

LUCIANO TAVARES MONTENEGRO

NÍVEIS HEPÁTICOS DE VITAMINA A EM FETOS,
RECÉM-NASCIDOS E IDOSOS.

RECIFE
2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO
CURSO DE DOUTORADO

NÍVEIS HEPÁTICOS DE VITAMINA A EM FETOS,
RECÉM - NASCIDOS E IDOSOS.

LUCIANO TAVARES MONTENEGRO

Tese apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-Graduação em
Nutrição do Centro de Ciências da
Saúde da Universidade Federal de
Pernambuco, Para obtenção do grau
de Doutor em Nutrição. Orientadora:
Profa. Florisbela de Arruda Camara e
Siqueira Campos.

RECIFE
2007

Montenegro, Luciano Tavares

Níveis hepáticos de vitamina A em fetos, recém-nascidos e idosos / *Luciano Tavares Montenegro* – Recife : O Autor, 2007.

60 folhas ; il., tab., gráf.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Nutrição, 2007.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Vitamina A. 2. Vitamina A – Níveis hepáticos. 3. Vitamina A – Fetos – Recém-nascidos - Idosos. I. Título.

577.161.1

574.192 6

CDU (2.ed.)

CDD (22.ed.)

UFPE

CCS2007-47

Níveis Hepáticos de Vitamina A em Fetos, Recém-Nascidos e Idosos.

Luciano Tavares Montenegro

Tese de Doutorado Aprovada em 26/02/2007

BANCA EXAMINADORA



Maria Helena de Castro Chagas



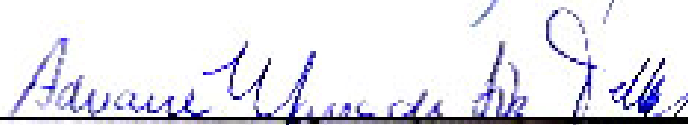
Raquel Araújo de Santana



Roberto José Vieira de Mello



Nicodemos Teles de Pontes Filho



Adriana Maria da Silva Telles

MENSAGEM

A MORTE NÃO É NADA

Eu somente passei para o outro lado do caminho.
Eu sou eu, vocês são vocês.
O que eu era para vocês, eu continuarei sendo.
Me dêem o nome que vocês sempre me deram,
Falem comigo como vocês sempre fizeram.

Vocês continuam vivendo no mundo das criaturas,
Eu estou vivendo no mundo do Criador.
Não utilizem um tom solene ou triste,
Continuem a rir daquilo que nos fazia rir juntos.
Rezem, sorriam, pensem em mim.
Rezem por mim.

Que meu nome seja pronunciado
Como sempre foi, sem ênfase de nenhum tipo.
Sem nenhum traço de sombra ou tristeza.
A vida significa tudo o que ela sempre significou,
O fio não foi cortado.
Por que eu estaria fora de seus pensamentos,
Agora que estou apenas fora de suas vistas?

Eu não estou longe,
Apenas estou do outro lado do caminho...
Você que aí ficou, siga em frente...
A vida continua linda e bela, como sempre foi.

Santo Agostinho.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho:

Ao meu pai, **Ovídio Borges Montenegro**, que, mesmo não estando mais entre os vivos, continua e sempre continuará presente ao meu lado, me ensinando o caminho do respeito e da retidão, nunca me deixando só em meus passos. Sei pai que ao olhar para trás verei seis pegadas nas areias da vida e quando só existirem quatro é porque, você ou Deus, estavam me carregando.

À minha mãe, **Salésia Tavares Montenegro**, a grande mulher da minha vida, aquela que soube, junto com meu pai, dar exemplos e me ensinar a distinguir o bem do mal, o certo do errado, perdoadando os deslizes que cometi, e que não foram poucos.

Aos meus filhos, **Luciano, Ana Carolina e Gustavo de Almeida Montenegro**, vocês são os filhos que Deus me deu para criar e educar, guiando-os em Seu caminho. Meus filhos espero estar realizando esta tarefa com êxito. Como não há aposentadoria para pais, continuarei a guiá-los nesta vida. Amo-os.

AGRADECIMENTOS

À **Santíssima Trindade**, por ter me permitido a oportunidade de vencer mais esta etapa da vida.

À minha orientadora Professora **Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos**, pela orientação, estímulo, confiança, dedicação, paciência e, principalmente, amizade dedicados durante a execução deste trabalho.

Ao Professor **Hernando Flores Rojas**, por me ter permitido fazer esta escaramuça em sua área de conhecimento.

Às amigas Professoras **Carmem Lygia Ambrósio, Maria Helena Chagas, Raquel Santana e Neide Shinohara** pela amizade, apoio, carinho e partilha durante todos os momentos desta minha etapa.

Ao meu amigo e irmão Professor **Roberto José Vieira de Mello**, pela companhia e amizade. Você que me ensinou a, todos esses últimos dias, começar ouvindo a 5ª sinfonia de Beethoven, para me dar forças para a conclusão deste trabalho. Saiba que fui além, pois também terminava o dia ouvindo a Ave Maria, de Schubert, para agradecer a tarefa do dia concluída com êxito.

Ao meu amigo e irmão Professor **Nicodemos Teles de Pontes Filho** e minha amiga Professora **Adriana Maria da Silva Telles**, que me serviram de exemplo para trilhar este caminho.

Aos colegas de doutorado que compartilharam os momentos de dedicação durante o curso.

À Secretária do Laboratório de Bioquímica da Nutrição, **Isinete Muniz Barbosa**, pela amizade e estímulo transmitidos.

Às alunas **Jeanine Dantas** e **Michelle Gantois**, pela amizade e respeito, ajudando na execução das dosagens da vitamina A.

À secretária da Pós-Graduação, **Neci Maria Santos do Nascimento**, pela atenção e cobranças que me desafiavam a terminar esta etapa.

À funcionária do Laboratório de Bioquímica da Nutrição, **Doralice Ferreira da Silva**, que me proporcionou, com seu trabalho, realizar as dosagens deste trabalho.

Aos meus amigos **Lu** (Ludwig Van Beethoven), **Franz** (Franz Schubert), **Pio** (Piotr Tchaikovsky), **Tony** (Antonio Vivaldi), **Sebá** (Johann Sebastian Bach), **Rico** (Richard Wagner) e **Amo** (Wolfgang Amadeus Mozart), que dividiram comigo as últimas horas deste trabalho, e com quem conversava buscando inspiração para o término deste trabalho.

À **morte**, que, pela sua existência, nos permite conhecer a vida, ampliando nossos conhecimentos sobre o corpo humano e as conseqüências de nosso relacionamento com o meio ambiente em que vivemos.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	08
RESUMO	09
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. JUSTIFICATIVA	14
3. OBJETIVOS	17
3.1 OBJETIVO GERAL	17
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
APRESENTAÇÃO DO 1º ARTIGO	18
ARTIGO 1	19
APRESENTAÇÃO DO 2º ARTIGO	30
ARTIGO 2	31
APRESENTAÇÃO DO 3º ARTIGO	40
ARTIGO 3	41
DISCUSSÃO GERAL	48
CONCLUSÕES	52
BIBLIOGRAFIA	52
ANEXOS	54

APRESENTAÇÃO

A presente tese encontra-se dividida em três partes, correspondendo cada parte a um artigo. O primeiro artigo, já publicado na Revista dos Anais da Faculdade de Medicina do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, volume 50 (2), 2005, páginas 142–146, intitulado PAPEL DAS CÉLULAS ESTELARES NA FIBROSE HEPÁTICA corresponde à revisão da literatura sobre o papel das células acumuladoras de vitamina A e a fibrose hepática que ocorre em algumas patologias (Artigo 1).

A segunda e a terceira partes correspondem aos artigos dois e três intitulados respectivamente CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA A EM FÍGADOS DE FETOS E RECEM-NASCIDOS NA CIDADE DO RECIFE - BRASIL e CONCENTRAÇÃO DE RETINOL HEPÁTICO EM IDOSOS: UM INDICADOR DE CARÊNCIA DE VITAMINA A, artigos originais oriundos dos resultados obtidos durante as pesquisas (Artigos 2 e 3)

O artigo aqui apresentado, e já publicado, encontra-se de acordo com as normas da revista a qual foi submetido.

O modelo de tese presente com uma introdução geral e a inclusão dos artigos provenientes do desenvolvimento das pesquisas realizadas sobre o tema da tese proposto foi baseado no regimento interno do Programa de Pós-Graduação em Nutrição.

RESUMO

A hipovitaminose A é um dos principais problemas de saúde pública em países em desenvolvimento e afeta milhares de crianças em todo o mundo. A carência de vitamina A afeta a integridade do sistema imunológico, o sistema reprodutor, causa problemas oftalmológicos, como a xeroftalmia, podendo afetar as taxas de morbidade e mortalidade infantil. O artigo de revisão Papel das Células estelares na Fibrose Hepática aborda a participação das células armazenadoras de vitamina A (células de Ito) como as células formadoras de fibrose em algumas patologias hepáticas, sua localização e número no fígado, bem como seu aspecto ultra-estrutural. Apresenta ainda aspectos históricos da descoberta desta célula assim como as diversas denominações recebidas e as técnicas para a identificação das mesmas no fígado. No artigo Concentração de Vitamina A em Fígado de Feto e Recém-nascidos foi avaliada a concentração de vitamina A em fragmentos hepáticos de cadáveres de fetos e recém-nascidos necropsiados no Serviço de Verificação de Óbitos (SVO) do Departamento de Patologia do CCS da UFPE. Foram examinadas 34 amostras de fígado quanto à concentração de vitamina A. As concentrações variaram entre 0,60µg/g e 83,45µg/g, com 76,5% do total apresentando níveis baixos de vitamina A. Isto reflete uma concentração de retinol hepático inadequada nos fetos e recém-nascidos, mas ainda assim, acima do nível crítico (<5µg/g). Este achado é corroborado pelos dados da Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco, quando informa não mais se observar quadros de xeroftalmia no estado. O artigo Concentração de Retinol Hepático em Idosos: Um Indicador de Carência de Vitamina A foi realizado a partir de 50 fragmentos hepáticos obtidos em necropsias realizadas no SVO. As concentrações obtidas variaram entre 11,46µg/g e 937,34µg/g, com 94% das amostras demonstrando estar bem acima do valor de normalidade (20µg/g). Os resultados observados nesta pesquisa estão em consonância com os resultados encontrados na literatura.

ABSTRACT

Hypovitaminosis A is one of the main public health problems in developing countries and affects thousands of children in all of the world. The vitamin A deficiency affect the integrity of the immunological system, the reproductor system, causes ophthalmologic problems like xeroftalmia, and affects the morbidity and mortality rates of the children. The revision article *Papel das Células Estelares na Fibrose Hepática* about the participation of the vitamin A accumulating cells (Stellate cells, Ito cells) as responsible for the fibrosis in some liver diseases, their localization and number in liver, as well as their ultra-structural aspects. It shows the historical aspects of these cells, the several names that it had received and the techniques to identify the cell in liver. In the article *Concentração de Vitamina A em Fígado de Fetos e Recém-Nascidos na Cidade do Recife*, was available the concentration of vitamin A in liver fragments of fetus an neonates necropsies at Serviço de Verificação de Óbitos (SVO) do Departamento de Patologia do CCS da UFPE. It was examined 34 samples of liver about the vitamin A concentration. The concentrations observed varied between 0,60µg/g and 83,45µg/g, with 76,5% of total showing low levels of vitamin A. This numbers reflect an inadequate concentration of hepatic retinol in fetus and neonates, but it is more than critical level (<5µg/g). These numbers are corroborated by data of Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco, which shows that there is no more cases do xeroftalmia in the state. In the article *Concentração de Retinol Hepático em Idosos: Um Indicador de Carência de Vitamina A* was examined 50 fragments of liver of people with more than 60 yeas old necropsies in SVO. The concentrations observed varied between 11,46µg/g and 937,34µg/g, with 94% of the samples showing to be highest than the normality value (20µg/g). The results observed in this article are in consonance with the results of the literature.

1. INTRODUÇÃO

A vitamina A, descrita apenas no início do século passado como Fator Dietético Lipossolúvel A^{1,2} é um composto que participa de várias funções biológicas³ e que, por não ser sintetizada no organismo, deve ser fornecida através de dieta específica. A vitamina A é um álcool (retinol) que se encontra em alimentos de origem animal na forma de ésteres (palmitato) ou na forma de carotenóides (provitaminas A) em plantas, especialmente nos vegetais verdes e folhosos, sendo o mais comum o β caroteno³.

Independente da forma do composto ingerido, ele precisa ser hidrolisado a retinol para que possa ser absorvido pelas células da mucosa intestinal. Lipídios dietéticos, enzimas pancreáticas e sais biliares têm fundamental importância na digestão intraluminal, na assimilação do retinol e dos carotenóides.

O retinol absorvido, em forma de éster, chega à via sanguínea como um dos constituintes quilomicrons através da linfa⁴. Os quilomicrons remanescentes são captados pelo fígado e o retinol é armazenado em células especializadas (células estelares) sob a forma de palmitato de retinol, correspondendo a cerca de 95% da vitamina A do organismo^{3,5}.

A vitamina A é sensível à oxidação pelo ar. A perda de atividade é acelerada pelo calor e pela exposição à luz. A oxidação das gorduras e dos óleos pode destruir as vitaminas lipossolúveis, incluindo a vitamina A. A presença de anti-oxidantes, como a vitamina E protege os ácidos graxos poliinsaturados das membranas e de outras estruturas celulares ao ataque de outros radicais livres, e protege as hemácias contra a hemólise. Além disso, a vitamina E pode facilitar a absorção, armazenamento hepático, utilização e redução da toxicidade da vitamina A.

A vitamina A é essencial para os sistemas reprodutor, imunológico e óptico, sendo uma das substâncias que regula a diferenciação e o crescimento de vários tipos celulares na espécie humana e em alguns animais.

A elevada ingestão de vitamina A, que acarreta em uma hipervitaminose A, podendo resultar em toxicidade, ocorre mais frequentemente em países desenvolvidos, devido ao consumo excessivo de suplementos vitamínicos⁶. O baixo influxo de vitamina A leva a uma hipovitaminose A ou, mesmo, a uma deficiência de vitamina A e ocorre, principalmente, em crianças mal-nutridas de países do terceiro mundo. Doenças importantes são relatadas incluindo a xeroftalmia, doenças infecciosas, como o sarampo, e a uma baixa de imunidade^{7,8}.

Os retinóides são compostos essenciais para a reprodução, desenvolvimento e crescimento normal dos animais. Os retinóides são também requeridos para a visão e para a manutenção da diferenciação epitelial e da secreção de muco⁹. O mecanismo de

ação pelo qual os retinóides executam sua função se faz através dos receptores nucleares referidos como receptores de ácido retinóico (RARs)¹⁰.

Como os níveis séricos de vitamina A são controlados homeostaticamente, estes não refletem adequadamente os acúmulos corporais dessa vitamina. Desta forma, a dosagem sanguínea isolada de vitamina A não serve como indicador preciso do *status* corporal de vitamina A¹¹. A quantificação do acúmulo de vitamina A no fígado é a que melhor reflete a concentração desta vitamina por indivíduo, uma vez que a grande maioria do total acumulado de vitamina A é encontrado neste órgão¹². Contudo, a sua distribuição intra-hepática tem demonstrado ser heterogênea em amostras de tecido humano e rato, vindo a dificultar sua análise em material obtido por biópsia. Os níveis hepáticos da vitamina A em amostras obtidas de necropsia foi sugerido como um bom método para a avaliação epidemiológica do status de vitamina A em uma população¹¹. A capacidade hepática em acumular o retinol é enorme, já foram observados valores superiores a 3500µg/g, embora a concentração média observada de vitamina A em uma população seja de 100 a 300µg/g. Lesões bioquímicas só são observadas quando o nível desta vitamina estiver bastante diminuído, ou ocorra um distúrbio na mobilização dessas reservas secundariamente à deficiência da proteína, ou de uma doença hepática. Distúrbios fisiológicos e alterações morfológicas podem rapidamente acompanhar as lesões bioquímicas, algumas das quais são irreversíveis. Sob o ponto de vista da saúde pública é importante conhecer a prevalência do estado pré-patológico na população¹¹.

O fígado é composto por células parenquimatosas (hepatócitos) e não parenquimatosas. Sabe-se que há quatro tipos de células não parenquimatosas: 1) células endoteliais sinusoidais; 2) células de Kupffer ou macrófagos hepáticos; 3) células natural killer; 4) células estelares perissinusoidais¹⁴. As células estelares estão localizadas na parte interna dos lóbulos hepáticos, no espaço de Disse, sob as células endoteliais, em contato íntimo com as células parenquimatosas do fígado¹³. As células estelares acham-se distribuídas quase que homogeneamente através de diferentes zonas do lóbulo hepático³.

Existe um grande número de denominações para as células especializadas no acúmulo de vitamina A e fibrose hepática: 1- células estelares (KUPFFER, 1876; WAKE, 1971); 2- células granulares (BERKLEY, 1893); 3- pericitos (ZIMMERMANN, 1928); 4- células acumuladoras de gordura (ITO, 1951); 5- células intersticiais (SUZUKI, 1958); 6- células perissinusoidais (WOOD, 1963); 7- células mesenquimais (RHODIN, 1964); 8- células do espaço de Disse (TAKEUCHI, 1967); 9- células de Ito (HRUBAN, 1974); 10- células acumuladoras de lipídios (HRUBAN, 1974); 11- lipócitos perissinusoidais (terminologia em histologia, 1975); 12- células acumuladoras de vitamina A (Yamada e Hirosawa, 1976). A variedade de nomes sugere que não apenas a classificação, mas também a natureza dessas células têm sido controversa. A variedade de designações citadas está baseada na morfologia e nas propriedades funcionais destas células¹⁴.

As células estelares (células de Ito) são células acumuladoras de vitamina A no fígado, desempenhando uma ação primordial nos mecanismos de injúria, regeneração

e fibrose hepática. As células estelares sintetizam colágeno e tecido conjuntivo, responsáveis pela sustentação do parênquima hepático, bem como no fluxo sanguíneo e perfusão dos hepatócitos. Estudos têm demonstrado que o nível de vitamina A acumulado pode modular a síntese e depósito de colágeno, uma vez que o acúmulo de retinol nas células estelares reduz a síntese de colágeno, no entanto, o excesso de vitamina A aumenta a sensibilidade do fígado a agentes hepatotóxicos, podendo suprimir a fibrose hepática.

Embora as células estelares sejam encontradas em outros órgãos, as células de Ito são as que melhor desempenham suas funções devido ao seu número e sua capacidade em acumular vitamina A. Por outro lado, considera-se que, sob certas condições patológicas, como lesão hepática aguda acompanhada por necrose hepatocelular ou esteatose hepática na obesidade, as células de Ito venham a sintetizar o colágeno tipo III. Já foram observadas presenças de células que foram consideradas intermediárias entre as células estelares e fibroblastos em processos de fibrose hepática, sugerindo uma transformação dessas células em fibroblastos. Estes achados indicam fortemente que as células estelares são potentes produtoras de fibras¹⁵. Alterações correlacionadas com fibrose incluem um aumento ou diminuição no conteúdo lipídico das células estelares e/ou um aumento retículo endoplasmático rugoso ou ribossomos dessas células. A transformação das células em fibroblastos ou miofibroblastos serve para explicar o aumento da síntese de colágeno, que culmina em um quadro de fibrose. Essas transformações são conhecidas como ativação ou transformação das células estelares (células de Ito).

2. JUSTIFICATIVA.

Sendo a deficiência de vitamina A um problema de saúde pública de muitos países desenvolvidos, contribuindo de forma assustadora com a mortalidade infantil e, podendo causar redução na resistência a doenças infecciosas e cegueira em crianças, torna-se imperativo uma avaliação mais acurada da concentração do acúmulo de vitamina A em fetos e crianças recém-nascidas, assim como sua avaliação em idosos (a partir de sessenta anos) para a observação da reserva da vitamina A.

Definições atuais da Organização Mundial da Saúde estabelecem que, a detecção de um caso de comprometimento córneo em 10.000 crianças, em idade pré-escolar, é suficiente para considerar a deficiência de vitamina A como um problema de saúde pública¹⁶.

A hipovitaminose A leva à diminuição do apetite devido à queratinização das papilas gustativas, o crescimento ósseo é lento, não acompanhando o crescimento do sistema nervoso, podendo levar a lesões no sistema nervoso central. Mesmo nas suas formas mais leves, a deficiência de vitamina A aparece como um fator importante na determinação da morbidade e mortalidade infantil⁵, sem observação, na literatura, de sua participação em patologias que ocorram em idosos. A vitamina A desempenha papel essencial para a diferenciação normal dos tecidos epiteliais e secreção das mucosas, mantém a espermatogênese no homem e previne a reabsorção fetal na mulher. Atua no funcionamento do sistema imunológico e, como antioxidante, seqüestra radicais livres em tecidos de baixa pressão de oxigênio, podendo diminuir o risco de câncer de pulmão¹⁷.

Classicamente, o fígado tem sido apontado como o principal órgão de armazenamento da vitamina A no organismo animal e, portanto, como o órgão de escolha para se determinar as reservas corpóreas desta vitamina¹².

As pesquisas no campo da hipovitaminose A são numerosas em todo o mundo. No estudo da deficiência da vitamina A, vários métodos já foram descritos e, a maioria deles tem o propósito de reconhecer a carência sub-clínica, visando evitar o aparecimento das manifestações graves da deficiência. Alguns não são adequados, enquanto que outros falham por falta de fidedignidade. Assim, o método de diagnóstico continua a ser um fator limitante no reconhecimento da deficiência¹².

Apesar de a literatura referir inúmeros trabalhos na área, poucos destes utilizam a metodologia de análise de vitamina A em fragmentos de fígado, obtidos em necropsias, e aqueles que empregaram a mesma metodologia em nossa região, o fizeram na década de 80.

Faz-se necessário, também, estabelecer o grau de concentração de vitamina A em fetos e recém-nascidos na cidade do Recife, para melhor avaliar e prevenir complicações características de deficiência da vitamina A. Assim como, avaliar a

concentração desta vitamina em idosos, acima de sessenta anos, uma vez que a literatura é totalmente deficiente em trabalhos nesta faixa etária.

BIBLIOGRAFIA

- 1 – Osborne TB, Mendel LB. The Influence of Butter-Fat on Growth. *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, 1914; v.16: p.423
- 2 – McCollum EV, Davis M. The Necessity of Certain Lipids in the Diet During Growth. *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, 1917; v.15: p.13.
- 3 – Blomhoff R, Green MH, Green JB, Berg T, Norum KR. Vitamin A Metabolism: New Perspectives on Absorption, Transport and Storage. *Physiological Reviews*, Bethesda, 1991 Oct; 55: 955-958.
- 4 – Blomhoff R, Green MH, Norum KR. Vitamin A: Physiological and Biochemical Processing. *Annu Rev Nutr* 1992; 12: 37-57.
- 5 – Sommer A. Vitamin A Supplementation and Childhood Morbidity. *Lancet* 1993 Dec; v.342: p.1420.
- 6 – Leo MA, Lieber CS. Alcohol, Vitamin A, and Beta-Carotene: Adverse Interactions, Including Hepatotoxicity and Carcinogenicity. *Am J Clin Nutr* 1999; 69 (6): 1071-1085.
- 7 – Hussey GD, Klein M. A Randomized, Controlled Trial of Vitamin A in Children with Severe Measles. *N Engl J Med* 1990; 323 (3): 160-164.
- 8 – Sommer A. Nutritional Blindness, Xerophthalmia and Keratomalacia. New York, Ed. Oxford University, 1982: p. 6-10.
- 9 – Petkovich M, Brand N, Krust A, Chambon P. A Human Retinoic Acid Receptor which Belongs to the Family of Nuclear Receptors. *Nature* 1987; 330: 444-450.
- 10 – Yokoi Y, Namihisa T, Kuroda H, Komatsu I, Miyasaki A, Watanabe S, Usui K. Immunocytochemical Detection of Desmin in Fat-Storing Cells (Ito Cells). *Hepatology* 1984; 4: 709-714.
- 11 – Flores H, Araújo CRC. Liver Levels of Retinol in Unselected Necropsy Specimens: A Prevalence Survey of Vitamin A Deficiency in Recife, Brazil. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1984; 40: 146-152.
- 12 – Carvalho CMRG. Prevalência de Hipovitaminose A em Crianças de Favelas de Campinas, SP. Comparação da Citologia de Impressão da Conjuntiva Ocular com os Níveis de Retinol Séricos Determinados por Cromatografia. Tese de Doutorado em Alimentos e Nutrição. Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil. 1993.
- 13 – Hendriks HFJ, Brekelmans PJAM, Buytenhek R, DeLeeuw AM, Knook DL. Liver Parenchymal Cells Differ from the Fat-Storing Cells in their Lipid Composition. *Lipids* 1987; 22: 266-273.
- 14 – Wake K. Perisinusoidal Stellate Cells (Fat-Storing Cells, Interstitial Cells, Lipocytes), Their Related Structure in and Around the Liver Sinusoids, and Vitamin A-Storing Cells in Extrahepatic Organs. *Int Rev Cytol* 1980; 66: 303-353.

- 15 – Yamada E, Hirosawa K. The Possible Existence of Vitamin A-Storing Cell System. *Cell Struc Funct* 1976; 1: 201-204.
- 16 – McAuliffe J, Lima LC, Granjeiro GP. III Pesquisa de Saúde Materno-Infantil do Ceará/1994 – PESMIC 3. Fortaleza, SESA, 1995: p.61.
- 17 – Chaney SG. Princípios de Nutrição II. Micronutrientes. In: Devlin TM. *Manual de Bioquímica com Correlações Clínicas*. São Paulo: Ed. Edgard Blücher Ltda, 1998: 933-959.

3. OBJETIVOS.

3.1 GERAL.

Determinar a concentração do acúmulo de vitamina A em fígado de fetos, recém-nascidos e idosos, com morte natural, obtidos em necropsias como valor prognóstico no diagnóstico da carência de vitamina A.

3.2 ESPECÍFICOS

- 3.2.1 Quantificar os níveis de vitamina A em fragmentos de fígado de fetos e recém-nascidos.
- 3.2.2 Quantificar os níveis de vitamina A em fragmentos de fígado de idosos.

ARTIGO 1:

PAPEL DAS CÉLULAS ESTELARES NA FIBROSE HEPÁTICA.

ARTIGO DE REVISÃO – Publicado na Revista Anais da Faculdade de Medicina, v.50 (2), 2005, p: 142 – 145.

Neste artigo foi feita uma revisão literária sobre a participação das células estelares na Formação da fibrose hepática em algumas patologias que acometem o fígado.

Papel das Células Estelares na Fibrose Hepática.

AUTORES:

Luciano Tavares Montenegro¹
Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos²
Jeanine Maria G.A. de Souza Dantas³
Michelle Gantois Vanderlei³
Viviane Selva Carneiro Monteiro³

⁽¹⁾ Prof. Adjunto, Depto. de Patologia – CCS, UFPE

⁽²⁾ Profa. Adjunta do Depto. Nutrição – CCS, UFPE.

⁽³⁾ Alunas do Curso de Medicina – CCS, UFPE.

RESUMO

As células estelares (Células de Ito) são células acumuladoras de vitamina A no fígado, desempenhando uma ação ativa nos mecanismos de injúria, regeneração e fibrose hepática. As células estelares sintetizam colágeno e tecido conjuntivo, responsáveis pela sustentação do parênquima hepático, bem como no fluxo sanguíneo e perfusão dos hepatócitos. Foram observadas a expressão de antígenos de linhagens celulares diferentes, como a proteína ácida glial-fibrilar e a actina de músculo liso, caracterizando fases diferentes de ativação das células estelares. Estudos têm demonstrado que o nível de vitamina A acumulado pode modular a síntese e depósito de colágeno uma vez que o acúmulo de retinol nas células estelares reduz a síntese de colágeno, no entanto, o excesso de vitamina A aumenta a sensibilidade do fígado a agentes hepatotóxicos, podendo suprimir a fibrose hepática.

DESCRITORES: Célula estelar; Fibrose; Fígado.

INTRODUÇÃO

Os estudos realizados sobre a regeneração hepática estão centralizados nos hepatócitos, entretanto todas as células hepáticas participam do fenômeno regenerativo. As células estelares, também chamadas de Ito ou armazenadoras de lipídeos, localizam-se no espaço de Disse, em contato direto com os hepatócitos e com o epitélio sinusoidal¹.

As células estelares quiescentes acumulam vitamina A e, quando ativadas, possuem um aumento na capacidade de síntese protéica e de DNA. Em lesões agudas ou crônicas no parênquima hepático, desempenham uma ação ativa na fibrogênese do fígado¹. Fisiologicamente, essas células regulam a homeostasia da vitamina A e, em condições patológicas, desempenham um importante papel nos mecanismos de injúria, regeneração e fibrose hepáticas².

Recentemente, alguns marcadores das células estelares humanas, incluindo a actina de músculo liso (SMA), proteína de ativação do fibroblasto (FAP) e proteína ácida glial-fibrilar (GFAP), têm sido identificados nessas células. Trabalhos anteriores mostraram uma forte e significativa correlação entre a expressão de FAP, vista no remodelamento tecidual, e a fibrose hepática. Enquanto uma fraca e ausente correlações foram observadas com a GFAP e a SMA³.

Quando as células estelares sofrem um processo de ativação, passam a constituir um fenótipo semelhante à miofibroblastos, mas não se transformam em miofibroblastos hepáticos. Há evidências práticas que comprovam a existência de

duas populações de células diferentes: os miofibroblastos do fígado e as células semelhantes a miofibroblastos (células estelares ativadas)¹.

As células estelares possuem estruturas citoplasmáticas contráteis que envolvem os sinusóides, sendo capazes de promover a constrição desses canais vasculares⁴, regulando, assim, o fluxo sanguíneo sinusoidal, sendo também um componente da hipertensão porta.

Localização e função das células estelares.

Os hepatócitos são as células parenquimais do fígado e perfazem mais de 80% do volume hepático. As células que não são parenquimais incluem macrófagos (células de Kupffer), células endoteliais sinusoidais, células NK (natural Killer) e as células presentes no espaço de Disse (estreito espaço que separa os sinusóides dos hepatócitos)¹.

Os sinusóides são capilares que ocupam o espaço entre as placas de hepatócitos, e suas paredes são revestidas pelas células endoteliais típicas, pelos macrófagos e pelas células estelares que produzem colágeno e tecido conectivo responsáveis pela sustentação do parênquima⁵.

As células estelares apresentam duas funções bem estabelecidas: o armazenamento de vitamina A e desempenham papel importante na fibrogênese hepática. Existe uma aceitação geral na literatura de que as células estelares estão associadas com as fibras de colágeno⁶, contêm um extenso retículo endoplasmático granular⁷⁻⁹ e ausência de lâmina basal^{6,10}. Baseado na presença dessas estruturas fibroplasmáticas nas células estelares, a síntese de fibras colágenas por essas células foi, então, proposta^{7,10,11}. Estudos demonstraram, através de métodos histoquímicos, a presença de glutamyltranspeptidase nas células estelares, que parece contribuir na síntese de proteína das fibras contendo também hidroxiprolina, glicina, prolina e ácido glutâmico. Pesquisas mostraram a agregação de finos grânulos impregnados pela coloração do ácido periódico - prata metanamina nos prolongamentos citoplasmáticos dos fibroblastos de tecido conjuntivo do fígado. Esses dados indicam que as células estelares podem assumir características morfológicas e funcionais dos fibroblastos. Observou-se a presença de células estelares em vários órgãos: pulmão, canal digestivo, baço, adrenal, útero e pele^{12,13}.

Ativação das células estelares e a fibrose hepática.

No fígado normal, os colágenos intersticiais (tipo I e II) concentram-se nos tratos portais e ao redor das veias centrais, com feixes eventuais no espaço de Disse⁴. O colágeno, que segue ao longo das trabéculas hepáticas, é composto de filamentos delicados de colágeno do tipo IV no espaço de Disse.

Em resposta à inflamação ou insulto tóxico direto, forma-se um tecido fibroso no fígado, sendo a fibrose uma consequência da lesão hepática. O depósito de colágeno tem consequências importantes sobre o fluxo sanguíneo e a perfusão dos hepatócitos. O acúmulo continuado de colágeno no espaço de Disse, dentro do parênquima preservado, é acompanhado de perda das fenestrações nas células endoteliais sinusoidais, diminuindo a perfusão dos hepatócitos, as trocas metabólicas, levando à insuficiência hepática⁴.

Nas doenças hepáticas crônicas, com a continuação de injúria, necrose, inflamação e fibrose, o fígado vai sendo subdividido em nódulos de hepatócitos em regeneração circundados por tecido cicatricial, denominado cirrose. A principal fonte de excesso de colágeno na cirrose parece ser as células estelares perisinusoidais. Embora funcionem normalmente como células armazenadoras de vitamina A e lipídios, elas são ativadas durante o desenvolvimento de cirrose, perdem suas reservas de ester de retinil e se transformam em células semelhantes a miofibroblastos. Os estímulos para a síntese e depósito de colágeno podem ter várias origens: a) inflamação crônica, com produção de citocinas inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF)- α , fator transformador do crescimento (TGF)- α e a interleucina-1; b) produção de citocinas por células endógenas estimuladas (células de Kupffer), células endoteliais, hepatócitos e células epiteliais dos ductos biliares; c) ruptura da matriz extracelular; d) estimulação direta das células estelares por toxinas⁴.

Alguns estudos propuseram que o α -interferon tenha efeito anti-fibrosante através da inibição do TGF- α , citocina que estimula a transformação das células estelares em células semelhantes a miofibroblastos. TGF- α é considerado um fator importante, não apenas no reparo tecidual, mas também no desenvolvimento de desordens fibrogênicas. Estudos de fibrogênese hepática, em modelos experimentais de fibrose do fígado bem como em doenças hepáticas, indicaram o papel predominante de TGF- α na estimulação da fibrogênese. Outro fator de destaque é o TNF- α que, além de modular a ativação das células estelares hepáticas, regula a síntese de algumas proteínas da matriz extracelular e de proteínas envolvidas na degradação da matriz¹.

No processo de ativação das células estelares, ocorrem mudanças fenotípicas e funcionais na sua forma estrelada. Em seu estado de quiescência, a célula estelar acumula vitamina A e expressa proteína ácida glial fibrilar (GFAP) e, quando se diferencia em células semelhantes a miofibroblastos (célula estelar ativa), torna-se uma célula pobre em vitamina A que expressa actina do músculo liso (SMA) e menos GFAP. Ultraestruturalmente, a célula estelar ativada possui um núcleo mais alongado, ausentes ou apenas pequenas gotas de lipídio, retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido e proeminentes complexos de Golgi. Além disso, observaram-se microfilamentos citoplasmáticos condensados¹.

Durante a ativação da célula estelar hepática, a produção de proteínas da matriz extracelular muda qualitativa e quantitativamente¹.

Através do processo de lesão e fibrose hepáticas, os hepatócitos remanescentes são estimulados a se regenerar, e eles proliferam como nódulos esféricos dentro dos

limites dos septos fibróticos. O resultado final é um fígado fibrótico nodular no qual o transporte de sangue até os hepatócitos é intensamente comprometido, assim como a capacidade dos hepatócitos de secretar substâncias no plasma. A ruptura da interface entre o parênquima e os tratos portais também dificulta a drenagem dos canais biliares⁴.

Receptores de Ácido Retinóico

Estudos recentes mostraram que as células estelares contêm receptores de ácido retinóico (RARs)¹⁴. As células estelares em cultura perdem a expressão da proteína RARs e de seu RNAm.

A perda desse receptor é um processo reversível, pois a adição de ácido retinóico induz o retorno da expressão de RARs. O receptor nuclear permite à célula estelar responder ao ácido retinóico e pode, por isso, servir como um mediador das funções da célula estelar, como a formação de gotas de lipídios e síntese de matriz extracelular¹⁵.

Relação entre as vitaminoses A e a fibrose hepática.

A fibrose hepática em humanos é um processo multifatorial, no qual não somente agentes hepatotóxicos, mas também fatores genéticos, função imunológica e estado nutricional são determinantes importantes¹⁵.

Estudos mostraram que o nível de vitamina A pode modular a síntese e deposição de colágeno^{16,17}. Experimentos laboratoriais constataram que a hipervitaminose A foi induzida pelo fornecimento excessivo de retinóides antes, durante ou depois da indução da fibrose pelo tetracloreto de carbono (CCl₄). Mantendo o excesso de retinóide em combinação com CCl₄ têm-se importantes efeitos no fígado. Por um lado, excesso de retinóide mantido ou simultaneamente adicionado a CCl₄ induz maior dano à célula parenquimal e aumenta mortalidade comparada ao tratamento de CCl₄ isolado. Por outro lado, mantendo o excesso de retinóide depois da fibrose hepática, tem-se uma redução significativa da fibrose¹⁶.

A fibrose hepática foi mais efetivamente induzida pelo CCl₄ quando o nível de vitamina A estava reduzido. Experimentos anteriores induziram a hipovitaminose A e constataram que o CCl₄ pode ser um agente indutor da fibrose hepática. A administração de CCl₄ em ratos com deficiência de vitamina A induziu um mesmo grau de dano e de mortalidade hepatocelular, mas induziu uma fibrogênese mais acelerada e intensificada em comparação aos ratos com níveis normais de vitamina A¹⁸.

A produção de retinóides assume um papel central no aumento da hepatotoxicidade por causa de efeitos citotóxicos diretos. Alternativamente, hipervitaminose A, a qual está associada a ativação da célula de Kupffer, pode conduzir e secreção de mediadores danosos às células parenquimais. Retinóides

também possuem outros efeitos severos no fígado, especialmente nas células estelares. O acúmulo de retinóide nas células estelares reduz a síntese de colágeno^{16,17,19,20}. O efeito benéfico do acúmulo de retinóide em células estelares pode relacionar-se à supressão da expressão do gene do colágeno mediada pelo retinóide, possivelmente, por um efeito direto na expressão do gene através de RARs ou por um efeito indireto na produção de TGF- α ^{21,22}. TGF- α estimula a síntese de DNA pelas células parenquimais e a fibrogênese pelas células estelares²³.

Em experimentos já realizados, utilizando-se a administração oral de caroteno em combinação com CCl₄, constataram-se a diminuição de danos às células parenquimais e a redução da fibrose hepática. Possivelmente, isso se deve ao fato do caroteno “limpar” os radicais livres, bastante nocivos, gerados a partir do CCl₄. Este efeito citoprotetor pode evitar a indução da fibrose do fígado. Além disso, o caroteno mantém concentrações hepáticas de vitamina A e isto, provavelmente, reduz a formação do colágeno pela célula estelar no fígado¹⁵.

Dessa forma, os níveis de vitamina A e a administração de vitamina A influenciam de maneira significativa os efeitos de agentes hepatotóxicos que levam danos às células parenquimais e à fibrose hepática em animais experimentais. Entretanto, o excesso de vitamina A aumenta a sensibilidade do fígado a agentes hepatotóxicos e também podem suprimir ativamente a fibrose hepática. Esses achados experimentais podem ser indicativos de um dilema terapêutico na prevenção e no tratamento de fibrose hepática humana, especialmente em alcoólicos. Este problema pode ser superado pelo uso preferencial de caroteno, ao invés de ésteres de retinil, como uma fonte de retinóides, pois o caroteno tem-se mostrado carente de efeitos hepatotóxicos¹⁵.

Presença de marcadores e a relação com a fibrose do fígado.

Células estelares hepáticas ativadas são reconhecidas por sua imunorreatividade à actina do músculo liso (SMA). Entretanto, a presença de células estelares positivas à SMA não está sempre associada ao desenvolvimento da fibrose do fígado³.

A diferenciação de células estelares hepáticas a um fenótipo positivo à SMA não é suficiente para resultar em fibrose. Células estelares ativadas são observadas em doenças hepáticas não associadas ao desenvolvimento de fibrose, tais como injúria induzida por paracetamol²⁴, isquemia hepática²⁵ e rejeição aguda do fígado²⁶. Em doenças crônicas do fígado, como a infecção pelo vírus da Hepatite C, a maioria dos pacientes apresenta números consideráveis de células estelares ativadas, embora apenas uma parcela destes desenvolva cirrose^{26,27}.

Recentemente, outros marcadores de células estelares humanas têm sido identificados. Estes apresentam uma associação mais restrita com o processo de fibrose, incluindo FAP e GFAP³.

FAP não é expressa em tecido humano normal. Sua expressão ocorre em circunstâncias de remodelamento de tecido, tais como: granulação do tecido

cicatrizado, embriogênese^{28,29} e no estroma de certos cânceres epiteliais²⁹. Na cirrose, FAP e SMA são ambos marcadores das células estelares ativadas, mas não são coexpressados sempre na mesma célula.

A expressão de FAP, vista no remodelamento do tecido, foi elevada e significativamente correlacionada com a severidade da fibrose do fígado. Uma fraca correlação foi vista entre a expressão da proteína ácida glial fibrilar e o estágio de fibrose, enquanto inexistiu uma relação entre a SMA e o grau de fibrose³.

Miofibroblastos hepáticos X Células estelares ativadas.

Embora não se possa negar que os miofibroblastos hepáticos se desenvolvam a partir de células estelares hepáticas, como sugerido por muitos autores¹, há evidências que mostram que, na verdade, são duas populações de células diferentes: os miofibroblastos do fígado e as células semelhantes a miofibroblastos (células estelares ativadas).

Até recentemente, a distinção entre as células semelhantes a miofibroblastos não era possível devido à falta de marcadores específicos. A positividade para SMA e para desmina tem sido considerada como própria das células estelares ativadas, entretanto, muitos investigadores demonstraram que SMA e desmina não eram suficientes para a diferenciação entre esses dois grupos celulares^{30,31}.

Uma clara diferença é a demonstração ultraestrutural de placas densas nos miofibroblastos, visto que lâmina basal, microfilamentos, retículo endoplasmático rugoso e gotas de lipídeos são presentes em ambos os tipos de células. Outro problema na literatura se refere à nomenclatura³¹.

Foi demonstrado que as células estelares expressam CD98 tanto in vitro quanto in vivo. Além disso, as células estelares produzem CD95L em paralelo à ativação. Simultaneamente, com a expressão de CD95L a apoptose poderia ser detectada em células estelares ativadas. A presença de CD95L pode ser observada através do uso de anticorpos “CD95-blocking” e, assim, evidencia-se o bloqueio da apoptose espontânea³²⁻³⁴.

Estudos anteriores revelaram que, quando mecanismos de reparo do fígado são concluídos, as células semelhantes a miofibroblastos (células estelares ativadas) podem causar sua própria morte por apoptose ou outra possibilidade poderia ser o mecanismo de “desativação”, o qual conduz as células estelares ao estado de repouso^{35,36}. Em contraste, os miofibroblastos do fígado não mostram a apoptose espontânea, provavelmente, devido à falta de CD95L³⁷.

Essas duas células estão envolvidas no processo de reparo do fígado: as células estelares ao longo dos sinusóides e/ou miofibroblastos hepáticos nas áreas periportal e perivenosa^{31, 38}. Em fígados normais, as células estelares estão localizadas no parênquima, enquanto os miofibroblastos estão situados nos tratos portais e nas paredes das veias centrais. Em estágios avançados de fibrose, as células estelares são

detectáveis na transição do septo ao parênquima, e os miofibroblastos se localizam dentro do septo³⁹.

ABSTRACT

The stellate cells (Ito cells) are using to storage vitamin A in liver and develop an active paper in the hepatic injury, regeneration and fibrosis. The stellate cells synthesize collagen and connective tissue that it is responsible for the maintenance of hepatic parenchyma as well the blood flow and hepatocytes perfusion. The presence of antigens from different types of cells can be distinguished, as a glial fibrillary acidic protein and actin of smooth muscle, characterizing different steps of the stellate cells activation. Studies have demonstrated that the level of accumulated vitamin A can modulate the synthesis and deposit of collagen, once the accumulate of retinol in the stellate cells reduce the synthesis of collagen, in the other hand the excess of vitamin A increase the sensibility of the liver to hepatotoxic agents and can make a suppression of hepatic fibrosis.

KEY WORDS: Stellate cell; Fibrosis; Liver.

REFERÊNCIAS.

1. Ramadori G, Sail B. Mesenchymal cells in the liver – one cell type or two?. Liver 2002; 22: 283-294.
2. Senoo H. Structure and function of hepatic stellate cells. Medical Electron Microscopic 2004; 37 (1): 3-15.
3. Levy MT, McCaughan GW, Marinos G, Gorrell MD. Intrahepatic expression of the hepatic stellate cell marker fibroblast activation protein correlates with the degree of fibrosis in hepatitis C virus infection. Liver 2002; 22: 93-101.
4. Robbins. Patologia Estrutural e Funcional. 6^a ed. Filadélfia, 1999. p. 766-768.
5. McGee JOD, Patrick RS. The role of perisinusoidal cells in hepatic fibrogenesis: an electron microscopic study of acute carbon tetrachloride liver injury. Laboratory Investigation 1972; 26 (4): 429-440.
6. Ito T. Cytological studies on stellate cells of Kupffer and fat-storing cells in the capillary wall of the human liver. Acta Anat. Nippon 1951; 26: 42.
7. Wood RL. Evidence of species differences in the ultrastructure of the hepatic sinusoid. 1963; 58: 679.
8. Tuchweber B, Garg BD, Salas M. Microsomal enjuria induces and hypervitaminosis A in rats. Pathology and Laboratory Medicine 1976; 100 (2): 100-108.

9. Bronfenmajer S, Schaffner F, Popper H. Fat-storing cells (lipocytes) in human liver. *Archives of Pathology* 1966; 82 (5): 447-453.
10. Kobayashi K, Takahashi Y, Shibasaki S. Cytological studies of fat-storing cells in the liver of rats given large doses of vitamin A. *Nature (London), New Biology* 1973; 234: 186-188.
11. Yamagishi M. Electron microscopic studies on the fine structure of sinusoidal wall and fat-storing cells of rabbit livers. *Archives of Histology Japanese* 1953; 18: 223-261.
12. Yamada E, Hirosawa K. The possible existence of vitamin A-storing cell system. *Cell Struct. Funct.* 1976; 1: 201-204.
13. Yamamoto M, Enzan H. Morphology and function of Ito cell (fat-storing cell) in the liver. *Recent Advances in RES Research* 1975; 15: 54-75.
14. Weiner FR, Blaner WS, Czaja MJ. Ito cell expression of a nuclear retinoic acid receptor. *Hepatology* 1992; 15: 336-342.
15. Hendriks HFJ, Bosma A, Brouwer A. Fat-storing cells: hyper- and hypovitaminosis A and relationships with liver fibrosis. *Seminars in Liver Disease* 1993; 13 (1): 72-80.
16. Seifert WF, Bosma A, Hendriks HFJ. Dual role of vitamin A in experimentally induced liver fibrosis. In: Wisse E, Knook DL, Decker K (Eds): *Cells of the Hepatic Sinusoid* 1989; 2: 43-48.
17. Senoo H, Wake K. Suppression of experimental hepatic fibrosis by administration of vitamin A. *Laboratory Investigation* 1985; 52: 182-194.
18. Leo MA, Lieber CS. Hepatic fibrosis after long-term administration of ethanol and moderate vitamin A supplementation in the rat. *Hepatology* 1983; 3: 1-11.
19. Geerts A, Vrijssen R, Rauterberg J. In vitro differentiation of fat-storing cells parallels marked increase of collagen synthesis and secretion. *J. Hepatol* 1989; 9: 59-68.
20. Geerts A, Vrijssen R, Schellinck P, Wisse E. Retinol affects the phenotype and protein synthesis of fat-storing cells derived myofibroblasts in vitro. In Wisse E, Knook DL, Decker K (Eds): *Cells of the Hepatic Sinusoid* 1989; e: 20-24.
21. Davis BH, Kramer RT, Davidson NO. Retinoic acid modulates rat Ito cell proliferation, collagen and transforming growth factor α production. *J. Clin. Invest.* 1990; 86: 2062-2070.
22. Davis BH, Rapp UR, Davidson NO. Retinoic acid and transforming growth factor α differentially inhibit platelet-derived-growth-factor induced Ito cell activation. *Biochem. J.* 1991; 278: 43-47.
23. Bissel DM, Friedman SL, Maher JJ, Roll FJ. Connective tissue biology and hepatic fibrosis: report of a conference. *Hepatology* 1990; 11: 488-498.
24. Mathew J, Hines JE, Toole K, Johnson SJ, James OF, Burt AD. Quantitative analysis of macrophages and perisinusoidal cells in primary biliary cirrhosis. *Histopathology* 1994; 25: 65-70.

25. Rubbiabrandt L, Mentha G, Desmouliere A. Hepatic stellate cells reversibly express alpha-smooth muscle actin during acute hepatic ischaemia. *Transplantation Proc* 1997; 29:2390-2395.
26. Schmitt-Graff A, Kruger S, Bochar F, Gabbiani G, Denk H. Modulation of alpha-smooth muscle actin and desmin expression in perisinusoidal cells of normal and diseased human livers. *Am. J. Pathol* 1991; 138: 1233-1242.
27. Guido M, Rugge M, Chemello L, et al. Liver stellate cells in chronic viral hepatitis – the effect of interferon therapy. *J. Hepatol* 1996; 24: 301-307.
28. Scanlan MJ, Raj BK, Calvo B, et al. Molecular cloning of fibroblast activation protein alpha, a member of the serine protease family selectively expressed in stromal fibroblast of epithelial cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 5657-5661.
29. Garin-Chesa P, Old LJ, Rettig WJ. Cell surface glycoprotein of reactive stromal fibroblasts as a potential antibody target in human epithelial cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7235-7239.
30. Ramadori G, Veit T, Schwogler S, et al. Expression of a gene of the alpha-smooth muscle-actin isoform in rat liver and in rat fat-storing (Ito) cells. *Virchow Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1990; 59: 349-357.
31. Bhunchet E, Wake K. Role of mesenchymal cell populations in porcine serum-induced rat liver fibrosis. *Hepatology* 1992; 16: 1452-1473.
32. Van Parijs L, Ibraghimov A, Abbas AK. The roles of costimulation and Fas in cell apoptosis and peripheral tolerance. *Immunity* 1996; 4: 321-328.
33. Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, et al. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J. Clin. Invest* 1998; 102: 538-549.
34. Gong W, Pecci A, Roth S, Lahme B, Beato M, Gressner AM. Transformation-dependent susceptibility of rat hepatic stellate cells to apoptosis induced by soluble Fas ligand. *Hepatology* 1998; 28: 429-502.
35. Ramadori G. The stellate cell (Ito cell, fat-storing cell, lipocyte, perisinusoidal cell) of the liver. New insights into pathophysiology of an intriguing cell (Review)(129 Refs) *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Patol* 1991; 61: 147-158.
36. Saile B, Knittel T, Matthes N, Schott P, Ramadori G. CD95/CD95L-mediated apoptosis of the stellate cell. A mechanism terminating uncontrolled hepatic stellate cell proliferation during hepatic tissue repair. *Am J Pathol* 1997; 151: 1265-1272.
37. Saile B, Matthes N, Neubauer K. Rat liver myofibroblasts and hepatic stellate cells differ in CD95-mediated apoptosis and in their response to TNF. *Am J Physiol* 2001.
38. Tuchweber B, Desmouliere A, Bochaton-Piallat ML, Rubbia-Brandt L, Gabiani G. Proliferation and phenotypic modulation of portal fibroblasts in the early stages of fibrosis in the rat. *Laboratory Investigation* 1996; 74: 265-278.

39. Knittel T, Kobold D, Piscaglia F. Localization of liver myofibroblasts and hepatic stellate cells in normal and diseased rat livers: distinct roles of (myo-) fibroblast subpopulations in hepatic tissue repair. *Histochem Cell Biol* 1999; 112: 387-401.

ARTIGO 2:

CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA A EM FÍGADOS DE FETO E RECÉM – NASCIDOS NA CIDADE DO RECIFE

Este estudo avaliou fragmentos de fígado de fetos e recém-nascidos, quanto à concentração de vitamina A, objetivando dar subsídios para trabalhos futuros na população desta mesma faixa etária.

CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA A EM FÍGADOS DE FETO E RECÉM – NASCIDOS NA CIDADE DO RECIFE

AUTORES

Luciano Tavares Montenegro¹
Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos²
Maria Helena de Castro Chagas²
Raquel Araújo de Santana³
Carmem Lygia Burgos Ambrósio⁴
Jeanine Maria G.A. de Souza Dantas⁵
Michelle Gantois Vanderlei⁵
Marcelo Montenegro Rabello⁶

- (1) Prof. Adjunto, Depto. de Patologia – CCS, UFPE
- (2) Prof. Associado do Depto. Nutrição – CCS, UFPE.
- (3) Prof. Adjunto do Depto. Nutrição – CCS, UFPE.
- (4) Prof. Adjunto do Núcleo de Nutrição – CAV, UFPE
- (5) Acadêmicas do Curso de Medicina – CCS, UFPE.
- (6) Acadêmico do Curso de Farmácia – CCS, UFPE.

RESUMO

A vitamina A é essencial para os sistemas de reprodução e de visão, sendo uma das substâncias que regula a diferenciação e o crescimento de vários tipos de células no organismo humano, e em alguns animais. A vitamina A, e seus metabólitos, não tem efeito teratogênicos em concentrações fisiológicas, e que desempenha essencial papel na regulação de numerosos aspectos da embriogênese normal. No embrião, servem como elo com o receptor hormonal do núcleo das células, o que permite coordenar a expressão de numerosos genes de ligação com a sequência de DNA de um gene, aí incluídos os genes codificados para outros fatores de transcrição. Dados experimentais indicam que, no embrião, a concentração de vitamina A determina, pelo menos parcialmente, a especificidade do poder de regulação genética atribuída à vitamina A. Foram analisados 34 fragmentos de fígado de fetos e recém-nascidos obtidos em necropsia. As concentrações de vitamina A variaram entre 0,60 e 83,45µg/g, tendo como média 17,39µg/g. A análise demonstra que 76,5% das amostras acusaram um baixo aporte de vitamina A no fígado, podendo repercutir em concentrações inferiores às necessidades orgânicas no sangue periférico.

Palavras chaves: Vitamina A, fígado, feto e recém-nascido.

ABSTRACT

The vitamin A is essential for a reproduction and vision systems, come to be one of the substances that regulate the differentiation and growth of several types of cells in human organism, and in some animals. The vitamin A, and their metabolites, don't have any teratogenic effect in physiological concentrations, and develop essential paper in the regulation of several aspects of normal embryogenesis. In the embryo, it serve like an union with the hormonal receptor of the cells nucleus, what permit command the expression of several genes of legation with the DNA sequence of one gene, including the genes for others transcription factors. Experimental dates suggest that, in the embryo, the concentration of vitamin A determine, at least not totally, the specificity of genetic regulation power attributed to the vitamin A. We analyzed 34 samples of liver in fetus and neonates necropsy. The vitamin A concentration are in the range of 0,60 and 83,45µg/g, with the mean value of 17,39µg/g. The results show that 76,5% of samples are with low concentration of vitamin A in liver, that could represent in concentrations less than the organic necessity in peripheral blood.

Key words: Vitamin A, liver, fetus and neonates.

INTRODUÇÃO

A vitamina A é importante para o crescimento, desenvolvimento, manutenção dos tecidos epiteliais, sistema imunológico e, em especial, para o funcionamento do ciclo visual na regeneração de fotorreceptores¹. Em indivíduos deficientes de retinol, os níveis de vitamina A são lábeis e caem acentuadamente durante as infecções^{2,3,4}, enquanto nos indivíduos com estado nutricional de vitamina A adequado, esses níveis são estáveis, mantidos por mecanismos homeostáticos⁵. A hipovitaminose A acarreta em xerofthalmia, cegueira e morte em milhares de crianças no mundo, e constitui um dos principais problemas nutricionais das populações dos países em desenvolvimento. Ramalho et al⁶ identificaram que em todas as regiões brasileiras, nas quais existem dados epidemiológicos, se constatou a carência marginal de vitamina A, com elevada prevalência em diferentes faixas etárias.

Devido à decorrência dos altos custos dos alimentos de origem animal, as provitaminas vegetais constituem a maior porção das vitaminas dietéticas, podendo chegar a 88% nos países em desenvolvimento⁷. Embora haja grande disponibilidade de frutas e verduras fontes de carotenóides no Brasil, ainda se observa um número elevado de crianças com hipovitaminose A⁸. A falta de informação da população, referente às fontes de alimentação que venham a suprir esta deficiência, associada aos fatores que interferem na biodisponibilidade dos carotenóides citados pela literatura⁹, são relacionadas como possíveis fatores a esta contradição. Este conjunto de fatores que interferem na biodisponibilidade dos carotenóides são citados na literatura como SLAMENGHI: Species of carotenoids (tipos de carotenóides), molecular Linkage (ligação molecular), Amount of carotenoids consumed in a meal (quantidade de carotenóides consumidos em uma refeição), Matrix in which the carotenoid is incorporated (matriz na qual o carotenóide é incorporado), Effectors of absorption and bioconversion (efeitos de absorção e bioconversão), Nutrient status of host (estado nutricional do indivíduo), Genetic factors (fatores genéticos), Host-related factors (fatores inerentes ao indivíduo), and mathematical Interactions (interações matemáticas)⁹.

Através do estudo realizado por Ribaya-Mercado et al¹⁰ em que foram avaliadas crianças com idade entre 7 e 13 anos, pode-se concluir que a bioconversão de carotenóides à vitamina A variou de modo inverso ao status de vitamina A. A melhora do status após a intervenção é altamente influenciada pelo total de armazenamento corpóreo de vitamina A e é pouco, ou negativamente, influenciada pela vitamina A sérica. Em um estudo realizado envolvendo cultivo de vegetais folhosos verde-escuros e amarelos, atenção primária à saúde e educação nutricional em uma comunidade rural¹¹, observou-se a elevação dos níveis séricos de retinol em crianças com idade entre 2 e 5 anos, na África do Sul.

Sabe-se que a ingestão de alimentos fonte de vitamina A é inadequada em nosso país em crianças em idade pré-escolar e escolar. Estima-se que 60% da população

infantil e pré-escolar apresenta níveis de vitamina A circulante abaixo do normal^{5, 12,13,14}. Vários estudos concluem que, melhorando o estado nutricional da vitamina A, podem ser reduzidas as taxas de mortalidade infantil e pré-escolar^{15,16,17,18}.

METODOLOGIA

Foram obtidos trinta e quatro fragmentos de fígado de fetos e recém-nascidos com morte natural, coletados durante a realização da necropsia no Serviço de Verificação de Óbitos (SVO) do Departamento de Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. As amostras foram identificadas e acondicionadas em recipientes individuais, para serem congeladas e guardadas em freezer convencional (-20°C) até o momento das dosagens no Laboratório de Bioquímica da Nutrição do Departamento de Nutrição desta Universidade.

As amostras foram obtidas através de demanda espontânea por um período de um ano.

As amostras foram coletadas da porção central do lobo direito do fígado de cadáveres com mais de 6 horas e menos de 24 horas de óbito, não se fez distinção de sexo, nem da causa de morte.

Os fragmentos de fígado, depois de descongelados, eram fracionados e retirada uma amostra de tecido para a realização da dosagem. Cada amostra foi homogeneizada em 5ml de glicerol a 50% em água até completa dissolução. O material era dividido em tubos duplicatas, misturados com solução de hidróxido de potássio e incubados em banho-maria a 60°C por 20 minutos. A cada amostra foi acrescentado hexano (v/v) para a retirada da vitamina A, homogeneizado em agitador e centrifugado para separação de vitamina A. Recolheu-se o sobrenadante para a primeira leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 325nm. Após a leitura, as amostras foram submetidas à irradiação em luz ultravioleta por uma hora, após o que se realizou a segunda leitura em espectrofotômetro com o mesmo comprimento de onda. A concentração de vitamina A foi obtida pela diferença entre a primeira leitura e a segunda leitura, multiplicado pelo fator de correção¹⁹.

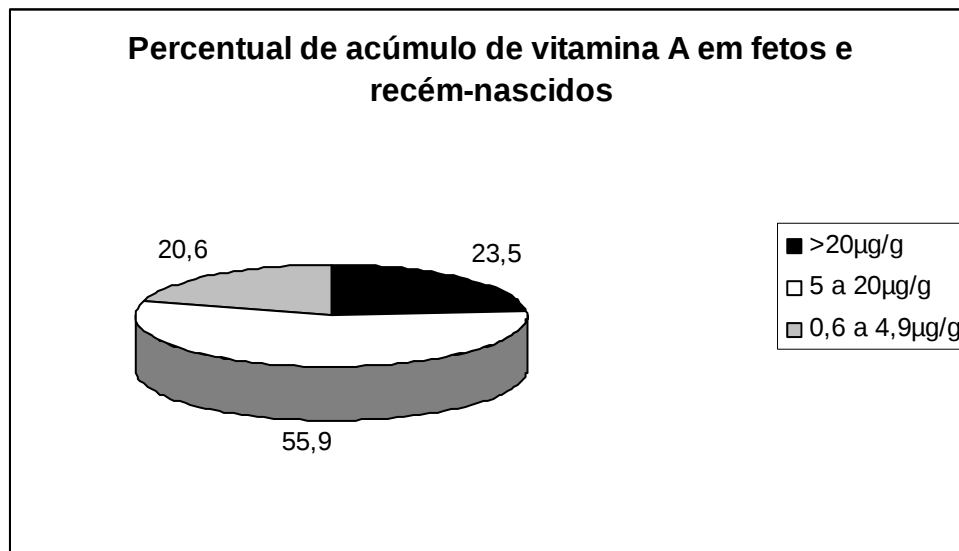
RESULTADOS

As concentrações de vitamina A encontradas estão relacionadas na tabela abaixo.

Tabela: Níveis de acúmulo de vitamina A em fígados de fetos e recém-nascidos, distribuídos de acordo com a classificação de Olson, 1979.

Níveis de vitamina A	N	Grau de variação	Classificação de Olson
$> 20\mu\text{g/g}$	08	22,29 – 83,45	Adequada
$< 20\mu\text{g/g} > 5\mu\text{g/g}$	19	7,64 – 19,11	Inadequada
$< 5\mu\text{g/g} > 0,6\mu\text{g/g}$	07	0,60 - 4,46	Crítica

N = número de amostras



DISCUSSÃO

A vitamina A, descrita no início do século passado como fator dietético lipossolúvel^{20, 21}, é um composto que participa de uma série de funções biológicas. O retinol, e seus metabólitos são indispensáveis para o funcionamento do sistema imunológico, para a diferenciação celular, para a manutenção de uma variedade de estruturas epiteliais, para o desenvolvimento e crescimento orgânico, para a síntese de algumas proteínas bem como na participação do ciclo visual²².

A vitamina A não é sintetizada no organismo, devendo ser fornecida através de programas dietéticos. Na ausência de uma ingestão alimentar suficiente em vitamina A, ou seus carotenóides, as consequências são bem conhecidas, entre as quais, a perda de apetite e de peso, retardo do crescimento e desenvolvimento, menor eficiência do sistema imune, maior ceratinização dos tecidos epiteliais, menor frequência de células caliciformes muco-secretoras e alterações no ciclo visual^{23,24}.

Foram descritas evidências indiretas quanto a teratogenia, por excesso de ingestão de vitamina A, durante as primeiras semanas de gestação^{25,26,27,28}. Acredita-se que a preocupação de que a fortificação de alimentos com vitamina A poderia causar teratogenia, pelo aumento do consumo desses alimentos, teria retardado a implementação de programas dessa natureza pelos órgãos governamentais. Porém, não há consenso sobre as causas da teratogenia, ou ainda, os níveis de fortificação onde poderia haver efeitos teratogênicos.

Inquéritos bioquímicos realizados no Brasil já haviam confirmado que a deficiência de vitamina A é um problema de saúde pública em alguns estados da nação, incluindo-se o estado de Pernambuco onde a incidência é elevada em crianças em idade pré-escolar (34%) e diminui para 12% em idosos. Em gestantes consideradas de baixo risco, a inadequação da dieta atinge 12%²⁹. Accioly et al.³⁰ observaram inadequação dos níveis séricos de retinol em 13% das gestantes no 3º trimestre de gestação e 15% de inadequação na ingestão dietética de vitamina A no mesmo período gestacional, tendo sido observada associação significativa entre o indicador dietético e o bioquímico. Observou-se ainda que a hipovitaminose A possa ocorrer em mães e recém-nascidos independentemente do estado antropométrico materno pré-gestacional e do ganho de peso durante a gestação³¹.

A prevalência dos níveis de deficiência de vitamina A foi classificada por Olson³² como inadequada (menor que 20µg/g), crítica (menor que 5µg/g), ou ausente (menor que 0,6µg/g).

Nossos resultados demonstraram que 55,9% da amostragem examinada apresentaram-se com níveis inadequados à concentração de vitamina A, 20,6% das nossas amostras tiveram níveis críticos de vitamina A, enquanto apenas 23,5% estavam com níveis de vitamina A acima do valor de normalidade (20µg/g), nenhuma amostra apresentou níveis ausentes de vitamina A. A análise demonstra que 76,5% do total das amostras estudadas apresentaram-se com níveis baixos de vitamina A, demonstrando ser necessário um reforço dietético em gestantes, principalmente nas classes sociais menos favorecidas, com intuito de prevenir a hipovitaminose A em crianças.

REFERÊNCIAS

1. Olson JA. Metabolism and function of vitamin A. Federation Proceedings 1969; 28 (5): 1670-1677.

2. Arroyave G, Calcano M. Descenso de los niveles séricos de retinol y su proteína de enlace (RBP) durante las infecciones. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 1979; 29: 223-260.
3. Barreto ML, Santos LMP, Assis AMO, Araújo MPN, Farenzena GG, Santos PAB, Fiaccone RL. Effect of vitamina A supplementation on diarrhoea and acute lower-respiratory-tract infections in young children in Brazil. *Lancet* 1994 Jul 23; 344 (8917): 228-231.
4. Campos FACS, Flores H, Underwood BA. Effect of an infection on vitamin A status of children as measured by the relative dose response (RDR). *Amer J Clin Nutr* 1987; 46: 91-94.
5. Flores H, Azevedo MNA, Campos FACS, Barreto-Lins MHC, Cavalcanti AA, Salzano A, Varela RM, Underwood BA. Serum vitamin A distribution curve for children aged 2-6 y known to have adequate vitamin A status: a reference population. *Amer J Clin Nutr* 1991; 54: 707-711.
6. Ramalho RA, Flores H, Saunders C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. *Rev. Panam. Salud Publica* 2002; 12 (2): 117-122.
7. WHO. Global prevalence of vitamin A deficiency (WHO/NUT/95.3). Geneva, 1995.
8. Ambrósio CLG. Eficácia de flocos desidratados de abóbora na prevenção e controle da carência de vitamina A 2005. Tese de Doutorado em Nutrição. Universidade Federal de Pernambuco, 2005, 86p.
9. West CE, Castenmiller JJM. Quantification of "SLAMENGHI" factors for carotenoid bioavailability and bioconversion. *International J Vit Nutr Res* 1998; 68 (6): 371-377.
10. Ribaya-Mercado JD et al. Bioconversion of plant carotenoids to vitamin A in Filipino school-age children varies inversely with vitamin A status. *Am J Clin Nutr* 2000; 72 (2): 455-465.
11. Faber M, Phungula MAS, Venter SL, Dhansay MA, Benade AJS. Home gardens focusing on the production of yellow and dark-green leafy vegetables increase the serum retinol concentrations of 2-5 years old children in South Africa. *Am J Clin Nutr* 2002; 76 (5): 1048-1054.
12. Campos FACS. Estratégias para a sobrevivência das crianças: arroz enriquecido com vitamina A. Tese de Doutorado em Nutrição. Universidade Federal de Pernambuco, 1999, 49p.
13. Interdepartmental Committee on Nutrition for National Development. Northeast Brazil. Nutrition Survey, march-may, 1963. Washington, 1965, 194p.
14. Ramalho RA, Dos Anjos LA, Flores H. Hipovitaminose A em recém-nascidos em duas maternidades públicas no Rio de Janeiro, Brasil./Hypovitaminosis A in neonates in 2 public maternity hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 1998, v. 14, n. 4, p. 821-827.
15. Rosales FJ, Kjolhede C. A single 210-mu mol oral dose of retinol does not enhance the immune response in children with measles. *Journal of Nutrition*. 1994 Sep; 124 (9): 1604-1614.

16. Sommer A, Rahmathullah L, Underwood B, Milton R, Reddy V, West K, Daulaire N, Stukel T, Herrera G, Stansfield S, Ross D, Kirkwood BR, Arthur P, Morris S, Kjolhede C, Dibley M, Barreto M, Bhan MK, Gove S. Potential interventions for the prevention of childhood pneumonia in developing countries: A meta-analysis of data from field trials to assess the impact of vitamin A supplementation on pneumonia morbidity and mortality. *Bulletin of the World Health Organization*. 1995; 73 (5): 609-619.
17. Rosales FJ, Kjolhede C, Goodman S. Efficacy of a single oral dose of 200,000 IU of oil-soluble vitamin A in measles-associated morbidity. *American Journal of Epidemiology*. 1996; 143 (5): 413-422.
18. Sempertegui F, Estrella B, Camaniero V, Betancourt V, Izurieta R, Ortiz W, Fiallo E, Troya S, Rodriguez A, Griffiths JK. The beneficial effects of weekly low-dose vitamin A supplementation on acute lower respiratory infections and diarrhea in Ecuadorian children. *Pediatrics* 1999; 104 (1): E11-E17.
19. Flores H, Araújo CRC. Liver levels of retinol in unselected necropsy specimens: a prevalence survey of vitamin A deficiency in Recife, Brazil. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1984, 40: 146-152.
20. Osborne TB, Mendel LB. The influence of butter-fat on growth. *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v.16, p.423.
21. McCollum EV, Davis M. The necessity of certain lipids in the diet during growth. *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, 1917, v.15, 9.13.
22. Sommer A. Nutritional Blindness, xerophthalmia and keratomalacia. New York, Ed. Oxford University, 1982, p.6-10.
23. UNICEF – Fundo das Nações Unidas para a Infância. Carência de vitamina A e xeroftalmia. OMS/USAID, Brasília, 1980, p.87.
24. Flores H, Campos FACS, Silva MBM, Lins MHCB, Barreto EMF. Enriquecimento de alimentos. *Cadernos do Centro de Ciências da Saúde*, 1995, v.4, p.15.
25. Humphrey JH, West KP, Sommer A. Vitamin A deficiency and attributable mortality among under-5-year-olds. *WHO Bulletin OMS*. 1992; 70 (2): 225-232.
26. Humphrey JH, Agoestina T, Juliana A, Septiana S, Widjaja H, Cerreto MC, Wu LSF, Ichord RN, Katz J, West KP. Neonatal vitamin A supplementation: effect on development and growth at 3 y of age. *Amer J Clin Nutr*. 1998; 68 (1): 109-117.
27. Jick H. Retinoids and teratogenicity. *J Amer Academy Dermatol*. 1998; 39 (2): S118-S122.
28. Collins MD, Mao GE. Teratology of retinoids. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*. 1999; 39, 39-430.
29. Coelho CSP, Ramalho RA, Accioly E. O inquérito dietético na avaliação do estado nutricional de vitamina A em gestantes. *ARS CVRANDI Clínica Médica* 1995; 6 (28): 44-60.

30. Accioly E, Souza-Queiróz S. Deficiência de vitamina A em embarazadas asistidas en una maternidad pública en Rio de Janeiro, Brasil. Ver Chilena Nutrición 2001; 27 (3): 352-357.
31. Ramalho RA, Saunders C, Paiva F, Accioly E, Cardoso LO, Natalixi D. Estado de vitamina A de puérperas e recém-nascidos e estado antropométrico materno. Rev Ciências Médicas 2001; 10 (1): 5-10.
32. Olson JA. Liver vitamin A reserves of neonates, preschool children and adults dying of various causes in Salvador, Brazil. Arch Latinoam Nutr 1979; 29: 521.

ARTIGO 3:

CONCENTRAÇÃO DE RETINOL HEPÁTICO EM IDOSOS:

UM INDICADOR DE CARÊNCIA DE VITAMINA A.

Este estudo mostrou a concentração do acúmulo de vitamina A em fígados de idosos (acima de 60 anos) na cidade do Recife, demonstrando resultados consonantes aos observados na literatura mundial.

CONCENTRAÇÃO DE RETINOL HEPÁTICO EM IDOSOS:
UM INDICADOR DE CARÊNCIA DE VITAMINA A.

AUTORES

Luciano Tavares Montenegro¹
Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos²
Maria Helena de Castro Chagas²
Raquel Araújo de Santana⁽³⁾
Carmem Lygia Burgos Ambrósio⁴
Michelle Gantois Vanderlei⁵
Jeanine Maria G.A. de Souza Dantas⁵
Marcelo Montenegro Rabello⁶

- (1) Prof. Adjunto, Depto. de Patologia – CCS, UFPE
(2) Prof. Associado do Depto. Nutrição – CCS, UFPE.
(3) Prof. Adjunto do Depto. Nutrição – CCS, UFPE.
(4) Prof. Adjunto do Núcleo de Nutrição – CAV, UFPE.
(5) Acadêmico do Curso de Medicina – CCS, UFPE.
(6) Acadêmico do Curso de Farmácia – CCS, UFPE

RESUMO

A concentração total de retinol, em fígado de pessoas com mais de 60 anos de idade, foi determinada visando preencher uma lacuna no conhecimento da hipovitaminose A na cidade do Recife – Brasil. Foram analisados 50 fragmentos de fígado, obtidos em necropsia. As concentrações de vitamina A obtidas variaram entre 11,46 a 937,34µg/g, tendo como média 162,52µg/g. Os resultados observados estão de acordo com os apresentados na literatura, mesmo àqueles obtidos em populações de países mais desenvolvidos. A análise individual mostra que 94% das amostras obtiveram concentrações acima dos valores normais, enquanto apenas 6% obtiveram valores inadequados e, em nenhuma amostra se observou valores críticos ou ausentes de vitamina A.

Unitermos: Retinol, fígado, pessoas idosas.

ABSTRACT

The total retinol concentration, in liver of more than 60 years old people, was determinate seeking to fill in a gap in knowledge of hypovitaminosis A in Recife – Brazil. Fifty necropsy specimens of liver were analyzed. The vitamin A concentrations obtained are in the range of 11,46 to 937,34µg/g, with the mean value of 162,52µg/g. There is equivalence between our results and the results observed in the literature, even which obtained in populations of more developed countries. The individual analyze show that 94% of the samples had concentrations over of the normal values, and only 6% had concentrations inadequate and, none of the samples was observed critical or absent of vitamin A.

Key words: Retinol, liver, elderly persons.

INTRODUÇÃO

O aumento da sobrevida da população, tanto em números absolutos quanto em números relativos¹, trazendo problemas específicos, tem despertado o interesse de pesquisadores, inclusive da Organização Mundial da Saúde². Este fato passa a ser relevante, principalmente ao se considerar que a longevidade da população acarreta um aumento populacional nos grupos etários mais idosos, necessitando de programas especiais de nutrição. Alguns países já vêm desenvolvendo pesquisas nessa área há mais de 25 anos³, embora, em muitos casos, tenham sido analisadas as dosagens de

vitamina A sérica, a qual não representa uma realidade fidedigna⁴ do acúmulo corpóreo da vitamina A. As necessidades nutricionais da faixa etária mais elevada, quanto a proteínas, gorduras e carboidratos, já são bem conhecidos e atendidos por dietas habituais. No entanto, as necessidades orgânicas relacionadas a vitaminas são mais problemáticas, tendo sido proposta por Runcie⁵ a realização de inquéritos nutricionais para, a partir dos resultados obtidos, se desenvolverem programas preventivos para esta faixa etária. Os idosos são um segmento da população que se apresenta muito vulnerável a problemas nutricionais, tendo dificuldade em reverter a vitamina A para sua forma ativa⁶. Baker et al⁷ descrevem que o processo de envelhecimento pode interferir no metabolismo dos nutrientes, levando as pessoas mais idosas a estarem mais propensas a complicações induzidas pela carência de vitaminas.

A vitamina A, vitamina solúvel em lipídios, é essencial para o perfeito funcionamento de alguns órgãos na espécie humana e em alguns animais. Como os níveis séricos de vitamina A são controlados homeostaticamente, estes não refletem adequadamente os acúmulos corporais desta vitamina. Desta forma, a dosagem sérica isolada não serve como indicador preciso do status da vitamina A⁸. A quantificação do acúmulo de vitamina A no fígado é a que melhor reflete a concentração desta vitamina por indivíduo, uma vez que, aproximadamente, 90% do total acumulado de vitamina A é encontrado neste órgão. A vitamina A é obtida através de dietas ricas em vegetais, sob a forma de provitaminas, como na forma de retinol pré-formado obtido de fonte animal. Foram observados valores superiores a 3500µg/g, embora a concentração média observada de vitamina A, na literatura, seja de 100 a 300µg/g. A Organização Mundial da Saúde e o Grupo Internacional Consultor de Vitamina A distinguem estratégias para a prevenção e controle da carência desta vitamina, sendo uma delas o enriquecimento de alimentos⁹. Lesões bioquímicas só são observadas quando o nível desta vitamina está bastante diminuído ou ocorra um distúrbio na mobilização dessas reservas, secundariamente, à deficiência da proteína ou de uma doença hepática. Distúrbios fisiológicos e alterações morfológicas podem, rapidamente, acompanhar as lesões bioquímicas, algumas das quais são irreversíveis. Sob o ponto de vista da saúde pública, é importante conhecer a prevalência dos estados pré-patológicos na população⁸.

METODOLOGIA

Foram obtidos cinquenta fragmentos de fígado de idosos, a partir de sessenta anos, com morte natural, coletados durante a realização da necropsia no Serviço de Verificação de Óbitos (SVO) do Departamento de Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. As amostras foram identificadas e acondicionadas em recipientes individuais, para serem congeladas e guardadas em freezer convencional (-20°C) até o momento das dosagens no Laboratório de Bioquímica da Nutrição do Departamento de Nutrição desta Universidade.

As amostras foram obtidas por demanda espontânea, em um período de três meses.

As amostras foram coletadas da porção central do lobo direito do fígado de cadáveres com mais de 6 horas e menos de 24 horas de óbito, não se fez distinção de sexo, nem da causa de morte.

Os fragmentos de fígado, depois de descongelados, eram fracionados e retirada uma amostra de tecido para a realização da dosagem. Cada amostra foi homogeneizada em 5ml de glicerol a 50% em água até completa dissolução. O material era dividido em tubos duplicatas, misturados com solução de hidróxido de potássio e incubados em banho-maria a 60°C por 20 minutos. A cada amostra foi acrescentado hexano (v/v) para a retirada da vitamina A, homogeneizado em agitador e centrifugado para separação de vitamina A. Recolheu-se o sobrenadante para a primeira leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 325nm. Após a leitura, as amostras foram submetidas à irradiação em luz ultravioleta por uma hora, após o que se realizou a segunda leitura em espectrofotômetro com o mesmo comprimento de onda. A concentração de vitamina A foi obtida pela diferença entre a primeira leitura e a segunda leitura, multiplicado pelo fator de correção⁸.

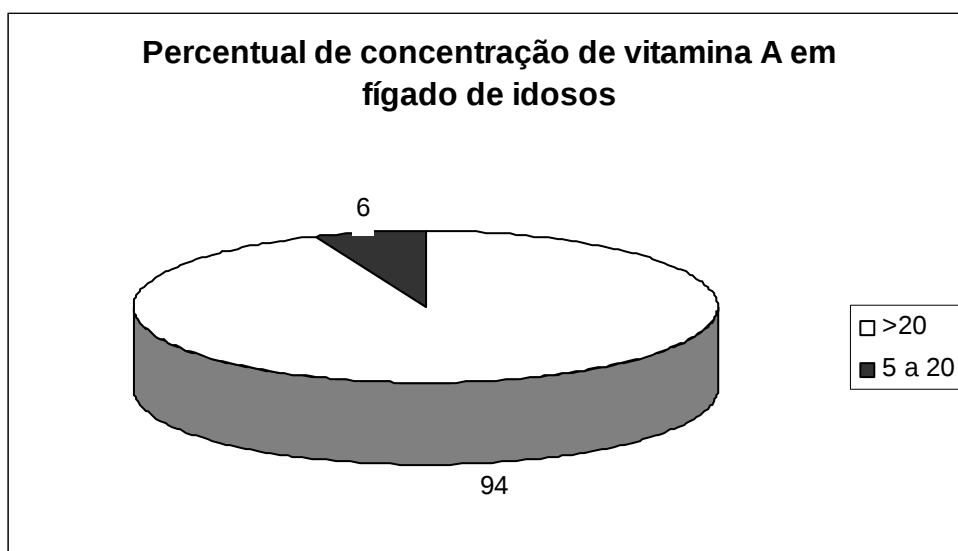
RESULTADOS

As concentrações de vitamina A obtidas nas cinquenta amostras estão relacionadas na tabela abaixo.

Tabela: Níveis de acúmulo de vitamina A em fígados de idosos, distribuídos de acordo com a classificação de Olson, 1979.

Níveis de vitamina A	N	Grau de variação	Classificação de Olson
> 20µg/g	47	21,66 – 937,34	Adequada
< 20 µg/g > 5 µg/g	03	11,46 – 18,15	Inadequada

N = número de amostras



DISCUSSÃO

Em pacientes idosos, a associação da deficiência de vitamina A é sensivelmente maior em pacientes com má-nutrição proteicocalórica¹⁰, com correspondente índice de massa corpórea reduzida, à reduzida ingestão alimentar, essencialmente de frutas e hortaliças¹¹.

Sabe-se que algumas doenças crônicas, principalmente em intestino, coração e rim, acham-se associadas com uma baixa concentração de vitamina A, embora não existam evidências que a redução das reservas desta vitamina esteja relacionada com a causa principal da morte¹². Quando comparados os níveis de vitamina A entre vítimas de morte súbita com os encontrados em vítimas de várias doenças, observam-se valores similares^{13, 14,15}. Estes dados corroboram o uso desta metodologia como um bom indicador do estado nutricional de vitamina A da população.

Na análise dos nossos resultados, pode-se constatar que, de modo geral, a população de pessoas idosas apresenta-se com concentração de vitamina A acima do valor de normalidade estabelecido pela literatura, 20µg. Observa-se que 94% das amostras apresentaram concentração de vitamina A acima de 20µg/g. Este achado demonstra não ser esta população de risco para as complicações induzidas pelo déficit de vitamina A. Apesar de estarmos trabalhando com população de baixa renda, as concentrações de vitamina A encontradas refletem que, de um modo geral, a população tem uma ingestão adequada de alimentos ricos em vitamina A.

REFERÊNCIAS

1. Kerrigan WM. A Assembléia Mundial sobre o Envelhecimento. Saúde Mundo, p.7, fev/mar.,1982
2. Mahler H. Remoçando a velhice. In: Organização Mundial da Saúde. Dia Mundial da Saúde de 7 de abril de 1982: remoçar a velhice. Genebra, 1982.
3. Garry PJ, Goodwin JS, Hunt WC, Hooper EM, Leonar AG. Nutritional status in a healthy elderly population: dietary and supplemental intakes. Amer. J. din.Nutr. 1982, 36: 319-331.
4. Flores H, Ramalho RAG, Ribeiro ARLP. Intrahepatic destrubution of vitamin A in humans and rats. Internat. J. Vit. Nutr. Res. 1988, 58: 276-280.
5. Runcie J. Nutritional problems in the elderly. Practitioner 1981, 225: 1747-1752.
6. Vir SC, Love AHG. Nutrition evaluation of B groups of vitamins in institutionalized aged. Int. J. Vit. Nutr. Res. 1977, 47: 211-218.
7. Baker H, Frank O, Thind IS, Jaslow SP, Louria DB. Vitamins profiles in elderly persons living at home or in nursing homes, versus profiles in healthy young subjects. J. Amer. Geriat. Soc. 1970, 27: 444-450.
8. Flores H, Araújo CRC. Liver levels of retinol in unselected necropsy specimens: a prevalence survey of vitamin A deficiency in Recife, Brazil. The American Journal of Clinical Nutrition. 1984, 40: 146-152.
9. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Micronutrient Series, WHO/NUT. 1966, 10. Geneve, Switzerland.
10. Semba RD, Far Zadegan H, Vlahov D. Vitamin A levels and human immunodeficiency virus load in infection drug users. Clin Diagn Lab Immunol 1997; 4: 93-95
11. Jordão-Jr AA, Figueredo JF, Silveira S, Junqueira-Franco MV, Vannucchi H. Urinary excretion of vitamin A and thiobarbituric acid reactive substance AIDS patients. Rev Hosp Clin Fac São Paulo 1998; 53: 11-15. Underwood BA. The determination of vitamin A and some aspects of its distribution, mobilization and transport in health and disease. World Rev Nutr Diet 1974; 19: 123.
12. Underwood BA. The determination of vitamin A and some aspects of its distribution, mobilization and transport in health and disease. World Rev Nutr Diet 1974; 19: 123.
13. Smith BM, Malthus EM. Vitamin A content of human liver from autopsies in New Zealand. Br J Nutr 1962; 16: 213.
14. Hoppner K, Phillips WEJ, Erdoy RT, Murray TK, Perrin DE. Vitamin A reserves of Canadians. Can Med Assoc J 1969; 101: 736.
15. Mitchell GV, Young M, Seward CR. Vitamin A and carotene levels of a selected population in Metropolitan Washington, D.C. Am J Clin Nutr 1973; 26: 992.

DISCUSSÃO GERAL

A deficiência de vitamina A constitui um problema grave em mais de sessenta países¹. Sua prevalência é particularmente elevada na Ásia, África e América Latina. O Brasil foi classificado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Organização Pan-americana de Saúde (OPAS) como área de carência sub-clínica grave^{2,3}. Stephens et al.⁴ chamam a atenção para a subestimação do número de casos de carência sub-clínica de vitamina A, inclusive em países desenvolvidos. Atualmente a xerofthalmia é considerada apenas como a ponta do iceberg, sob a qual podem se encontrar diferentes proporções da população em estágios menos avançados (marginais) de carência⁵. Por muito tempo, o papel da carência de vitamina A em outras funções metabólicas foi quase ignorado, provavelmente devido à falta de indicadores sub-clínicos ou pré-patológicos da hoje denominada carência marginal^{6,7,8}. Calcula-se que o número de crianças com carência marginal de vitamina A seja de, aproximadamente, 10 vezes maior que o número de crianças com carência clínica^{9,10}.

A vitamina A exerce inúmeras funções no organismo^{11,12}. Dentre as funções, destacam-se, por sua relevância, a visão, o crescimento, o desenvolvimento e a manutenção do tecido epitelial, da função imunológica e da reprodução.

Na visão, a vitamina A faz parte da púrpura visual, uma vez que o retinol vai combinar-se com a proteína opsina, formando a rodopsina ou púrpura visual nos bastonetes da retina do olho, que exerce a função da visão na luz fraca, podendo levar a cegueira noturna. Sobre a depleção da vitamina A hepática e sérica (concentrações abaixo de 0,6µmol/L no plasma), observa-se que o período em que as modificações estruturais tornam-se irreversíveis é de mais ou menos 10 meses. O retorno à normalidade só é realizado após serem supridos os estoques da vitamina A¹³.

No sistema imunológico, há evidências de que a vitamina A modula a resposta de células fagocitárias, estimulando a fagocitose, a ativação da citotoxicidade mediada por células e o aumento de ativação de tímócitos^{14,15}. A deficiência de vitamina A está associada à redução da atividade de células NK e à habilidade dos hepatócitos em produzir interferon, essa deficiência leva também a uma redução na síntese de anticorpos contra polissacarídeos bacterianos e antígenos protéicos, bem como a piora do controle da infecção por micobacteriose e esquistossomose^{15,16,17}.

A vitamina A atua na diferenciação e crescimento das células epiteliais, sendo imprescindível no crescimento e desenvolvimento normais dos tecidos ósseo e dentário. Induz e controla a diferenciação do muco secretado no trato respiratório, causando a supressão das secreções normais, em caso de deficiência de vitamina A, com conseqüente irritação e infecção. A vitamina A tem ainda ação inibitória da queratinização, atuando no controle das lesões dermatológicas¹¹.

A deficiência de vitamina A parece aumentar a suscetibilidade à carcinogênese, havendo uma acentuada tendência à hiperplasia e à síntese de DNA com reduzida diferenciação celular¹⁸. O efeito anti-oncogênico se dá à custa da indução da diferenciação em células morfológicamente normais, supressão do fenótipo maligno, com inibição da proliferação celular e pela melhoria dos mecanismos de defesa^{18,19}.

Na gestação a vitamina A é importante para a reprodução, crescimento e desenvolvimento fetal, constituição da reserva hepática fetal bem como, para o crescimento tecidual materno. A concentração adequada de vitamina A traz benefícios para a função feto-placentária, pelo aumento nos níveis do hormônio progesterona¹¹. O diagnóstico da cegueira noturna gestacional tem permitido identificar as mulheres com maior risco de mortalidade a curto e longo prazo no período pós-parto, associada a processos infecciosos²⁰. Tanto a ingestão deficiente quanto a excessiva de vitamina A estão associadas a defeitos congênitos, dependendo de qual sistema estiver em fase de diferenciação. As alterações induzidas pela vitamina A sobre o feto podem provocar reabsorção de embriões e morte fetal²¹.

Em crianças, a deficiência sub-clínica de vitamina A causa um aumento da morbidade e da mortalidade. Também se observa ainda maior susceptibilidade de diarreia infecciosa e doenças do trato respiratório²².

Nos idosos, a associação da deficiência de vitamina A é maior em pessoas com má-nutrição proteicocalórica²³ com índice de massa corpórea reduzida.

Tem sido observada uma tendência para a diminuição dos níveis séricos de vitamina A em gestantes, especialmente no último trimestre da gestação²⁴. Por outro lado, as reservas de vitamina A são baixas em fetos, devido a barreira seletiva encontrada na placenta para a passagem desta vitamina para o feto, provavelmente para evitar os efeitos teratogênicos^{25,26}, levando, desta forma, a uma baixa de reserva hepática de vitamina A no recém-nascido, independentemente da dieta materna²⁷. Após o parto os estoques de vitamina A tendem a aumentar rapidamente, dependendo da alimentação recebida pelo recém-nascido²⁸. A concentração de vitamina A no leite materno é suficiente para suprir as necessidades diárias, em condições ideais de aleitamento. No entanto, se o leite for proveniente de nutrízes desnutridas ou com dieta pobre em vitamina A, ou ainda, caso a criança seja desmamada precocemente, as reservas continuarão baixas, aumentando as probabilidades de complicações provenientes da hipovitaminose A^{26,29}. Outra causa de baixa reserva de vitamina A em recém-nascidos é a pequena produção de RBP (Retinol-Binding Protein), em virtude da imaturidade hepática ao nascer³⁰.

Usualmente, a vitamina A é transferida da mãe ao filho em maior proporção durante os primeiros seis meses de lactação. No entanto, a concentração de vitamina A no leite materno pode ser extremamente baixa em lactentes de países em desenvolvimento³¹. Desta forma, um aporte satisfatório de vitamina A durante a lactação se reveste de grande importância a fim de garantir o suprimento adequado à criança durante os primeiros meses de vida, uma vez que é de se esperar que a reserva do recém-nascido seja construída após o nascimento. Por isso é, esse grupo populacional, o mais vulnerável aos efeitos nocivos da carência de vitamina A, principalmente devido ao rápido crescimento que ocorre nas crianças nos primeiros meses de vida³².

Em nossos estudos, apesar do pequeno número de casos, pudemos observar que existe uma tendência para um baixo acúmulo hepático de vitamina A no grupo de fetos e recém-nascidos. No grupo dos idosos, observamos uma elevada concentração

no acúmulo hepático da vitamina A. Avaliando que trabalhamos com amostras provenientes de pacientes, predominantemente, da classe social de baixa renda, podemos concluir que, na cidade do Recife, o grupo de risco para as complicações referentes à hipovitaminose A pertence às faixas etárias de feto e recém-nascidos, necessitando um aporte nutricional mais rico em vitamina A, bem como as mães em período de amamentação. O grupo da faixa etária dos idosos acha-se com elevadas concentrações de vitamina A, não necessitando um enfoque mais acurado quanto aos programas nutricionais. Esses achados estão de acordo com os dados observados em estudos semelhantes encontrados na bibliografia, mesmo em países mais desenvolvidos.

CONCLUSÕES:

Os resultados do presente estudo nos permitem concluir que:

- 1 – A concentração hepática de acúmulo de vitamina A em fetos e recém-nascidos variou entre 0,60µg/g e 83,45µg/g, com 76,5% das amostras estando na faixa de inadequada ou crítica.
- 2 – A concentração hepática de acúmulo de vitamina A em idosos, na cidade do Recife, variou entre 11,46µg/g e 937,34µg/g, com 94% das amostras tendo concentração de vitamina A acima do valor de normalidade.
- 3 – Recomenda-se a implantação de programas de educação nutricional em mulheres que estejam ainda amamentando, com intuito de eliminar a hipovitaminose A em crianças.
- 4 – Os dados observados na faixa etária de fetos e recém-nascidos indicam o reforço de programas de educação nutricional para as crianças em idade pré-escolar, para suprir as necessidades orgânicas que já vêm baixas desde o período gestacional.
5. – Considerando a literatura, o retinol hepático pode ser considerado um bom indicador do estado nutricional de vitamina A.

BIBLOGRAFIA

- 1 – Stoltzfus RJ, Underwood BA. Breast milk Vitamin A as an Indicator to Assess Vitamin A Status of Women and Infants. *Bull World Health Organ* 1995; 73 (5): 703-711.
- 2 – World Health Organization (WHO). Global Prevalence of Vitamin A Deficiency – Micronutrient Deficiencies Information System. Working Paper nº 2. Geneva: WHO; 1995. (Document WHO/NUT/ 95.3).
- 3 – McLaren D, Frigg M. Manual de Ver e Vivir Sobre Los Trastornos por Deficiencia de Vitamina A (VADD). Washington: OPAS/OMS; 1999.
- 4 – Stephens D, Jackson PL, Gutierrez Y. Sub clinical Vitamin A Deficiency. A Potentially Unrecognized Problem in the United States. *Pediatr Nurs* 1966; 22 (5): 377-456.
- 5 – Mora JO. Deficiencia de Vitamina A em América Latina y Caribe: Uma Reevaluación de la Situación. *Vital News* 1992; 3 (1): 1-2.
- 6 – Azais-Braesco V, Pascal G. Vitamin A in Pregnancy: Requirements and Safety Limits. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (5): 1325S-1333S.
- 7 – Barreto ML, Santos LP, Assis AO, Araújo MPN, Farenzena GG, Santos PAB, et al. Effect of Vitamin A Supplementation on Diarrhoea and Acute Lower-Respiratory-Tract Infections in Young Children in Brazil. *Lancet* 1994; 344 (8917): 228-231.
- 8 – Saunders C, Ramalho RA, Leal MC. Estado Nutricional de Vitamina A no Grupo Materno-Infantil. *Ver Brás Saúde Materno-Infantil* 2001; 1 (1): 21-29.
- 9 – Fawzi WW, Chalmers TC, Herrera MG, Mosteller F. Vitamin A Supplementation and Child Mortality – a Meta-Analysis. *JAMA* 1993; 306 (6874): 898-903.
- 10 – Glasxiou PP, Mackerras DEM. Vitamin A Supplementation in Infectious Diseases: a Meta-Analysis. *BMJ* 1993; 306 (6874): 366-370.
- 11 – Mahan LK, Stump SE. What is a Vitamin A? In: Krause's. *Food Nutrition & Diet Therapy*. 10ª ed, W.B.Saunders, Philadelphia, 2000: p.68-100.
- 12 – Ross AC. Vitamin A Status: Relationship to Immunity and the Antibody Response. *Proc Exp Biol Med* 1992; 200: 303-320.
- 13 – Franco G. Tabela de Composição Química dos Alimentos. 9ª ed., Atheneu, São Paulo; 1998: p 9-15.
- 14 – Bowman TA, Goonewardene IM, Pasatiempo AM, Ross AC, Taylor CE. Vitamin A Deficiency decreases Natural Killer Cells Activity and Interferon Production in Rats. *J Nutr* 1990; 120: 1264- 1273.
- 15 – Garbe A, Buck J, Hammerling U. Retinoids are Important Cofactors in T Cell Activation. *J Exp Med* 1992; 176: 109-117.
- 16 – Parent G, Rousseaux-Prevost R, Carlier Y, Capron A. Influence of Vitamin A on the Immune Response of *Schistosoma mansoni*-Infected Rats. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1984; 78: 380-384.

- 17 – Olson JA. Carotenoids and Human Health. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49: 7S-11S.
- 18 – Goss GD, McBurney MW. Physiological and Clinical Aspects of Vitamin A and its Metabolites. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1992; 29: 185-215.
- 19 – Umegaki K, Ikegami S, Inoue K, Ichikawa T, Kobayashi S, Soeno N, Tomabechi K. Beta-Carotene Prevents X-Ray Induction of Micronuclei in Human Lymphocytes. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 409-412.
- 20 – Kahhale S. Síndromes Hipertensivas. In: Zugaib M, Tedesco JJA, Quayle J. *Obstetrícia Psicossomática*. Atheneu, São Paulo, 1998: p 191-196.
- 21 – Phuapradit W. Plasma HIV-1 RNA viral load and Serum vitamin A and Levels in HIV-1 Infected Pregnant Women. *Aust NJS Obstet Gynaecol* 2000; 40: 78-80.
- 22 – Semba RD, Grahan NMH, Caiaffa WT. Increased Mortality Associated with Vitamin A Deficiency During Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *Arch Intern Med* 1993; 153: 2149-2154.
- 23 – Semba RD, Far Zadegan H, Vlahov D. Vitamin A Levels and Human Immunodeficiency Virus Load in Injection Drug Users. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4: 93-95.
- 24 – Rondo PHC, Abbot R, Rodrigues LC, Tomkins AM. Vitamin A, Folate, and Iron Concentrations in Cord and Maternal Blood of Intra-uterine Growth Retarded and Appropriate Birth Weight Babies. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1995; 49: 391-399.
- 25 – Gebre-Medhin M, Vahlquist A. Vitamin A in the human foetus. *Acta Paediatrica Scandinavica* 1984; 73: 333-340.
- 26 – Olson JA. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 1987; 45: 704-716.
- 27 – Gardner EM, Ross AC. Dietary vitamin A restriction produces marginal vitamin A status in young rats. *Journal of Nutrition* 1993; 123: 1435-1443.
- 28 – Wallingford JC, Underwood BA. Vitamin A deficiency in pregnancy, lactation, and the nursing child. In *Vitamin A: Deficiency and its Control* (J. C. Bauernfeind, ed); 1986, pp. 101-152, New York: Academic Press.
- 29 – WHO. Indicators for Assessing Vitamin A Deficiency and their Application in Monitoring and Evaluating Intervention Programmas (Micronutrient Series, 10). 1996. Geneva: WHO.
- 30 – Basu TK, Wein EE, Gangopadhyay KC, Wolever TMS, Godel JC. Plasma vitamin A (retinol) and retinol-binding protein in newborns and their mothers. *Nutrition Research* 1994; 14: 297-1303.
- 31 – Stoltzfus RJ, Underwood BA. Breast-milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. *Bulletin of the World Health Organization* 1995; 73: 703-711.
- 32 – Ramalho RA, dos Anjos LA, Flores H. Hipovitaminose A em Recém-Nascidos em duas Maternidades Públicas no Rio de Janeiro, Brazil. *Cad Saúde Pública* 1998; 14 (4): 821-827.

ANEXOS

ANEXO 1

LISTA DE ABREVIATURAS:

CCl ₄	Tetra cloreto de Carbono.
CD	Grupo de Diferenciação.
DNA	Ácido Desoxirribonucleico.
FAP	Proteína de Ativação de Fibroblasto.
GFAP	Proteína Ácida Glial-Fibrilar.
NK	Natural Killer.
OMS	Organização Mundial da Saúde.
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde.
RARs	Receptores de Ácido Retinóico.
RBP	Proteína Ligante ao Retinol.
RNA _m	Ácido Ribonucleico Mensageiro.
SMA	Actina de Músculo Liso
SVO	Serviço de Verificação de Óbitos.
TGF- α	Fator Transformador do Crescimento Alfa.
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa.

ANEXO 2

Tabela – Concentração hepática de vitamina A em fetos e recém-nascidos.

Amostra	Concentração de Vitamina A (µg/g)	Amostra	Concentração de Vitamina A (µg/g)
FRN-1	30,58	FRN-18	15,29
FRN-2	19,11	FRN-19	0,64
FRN-3	9,55	FRN-20	1,91
FRN-4	29,30	FRN-21	7,64
FRN-5	17,20	FRN-22	14,01
FRN-6	14,65	FRN-23	16,56
FRN-7	10,83	FRN-24	2,55
FRN-8	4,46	FRN-25	27,39
FRN-9	18,48	FRN-26	8,60
FRN-10	15,22	FRN-27	39,49
FRN-11	1,27	FRN-28	14,01
FRN-12	22,29	FRN-29	1,91
FRN-13	83,45	FRN-30	7,64
FRN-14	16,56	FRN-31	7,65
FRN-15	18,47	FRN-32	14,02
FRN-16	24,84	FRN-33	18,47
FRN-17	0,60	FRN-34	56,69

ANEXO 3

Tabela: Concentração de vitamina A em fígado de idosos.

Amostra	Idade (anos)	Concentração De Retinol (µg/g)	Amostra	Idade (anos)	Concentração de Retinol (µg/g)
I-1	66	244,90	I-26	78	222,95
I-2	85	78,03	I-27	66	143,33
I-3	80	234,41	I-28	61	117,54
I-4	73	159,57	I-29	72	21,66
I-5	83	51,91	I-30	74	79,31
I-6	71	126,12	I-31	90	18,15
I-7	76	31,21	I-32	60	33,76
I-8	85	155,43	I-33	67	99,37
I-9	63	178,99	I-34	88	636,95
I-10	70	159,57	I-35	63	14,97
I-11	73	119,44	I-36	60	11,46
I-12	87	352,26	I-37	74	199,70
I-13	63	289,83	I-38	87	36,94
I-14	60	937,34	I-39	62	134,41
I-15	80	123,58	I-40	76	37,26
I-16	89	119,75	I-41	65	74,21
I-17	77	158,61	I-42	91	21,02
I-18	64	156,70	I-43	73	71,64
I-19	60	152,88	I-44	78	177,40
I-20	76	46,18	I-45	68	238,87
I-21	85	47,77	I-46	83	189,51
I-22	62	100,64	I-47	70	32,48
I-23	95	617,25	I-48	65	130,90
I-24	70	36,31	I-49	61	514,37
I-25	81	151,31	I-50	81	30,90

ANEXO 4

OFÍCIO Nº 243/2005-CEP/CCS. APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS APROVANDO O PROJETO “CONCENTRAÇÃO DE RETINOL HEPÁTICO EM FETOS E RECÉM-NASCIDOS: UM INDICADOR DE CARÊNCIA DE VITAMINA A” REGISTRO CEP/CCS/UFPE Nº063/2005.

ANEXO 5

OFÍCIO Nº 243/2005-CEP/CCS. APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS APROVANDO O PROJETO “CONCENTRAÇÃO DE RETINOL HEPÁTICO EM IDOSOS A PARTIR DE SESSENTA ANOS: UM INDICADOR DE CARÊNCIA DE VITAMINA A”. REGISTRO CEP/CCS/UFPE Nº118/2005.

