudo foram coletados, agrupados e analisados de acordo com as variáveis abaixo, e estão apresentados detalhadamente nos Resultados.

4.7.1 Caracterização da população

- a) Idade do paciente: criança ou adolescente;
- b) Sexo: feminino ou masculino.

4.7.2 Diagnóstico de esteatose hepática

- a) Verificar a presença ou ausência da doença;
- b) Divisão dos participantes em dois grupos.

4.7.3 Avaliação antropométrica e do estado nutricional

- a) Aferição de peso e estatura;
- b) Classificação da obesidade baseada no Índice de Massa Corporal segundo sexo e idade (IMC/I);
- c) Circunferência abdominal classificada de acordo com a idade;
- d) Comparação dos valores absolutos entre os grupos;
- e) Razão de prevalência de esteatose para circunferência abdominal elevada.

4.7.4 Avaliação do perfil lipídico

- a) Níveis séricos de colesterol total, LDL-c, HDL-c e triglicerídeos;
- b) Classificação dos níveis séricos segundo os padrões de normalidade;
- c) Comparação dos valores absolutos entre os grupos;
- d) Razão de prevalência de esteatose para cada variável alterada.

4.7.4 Avaliação das transaminases e proteína C reativa

- a) Níveis séricos de AST, ALT e PCR;
- b) Classificação dos níveis séricos segundo os padrões de normalidade;
- c) Comparação dos valores absolutos entre os grupos;
- d) Razão de prevalência de esteatose para cada variável alterada.

4.7.5 Vitaminas A, E, C e betacaroteno

- a) Consumo de vitaminas baseado no Registro Alimentar de 3 dias;
- b) Níveis séricos das vitaminas A, E, C e betacaroteno;
- c) Classificação do consumo e dos níveis séricos segundo os padrões de normalidade;

- d) Comparação dos valores absolutos entre os grupos;
- e) Razão de prevalência de esteatose para cada variável alterada.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a codificação e inventário de todas as variáveis em um dicionário, foi elaborado um banco de dados no aplicativo *MsExcel 2010*® para validação dos dados empregando dupla entrada (digitação). Em seguida, o banco de dados foi transportado e a análise estatística realizada empregando-se o aplicativo *SPSS for Windows (Statistical Package for the Social Sciences)*, versão 16.0.

Para a análise univariada de variáveis categóricas, utilizou-se a distribuição de frequência absoluta. Para a análise univariada de variáveis numéricas contínuas, que apresentaram distribuição normal, os resultados foram expressos segundo a média \pm desvio-padrão, e os valores comparados pelo teste “*t de Student*”.

Para a análise bivariada de variáveis categóricas, a presença de esteatose foi considerada o desfecho. Sendo assim, foram calculadas medidas de associação em tabelas de contingência, tais como razão de prevalência (*odds ratio*), razão de chances de prevalência e teste de χ^2 . O objetivo foi investigar se os valores alterados das variáveis estavam relacionados há um maior risco de ocorrência de esteatose.

Para a análise bivariada de variáveis numéricas, foi realizada a correlação de *Pearson*, sendo considerada uma correlação fraca quando $|r| < 0,3$; correlação moderada quando $|r|$ estiver entre 0,3 e 0,7; e correlação forte quando $|r| > 0,7$.

Além disso, fixou-se em 0,05 ou 5% o nível de rejeição para a hipótese de nulidade, ou seja, considerou-se um nível de significância de 95% ($p < 0,05$), assinalando com asteriscos os valores significantes.

Os resultados estão apresentados em figuras e tabelas.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO

Dentre os 37 participantes da pesquisa, 21 crianças e 16 adolescentes totalizaram a população estudada. Entre estes, constatou-se que o sexo masculino correspondia a 56,8% da amostra, na qual a média de idade foi de $10,2 \pm 1,8$ anos.

A Tabela 1 demonstra as características da população segundo o sexo e a faixa etária dos participantes, em porcentagem.

Tabela 1 – Sexo e faixa etária de crianças e adolescentes obesos participantes da pesquisa.

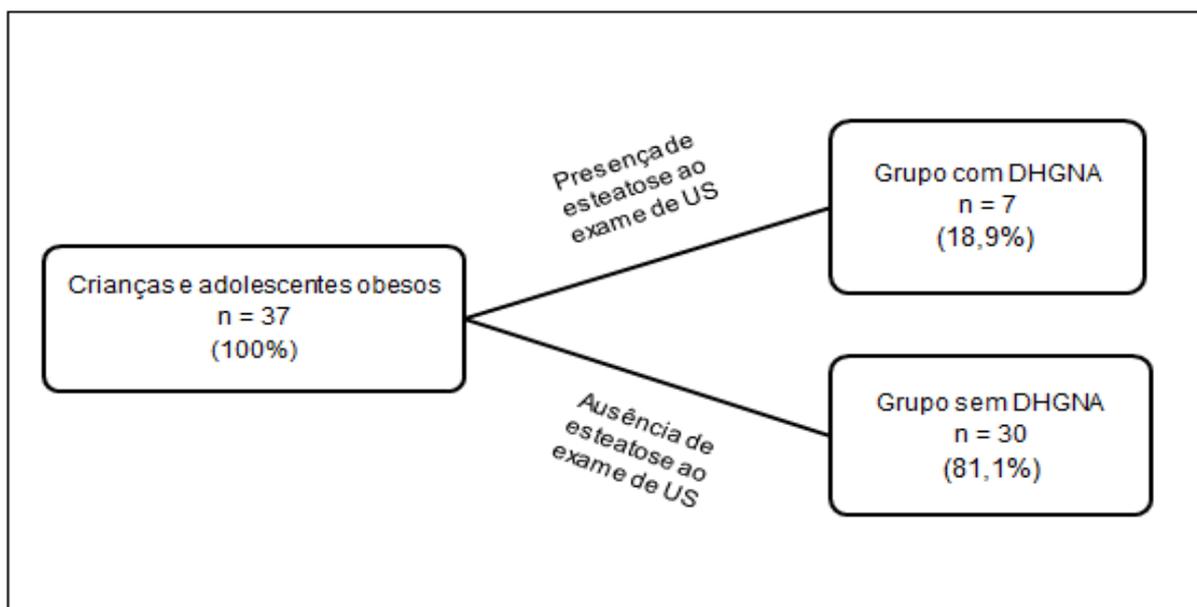
Variáveis	Crianças e adolescentes obesos	
	n	%
Sexo		
Masculino	21	56,8
Feminino	16	43,2
Total	37	100,0
Faixa etária		
7 – 10 anos	21	56,7
11 – 14 anos	16	43,3
Total	37	100,0

Fonte: o autor, 2013.

5.2 PREVALÊNCIA DE DHGNA

No presente estudo, a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) será referida como esteatose hepática. O exame de ultrassonografia (US) abdominal detectou a presença de esteatose hepática grau I em 18,9% (n=7) dos indivíduos avaliados.

A partir deste resultado os participantes da pesquisa foram divididos em dois grupos: “grupo com DHGNA” e “grupo sem DHGNA”, conforme representado na Figura 1 a seguir.

Figura 1 – Representação esquemática da composição da amostra.

Fonte: o autor, 2013.

A DHGNA foi detectada apenas em pacientes do sexo masculino. Além disso, houve uma maior prevalência de esteatose na faixa etária de 8 anos de idade. A Tabela 2 abaixo demonstra a composição dos grupos segundo sexo e faixa etária.

Tabela 2 – Composição dos grupos segundo sexo e faixa etária.

Variáveis	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA	
	n	%	n	%
Sexo				
Masculino	7	100,0	14	46,6
Feminino	0	0,0	16	53,4
Total	7	100,0	30	100,0
Faixa etária				
7 anos	1	14,3	1	3,3
8 anos	3	42,8	3	10,0
9 anos	0	0,0	6	20,0
10 anos	0	0,0	7	23,3
11 anos	1	14,3	6	20,0
12 anos	0	0,0	5	16,6
13 anos	1	14,3	2	6,7
14 anos	1	14,3	0	0,0
Total	7	100,0	30	100,0

Fonte: o autor, 2013.

5.3 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Todos os indivíduos do estudo eram obesos, classificados acima do escore-z +2 e +3 de acordo com o Índice de Massa Corporal (IMC) para a idade (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2007), obedecendo os critérios de inclusão da pesquisa.

Além da utilização do peso e da estatura para a classificação do IMC, também foi aferida a circunferência abdominal (CA) e classificada em percentis. A CA foi considerada elevada quando os valores apresentavam-se acima ou igual ao percentil 90 (p90), de acordo com a idade.

A média dos valores de peso corporal (em kg), da estatura (em metros), do IMC (kg/m²), e da circunferência abdominal (em centímetros) foi comparada entre os grupos com e sem DHGNA, e a análise descritiva esta apresentada na Tabela 3. O grupo com esteatose apresentou a média de todos os parâmetros das medidas antropométricas acima dos valores do grupo sem esteatose, porém, sem relevância estatística.

Tabela 3 – Média e desvio padrão das medidas de peso, estatura, IMC, e circunferência abdominal entre os grupos com e sem DHGNA.

Variáveis	Grupo com DHGNA (n = 7)	Grupo sem DHGNA (n = 30)	p valor
Peso (kg)			
Média	63,51 kg	54,35 kg	0,199
DP	± 31,7	± 11,33	
Estatura (cm)			
Média	1,45 m	1,45 m	0,885
DP	± 0,18	± 0,11	
IMC (kg/m²)			
Média	29,21 kg/m ²	25,36 kg/m ²	0,052
DP	± 7,91	± 3,46	
Circunferência abdominal (cm)			
Média	93,07 cm	84,37 cm	0,077
DP	± 20,27	± 8,43	

Fonte: o autor, 2013.

Notas: Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

A Tabela 4 demonstra a classificação da CA entre grupos com e sem esteatose. A CA esteve acima do p90 em 71,4% (n=5) dos indivíduos do grupo com esteatose, e em 66,7% (n=20) dos indivíduos do grupo sem esteatose.

Tabela 4 – Classificação da circunferência abdominal de crianças e adolescentes obesos com e sem esteatose.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA	
	n	%	n	%
Classificação CA				
Elevada	5	71,4	20	66,7
Normal	2	28,6	10	33,3
Total	7	100	30	100,0

Fonte: o autor, 2013.

Foi analisado também a possibilidade da CA elevada significar um fator de risco para o desenvolvimento da esteatose hepática. Para isso, verificou-se se o total de pacientes obesos com CA acima do p90 (n=25) apresentavam maiores chances de possuir esteatose hepática, comparado com indivíduos abaixo do p90 (n=12).

Ao analisar a classificação da CA, verificou-se que 20,0% (n=5) do total de pacientes acima do p90 apresentavam esteatose. Entretanto, 16,7% (n=2) abaixo do p90 também apresentaram esteatose. Com isso constatou-se que independente da classificação da CA é possível o paciente apresentar esteatose hepática.

O risco de um paciente com CA elevada apresentar esteatose foi apenas 1,2 vezes maior quando comparado a um indivíduo com CA dentro da classificação de normalidade, não havendo diferença estatisticamente significativa para o risco apresentado (Tabela 5).

Sendo assim, no presente estudo não se pode afirmar que CA elevada signifique fator de risco para desenvolvimento de esteatose hepática.

Tabela 5 – Risco de esteatose segundo classificação da circunferência abdominal entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA		Total		RP (IC)	RCP (IC)	p valor
	n	%	n	%	n	%			
Classificação CA									
Elevada	5	20,0	20	80,0	25	100,0	1,2	1,25	0,809
Normal	2	16,7	10	83,3	12	100,0	(0,27 – 5,32)	(0,2 – 7,6)	

Fonte: o autor, 2013.

Notas: RP: razão de prevalência; RCP: razão de chances de prevalência; IC: intervalo de confiança. Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

5.4 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

5.4.1 Perfil lipídico

Os valores de colesterol total (CT), HDL colesterol (HDL-c), LDL colesterol (LDL-c) e triglicerídeos (TG) foram analisados, dos quais se obtiveram a média e o desvio padrão, e posteriormente foram comparados entre os grupos com e sem DHGNA.

O grupo com esteatose apresentou as médias dos valores de CT (183,11 mg/dL), LDL-c (121,54 mg/dL) e TG (132,14 mg/dL) acima dos valores do grupo sem esteatose (169,37 mg/dL, 105,47 mg/dL e 104,6 mg/dL, respectivamente). A média dos níveis séricos de HDL-c também ficou abaixo no grupo com esteatose, quando comparado ao grupo com ausência de esteatose.

Nota-se que ambos os grupos apresentaram valores alterados no lipidograma, ou seja, valores acima dos padrões de referência para a normalidade. Apesar da relevância clínica dos resultados, não houve diferença estatística entre os grupos. A análise descritiva está apresentada na Tabela 6.

Tabela 6 - Média e desvio padrão dos valores do lipidograma entre os grupos com e sem DHGNA.

Lipoproteínas (mg/dL)	Grupo com DHGNA (n = 7)	Grupo sem DHGNA (n = 30)	p valor
Colesterol total			
Média	183,11 mg/dL	169,37 mg/dL	0,195
DP	± 40,14	± 20,18	
HDL-c			
Média	39,29 mg/dL	42,8 mg/dL	0,341
DP	± 5,65	± 9,2	
LDL-c			
Média	121,54 mg/dL	105,47 mg/dL	0,095
DP	± 37,4	± 17,7	
Triglicerídeos			
Média	132,14 mg/dL	104,6 mg/dL	0,201
DP	± 56,6	± 49,1	

Fonte: o autor, 2013.

Notas: Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

Além da análise descritiva verificou-se também, para cada exame do lipidograma, a chance do respectivo exame alterado ser considerado um fator de risco para o desenvolvimento de esteatose hepática.

Os valores de referência dos exames do perfil lipídico foram classificados segundo a Diretriz de prevenção da aterosclerose na infância e adolescência, 2005 (Quadro 4, pág. 43).

Ao analisar a classificação do CT, verificou-se que 19,4% (n=6) do total de pacientes com o valor do exame alterado (> 150 mg/dL) apresentavam esteatose. Entretanto, 16,7% (n=1) dos pacientes com valores de CT normais também apresentaram esteatose.

O risco de um paciente com CT elevado apresentar esteatose foi apenas 1,16 vezes maior quando comparado a um indivíduo com CT normal, não havendo diferença estatisticamente significativa para o risco apresentado (Tabela 7).

Sendo assim, no presente estudo não se pode afirmar que CT elevado signifique fator de risco para desenvolvimento de esteatose hepática.

Ao analisar a classificação do HDL-c, verificou-se que 25% (n=6) do total de pacientes com o valor do exame reduzido (< 45 mg/dL) apresentavam esteatose. Entretanto, 7,7% (n=1) dos pacientes com valores de HDL-c normais também apresentaram esteatose.

O risco de um paciente com HDL-c reduzido apresentar esteatose foi 3,25 vezes maior quando comparado a um indivíduo com HDL-c normal, porém não houve diferença estatisticamente significativa para o risco apresentado (Tabela 7).

Sendo assim, no presente estudo não se pode afirmar que HDL-c reduzido signifique fator de risco para desenvolvimento de esteatose hepática.

Ao analisar a classificação do LDL-c, verificou-se que 19% (n=4) do total de pacientes com o valor do exame alterado (> 100 mg/dL) apresentavam esteatose. Entretanto, 18,8% (n=3) dos pacientes com LDL-c normal também apresentaram esteatose.

O risco de um paciente com LDL-c elevado apresentar esteatose foi o mesmo quando comparado a um indivíduo com LDL-c normal, não havendo diferença estatisticamente significativa para o risco apresentado (Tabela 7).

Sendo assim, no presente estudo não se pode afirmar que LDL-c elevado signifique fator de risco para desenvolvimento de esteatose hepática.

Ao analisar a classificação dos TG, verificou-se que 26,3% (n=5) do total de pacientes com o valor do exame alterado (> 100 mg/dL) apresentavam esteatose. Entretanto, 11,1% (n=2) dos pacientes com TG normal também apresentaram esteatose.

O risco de um paciente com TG elevado apresentar esteatose foi 2,37 vezes maior quando comparado a um indivíduo com TG normal, porém não houve diferença estatisticamente significativa para o risco apresentado (Tabela 7).

Sendo assim, no presente estudo não se pode afirmar que TG elevado signifique fator de risco para desenvolvimento de esteatose hepática.

Tabela 7 – Risco de esteatose hepática segundo alterações do perfil lipídico entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA		Total		RP (IC)	RCP (IC)	p valor
	n	%	n	%	n	%			
Classificação CT									
Elevado	6	19,4	25	80,6	31	100,0	1,16	1,2	0,878
Normal	1	16,7	5	83,3	6	100,0	(0,17 – 7,98)	(0,12 – 12,3)	
Classificação HDL-c									
Reduzido	6	25,0	18	75,0	24	100,0	3,25	4,0	0,199
Normal	1	7,7	12	92,3	13	100,0	(0,4 – 24,1)	(0,4 – 37,5)	
Classificação LDL-c									
Elevado	4	19,0	17	81,0	21	100,0	1,02	1,02	0,982
Normal	3	18,8	13	81,2	16	100,0	(0,26 – 3,91)	(0,19 – 5,4)	
Classificação TG									
Elevado	5	26,3	14	73,7	19	100,0	2,37	2,86	0,238
Normal	2	11,1	16	88,9	18	100,0	(0,52 – 10,7)	(0,47 – 17,1)	

Fonte: o autor, 2013.

Notas: RP: razão de prevalência; RCP: razão de chances de prevalência; IC: intervalo de confiança. Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

5.4.2 Enzimas hepáticas e proteína C reativa

Quanto às dosagens de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), o grupo com DHGNA apresentou maiores níveis séricos circulantes de AST e ALT (24,9 U/L e 19,88 U/L, respectivamente), quando comparado ao grupo sem DHGNA (22,81 U/L e 18,85 U/L, respectivamente). Contudo, nenhum paciente apresentou valores alterados, acima da classificação (Quadro 6, pág. 43), e não houve diferença estatística significativa entre os grupos.

A dosagem de proteína C reativa (PCR), por sua vez, também apresentou maiores níveis séricos circulantes no grupo com DHGNA (0,33 mg/dL), em comparação ao grupo sem DHGNA (0,13 mg/dL). Ambos os grupos apresentaram crianças com valores alterados ($> 0,5$ mg/dL), entretanto houve diferença estatisticamente significativa entre a média dos grupos.

A Tabela 8 demonstra as médias dos marcadores bioquímicos para lesão hepática entre os grupos da pesquisa.

Tabela 8 - Média e desvio padrão dos valores das enzimas hepáticas e proteína C reativa entre os grupos com e sem DHGNA.

Marcadores bioquímicos	Grupo com DHGNA (n = 7)	Grupo sem DHGNA (n = 30)	p valor
AST (U/L)			
Média	24,9 U/L	22,81 U/L	0,333
DP	± 7,5	± 4,38	
ALT (U/L)			
Média	19,88 U/L	18,85 U/L	0,720
DP	± 8,11	± 6,48	
PCR (mg/ dL)			
Média	0,33 mg/dL	0,13 mg/dL	0,021*
DP	± 0,19	± 0,19	

Fonte: o autor, 2013.

Notas: Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

* $p < 0,05$

5.4.3 Vitaminas antioxidantes

Os valores séricos de retinol, betacaroteno, ácido ascórbico, e alfa tocoferol foram dosados e analisados, a partir dos quais se obtiveram a média e o desvio padrão, cujos valores posteriormente foram comparados entre os grupos com e sem DHGNA.

Quanto às dosagens de retinol sérico, o grupo com DHGNA apresentou a média dos níveis séricos aumentados (2,89 $\mu\text{mol/L}$) quando comparado ao grupo sem DHGNA (2,69 $\mu\text{mol/L}$). Neste caso não houve diferença estatística significativa entre os grupos (Tabela 9). Observou-se também que nenhum paciente, em ambos os grupos, apresentou níveis séricos reduzidos de retinol ($< 1,05 \mu\text{mol/L}$).

Em relação às dosagens de betacaroteno, ácido ascórbico e alfa tocoferol, o grupo com DHGNA apresentou a média dos níveis séricos circulantes reduzidos em suas dosagens (0,38 $\mu\text{mol/L}$, 0,94 mg/dL e 15,46 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente) quando comparado ao grupo sem DHGNA (0,56 $\mu\text{mol/L}$, 1,28 mg/dL e 15,72 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente). A comparação entre os grupos apresentou diferença estatística significativa apenas para o ácido ascórbico.

Apesar da diferença, observou-se que nenhum paciente apresentou os níveis séricos abaixo da recomendação (Quadro 2, pág. 42) para o ácido ascórbico e para o alfa tocoferol, em ambos os grupos. Para o betacaroteno, apenas 5 pacientes, do

grupo sem esteatose, apresentaram níveis normais de concentração plasmática (>0,9 $\mu\text{mol/L}$); os demais se encontravam todos reduzidos.

Tabela 9 - Média e desvio padrão dos valores séricos de vitaminas antioxidantes entre os grupos com e sem DHGNA.

Vitaminas antioxidantes ($\mu\text{mol/L}$)	Grupo com DHGNA (n = 7)	Grupo sem DHGNA (n = 30)	p valor
Retinol sérico			
Média	2,89 $\mu\text{mol/L}$	2,69 $\mu\text{mol/L}$	0,524
DP	$\pm 0,44$	$\pm 0,79$	
Betacaroteno sérico			
Média	0,38 $\mu\text{mol/L}$	0,56 $\mu\text{mol/L}$	0,389
DP	$\pm 0,26$	$\pm 0,55$	
Ácido ascórbico sérico			
Média	0,94 mg/dL	1,28 mg/dL	0,016*
DP	$\pm 0,21$	$\pm 0,34$	
Alfa tocoferol sérico			
Média	15,46 $\mu\text{mol/L}$	15,72 $\mu\text{mol/L}$	0,865
DP	$\pm 3,86$	$\pm 3,55$	

Fonte: o autor, 2013.

Notas: Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

* $p < 0,05$

Além da análise descritiva verificou-se também, para cada exame bioquímico de vitaminas antioxidantes, a chance de o respectivo exame alterado ser considerado um fator de risco para o desenvolvimento de esteatose hepática.

Os valores de referência para os níveis séricos de vitaminas antioxidantes se encontram no Quadro 2 e 3 (pág. 42).

Em relação aos níveis séricos de retinol, ácido ascórbico e alfa tocoferol, não foi possível calcular o risco que os pacientes com concentrações plasmáticas reduzidas possuíam em desenvolver esteatose, pois todos foram classificados dentro dos níveis de normalidade.

Quanto aos níveis séricos de betacaroteno, foram classificados como reduzidos os exames com valores abaixo de 0,9 $\mu\text{mol/L}$. Os valores acima deste foram classificados como normais.

Ao analisar a classificação dos níveis de betacaroteno, verificou-se que 21,9% (n=7) do total de pacientes com o valor do exame reduzido (< 0,9 $\mu\text{mol/L}$) apresentaram esteatose. Ficou demonstrado que todos os pacientes com esteatose

apresentaram níveis séricos de betacaroteno abaixo dos valores de referência. Portanto, por não haver nenhum indivíduo com esteatose e valores séricos normais, não foi possível calcular o risco ou a chance que pacientes com deficiência de betacaroteno tem de apresentar esteatose.

Sendo assim, apesar de nenhum paciente com DHGNA apresentar níveis de adequação, no presente estudo não se pode afirmar que níveis plasmáticos reduzidos de betacaroteno signifiquem um fator de risco para desenvolvimento de esteatose hepática, visto que não houve diferença estatisticamente significativa diante da quantidade de pacientes que apresentaram esta redução (Tabela 10).

Tabela 10 – Risco de esteatose hepática segundo valores séricos de vitaminas antioxidantes entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA		Total		RP (IC)	RCP (IC)	p valor
	n	%	n	%	n	%			
Betacaroteno sérico									
Reduzido	7	21,9	25	78,1	32	100,0	-	-	0,560
Normal	0	0,0	5	100,0	5	100,0			

Fonte: o autor, 2013.

Notas: RP: razão de prevalência; RCP: razão de chances de prevalência; IC: intervalo de confiança. Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística; Valor de p calculado pelo Teste Exato de Fisher.

5.5 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR

O consumo alimentar de vitamina A, vitamina C e vitamina E foi obtido a partir da média de ingestão destes nutrientes em três dias relatados, calculados a partir do Registro Alimentar de três dias. Após a obtenção dos dados, calculou-se a média e o desvio padrão, cujos valores de consumo foram comparados entre os grupos com e sem DHGNA.

O grupo com esteatose apresentou as médias de consumo de vitamina A (283,11 $\mu\text{g}/\text{dia}$), vitamina C (29,9 mg/dia) e vitamina E (7,38 mg/dia) abaixo dos valores do grupo sem esteatose (450,51 $\mu\text{g}/\text{dia}$, 64,07 mg/dia e 7,82 mg/dia , respectivamente). Apesar da relevância clínica dos resultados, não houve diferença estatística entre os grupos. A análise descritiva esta apresentada na Tabela 11.

Tabela 11 – Média e desvio padrão dos valores de ingestão das vitaminas A, C e E entre os grupos com e sem DHGNA.

Valores de Ingestão	Grupo com DHGNA (n = 7)	Grupo sem DHGNA (n = 30)	p valor
Vitamina A (µg/dia)			
Média	283,11 µg/dia	450,51 µg/dia	0,086
DP	± 118,11	± 241,97	
Vitamina C (mg/dia)			
Média	29,9 mg/dia	64,07 mg/dia	0,082
DP	± 13,9	± 49,54	
Vitamina E (mg/dia)			
Média	7,38 mg/dia	7,82 mg/dia	0,792
DP	± 4,23	± 3,81	

Fonte: o autor, 2013.

Notas: Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

Além da análise descritiva verificou-se também, para cada vitamina, a chance da ingestão abaixo do recomendado ser considerado um fator de risco para o desenvolvimento de esteatose hepática.

Os valores de referência para ingestão de vitaminas foram classificados segundo sexo e idade, conforme as DRIs (Quadro 1, pág. 36).

Ao analisar a classificação da ingestão de vitamina A, verificou-se que 21,9% (n=7) do total de pacientes com o valor de ingestão reduzido (< 400 ou 600 µg/dia) apresentaram esteatose. Ficou demonstrado que todos os pacientes com esteatose apresentaram consumo de vitamina A abaixo da recomendação. Portanto, por não haver nenhum indivíduo com esteatose e valores normais de ingestão, não foi possível calcular o risco ou a chance que pacientes com deficiência de consumo de vitamina A tem de apresentar esteatose.

Sendo assim, apesar de nenhum paciente com DHGNA apresentar ingestão adequada, no presente estudo não se pode afirmar que deficiência no consumo de vitamina A signifique um fator de risco para desenvolvimento de esteatose hepática, visto que não houve diferença estatisticamente significativa perante a quantidade de pacientes que apresentaram esta redução em ambos os grupos (Tabela 12).

Ao analisar a classificação da ingestão de vitamina C, verificou-se que 22,7% (n=5) do total de pacientes com o valor de ingestão reduzido (< 25 ou 45 mg/dia) apresentaram esteatose. Entretanto, 13,3% (n=2) dos pacientes com ingestão adequada também apresentaram esteatose.

O risco de um paciente com consumo reduzido de vitamina C apresentar esteatose foi 1,7 vezes maior quando comparado a um indivíduo com consumo adequado, porém não houve diferença estatisticamente significativa para o risco apresentado (Tabela 12).

Sendo assim, no presente estudo não se pode afirmar que deficiência no consumo de vitamina C signifique um fator de risco para desenvolvimento de esteatose hepática.

Ao analisar a classificação da ingestão de vitamina E, verificou-se que 19,4% (n=6) do total de pacientes com o valor de ingestão reduzido (< 7 ou 11 mg/dia) apresentaram esteatose. Entretanto, 16,7% (n=1) dos pacientes com ingestão adequada também apresentaram esteatose.

O risco de um paciente com consumo reduzido de vitamina E apresentar esteatose foi apenas 1,16 vezes maior quando comparado a um indivíduo com consumo adequado, não havendo diferença estatisticamente significativa para o risco apresentado (Tabela 12).

Sendo assim, no presente estudo não se pode afirmar que deficiência no consumo de vitamina E signifique fator de risco para desenvolvimento de DHGNA.

Tabela 12 – Risco de esteatose hepática segundo valores de ingestão dietética de vitaminas antioxidantes entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA		Total		RP (IC)	RCP (IC)	p valor
	n	%	n	%	n	%			
Vitamina A (µg/dia)									
Reduzido	7	22,6	24	77,4	31	100,0	-	-	0,255
Normal	0	0,0	6	100,0	6	100,0			
Vitamina C (mg/dia)									
Reduzido	5	22,7	17	77,3	22	100,0	1,7	1,9	0,474
Normal	2	13,3	13	86,7	15	100,0	(0,38 – 7,66)	(0,32 – 11,5)	
Vitamina E (mg/dia)									
Reduzido	6	19,4	25	80,6	31	100,0	1,16	1,2	0,878
Normal	1	16,7	5	83,3	6	100,0	(0,17 – 7,98)	(0,12 – 12,3)	

Fonte: o autor, 2013.

Notas: RP: razão de prevalência; RCP: razão de chances de prevalência; IC: intervalo de confiança. Valores de p < 0,05 indicam significância estatística; Valor de p calculado pelo Teste Exato de Fisher.

5.6 CORRELAÇÕES ENTRE VARIÁVEIS

Foram realizadas correlações entre a ingestão e os níveis séricos de vitaminas; entre a ingestão de vitaminas e o perfil lipídico; e entre os níveis séricos de vitaminas e os marcadores de lesão hepática. Ressalta-se que os resultados apresentados pela correlação de *Pearson* não implicam em relação de causa e efeito.

5.6.1 Ingestão de vitaminas x Níveis séricos de vitaminas

Foi analisada a correlação entre valores de ingestão e níveis séricos de vitaminas antioxidantes nos dois grupos, conforme descrito na Tabela 13.

Nota-se que a baixa ingestão de vitamina A apresentou uma correlação negativa e fraca com os níveis séricos de retinol. Isto é, quanto menor o consumo de vitamina A na dieta, maior os níveis séricos de retinol, em ambos os grupos. Contudo, a correlação não apresentou diferença estatística significativa.

Ainda a respeito da ingestão de vitamina A, a mesma apresentou uma correlação positiva e moderada com os níveis séricos de betacaroteno, no grupo com esteatose. Ou seja, quanto menor o consumo de vitamina A na dieta, menor os níveis séricos de betacaroteno. Entretanto, a correlação não apresentou diferença estatística significativa.

Em relação à baixa ingestão de vitamina C, houve uma correlação positiva e moderada com os níveis séricos de ácido ascórbico no grupo com esteatose. Isto é, quanto menor o consumo de vitamina C na dieta, menor os níveis séricos de ácido ascórbico. Contudo, a correlação não apresentou diferença estatística significativa.

Quanto à ingestão de vitamina E, houve uma correlação positiva e moderada com os níveis séricos de alfa tocoferol, no grupo com esteatose. Isto é, quanto menor o consumo de vitamina E na dieta, menor os níveis séricos de alfa tocoferol. Apesar disso, a correlação não apresentou diferença estatística significativa.

Tabela 13 – Correlação entre valores de ingestão e níveis séricos de vitaminas antioxidantes entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA	
	Valor de r	Valor de p	Valor de r	Valor de p
Ingestão x níveis séricos				
Vitamina A (µg/dia) x Retinol (µmol/L)	-0,194	0,677	-0,153	0,418
Vitamina A (µg/dia) x Betacaroteno (µmol/L)	0,337	0,460	0,171	0,367
Vitamina C (mg/dia) x Ácido ascórbico (md/dL)	0,525	0,227	0,118	0,534
Vitamina E (mg/dia) x Alfa tocoferol (µmol/L)	0,388	0,390	-0,073	0,702

Fonte: o autor, 2013.

Notas: r: magnitude do coeficiente de correlação de Pearson; Valores de p < 0,05 indicam significância estatística.

*p < 0,05

5.6.2 Ingestão de vitaminas x Perfil lipídico

Também foi analisada a correlação entre ingestão alimentar de vitaminas antioxidantes e os valores séricos dos exames do lipidograma, entre os grupos com e sem DHGNA.

Em relação à baixa ingestão de vitamina A, houve uma correlação negativa e moderada com o aumento do colesterol total e LDL-c no grupo com esteatose. Isto é, quanto menor o consumo de vitamina A na dieta, maior os níveis séricos de colesterol total e LDL-c. Contudo, a correlação não apresentou diferença estatística significativa, conforme demonstrado na Tabela 14.

Tabela 14 – Correlação entre valores de ingestão de vitamina A e perfil lipídico entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA	
	Valor de r	Valor de p	Valor de r	Valor de p
Ingestão x perfil lipídico				
Vitamina A (µg/dia) x Colesterol total (mg/dL)	-0,440	0,323	0,181	0,338
Vitamina A (µg/dia) x HDL-c (mg/dL)	0,099	0,834	0,314	0,091
Vitamina A (µg/dia) x LDL-c (mg/dL)	-0,536	0,215	0,053	0,781
Vitamina A (µg/dia) x Triglicerídeos (mg/dL)	0,010	0,983	0,081	0,670

Fonte: o autor, 2013.

Notas: r: magnitude do coeficiente de correlação de Pearson; Valores de p < 0,05 indicam significância estatística.

Quanto à ingestão de vitamina C, as correlações foram fracas, não havendo relevância entre a quantidade consumida e alterações nos exames do lipidograma. As correlações não apresentaram diferença estatística significativa, conforme demonstrado na Tabela 15.

Tabela 15 – Correlação entre valores de ingestão de vitamina C e perfil lipídico entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA	
	Valor de r	Valor de p	Valor de r	Valor de p
Ingestão x perfil lipídico				
Vitamina C (mg/dia) x Colesterol total (mg/dL)	-0,108	0,818	0,095	0,616
Vitamina C (mg/dia) x HDL-c (mg/dL)	-0,223	0,630	-0,144	0,449
Vitamina C (mg/dia) x LDL-c (mg/dL)	-0,053	0,910	0,114	0,550
Vitamina C (mg/dia) x Triglicerídeos (mg/dL)	0,114	0,807	0,072	0,706

Fonte: o autor, 2013.

Notas: r: magnitude do coeficiente de correlação de Pearson; Valores de p < 0,05 indicam significância estatística.

Em relação à baixa ingestão de vitamina E, houve uma correlação positiva e moderada com a diminuição do HDL-c no grupo com esteatose. Isto é, quanto menor o consumo de vitamina E na dieta, menor os níveis séricos de HDL-c.

Contudo, a correlação não apresentou diferença estatística significativa, conforme demonstrado na Tabela 16.

Tabela 16 – Correlação entre valores de ingestão de vitamina E e perfil lipídico entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA	
	Valor de r	Valor de p	Valor de r	Valor de p
Ingestão x perfil lipídico				
Vitamina E (mg/dia) x Colesterol total (mg/dL)	0,419	0,349	-0,023	0,905
Vitamina E (mg/dia) x HDL-c (mg/dL)	0,517	0,235	0,127	0,502
Vitamina E (mg/dia) x LDL-c (mg/dL)	0,355	0,434	0,041	0,830
Vitamina E (mg/dia) x Triglicerídeos (mg/dL)	-0,297	0,518	0,034	0,859

Fonte: o autor, 2013.

Notas: r: magnitude do coeficiente de correlação de Pearson; Valores de p < 0,05 indicam significância estatística.

5.6.3 Níveis séricos de vitaminas x Marcadores de lesão hepática

Por fim, foi verificada a correlação entre os níveis séricos de vitaminas antioxidantes e os valores séricos das transaminases e proteína C reativa, entre os grupos com e sem DHGNA.

Quanto ao retinol sérico, não houve correlações relevantes entre os níveis séricos circulantes e alterações nos valores das transaminases e PCR. As correlações não apresentaram diferença estatística significativa, conforme demonstrado na Tabela 17.

Tabela 17 – Correlação entre os níveis séricos de retinol, transaminases e PCR, entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA	
	Valor de r	Valor de p	Valor de r	Valor de p
Retinol x marcadores bioquímicos				
Retinol sérico (µmol/L) x AST (U/L)	-0,095	0,839	-0,188	0,320
Retinol sérico (µmol/L) x ALT (U/L)	-0,232	0,617	0,119	0,531
Retinol sérico (µmol/L) x PCR (mg/dL)	0,003	0,995	-0,120	0,526

Fonte: o autor, 2013.

Notas: r: magnitude do coeficiente de correlação de Pearson; Valores de p < 0,05 indicam significância estatística.

Em relação à diminuição dos níveis plasmáticos de betacaroteno, houve uma correlação negativa e forte com o aumento dos valores de AST e ALT, e uma correlação negativa e moderada com o aumento dos valores de PCR, no grupo com esteatose. Isto é, quanto menor a concentração de betacaroteno no plasma, maior os níveis séricos de AST, ALT e PCR. A forte correlação apresentou diferença estatística significativa, conforme demonstrado na Tabela 18.

Tabela 18 – Correlação entre os níveis séricos de betacaroteno, transaminases e PCR, entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA	
	Valor de r	Valor de p	Valor de r	Valor de p
Betacaroteno x marcadores bioquímicos				
Betacaroteno (µmol/L) x AST (U/L)	-0,836	0,019*	-0,256	0,172
Betacaroteno (µmol/L) x ALT (U/L)	-0,871	0,011*	-0,104	0,584
Betacaroteno (µmol/L) x PCR (mg/dL)	-0,322	0,481	0,115	0,547

Fonte: o autor, 2013.

Notas: r: magnitude do coeficiente de correlação de Pearson; Valores de p < 0,05 indicam significância estatística.

*p < 0,05

Quanto aos níveis séricos de ácido ascórbico, as correlações apresentadas foram positivas e fracas ou moderadas, não havendo relevância na correlação com

os níveis plasmáticos de AST, ALT e PCR. As correlações não apresentaram diferença estatística significativa, conforme demonstrado na Tabela 19.

Tabela 19 – Correlação entre os níveis séricos de ácido ascórbico, transaminases e PCR, entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA	
	Valor de r	Valor de p	Valor de r	Valor de p
Ácido ascórbico x marcadores bioquímicos				
Ácido ascórbico (mg/dL) x AST (U/L)	0,267	0,562	-0,213	0,258
Ácido ascórbico (mg/dL) x ALT (U/L)	0,466	0,292	-0,275	0,141
Ácido ascórbico (mg/dL) x PCR (mg/dL)	0,389	0,388	0,109	0,567

Fonte: o autor, 2013.

Notas: r: magnitude do coeficiente de correlação de Pearson; Valores de p < 0,05 indicam significância estatística.

Em relação aos níveis plasmáticos de alfa tocoferol, houve uma correlação negativa e fraca com o aumento dos valores de AST, e uma correlação negativa e moderada com o aumento dos valores de ALT e PCR, no grupo com esteatose. Isto é, quanto menor a concentração de alfa tocoferol no plasma, maior os níveis séricos de AST, ALT e PCR. Entretanto, a correlação não apresentou diferença estatística significativa, conforme demonstrado na Tabela 20.

Tabela 20 – Correlação entre os níveis séricos de alfa tocoferol, transaminases e PCR, entre os grupos com e sem DHGNA.

	Grupo com DHGNA		Grupo sem DHGNA	
	Valor de r	Valor de p	Valor de r	Valor de p
Alfa tocoferol x marcadores bioquímicos				
Alfa tocoferol (µmol/L) x AST (U/L)	-0,242	0,601	-0,283	0,129
Alfa tocoferol (µmol/L) x ALT (U/L)	-0,431	0,335	-0,082	0,665
Alfa tocoferol (µmol/L) x PCR (mg/dL)	-0,346	0,447	-0,006	0,976

Fonte: o autor, 2013.

Notas: r: magnitude do coeficiente de correlação de Pearson; Valores de p < 0,05 indicam significância estatística.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo a população foi composta em sua maioria por crianças obesas do sexo masculino (56,8%), com idade média de 10 anos e predomínio de indivíduos na faixa etária escolar, entre 7 e 10 anos de idade. Navarro-Jarabo *et al.* (2013) analisaram uma amostra similar, composta por 58,3% de crianças obesas do sexo masculino, com idade média de 10 anos. No estudo de Silveira *et al.* (2013) também foram avaliadas crianças e adolescentes obesos, cuja composição da amostra possuía 48,4% de crianças do sexo masculino e média de idade de 11 anos, com predominância de indivíduos na faixa etária de 10 a 12 anos de idade. Observa-se que a obesidade tem-se iniciado precocemente, e tem afetado pacientes na faixa etária correspondente ao final da infância e início da adolescência, independente do sexo e com abrangência equânime.

Pacientes obesos na faixa etária pediátrica são os principais alvos de pesquisas e investigações para o cálculo de prevalência da DHGNA. O diagnóstico de esteatose hepática pela Ultrassonografia, na atual pesquisa, detectou sete indivíduos com esteatose grau I, caracterizando uma prevalência de 18,9% da doença entre os participantes. Este valor se encontra dentro da margem de prevalência relatado na revisão sistemática conduzida por Padilha *et al.* (2010). A revisão demonstrou a existência de associação entre obesidade e DHGNA, com prevalências variando de 3,0 a 60,3%. Dentre os 14 estudos revisados, quatro trabalharam com um número amostral acima de 300 crianças, o que torna os achados mais significativos, e a média da prevalência de esteatose nestes estudos correspondeu a 16,17% (PADILHA *et al.*, 2010).

Além disso, foi verificado em nosso estudo que todos os indivíduos com o diagnóstico confirmado de esteatose eram do sexo masculino. As pesquisas que associaram presença de esteatose ao sexo da criança (ALISI *et al.*, 2009; NAVARRO-JARABO *et al.*, 2013) não encontraram 100% de prevalência em apenas um gênero como no atual trabalho. Contudo, a prevalência da doença no sexo masculino foi maior em ambas as pesquisas, seguindo uma razão de 2:1 em relação ao sexo feminino.

Quanto aos dados de avaliação antropométrica, diversas pesquisas têm utilizado as medidas de peso e estatura para cálculo do IMC, e posteriormente comparado os resultados entre os grupos de crianças obesas com e sem esteatose.

Os valores do índice de massa corporal comparado entre os grupos no presente estudo esta de acordo com os achados de Papandreou *et al.* (2012), Akin *et al.* (2013) e Navarro-Jarabo *et al.* (2013). Nestes estudos, crianças e adolescentes obesos com esteatose apresentam valores de IMC acima do grupo sem esteatose, sendo a diferença estatística significativa em todos os estudos.

Além do índice de massa corporal, a avaliação das medidas de circunferência abdominal, por sua vez, vem ganhando um maior destaque por sua associação com os componentes da Síndrome Metabólica e com risco cardiovascular. O excesso de gordura visceral em crianças tem demonstrado envolvimento com quadros de hiperinsulinemia, dislipidemias e aterosclerose, associados à presença de DHGNA e hepatomegalia (PACIFICO *et al.*, 2011).

Mager *et al.* (2013a), Akin *et al.* (2013) e Navarro-Jarabo *et al.* (2013) também detectaram médias de valores de circunferência abdominal elevadas em grupos de crianças obesas com esteatose, quando comparados a grupos sem esteatose. No estudo de Tominaga (2009), verificou-se a probabilidade da circunferência abdominal elevada ser considerada um fator de risco independente para DHGNA. A razão de prevalência (RP) foi de 1,16, similar ao nosso estudo (RP = 1,2), contudo, esse risco ligeiramente elevado também não foi estatisticamente significativo. Em outro trabalho, Silveira *et al.* (2013), relataram que 41,3% das crianças obesas com quantidade de tecido adiposo intra-abdominal acima do p75 possuíam DHGNA, havendo uma associação positiva e significativa entre a antropometria e a doença.

Na análise do perfil lipídico de nosso trabalho, ambos os grupos apresentaram as médias alteradas para todos os exames, sendo as médias do grupo com esteatose ligeiramente mais elevadas. Para o colesterol total, El-Koofy *et al.* (2012) encontraram no grupo com esteatose valores séricos significativamente acima do grupo sem esteatose. Para o LDL-c, Mager *et al.* (2013a) e El-Koofy *et al.* (2012) também observaram valores mais elevados no grupo com esteatose, porém sem diferença estatística significativa.

Já nos estudos de Akin *et al.* (2013), Navarro-Jarabo *et al.* (2013) e Papandreou *et al.* (2012), a comparação dos valores de colesterol total e LDL-c entre os grupos diferiram do presente estudo. Nestes, CT e LDL-c estavam aumentados no grupo sem esteatose, quando comparados ao grupo com esteatose, entretanto, nenhum destes estudos apresentou diferença estatística significativa.

Para a análise do HDL-c, os estudos foram consensuais. Crianças obesas com esteatose apresentaram níveis séricos reduzidos de HDL-c, quando comparadas a crianças obesas sem esteatose. (AKIN et al., 2013; EL-KOOFY et al., 2013; NAVARRO-JARABO et al., 2013; PAPANDREOU et al., 2012; TOMINAGA et al., 2009). Os achados foram estatisticamente significativos em três, dos cinco estudos analisados (EL-KOOFY et al., 2013; PAPANDREOU et al., 2012; TOMINAGA et al., 2009).

Para a análise das concentrações séricas de triglicerídeos, El-Koofy *et al.* (2013), Navarro-Jarabo *et al.* (2013), e Tominaga *et al.* (2009), encontraram valores elevados de TG circulantes no grupo com esteatose em relação ao grupo sem esteatose, apresentando uma diferença estatisticamente significativa entre ambos, em todos os trabalhos.

Não foram encontrados estudos avaliando a probabilidade destes exames alterados, no perfil lipídico, serem considerados fatores de risco independentes para o desenvolvimento de DHGNA. Entretanto, nota-se que a dislipidemia é uma comorbidade fortemente presente em crianças obesas com esteatose hepática, estando relacionada a alterações no estilo de vida como hábitos alimentares inadequados e inatividade física.

Quanto às dosagens de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), no presente estudo, o grupo com esteatose apresentou maiores níveis séricos circulantes de AST e ALT, quando comparado ao grupo sem esteatose. Contudo, nenhum paciente apresentou valores alterados, acima da classificação.

Um estudo italiano constatou que valores alterados de AST, ALT e PCR podem significar uma maior predisposição ao desenvolvimento de doença hepática gordurosa não alcoólica, em crianças obesas (SARTORIO et al., 2007).

Nos estudos de Mager *et al.* (2013a), Akin *et al.* (2013), Navarro-Jarabo *et al.* (2013), El-Koofy *et al.* (2013), Santomauro *et al.* (2012) e Papandreou *et al.* (2012), todos encontraram valores de AST e ALT significativamente mais elevados no grupo com esteatose, em relação às crianças sem esteatose. Quanto aos valores acima do padrão de referência (AST > 40 U/L ou ALT > 55 U/L), apenas os estudos de Mager *et al.* (2013a), e El-Koofy *et al.* (2013), detectaram essa elevada alteração hepática nos parâmetros bioquímicos. Para os demais estudos, as médias não se

apresentaram muito elevadas e os valores também ficaram dentro do limite de classificação adotado no presente trabalho.

Níveis séricos elevados de proteína C reativa, um marcador inflamatório, são condizentes com um maior risco de evolução da DHGNA para EHNA e cirrose, decorrentes da exacerbação do estado de inflamação acarretado pela infiltração lipídica hepática. Em nosso estudo, os níveis séricos de PCR foram estatisticamente maiores no grupo de crianças obesas com esteatose.

Com resultados similares à nossa pesquisa, Mager *et al.* (2013a) e Weghuber *et al.* (2011) também encontraram valores elevados de PCR em crianças obesas com DHGNA, quando comparadas às crianças obesas sem DHGNA, havendo diferença estatística significativa nestes trabalhos. Para complementar, Kitsios *et al.* (2013), comparou os níveis de PCR entre crianças obesas com e sem síndrome metabólica, com e sem DHGNA, e pré diabéticas e não diabéticas. Houve diferença estatística apenas na comparação dos níveis séricos de PCR entre crianças com e sem DHGNA, na qual as crianças obesas com esteatose apresentaram valores mais elevados para o marcador inflamatório, quando comparadas às crianças obesas sem esteatose.

Em outros trabalhos, Santomauro *et al.* (2012) e Papandreou *et al.* (2012) também observaram valores elevados de PCR no grupo de crianças obesas com esteatose, em comparação ao grupo sem esteatose, porém não constataram diferença estatística significativa.

Em contrapartida aos nossos resultados, um estudo de coorte prospectivo em crianças com sobrepeso e obesidade em Israel não encontrou associação significativa entre níveis séricos de PCR e DHGNA (NEUMAN *et al.*, 2010).

É importante ressaltar que os níveis séricos elevados de PCR podem indicar a existência de inflamação em qualquer local do organismo, qualquer que seja sua causa. Devido a esta limitação, não é recomendado analisar isoladamente os valores de PCR como meio de se detectar inflamação hepática. Além disso, não se pode afirmar que os pacientes do presente estudo se encontravam no estágio avançado da doença de esteato-hepatite, visto que o padrão ouro para diagnóstico de EHNA é a biópsia hepática, e que os valores de PCR não estavam acima dos valores de referência.

Vitaminas antioxidantes e suas respectivas concentrações séricas também foram objeto de estudo do presente trabalho. Em relação à avaliação da vitamina A

plasmática e sua correlação com a esteatose hepática, no atual trabalho foram analisados os biomarcadores para retinol sérico e betacaroteno.

Quanto às concentrações plasmáticas de retinol sérico, no presente estudo nenhuma criança ou adolescente apresentou os níveis séricos reduzidos. Resultado similar ocorreu no estudo de Mager *et al.* (2010), no qual foram avaliadas 38 crianças e adolescentes obesos com DHGNA, sendo observados também níveis séricos adequados, segundo os padrões de referência, para todos os participantes. Entretanto, não foram encontrados na literatura estudos comparando os níveis séricos de retinol entre crianças obesas com e sem esteatose.

Um estudo brasileiro avaliando 82 crianças obesas e eutróficas teve o objetivo de verificar a associação dos baixos níveis séricos de retinol ao risco de desenvolver esteatose hepática. Do total de crianças avaliadas, vinte e três crianças (28%) apresentaram os níveis séricos de retinol reduzidos. Os autores demonstraram que o risco de um paciente com o valor de retinol sérico reduzido apresentar esteatose foi 2,8 vezes maior quando comparado a um indivíduo com retinol sérico normal, porém não houve diferença estatisticamente significativa para o risco apresentado (SOUZA *et al.*, 2008). Em nossa pesquisa, não foi possível calcular este risco visto que todos os participantes apresentaram os níveis séricos adequados.

Quanto às concentrações plasmáticas de betacaroteno, não foi encontrado na literatura estudos envolvendo dosagens de betacaroteno associadas à presença ou não de DHGNA, na faixa etária pediátrica, o que dificulta a comparação com nossos resultados. No presente estudo, o grupo com DHGNA apresentou níveis séricos reduzidos em comparação ao grupo sem DHGNA. É importante ressaltar que do total de pacientes avaliados (n=37), trinta e dois (86,5%) apresentaram os níveis séricos abaixo do padrão de referência, dentre os quais se enquadravam todas as crianças com esteatose.

Em outro estudo, cujo objetivo foi comparar os níveis séricos de betacaroteno entre crianças obesas e eutróficas, os valores de betacaroteno referentes ao grupo de crianças obesas foram significativamente menores em relação ao grupo de crianças eutróficas. Além disso, ambos os grupos também apresentaram as médias de concentração plasmática abaixo dos valores de referência (STRAUSS, 1999).

Diante dos estudos analisados, ainda não é possível afirmar que deficiência plasmática de retinol ou betacaroteno seja fator de risco para o desenvolvimento da DHGNA. Também não é possível afirmar que a DHGNA, por sua vez, seja uma

doença capaz de proporcionar uma redução dos níveis séricos de retinol ou betacaroteno.

Em algumas pesquisas, outro biomarcador para análise da vitamina A plasmática, além do retinol e do betacaroteno, vem ganhando destaque nos estudos por demonstrar forte correlação com o risco de esteatose hepática: a proteína carreadora do retinol 4 (RBP4). Pesquisas em crianças ainda são escassas, porém alguns achados associam o aumento da RBP4 a resistência insulínica, hipertrigliceridemia e DHGNA (ROMANOWSKA et al., 2011; HUANG; YANG, 2013), sendo uma sugestão para estudos futuros.

Em relação à vitamina C, não foi encontrado na literatura estudos envolvendo dosagens de ácido ascórbico associadas à presença ou não de DHGNA, na faixa etária pediátrica, o que dificulta a comparação com nossos resultados. No presente estudo, o grupo com DHGNA apresentou níveis séricos reduzidos em comparação ao grupo sem DHGNA, com diferença estatística significativa. Entretanto, apesar dessa diferença, todos os pacientes apresentaram as dosagens dentro dos padrões de normalidade.

Diante da escassez de pesquisas envolvendo a associação entre DHGNA e vitamina C, ainda não é possível afirmar que a deficiência plasmática de ácido ascórbico seja fator de risco para o desenvolvimento da DHGNA. Também não é possível afirmar que a DHGNA, por sua vez, seja uma doença capaz de proporcionar uma redução dos níveis séricos de ácido ascórbico.

Quanto às concentrações plasmáticas de vitamina E (alfa tocoferol), no presente estudo nenhuma criança ou adolescente apresentou os níveis séricos reduzidos. Resultado similar ocorreu no estudo de Mager *et al.* (2010), no qual foram avaliadas 38 crianças e adolescentes obesos com DHGNA, sendo observada uma média adequada dos níveis séricos de alfa tocoferol, segundo os padrões de referência.

Não foram encontrados na literatura estudos comparando os níveis séricos de alfa tocoferol entre crianças obesas com e sem esteatose. No presente estudo, o grupo com DHGNA apresentou níveis séricos reduzidos em comparação ao grupo sem DHGNA, sem diferença estatística entre ambos.

Em uma pesquisa feita com a comparação entre crianças obesas e eutróficas, os valores de alfa tocoferol referentes ao grupo de crianças obesas foram significativamente menores que o grupo de crianças eutróficas. Ainda assim, ambos

os grupos apresentaram as médias de concentração plasmática dentro dos valores de referência (STRAUSS, 1999).

Diante dos estudos analisados, ainda não é possível afirmar que a deficiência plasmática de alfa tocoferol seja fator de risco para o desenvolvimento da DHGNA. Também não é possível afirmar que a DHGNA, por sua vez, seja uma doença capaz de proporcionar uma redução dos níveis séricos de alfa tocoferol.

Em nosso trabalho, verificou-se que o consumo de vitaminas antioxidantes estava bastante reduzido quando comparado às recomendações das DRIs, principalmente no grupo de crianças com DHGNA. Verificou-se que a ingestão de vitamina A estava abaixo da recomendação das DRIs tanto para o grupo com DHGNA quanto para o grupo sem DHGNA. Além disso, o grupo com esteatose apresentou um consumo inferior ao grupo sem esteatose, porém sem diferença estatística significativa.

Não foram encontrados estudos demonstrando um baixo consumo de vitamina A na dieta por crianças obesas com DHGNA. Em contrapartida aos nossos resultados, Mager *et al.* (2010) e Vos *et al.* (2012) avaliaram o consumo de vitamina A na dieta de crianças obesas com esteatose e encontraram valores de ingestão dentro da normalidade.

Em relação à ingestão de vitamina C, o consumo ficou abaixo da recomendação apenas para o grupo com esteatose, no presente trabalho. As crianças obesas sem a doença apresentaram a média de consumo de acordo com as recomendações. Já nos trabalhos de Mager *et al.* (2010) e Vos *et al.* (2012), as crianças com esteatose apresentaram o consumo adequado, diferindo dos nossos achados. Não foram encontrados estudos demonstrando um baixo consumo de vitamina C na dieta por crianças obesas com DHGNA.

Quanto ao consumo de vitamina E, os nossos resultados evidenciaram uma média de consumo reduzido tanto no grupo com esteatose, como no grupo sem esteatose. Similarmente, no estudo de Mager *et al.* (2010) cuja avaliação do consumo alimentar também foi realizada por meio de Registro Alimentar de 3 dias, a ingestão de vitamina E por crianças obesas com DHGNA também apresentou-se abaixo das recomendações das DRIs. No estudo de Vos *et al.* (2012), o consumo dietético de vitamina E foi correlacionado com a evolução histopatológica da DHGNA. Foram detectados baixos níveis de ingestão de vitamina E e, além disso,

evidenciou-se que quanto menor o consumo de vitamina E, maior o grau de evolução da esteatose.

Apesar de o consumo alimentar de vitaminas antioxidantes por crianças obesas com esteatose ter sido pouco divulgado na literatura, é importante ressaltar que a suplementação destas vitaminas como tratamento para a DHGNA tem sido alvo constante de pesquisas.

Nobili *et al.* (2006), em um estudo longitudinal por 12 meses, acompanhou um grupo que recebeu suplementação vitamínica, em comparação a outro grupo que realizou apenas intervenções no estilo de vida, como modificações no hábito alimentar. A suplementação com vitamina C e vitamina E reduziu os níveis de ALT, de AST, de gama glutamil transpeptidase (γ -GT) e de resistência a insulina. Apesar da melhoria dos níveis de marcadores bioquímicos de função hepática e da sensibilidade à insulina terem sido mais evidentes no grupo tratado, a significância estatística entre os grupos não foi alcançada.

Em outro estudo, Nobili *et al.* (2008) resolveram estender por mais 12 meses a pesquisa anterior, pautado na mesma metodologia. Segundo os autores, a educação nutricional favoreceu o maior consumo de frutas e vegetais pelas crianças, o que pode ter aumentado a ingestão de antioxidantes naturais em ambos os grupos e minimizado os efeitos do suplemento vitamínico no grupo que recebeu o tratamento. Além disso, todos os pacientes sofreram intervenções dietéticas aliadas ao aumento da atividade física. A suplementação com vitaminas E e C para pacientes que já adotam hábitos de vida saudáveis parece não acrescentar qualquer efeito significativo.

Um estudo duplo-cego randomizado realizado com 173 pacientes entre 8 e 17 anos, com biópsia confirmada para DHGNA, foi realizado com o objetivo de avaliar se o tratamento com metformina, um sensibilizador de insulina, ou vitamina E, um antioxidante natural, traria melhorias nas características bioquímicas e histológicas de crianças com EHNA. A proporção de efetividade do tratamento entre as crianças com EHNA foi de 28% no placebo, 58% no grupo tratado com vitamina E e 41% com metformina. A suplementação com vitamina E demonstrou bons resultados, porém, sem diferença estatística frente aos demais métodos de intervenção (LAVINE, 2011).

Mesmo que a ingestão de vitaminas antioxidantes na dieta não tenha sido amplamente investigada, é importante ressaltar que a intervenção no estilo de vida,

visando alterações nos hábitos dietéticos, vem apresentando o mesmo efeito que a suplementação vitamínica, e por isso tem sido o foco de várias pesquisas para o tratamento da DHGNA. Adequações dietéticas visando a redução do peso corporal, da ingestão de calorias, do consumo de carboidratos simples e de gordura trans demonstrou estar envolvida no sucesso do tratamento da DHGNA, tanto em crianças como em adultos obesos (PERITO; RODRIGUES; LUSTIG, 2013).

A redução do consumo de carboidratos simples, como a frutose, e de alimentos de elevado índice glicêmico, tem demonstrado melhorias na composição corporal, na função hepática, no risco cardiovascular e nos parâmetros bioquímicos de crianças com DHGNA (VERDUCI et al., 2013; MAGER et al., 2013b). Além disso, as alterações no padrão alimentar devem vir acompanhadas da introdução de atividade física, sendo este um importante aliado capaz de potencializar os efeitos benéficos do tratamento (DELDIN; LEE, 2013). O trabalho de DeVore *et al.* (2013) evidenciou que o tratamento multidisciplinar com gastroenterologistas, pediatras e nutricionistas é capaz de reduzir os valores de IMC, colesterol total, LDL-c, AST e ALT, em grupos de crianças obesas com esteatose.

A respeito da correlação entre a ingestão de vitaminas antioxidantes e seus respectivos níveis plasmáticos, os resultados apresentados merecem uma análise criteriosa. Ressalta-se que os dados apresentados pela correlação de *Pearson* não implicam em relação de causa e efeito, ou seja, não se pode afirmar que a ingestão seja a única variável responsável por afetar os níveis plasmáticos, visto que a causalidade pode ser advinda de uma terceira variável desconhecida. Além disso, não foram encontrados estudos correlacionando a ingestão de vitaminas antioxidantes com valores séricos em crianças e adolescentes obesos com e sem esteatose.

Apesar de se constatar uma ingestão reduzida de vitamina A na dieta, é fundamental ressaltar que em nosso estudo os níveis séricos de retinol estavam adequados, enquanto que os níveis séricos de betacaroteno estavam reduzidos. Este resultado sugere que a dosagem de betacaroteno seja um melhor biomarcador para a análise da ingestão de vitamina A. Já os valores de retinol sérico encontravam-se adequados, provavelmente devido à mobilização de retinol das reservas hepáticas. Neste caso, os níveis séricos se reduzirão somente após alguns meses de ingestão insuficiente. (COZZOLINO, 2012).

Em relação à baixa ingestão de vitamina C, houve uma correlação positiva e moderada com os níveis séricos de ácido ascórbico, no grupo com esteatose. Ou seja, quanto menor o consumo de vitamina C na dieta, menor os níveis séricos de ácido ascórbico. Entretanto, mesmo a ingestão estando abaixo das recomendações, nenhuma criança apresentou os níveis plasmáticos abaixo dos valores de normalidade. Para a vitamina C, não há nenhum órgão específico para o seu armazenamento no organismo. Entretanto, os sinais de deficiência em indivíduos bem nutridos só se desenvolvem após seis meses de baixa ingestão, geralmente com um consumo abaixo de 10 mg/dia, quando as concentrações plasmáticas se reduzem consideravelmente (COZZOLINO, 2012). Em nosso estudo, nenhum indivíduo apresentou o consumo abaixo de 10 mg/dia de vitamina C.

Quanto à ingestão de vitamina E, houve uma correlação positiva e moderada com os níveis séricos de alfa tocoferol, no grupo com esteatose. Isto é, quanto menor o consumo de vitamina E na dieta, menor os níveis séricos de alfa tocoferol. Apesar disso, a correlação não apresentou diferença estatística significativa. Mesmo a ingestão estando abaixo das recomendações, nenhuma criança apresentou os níveis plasmáticos abaixo dos valores de normalidade. A deficiência de vitamina E no ser humano é muito rara, e sintomas da deficiência de ingestão ainda não foram descritos. O alfa tocoferol pode ser armazenado no fígado e em tecidos extra-hepáticos onde a produção de radicais livres é maior, como no coração e pulmões (COZZOLINO, 2012).

Em relação à correlação entre ingestão alimentar de vitaminas antioxidantes e os valores séricos dos exames do lipidograma, entre os grupos com e sem DHGNA, os resultados encontrados não apresentaram relevância estatística, e pouca relevância clínica. Além disso, não foram encontrados estudos correlacionando ingestão de vitaminas antioxidantes com perfil lipídico em crianças e adolescentes obesos com esteatose.

No presente estudo ficou constatado que quanto menor o consumo de vitamina A na dieta, maior os níveis séricos de colesterol total e LDL-c; e quanto menor o consumo de vitamina E na dieta, menor os níveis séricos de HDL-c e maior os níveis séricos de triglicérides.

Em se tratando da correlação entre os níveis séricos de vitaminas antioxidantes e os valores séricos das transaminases e proteína C reativa, apenas a diminuição dos níveis plasmáticos de betacaroteno apresentou uma correlação

significativa com o aumento dos valores de AST e ALT, no grupo com esteatose. Não foram encontrados na literatura estudos avaliando esta mesma correlação em crianças obesas com DHGNA.

No estudo de Strauss *et al.* (2000) foram avaliados adolescentes com sobrepeso e obesidade, no qual foi correlacionado os níveis de ALT com os níveis séricos de vitaminas antioxidantes. Ficou constatado que adolescentes com níveis elevados de ALT apresentavam níveis séricos reduzidos de betacaroteno, ácido ascórbico e alfa tocoferol, quando comparados a adolescentes com as concentrações plasmáticas adequadas de ALT. Os achados foram significativos, entretanto, estes adolescentes não apresentavam DHGNA.

Em nosso estudo, níveis séricos reduzidos de betacaroteno e alfa tocoferol também estiveram correlacionados com um aumento dos níveis de PCR, apesar de não haver diferença estatística significativa. Em crianças suíças com sobrepeso (AEBERLI, 2006) foi correlacionada a ingestão dietética de vitaminas antioxidantes com níveis séricos de marcadores inflamatórios. Um maior consumo de vitamina C, vitamina E e carotenóides não esteve relacionado significativamente à redução dos níveis de PCR e Interleucina-6, mas esteve associado à redução dos níveis de leptina. O maior consumo de óleos vegetais, ácidos graxos saturados, ácidos graxos poliinsaturados e ácidos graxos monoinsaturados foram os únicos preditores significativos para o aumento da PCR.

7 CONCLUSÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica primária cursou com alterações nos exames antropométricos, bioquímicos e parâmetros de ingestão alimentar, nas crianças obesas avaliadas. Além disso, foi possível notar que a esteatose, por vezes, inicia-se em conjunto com outras comorbidade advindas da obesidade. A presença da doença esteve associada ao aumento dos valores de IMC, circunferência abdominal, colesterol total, LDL-c, triglicerídeos, AST, ALT e PCR. Além disso, esteve associada à redução dos níveis séricos de HDL, betacaroteno, ácido ascórbico e alfa tocoferol, assim como à redução do consumo de vitamina A, vitamina C e vitamina E na dieta.

O grupo de obesos com esteatose apresentou redução dos níveis séricos e redução da ingestão alimentar de vitaminas antioxidantes quando comparado ao grupo de obesos sem esteatose. Ressalta-se que os níveis séricos de ácido ascórbico apresentaram uma redução significativa no grupo com DHGNA. Para as demais dosagens séricas de vitaminas, não houve diferença estatisticamente significativa. Dentre os marcadores inflamatórios e de lesão hepática analisados, apenas a proteína C reativa esteve significativamente elevada no grupo com esteatose.

Quanto a análise do consumo alimentar, a ingestão de vitaminas antioxidantes esteve abaixo da média recomendada pelas DRIs, no grupo com esteatose. Entretanto, este consumo reduzido de vitaminas não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Ainda convém lembrar que não foi possível afirmar que qualquer alteração nos exames analisados no presente estudo seja um fator de risco para o desenvolvimento da DHGNA. Assim como não é possível afirmar que a DHGNA, por sua vez, seja a única causa responsável pelas alterações nos exames bioquímicos.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A investigação do consumo alimentar de vitaminas antioxidantes tem sido pouco explorada e divulgada na literatura, bem como a sua correlação com os respectivos níveis plasmáticos e com exames do lipidograma, em crianças obesas com esteatose. Até o presente momento não há trabalhos demonstrando a eficácia de uma dieta rica em alimentos fontes de vitaminas antioxidantes como alternativa para o tratamento da DHGNA, assim como não há um padrão de prescrição dietética específico para o tratamento da doença.

A principal limitação desse estudo foi o curto período de tempo para a realização da coleta de dados e a baixa presença de pacientes em primeira consulta ambulatorial, o que fez com que o número amostral permanecesse bastante reduzido. Devido ao número de participantes abaixo do ideal, e mesmo com resultados que denotam certa importância clínica, as análises estatísticas não refletiram o esperado nível de significância, visto que as características de um pequeno grupo não podem ser abrangentes para toda uma população, o que torna os resultados carentes de mais estudos comprobatórios.

Outra limitação refere-se à quantificação da ingestão vitamínica dos participantes pelo Registro Alimentar de 3 dias. Apesar de este ser um método cujo registro é feito na hora em que o alimento está sendo consumido, não sendo baseado na memória do indivíduo, ainda assim é um método sujeito a viés.

A situação pode ser explicada pelo fato de que o Registro pode ser preenchido com omissão ou superestimação da quantidade de alimentos consumidos; a baixa motivação do paciente após três dias de preenchimento também faz com que o relato em quantidades de medidas caseiras seja inexato; além disso, apenas três dias de relato do consumo alimentar ainda são insuficientes para se afirmar quais os reais hábitos alimentares de um indivíduo.

Novas pesquisas serão necessárias com o objetivo de avaliar crianças e adolescentes obesos com DHGNA, e então demonstrar se a baixa ingestão vitamínica na dieta contribui de fato para a redução dos respectivos níveis plasmáticos de vitaminas. Além disso, faz-se necessário investigar se esta correlação pode ser a causa do surgimento da doença, e qual a sua capacidade em proporcionar alterações nos níveis plasmáticos do perfil lipídico, dos marcadores

inflamatórios, dos marcadores hepáticos, e no combate à peroxidação lipídica e progressão para esteato-hepatite.

Os dados do presente estudo apontam para uma reflexão sobre a saúde das crianças obesas com esteatose, reforçando os dados amplamente divulgados na literatura, e nos faz atentar para a gravidade de uma alimentação inadequada e um estilo de vida pouco ativo. Nesse contexto, é fundamental a atuação do nutricionista, do pediatra, do educador físico e do psicólogo, visto que os achados desse estudo denotam a necessidade de estímulo a mudanças comportamentais, visando à melhoria dos hábitos alimentares e ao aumento do nível de atividade física entre crianças e adolescentes obesos.

REFERÊNCIAS

- ABUDU, N. et al. Vitamins in human arteriosclerosis with emphasis on vitamin C and vitamin E. **Clinica chimica acta**, Amsterdam, v. 399, p.11-25, 2004.
- AEBERLI, I. et al. Dietary intakes of fat and antioxidant vitamins are predictors of subclinical inflammation in overweight Swiss children. **The American journal of clinical nutrition**, Bethesda, v.84, n.4, p.748-755, 2006.
- AKIN, L. et al. Fatty liver is a good indicator of subclinical atherosclerosis risk in obese children and adolescents regardless of liver enzyme elevation. **Acta paediatrica**, Oslo, v.102, n.3, p.107-113, 2013.
- ALISI, A. et al. Pediatric nonalcoholic fatty liver disease in 2009. **The Journal of pediatrics**, St. Louis, v.155, n.4, p.469-474, 2009.
- BERARDIS, S.; SOKAL, E. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: an increasing public health issue. **European journal of pediatrics**, Berlin, 2013.
- COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 4. ed. Barueri, SP: Manole, 2012. 1334p.
- DELDIN, A.R.; LEE, S. Role of physical activity in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, Ottawa, v.38, n.8, p.805-812, 2013.
- DEVORE, S. et al. A multidisciplinary clinical program is effective in stabilizing BMI and reducing transaminase levels in pediatric patients with NAFLD. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, Philadelphia, v.57, n.1, p.119-123, 2013.
- EL-KOOFY, N.M. et al. The association of metabolic syndrome, insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease in overweight/obese children. **Saudi journal of gastroenterology**, Mumbai, v.18, n.1, p.44-49, 2012.
- ERHARDT, A. et al. Plasma levels of vitamin E and carotenoids are decreased in patients with Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH). **European journal of medical research**, London, v.16, n.2, p.76-78, 2011.

FELDSTEIN, A.E. et al. The Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: A Follow-up Study for up to 20-years. **Gut**, London, v.58, n.11, p.1538-1544, 2009.

FREEDMAN, D. S. et al. Relation of circumference and skinfold thickness to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. **The American journal of clinical nutrition**, Bethesda, v.69, p.308-317, 1999.

GIORDANO, P. et al. Metabolic, inflammatory, endothelial and haemostatic markers in a group of Italian obese children and adolescents. **European journal of pediatrics**, Berlin, v.170, n.7, p.845-50, 2011.

GOMES, F. et al. Obesidade e doença arterial coronariana: papel da inflamação vascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v.94, n.2, p.273-9, 2010.

HAMAGUCHI, M. et al. The severity of ultrasonographic findings in nonalcoholic fatty liver disease reflects the metabolic syndrome and visceral fat accumulation. **The American journal of gastroenterology**, New York, v.102, n.12, p.2708-15, 2007.

HAMER, O. W. et al. Fatty liver: imaging patterns and pitfalls. **Radiographics**, Oak Brook, v.26, p.1637-1653, 2006.

HUANG, S. C.; YANG, Y. J. Serum retinol-binding protein 4 is independently associated with pediatric NAFLD and fasting triglyceride level. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, Philadelphia, v.56, n.2, p.145-150, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos familiares**, 2008-2009. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009/Pofpublicacao.pdf. Acesso em: 05 jun. 2012.

JEE, S.J. et al. Association among Histopathology, Clinical Manifestation, and Ultrasonographic Grades in Pediatric Non-alcoholic Fatty Liver Disease. **The Korean journal of gastroenterology**, Seoul, v.57, n.3, p.158-165, 2011.

JESUS, G. M. et al. Fatores determinantes do sobrepeso em crianças menores de 4 anos de idade. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.86, n.4, p.311-316, 2010.

JIANG, Q. et al. Gamma-tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. **The American journal of clinical nutrition**, Bethesda, v.74, n.6, p.714-722, 2001.

JOSEPH, A.E. et al. Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease. **Clinical radiology**, Oxford, v.43, p.26-31, 1991.

KIRSH, V.A. et al. Supplemental and dietary vitamin e, β -carotene, and vitamin c intakes and prostate cancer risk. **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v.98, n.4, p.245-254, 2006.

KITSIOS, K. et al. High-sensitivity C-reactive protein levels and metabolic disorders in obese and overweight children and adolescents. **Journal of clinical research in pediatric endocrinology**, Istanbul, v.5, n.1, p.44-49, 2013.

KNEEMAN, J.M.; MISDRAJI, J.; COREY, K.E. Secondary causes of nonalcoholic fatty liver disease. **Therapeutic advances in gastroenterology**, London, v.5, n.3, p.199-207, 2012.

KOLETZKO, B. **Pediatric Nutrition in Practice**. Suíça: Karger, 2008, p.305.

LAVINE, J.E. Vitamine E treatment of nonalcoholic steatohepatitis in children: a pilot study. **The Journal of pediatrics**, St. Louis, v.136, p.734-738, 2000.

LAVINE, J.E. et al. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. **JAMA: The journal of the American Medical Association**, Chicago, v.305, n.16, p.1659-1668, 2011.

LEWIS, J.R.; MOHANTY, S.R. Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update. **Digestive diseases and sciences**, New York, v.55, n.3, p.560-578, 2010.

LUPSOR, M.; BADEA, R. Imaging diagnosis and quantification of hepatic steatosis: is it an accepted alternative to needle biopsy? **Romanian journal of gastroenterology**, Cluj-Napoco, v.14, p.419-425, 2005.

MACHADO, M.V. et al. Blood oxidative stress markers in non-alcoholic steatohepatitis and how it correlates with diet. **Scandinavian journal of gastroenterology**, London, v.43, p.95-102, 2008.

MAGER, D.R. et al. Dietary and physical activity patterns in children with fatty liver. **European journal of clinical nutrition**, London, v.64, n.6, p.628-635, 2010.

MAGER, D.R. et al. Anthropometric measures of visceral and subcutaneous fat are important in the determination of metabolic dysregulation in boys and girls at risk for nonalcoholic fatty liver disease. **Nutrition in clinical practice**, Thousand Oaks, v.28, n.1, p.101-111, 2013a.

MAGER, D.R. et al. The effect of a low fructose and low glycemic index/load (FRAGILE): dietary Intervention on Indices of liver function, cardiometabolic risk factors, and body composition in children and adolescents with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). **JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition**, Thousand Oaks, 2013b.

MAHAN. L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause**: alimentos, nutrição e dietoterapia. 12. ed. São Paulo, SP: Roca, 2010. 1358p.

MANCO, M. et al. Metabolic syndrome and liver histology in paediatric nonalcoholic steatohepatitis. **International journal of obesity**, London, v.32, p.381-87, 2008.

MANELA-AZULAY, M. et al. Vitamina C. **Anais brasileiros de dermatologia**, Rio de Janeiro, v.78, n.3, p.265-274, 2003.

MARTEL, C. et al. Non-alcoholic steatohepatitis: new insights from OMICS studies. **Current pharmaceutical biotechnology**, Hilversum, v.13, n.5, p.726-735, 2012.

MCAVOY, N.C.; FERGUSON, J.W.; CAMPBELL I.W. Non-alcoholic fatty liver disease: natural history, pathogenesis and treatment. **The British journal of diabetes and vascular disease**, Birmingham, v.6, n.6, p.285-300, 2006.

MCNULTY, H.; JACOB, R.F.; MASON, R.P. Biologic activity of carotenoids related to distinct membrane physicochemical interactions. **The American journal of cardiology**, New York, v.101, n.10, p.20-29, 2008.

MENEZES, R. C. E. et al. Prevalência e determinantes do excesso de peso em pré-escolares. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.87, n.3, p.231-237, 2011.

NAIDU, K.A. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. **Nutrition journal**, London, v.2, n.7, p.2-7, 2003.

- NAVARRO-JARABO, J.M. et al. Hepatic steatosis and severity-related factors in obese children. **Journal of gastroenterology and hepatology**, Melbourne, v.28, n.9, p.1532-1538, 2013.
- NEUMAN, G. Serum inflammatory markers in overweight children and adolescents with non-alcoholic fatty liver disease. **The Israel Medical Association journal**, Ramat Gan, v.12, n.7, p.410-415, 2010.
- NEUSCHWANDER-TETRI, B.A. Nonalcoholic steatohepatitis: an evolving diagnosis. **Canadian journal of gastroenterology**, Oakville, v.14, p.321-326, 2000.
- NOBILI, V. et al. Effect of vitamin E on aminotransferase levels and insulin resistance in children with non-alcoholic fatty liver disease. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, Oxford, v.24, p.1553-1561, 2006.
- NOBILI, V. et al. Lifestyle intervention an antioxidant therapy in children with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. **Hepatology**, Baltimore, v.48, n.1, p.119-128, 2008.
- NORRIS, A. L. et al. Circulating oxidized LDL and inflammation in extreme pediatric obesity. **Obesity**, Silver Spring, v.19, n.7, p.1415 -19, 2011.
- NWOSE, E.U. et al. The vitamin E regeneration system (VERS) and an algorithm to justify antioxidant supplementation in diabetes – a hypothesis. **Medical hypotheses**, New York, v.70, n.5, p.1002-1008, 2008.
- PACIFICO, L. et al. Pediatric nonalcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome and cardiovascular risk. **World journal of gastroenterology**, Beijing, v.17, n.26, p.3082-309, 2011.
- PADAYATTY, S.J. et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. **Journal of the American College of Nutrition**, New York, v. 22, n.1, p.18-35, 2003.
- PADILHA, P.C. et al. Prevalência de doença hepática não-alcoólica em crianças e adolescentes obesos: uma revisão sistemática. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v.28, n.4, p.387-393, 2010.

PAIVA, S.A.R.; RUSSELL, R.M. b-carotene and other carotenoids as antioxidants. **Journal of the American College of Nutrition**, New York, v.18, n.5, p.426-433, 1999.

PAPANDREOU, D. et al. Investigation of anthropometric, biochemical and dietary parameters of obese children with and without non-alcoholic fatty liver disease. **Appetite**, London, v.59, n.3, p.939-944, 2012.

PERITO, E.R.; RODRIGUES, L.A.; LUSTIG, R.H. Dietary treatment of nonalcoholic steatohepatitis. **Current opinion in gastroenterology**, Philadelphia, v.29, n.2, p.170-176, 2013.

QURESHI, M. M.; SINGER, M. R.; MOORE, L. L. A cross-sectional study of food group intake and C - reactive protein among children. **Nutrition & Metabolism**, London, v.6, n.40, 2009.

REID, A.E. Nonalcoholic steatohepatitis and focal fatty liver. In: Sleisenger and Fordtran's. **Gastrointestinal and liver disease**. 9. ed. Philadelphia: Saunders; 2010.

REITMAN, S.; FRANKEL S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminase. **American journal of clinical pathology**, Philadelphia, v.28, p.56, 1957.

RESELLINI, S.; SPAHR, L. Are non-invasive tests going to replace liver biopsy for diagnosis of liver fibrosis? **Revue médicale suisse**, Genova, v.8, n.347, p.1411-1415, 2012.

RETNAKARAN, R. et al. Elevated C-reactive protein in Native Canadian children: an ominous early complication of childhood obesity. **Diabetes, obesity and metabolism**, Oxford, v.8, n.5, p.483-491, 2006.

ROMANOWSKA, A. et al. Retinol binding protein-4 as a serum biomarker of intrahepatic lipid content in obese children--preliminary report. **Acta biochimica Polonica**, Warszawa, v.58, n.1, p.35-38, 2011.

SANTOMAURO, M. et al. Non-alcoholic fatty liver disease and its association with clinical and biochemical variables in obese children and adolescents: effect of a one-year intervention on lifestyle. **Endocrinología y nutrición**, Barcelona, v.59, n.6, p.346-353, 2012.

SANTOS, M. G. et al. Fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose na infância e adolescência. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, São Paulo, v.90, n.4, p.301-308, 2008.

SARTORIO, A. et al. Predictors of non-alcoholic fatty liver disease in obese children. **European journal of clinical nutrition**, London, v.61, n.7, p.877-883, 2007.

SATAPATHY, S.K.; SANYAL, A.J. Novel treatment modalities for nonalcoholic steatohepatitis. **Trends in endocrinology and metabolism**, New York, v.21, n.11, p.668-675, 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, São Paulo, v.89, n.3, p.24-79, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. I Diretriz de prevenção da aterosclerose na infância e adolescência. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, São Paulo, v.85 (supl.6), p.3-36, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Obesidade na infância e adolescência: Manual de Orientação**. 2 ed. São Paulo: Departamento de Nutrologia, 2012, 142p.

SCHWIMMER, J.B. et al. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. **Pediatrics**, Elk Grove Village, v.118, p.1388–1393, 2006.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, β -carotene and other carotenoids as antioxidants. **The American journal of clinical nutrition**, Bethesda, v.62, p.315S-1321S, 1995.

SILVEIRA, S. et al. Intra-abdominal fat is related to metabolic syndrome and non-alcoholic fat liver disease in obese youth. **BMC pediatrics**, London, p.113-115, 2013.

SODER, R.B.; BALDISSEROTTO, M. Esteatose hepática na obesidade infantil: investigação por imagem. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v.19, n.4, p.202-208. 2009.

SORBI, D.; BOYNTON, J.; LINDOR, K.D. The ratio aspartato aminotransferase to alanine aminotransferase: potential value in differentiating nonalcoholic steatohepatiti from alcoholic liver disease. **The American journal of gastroenterology**, New York, v.95, p.1018-1022, 1999.

SOUZA, F.I.S. et al. Non-alcoholic fatty liver disease in overweight children and its relationship with retinol serum levels. **International journal for vitamin and nutrition research**, Bern, v.78, n.1, p.27-32, 2008.

STRAUSS, R.S. Comparison of serum concentrations of alpha-tocopherol and beta-carotene in a cross-sectional sample of obese and nonobese children (NHANES III). National Health and Nutrition Examination Survey. **The Journal of pediatrics**, St. Louis, v.134, n.2, p.160-165, 1999.

STRAUSS, R.S.; BARLOW, S.E.; DIETZ, W.H. Prevalence of abnormal serum aminotransferase values in overweight and obese adolescents. **The Journal of pediatrics**, St. Louis, v.136, n.6, p.727-733, 2000.

THAPA, B.R.; WALIA, A. Liver function tests and their interpretation. **Indian journal of pediatrics**. Mumbai, v.74, n.7, p.663-671, 2007.

THE INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes (DRIs):** recommended dietary allowances and adequate intakes, vitamins. Washington, DC, 2011.
Disponível em:
<http://www.iom.edu/activities/nutrition/summarydris/~media/files/activity%20files/nutrition/dris/5_summary%20table%20tables%201-4.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2013.

TOMINAGA, K. et al. Prevalence of fatty liver in Japanese children and relationship to obesity. An epidemiological ultrasonographic survey. **Digestive diseases and sciences**, New York, v.40, p.2002–2009, 1995.

TOMINAGA, K., et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in children and relationship to metabolic syndrome, insulin resistance, and waist circumference. **Environmental health and preventive medicine**, Sapporo, v.14, n.2, p.142-149, 2009.

TRABER, M.G.; ARAI, H. Molecular mechanisms of vitamin E transport. **Annual review of nutrition**, Palo Alto, v.19, p.343-355, 1999.

VANWERVERN, J.R. et al. Assessment of hepatic steatosis in patients undergoing liver resection: comparison of US, CT, T1-weighted dual-echo MR imaging, and point-resolved 1H MR spectroscopy. **Radiology**, Easton, v.256, n.1, p.159-168, 2010.

VAJRO, P. et al. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, Philadelphia, v.54, n.5, p.700-713, 2012.

VERDUCI, E. et al. Changes of liver fat content and transaminases in obese children after 12m nutritional intervention. **World journal of hepatology**, Beijing, v.5, n.9, p.505-512, 2013.

VERNON, G.; BARANOVA, A.; YOUNOSSI, Z.M. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. **Alimentary pharmacology and therapeutics**, Oxford, v.34, p.274–285, 2011.

VINCENT, H.K.; TAYLOR, A.G. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. **International journal of obesity**, London, v.30, n.3, p.400-418, 2006.

VOS, M.B. et al. Correlation of vitamin E, uric acid, and diet composition with histologic features of pediatric NAFLD. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, Philadelphia, v.54, n.1, p.90-96, 2012.

VOUTILAINEN, S. et al. Carotenoids and cardiovascular health. **The American journal of clinical nutrition**, Bethesda, v.83, n.6, p.1265-1271, 2006.

WEGHUBER, D. et al. Vascular function in obese children with non-alcoholic fatty liver disease. **International journal of pediatric obesity**, London, v.6, n.2, p.120-127, 2011.

WILSON, J.X. Regulation of vitamin C transport. **Annual review of nutrition**, Palo Alto, v.25, p.105-125, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes**. Geneva, 1996.

YEUM, K.J; RUSSELL R.M. Carotenoid bioavailability and bioconversion. **Annual review of nutrition**, Palo Alto, v.22, p.483-504, 2002.

ZAMIN JR, I. et al. A Importância do Índice AST/ALT no Diagnóstico da Esteato hepatite Não Alcoólica. **Arquivos de gastroenterologia**, São Paulo, v.39, n.1, p.22-26, 2002.

ZELBER-SAGI, S.; RATZIU, V.; OREN, R. Nutrition and physical activity in NAFLD: An overview of the epidemiological evidence. **World journal of gastroenterology**, Beijing, v.17, n.29, p.3377-3389, 2011.

ZINGG, J.M. Vitamin E: an overview of major research directions. **Molecular aspects of medicine**, Oxford, v.28, p.400-422, 2007.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DO PROJETO: HÁBITOS ALIMENTARES E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE VITAMINAS ANTIOXIDANTES EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS COM E SEM DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

O menor sob sua responsabilidade está sendo convidado a participar do estudo **“Hábitos alimentares e níveis plasmáticos de vitaminas antioxidantes em crianças e adolescentes obesos com e sem doença hepática gordurosa não alcoólica”**. Os avanços na área da saúde ocorrem através de estudos como este, por isso a participação do menor é importante. O objetivo deste estudo é avaliar através de um questionário a quantidade de vitaminas que seu filho come. Faremos algumas medidas no corpo de seu filho (como peso, altura, medida da cintura) e vamos comparar estes resultados com a quantidade das vitaminas no sangue através de exames laboratoriais. O menor sentirá desconforto quando receber uma picada para colher o sangue do seu braço, para isso ele receberá informações de profissionais sobre medidas preventivas para que o local não fique roxo após a coleta de sangue. Será oferecido também suporte psicológico quanto ao medo de coletar sangue e desconfortos que poderão sentir, como a dor. O benefício deste estudo será a orientação alimentar com enfoque na prevenção da obesidade e das doenças que podem aparecer devido à ela.

Você e o menor sob sua responsabilidade poderão obter todas as informações que quiserem; o menor poderá ou não participar da pesquisa e o consentimento poderá ser retirado a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Pela participação do menor no estudo, você nem o menor receberão qualquer valor em dinheiro, mas haverá a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade. O nome do menor não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois ele será identificado por um número ou por uma letra ou outro código.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE, APÓS ESCLARECIMENTO

Título do Projeto: **HÁBITOS ALIMENTARES E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE VITAMINAS ANTIOXIDANTES EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS COM E SEM DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA**

Eu, _____, li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento ao qual o menor sob minha responsabilidade será submetido. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que eu e o menor sob minha responsabilidade somos livres para interromper a participação dele na pesquisa a qualquer momento, sem justificar a decisão tomada e que isso não afetará o tratamento dele. Sei que o nome do menor não será divulgado, que não teremos despesas e não receberemos dinheiro por participar do estudo. Eu concordo com a participar do menor no estudo, desde que ele também concorde. Por isso ele assina junto comigo este Termo de Consentimento.

Uberaba,/...../.....

Assinatura do responsável legal

Documento de identidade

Assinatura do menor (caso ele possa assinar)

Documento (se possuir)

Assinatura do pesquisador orientador

Telefone de contato dos pesquisadores: Fábio da Veiga Ued/ Virgínia Resende Weffort – 3318-5244. Em caso de dúvida em relação a esse documento, você pode entrar em contato com o Comitê Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pelo telefone 3318-5854.

APÊNDICE B - REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS

	ALIMENTOS	QUANTIDADE*
CAFÉ DA MANHÃ HORÁRIO		
LANCHE HORÁRIO		
ALMOÇO HORÁRIO		
LANCHE HORÁRIO		
JANTAR HORÁRIO		
CEIA HORÁRIO		
OUTROS HORÁRIO		

* MEDIDAS CASEIRAS: COLHER DE SOPA, COLHER DE SERVIR, ESCUMADEIRA, COPO AMERICANO, ETC.

**A SER PREENCHIDO NA TERÇA-FEIRA, QUINTA-FEIRA E DOMINGO.

ANEXOS

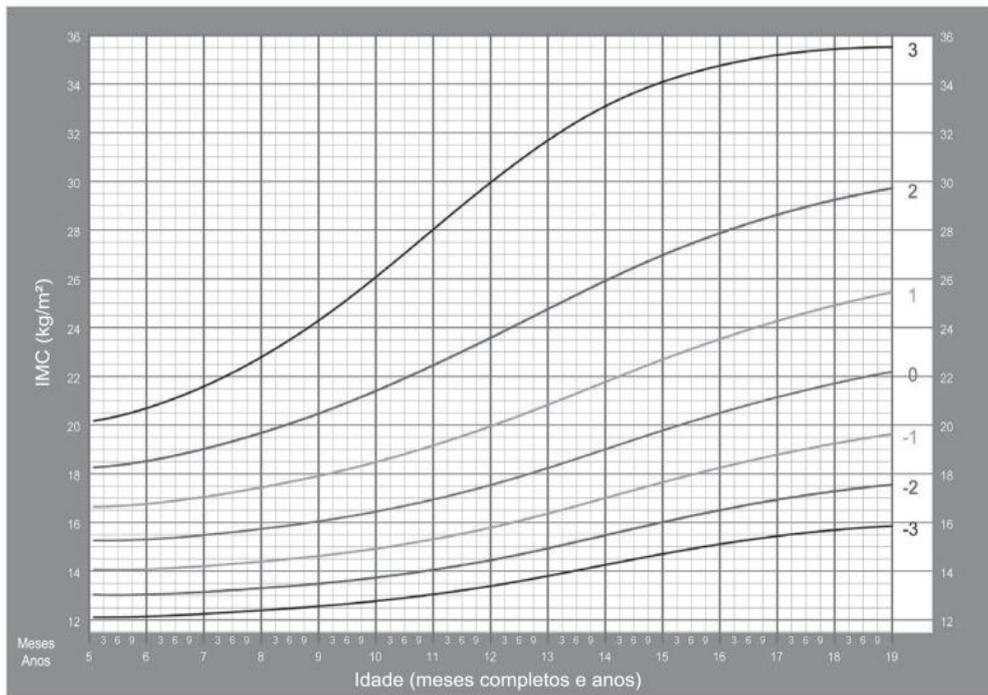
**ANEXO 1 - DISTRIBUIÇÃO EM PERCENTIS DA CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL
SEGUNDO GÊNERO E IDADE**

Idade (anos)	BRANCOS						NEGROS					
	Meninos			Meninas			Meninos			Meninas		
	Percentil			Percentil			Percentil			Percentil		
	N	50	90									
5	28	52	59	34	51	57	36	52	56	34	52	56
6	44	54	61	60	53	60	42	54	60	52	53	59
7	54	55	61	55	54	64	53	56	61	52	56	67
8	95	59	75	75	58	73	54	58	67	54	58	65
9	53	62	77	84	60	73	53	60	74	56	61	78
10	72	64	88	67	63	75	53	64	79	49	62	79
11	97	68	90	95	66	83	58	64	79	67	67	87
12	102	70	89	89	67	83	60	68	87	73	67	84
13	82	77	95	78	69	94	49	68	87	64	67	81

ANEXO 2 - GRÁFICOS COM DISTRIBUIÇÃO EM ESCORE Z DO ÍNDICE DE MASSA CORPORAL POR IDADE PARA O SEXO MASCULINO E FEMININO (5 A 19 ANOS)

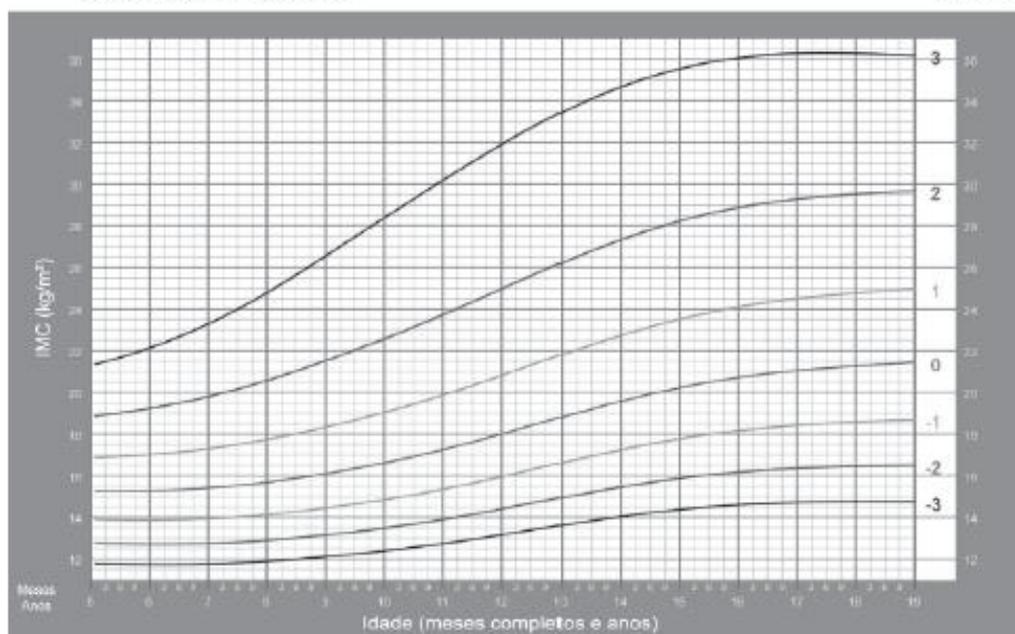
IMC por idade MENINOS

Dos 5 aos 19 anos (escores-z)



IMC por idade MENINAS

Dos 5 aos 19 anos (escores-z)



ANEXO 3 - CLASSIFICAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL DE ACORDO COM PERCENTIS

VALORES CRÍTICOS		ÍNDICES ANTROPOMÉTRICOS						
		CRIANÇAS DE 0 A 5 ANOS INCOMPLETOS			CRIANÇAS DE 5 A 10 ANOS INCOMPLETOS			
		Peso para idade	Peso para estatura	IMC para idade	Estatura para idade	Peso para idade	IMC para idade	Estatura para idade
<Percentil 0,1	<Escore z -3	Muito baixo peso para a idade	Magreza acentuada	Magreza acentuada	Muito baixa estatura para a idade	Muito baixo peso para a idade	Magreza acentuada	Muito baixa estatura para a idade
≥Percentil 0,1 e <percentil 3	≥Escore z -3 e <escore z -2	Baixo peso para a idade	Magreza	Magreza	Baixa estatura para a idade	Baixo peso para a idade	Magreza	Baixa estatura para a idade
≥Percentil 3 e <percentil 15	≥Escore z -2 e <escore z -1							
≥Percentil 15 e ≤percentil 85	≥Escore z -1 e ≤escore z +1	Peso adequado para a idade	Risco de sobrepeso	Risco de sobrepeso	Estatura adequada para a idade ¹	Peso adequado para a idade	Entrofia	Estatura adequada para a idade ¹
>Percentil 85 e ≤percentil 97	>Escore z +1 e ≤escore z +2		Sobrepeso	Risco de sobrepeso			Sobrepeso	Sobrepeso
>Percentil 97 e ≤percentil 99,9	>Escore z +2 e ≤escore z +3	Peso elevado para a idade ¹	Obesidade	Sobrepeso			Obesidade	Obesidade
>Percentil 99,9	>Escore z +3		Obesidade	Obesidade			Obesidade grave	

ANEXO 4 – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



LISTAGEM DE PROJETOS ENVOLVENDO SERES HUMANOS - ATUALIZADA EM 31/10/2013

PROTÓCOLO	TÍTULO	PESQUISADOR (A) RESPONSÁVEL	SITUAÇÃO
21. 2584	HÁBITOS ALIMENTARES E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE VITAMINAS ANTIOXIDANTES E CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS COM E SEM DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA	VIRGINIA RESENDE SILVA WEFFORT	APROVADO



Uberaba, 26 de novembro de 2012.

À
 Prof. Ana Palmira Soares dos Santos
 Coordenadora do Comitê de Ética em
 Pesquisa da UFTM

Informo que os projetos abaixo listados,

- Avaliação dos níveis séricos de ferritina, hemoglobina, vitamina B12 e ácido fólico em crianças obesas em acompanhamento em ambulatório de pediatria
- Hábitos alimentares e níveis plasmáticos de vitaminas antioxidantes em crianças e adolescentes obesos com e sem doença hepática gordurosa não alcoólica

são extensão do projeto protocolado com número 2363, ESTADO NUTRICIONAL EM MICRONUTRIENTES ANTIOXIDANTES E PERFIL LIPÍDICO EM ESCOLARES OBESOS.

Portanto solicito a aprovação destes, pelo CEP, para que seja iniciada a pesquisa.

Atenciosamente,


 Profa. Dra. Virginia Resende Silva Weffort
 Orientadora dos Projetos

Aprovado em
 30/11/2012


 Prof. Ana Palmira Soares dos Santos
 Coordenadora do CEP da UFTM