

Universidade de São Paulo  
Faculdade de Saúde Pública

**Suplementação de vitamina A em pré-escolares de  
creches da cidade de Teresina, Piauí:  
avaliação de parâmetros bioquímicos, de marcadores  
imunológicos celulares e do estado nutricional**

**Adriana de Azevedo Paiva**

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Saúde Pública para obtenção  
do título de Doutor em Saúde Pública.

Área de Concentração: Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Helen de  
Carvalho Rondó.

São Paulo

2005



**Suplementação de vitamina A em pré-escolares de  
creches da cidade de Teresina, Piauí:  
avaliação de parâmetros bioquímicos, de marcadores  
imunológicos celulares e do estado nutricional**

**Adriana de Azevedo Paiva**

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Saúde Pública para obtenção  
do título de Doutor em Saúde Pública.

Área de Concentração: Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Helen de  
Carvalho Rondó.

São Paulo

2005

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta Tese, por processos fotocopiadores.

Adriana de Azevedo Paiva

São Paulo, fevereiro de 2005.

45 805/2005 doc

## *Dedicatória*

*Este trabalho é dedicado às centenas de crianças que tive a oportunidade  
e o prazer de conhecer e conviver durante o desenvolvimento dessa  
pesquisa...*

*Mais que dedicar, eu gostaria de agradecer...  
por cada gesto, por cada olhar, por cada pedido, pelos abraços, pelos  
sorrisos, pela beleza, pela curiosidade, pela pureza.*



*“Somos nós que fazemos a vida, como der, ou puder, ou quiser...”*

*Sempre desejada por mais que esteja errada.*

*Eu fico com a pureza das respostas das crianças...*

*“É a vida, é bonita e é bonita!”*

## *Agradecimentos*

*Esse trabalho é, antes de tudo, a realização de um sonho, o qual foi realizado graças ao apoio, incentivo e amizade de velhos e novos amigos, a quem tenho muito o que agradecer...*

*À Deus, por TUDO... pelas dificuldades que se tornaram estímulo, pelos obstáculos que se fizeram aprendizado, pelo fim que representa uma conquista, pela perseverança e fé que nunca me faltaram, pela oportunidade de evolução profissional e espiritual...*

*À Profa. Dra. Patrícia Helen de Carvalho Rondó, minha orientadora, agradeço pela orientação, segura, tranqüila, competente; bem como pela confiança em mim depositada, pela sua tolerância e incentivo, e, sobretudo, pela amizade.*

*À toda a minha família, mamãe, papai, Carla, Eduardo, Tatinha, Iva, Esdras, Juju, Bebella, Otávio e Samuel, que participaram de tantos imprevistos, de tantas aflições... "que toda a minha felicidade seja a de vocês". Também, à tia Walkíria e Eliene, que "entraram de gaiatas no navio", me salvando do naufrágio muitas vezes.*

*Ao Luis Gustavo, que me ajudou incondicionalmente, dividindo responsabilidades, sofrendo com a maratona da coleta de dados; me apoiando, incentivando e confortando, enxugando lágrimas e dividindo gargalhadas... "gostaria de dividir com você a alegria dessa conquista".*

*Às minhas amigas do peito, de sempre e prá sempre, Aldira e Rejane, uma arquiteta, a outra contadora, que tiveram de se tornar pesquisadoras provisórias para, mais uma vez, não me abandonarem em perigo... "um por todos e todos por um".*

*À Profa. Dra. Cecília Maria R. G. Carvalho, do Departamento de Nutrição/UFPI, pela fraterna amizade, pela ajuda no andamento da pesquisa e sugestões na redação da tese, e pelas palavras de conforto... Por estar sempre ao meu lado, na hora e momento certos.*

*À Profa. Dra. Denise Pimentel Bergamaschi, grande pessoa, grande amiga, pelos valiosos conselhos, prontidão e precioso auxílio nas análises estatísticas.*

*Às companheiras, colaboradoras e incentivadoras Dra. Lourdes R. A. Vaz de Lima e Dra. Carmem Aparecida Oliveira, do Instituto Adolfo Lutz/SP, pelo auxílio prestado em todas as etapas da pesquisa, desde o longo tempo de idealizações e planejamento, até o seu desenvolvimento e apresentação dos resultados...Minha sincera e eterna gratidão.*

*À Profa. Dra. Maria José Roncada pelas valiosas sugestões na ocasião da defesa do projeto de pesquisa e para o aprimoramento da tese, por suas palavras de incentivo e sabedoria que muito me estimularam na realização deste trabalho.*

*Ao Prof. Dr. Hélio Vanmucchi pela valiosa contribuição na ocasião da defesa do projeto de pesquisa e para o aprimoramento da tese, e por gentilmente disponibilizar o laboratório onde tive o primeiro contato com a metodologia HPLC.*

*À Dra. Mirthes Ueda, por gentilmente disponibilizar os serviços do Instituto Adolfo Lutz/SP para a determinação dos parâmetros imunológicos, e pelas valiosas sugestões para o aprimoramento da tese.*

*Às Professoras Dra. Sônia Buongiorno de Souza e Dra. Ignez Salas Martins pelas valiosas sugestões e gentil participação na banca de defesa da tese.*

*Às alunas do curso de nutrição da UFPI, Joilane, Iracelma e Graciane, que mesmo sem a disponibilidade de uma bolsa, trabalharam comigo voluntariamente, sem reservas, sem dia e sem hora. Que eu possa um dia retribuir.*

*À Wal, por colher as amostras de sangue, do começo ao fim, durante os dois anos de coleta de dados, muitas vezes com sacrifícios... Ao final, eu ganhei uma amiga.*

*Aos amigos Marcelo, Sandra e Larissa, pelo acolhimento tantas vezes em sua casa, com todo o carinho, tolerância e paciência... "a vocês todo o meu afeto e eterna gratidão".*

*Às amigas da pós-graduação Flávia, Suzana, Silmara, Luz Estela, Andréa C.G. e Andréa Madruga, por compartilharem os momentos fáceis e difíceis, e pela amizade conquistada... "nós dividimos o mesmo barco, que tenhamos toda a sorte e sucesso nas nossas praias".*

*À minha grande amiga Cacá, pela importante contribuição na redação do Abstract.*

*À bolsista de treinamento técnico da FAPESP, Vanessa Illison, e à bolsista de iniciação científica Maíra, pela grande ajuda no recebimento das amostras em São Paulo, bem como pela dedicação na implantação da metodologia HPLC e análises de retinol.*

*Às diretoras, professoras, merendeiras e demais funcionários das creches desse estudo, porque foram atuantes, e ajudaram com muita sinceridade e boa vontade. "Em todos os momentos senti o quanto vocês estavam dispostos a ajudar... Obrigada".*

*Às mães, pais e responsáveis pelas crianças estudadas, pelo compromisso, pela preocupação, pela confiança. "O meu grande e sincero obrigada".*

*À Secretária Municipal da Criança e do Adolescente, Teresina, PI, especialmente a Dra. Maria das Neves M. de S. Bezerra, pelo apoio no desenvolvimento da pesquisa.*

*Ao Ministério da Saúde do Brasil, à Secretária de Saúde do Estado do Piauí, e à Fundação Municipal de Saúde de Teresina pela doação de cápsulas de vitamina A.*

*À Dra. Rachel Gitau, do "Institute of Child Health, University of London" e Dr. Alceu Jordão Júnior, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, pelo valioso suporte metodológico prestado, com prontidão e competência.*

*Aos funcionários do Departamento de Nutrição, da Comissão de Pós-Graduação e da Biblioteca da Faculdade de Saúde Pública pela atenção e colaboração.*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelos auxílios concedidos.*

“O menino é infinito em si mesmo, ele não é um vir a ser. A pior coisa que se pode fazer para um menino, é prepará-lo para o futuro, pois isto só lhe trará angústias. Temos que preparar o menino para hoje, porque o futuro é feito de muitos hoje”.

Ziraldó, autor do personagem “O menino maluquinho”.



## RESUMO

Paiva AA. **Suplementação de vitamina A em pré-escolares de creches da cidade de Teresina, Piauí: avaliação de parâmetros bioquímicos, de marcadores imunológicos celulares e do estado nutricional.** São Paulo, 2005. [Tese de Doutorado - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo].

**Introdução.** A vitamina A é essencial para a saúde dos indivíduos e sua carência é considerada um problema de saúde pública em diversos países. Embora se reconheça a importância da vitamina A no funcionamento do sistema imunológico, os mecanismos envolvidos permanecem desconhecidos. **Objetivo.** O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da suplementação de vitamina A nos parâmetros bioquímicos, nos marcadores imunológicos celulares e no estado nutricional de pré-escolares com níveis deficientes, baixos e aceitáveis de retinol sérico. **Metodologia.** Foram estudados 631 pré-escolares matriculados em creches comunitárias de Teresina, Piauí. Determinaram-se os níveis de retinol nas amostras de soros das crianças por meio de técnica de HPLC. As crianças com retinol sérico  $< 0,80 \mu\text{mol/L}$  foram incluídas na coorte deste estudo, ficando composta por 66 crianças. Nas crianças da coorte foram determinados, antes e após a suplementação com 200.000 UI de vitamina A: os níveis de retinol sérico, os marcadores imunológicos celulares (células T CD4 e CD8, relação CD4/CD8, células “natural killer”, células T CD4 e CD8 “naive” e de memória) e o estado nutricional (através dos índices P/I, P/E e E/I). Também foram determinados o hemograma e a concentração de ferritina sérica antes da suplementação de vitamina A. Após a suplementação da vitamina as crianças foram acompanhadas por um período de dois meses consecutivos, efetuando-se o registro de ocorrências relacionadas à morbidade. Após esse período foi realizada nova avaliação dos níveis de retinol, dos marcadores imunológicos e do estado nutricional das crianças. **Resultados.** O nível médio de retinol sérico obtido na 631 crianças foi  $1,21 \mu\text{mol/L}$  (IC95%:  $1,17 - 1,25 \mu\text{mol/L}$ ), independente do sexo ( $p = 0,259$ ). A prevalência de crianças com hipovitaminose A (níveis deficientes e baixos de retinol) e de crianças com valores aceitáveis de retinol correspondeu a

15,4% (IC95%: 12,7 – 18,4%) e 29% (IC95%: 25,2 – 32,4). A avaliação do estado nutricional de ferro das crianças da coorte ( $n = 66$ ) mostrou a presença de anemia em 16,1% dessas crianças. Não foram verificadas diferenças significativas nas médias dos valores de hemoglobina, VCM, HCM e ferritina sérica entre as crianças com níveis deficientes e baixos de retinol e as crianças com níveis aceitáveis de retinol ( $p > 0,05$ ). Após a suplementação de vitamina A 91% das crianças atingiram níveis normais de retinol. Para as demais crianças da coorte (9%) houve aumento significativo na concentração de retinol, mas não o suficiente para ultrapassar os níveis aceitáveis ( $> 1,05 \mu\text{mol/L}$ ). Em relação ao estado nutricional, observou-se que antes da suplementação de vitamina A 9,4%, 1,6% e 19,3% das crianças da coorte apresentavam desnutrição segundo os índices P/I, E/I e P/E, respectivamente. Após a suplementação notou-se uma melhora do estado nutricional em relação aos índices P/I e E/I, com 4,7% das crianças com déficit de P/I e nenhuma criança com déficit de E/I. Em contrapartida, a prevalência de déficit de P/E aumentou para 30,7%. Após a suplementação de vitamina A observou-se um aumento estatisticamente significativo nos valores das células T CD8 em crianças com níveis deficientes e baixos de retinol ( $p = 0,0337$ ) e nos valores das células T CD4 “naive” em crianças com níveis aceitáveis de retinol ( $p = 0,0012$ ). A suplementação de vitamina A favoreceu o aumento significativo dos valores de células T CD8 e CD4 em crianças com anemia e hipovitaminose A concomitantes ( $p = 0,0357$ ). Em crianças com hipovitaminose A, porém sem anemia, verificou-se aumento significativo apenas para as células T CD8 (CD8 e CD8 de memória;  $p = 0,0455$  e  $p = 0,0045$ , respectivamente), sugerindo um efeito mais pronunciado da vitamina A na atividade imunológica de crianças que apresentavam as duas deficiências associadas. **Conclusão.** Os resultados do presente estudo mostraram que a suplementação de vitamina A exerceu um efeito positivo nos níveis de retinol sérico, em alguns componentes da imunidade mediada por células e no estado nutricional dos pré-escolares estudados.

**Descritores:** Vitamina A, sistema imunológico, infecção, anemia, pré-escolares.

## ABSTRACT

Paiva AA. **Supplementation of vitamin A in pre-school children from Teresina, Piauí: assesment of biochemical parameters, immune cellular markers and nutritional status.** São Paulo, 2005. [PhD Thesis – School of Public Health, University of São Paulo].

**Introduction.** Vitamin A is an essential nutrient for the health of individuals, and its lack is considered a public health problem in several countries. Although its importance for the function of immune system is acknowledged, the mechanisms of action remain unknown. **Objective.** The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation with vitamin A in the biochemical parameters, cellular immune activity and nutritional status of pre-school children with levels deficient, low and acceptable of serum retinol. **Methodology.** A total of 631 pre-school children enrolled in community daycare centers of Teresina, Piauí was studied. Levels of retinol in children were determined by means of HPLC, and those children with retinol  $< 0,80 \mu\text{mol/L}$  were included in the cohort of this study ( $n = 66$ ). In children enrolled in the cohort, before and after vitamin A supplementation, the following variables were determined: serum retinol, immune cellular markers (T cell CD4 and CD8, relation CD4/CD8, natural killer cell, T cell CD4 and CD8 naive and memory), and nutritional status (by P/I, P/E and E/I index). In addition, the hemogram and the serum ferritin were evaluated before vitamin A supplementation. After the children were supplemented with 200,000 UI of vitamin A they were followed-up for 2 months in a roll for recording the occurrences related to morbidity. After this period of time, a new evaluation of the retinol levels, immune parameters, and nutritional status of children was carried out. **Results.** The average level of serum retinol was  $1.21 \mu\text{mol/L}$  (CI95%:  $1.17 - 1.25 \mu\text{mol/L}$ ), regardless of gender ( $p = 0.259$ ). The prevalence of children with hypovitaminosis A and with acceptable values of serum retinol corresponded to 15.4% (CI95%:  $12.7 - 18.4\%$ ) and 29% (CI95%:  $25.2 - 32.4$ ), respectively. The evaluation of the children from cohort,

before vitamin A supplementation, showed the occurrence of anemia in 16.1% of children. There were no statistical differences between hemoglobin, MCV, MCH and serum ferritin obtained in children with levels deficient and low of serum retinol and obtained in children with levels acceptable of retinol ( $p > 0.05$ ). After vitamin A supplementation, 91% of children reached normal levels of retinol. In other children (9%) there was a significant increase in retinol concentration, but not enough to exceed the acceptable levels ( $>1.05 \mu\text{mol/L}$ ). Among the children from cohort study the malnutrition affected 9.4%, 1.6%, and 19.3% according to the evaluation of W/A, H/A e W/H index, before supplementation. After supplementation, an improvement in the nutritional status in relation to the W/A and H/A index was observed, being 4.7% of children presenting low W/A, and no children showed deficit of H/A. On the other hand, the prevalence of low W/H increased to 30.7%. After vitamin A supplementation we observed a significant increase of T CD8 values in children with levels deficient and low of retinol ( $p = 0.0337$ ), and of T CD4 naive in children with levels acceptable of retinol ( $p = 0.0012$ ). The vitamin A supplementation induced an increase of T CD8 and CD4 values in children with anemia and hypovitaminosis A ( $p = 0.0357$ ). In children with only hypovitaminosis A, we observed an increase of T CD8 (CD8 and CD8 memory;  $p = 0.0455$  e  $p = 0.0045$ , respectively). **Conclusion:** Our results show that the vitamin A supplementation had a positive effect on the serum retinol levels, any components of cellular immunity and the nutritional status of the children in this study.

**Descriptors:** Vitamin A, immune system, infection, anemia, pre-school children.

# ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	17
1.1. Magnitude e Conseqüências da Deficiência de Vitamina A	18
1.2. Relação entre Vitamina A e Infecção	24
<b>2. OBJETIVOS</b>	20
2.1. Objetivo Geral	32
2.2. Objetivos Específicos	32
<b>3. CASUÍSTICA E MÉTODOS</b>	33
3.1. Delineamento, Local e População	33
3.2. Amostragem	36
3.3. Execução da Pesquisa	37
3.4. Testes Laboratoriais	43
3.5. Análises Estatísticas	48
3.6. Questões Éticas	49
<b>4. RESULTADOS</b>	50
4.1. Abrangência do Estudo	50
4.2. Níveis de Retinol dos Pré-Escolares Estudados da Fase de Triagem	52
4.3. Estudo dos Pré-Escolares da Coorte	54
<b>5. DISCUSSÃO</b>	72
5.1. Validade do Estudo	72
5.2. Níveis de Retinol dos Pré-Escolares Estudados da Fase de Triagem	74
5.3. Estudo dos Pré-Escolares da Coorte	77
<b>6. CONCLUSÕES</b>	88
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	90
<b>8. REFERÊNCIAS</b>	92
<b>9. ANEXOS</b>	108

## LISTA DE TABELAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabela 1.1.</b> Prevalência de Hipovitaminose A (Retinol Sérico $\leq 20$ $\mu\text{g/dL}$ ) Em Pré-Escolares, Nordeste, Brasil	22
<b>Tabela 3.1.</b> Distribuição de Crianças de Estudo Segundo a Creche	35
<b>Tabela 4.1.</b> Variáveis (Média e DP) Apresentadas pelas Crianças da Coorte e pelas Crianças que não Concluíram o Estudo (Perda). Teresina, Piauí, 2004	52
<b>Tabela 4.2.</b> Distribuição Percentual de Pré-Escolares Segundo os Níveis Séricos de Retinol. Teresina, Piauí, 2004	53
<b>Tabela 4.3.</b> Número e Percentual de Pré-Escolares, Segundo as Características Sócio-Demográficas. Teresina, Piauí, 2004	55
<b>Tabela 4.4.</b> Número e Percentual de Pré-Escolares, Segundo as Condições de Habitação e Saneamento Básico. Teresina, Piauí, 2004	56
<b>Tabela 4.5.</b> Indicadores do Estado Nutricional de Ferro Segundo as Categorias de Níveis de Retinol. Teresina, Piauí, 2004	59
<b>Tabela 4.6.</b> Percentual de Crianças Classificadas Quanto ao Estado Nutricional Segundo os Índices P/I, E/I, P/E, Antes e Após Suplementação com Vitamina A. Teresina, Piauí, 2004	60
<b>Tabela 4.7.</b> Eventos Relacionados à Morbidade Apresentados pelas Crianças Durante o Período de Seguimento. Teresina, Piauí, 2004	63

<b>Tabela 4.8.</b> Número e Percentual de Pré-Escolares de Acordo com as Vacinas Recebidas Desde o Nascimento. Teresina, Piauí, 2004	65
<b>Tabela 4.9.</b> Médias dos Marcadores Imunológicos Celulares em Pré-Escolares Segundo Níveis de Retinol, Antes da Suplementação de Vitamina A. Teresina, Piauí, 2004	66
<b>Tabela 4.10.</b> Médias dos Marcadores Imunológicos Celulares em Pré-Escolares Segundo Níveis de Retinol, Antes da Suplementação de Vitamina A. Teresina, Piauí, 2004	67
<b>Tabela 4.11.</b> Médias dos Marcadores Imunológicos Celulares em Pré-Escolares Antes e Após a Suplementação de Vitamina A, Segundo Níveis de Retinol. Teresina, Piauí, 2004	69
<b>Tabela 4.12.</b> Médias dos Marcadores Imunológicos Celulares em Pré-Escolares com Níveis Deficientes e Baixos de Retinol ( $n = 32$ ), Antes e Após a Suplementação de Vitamina A. Teresina, Piauí, 2004	71

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.1.</b> Estrutura Química Geral da Vitamina A	19
<b>Figura 3.1.</b> Mapa de Teresina e Localização das Creches Incluídas no Estudo	34
<b>Figura 3.2.</b> Diferença e Média dos Valores de Retinol Mensurados em Duplicata de Amostras	45
<b>Figura 4.1.</b> Número de Pré-Escolares Participantes do Estudo. Teresina, Piauí, 2004	51
<b>Figura 4.2.</b> Distribuição de Pré-Escolares Segundo a Prevalência de Retinol Sérico em Níveis Deficientes ( $<0,35 \mu\text{mol/L}$ ), Baixos ( $0,35-0,69 \mu\text{mol/L}$ ) e Aceitáveis ( $0,70-1,04 \mu\text{mol/L}$ ), e Idade (Meses). Teresina, Piauí, 2004	54
<b>Figura 4.3.</b> Níveis Médios de Retinol Sérico Antes e Após a Suplementação com Vitamina A, de Acordo com o Estágio de Carência da Vitamina ( $n = 61$ ). Teresina, Piauí, 2004	57
<b>Figura 4.4.</b> Distribuição de Pré-Escolares Segundo o Peso para Idade (P/I), Antes e Após a Suplementação com Vitamina A. Teresina, Piauí, 2004	61
<b>Figura 4.5.</b> Distribuição de Pré-Escolares Segundo o Peso para Estatura (P/E), Antes e Após a Suplementação com Vitamina A. Teresina, Piauí, 2004	62
<b>Figura 4.6.</b> Distribuição de Pré-Escolares Segundo a Estatura para Idade (P/I), Antes e Após a Suplementação com Vitamina A. Teresina, Piauí, 2004	62





# *Introdução*

---

## 1. INTRODUÇÃO

A deficiência de vitamina A é conhecida há muito tempo, e sua importância foi registrada ainda em 1500 A.C., quando nos papiros de Éber, o mais antigo texto médico do ocidente, os egípcios recomendavam uma dieta rica em fígado no tratamento de distúrbios oculares (WOLF & PHIL 1978).

Em 1864, o médico brasileiro Manuel da Gama Lobo sugeriu a relação entre a nutrição e a integridade ocular. Ele descreveu a ocorrência de lesões oculares típicas da deficiência de vitamina A em crianças escravas, no Rio de Janeiro, e sugeriu que a causa dessa oftalmia seria a falta de nutrição adequada a que estavam submetidos os escravos (DINIZ e SANTOS 2000).

A descoberta e o isolamento da vitamina A só ocorreu posteriormente. Em 1913, a equipe do professor Elmer McCollum descobriu na manteiga e na gema de ovo um fator lipossolúvel que era estritamente necessário para o crescimento de ratos. Posteriormente, essa substância foi identificada como um fator curativo da cegueira nutricional, e passou a ser denominada de *vitamina A* (DINIZ e SANTOS 2000).

Ainda em meados do século XX, as investigações em animais e as observações clínicas em humanos sugeriram que a vitamina A era importante não apenas para a manutenção da integridade ocular, mas também exercia diversificadas funções no organismo, tais como favorecimento do crescimento adequado e proteção contra infecções (SOMMER 1995).

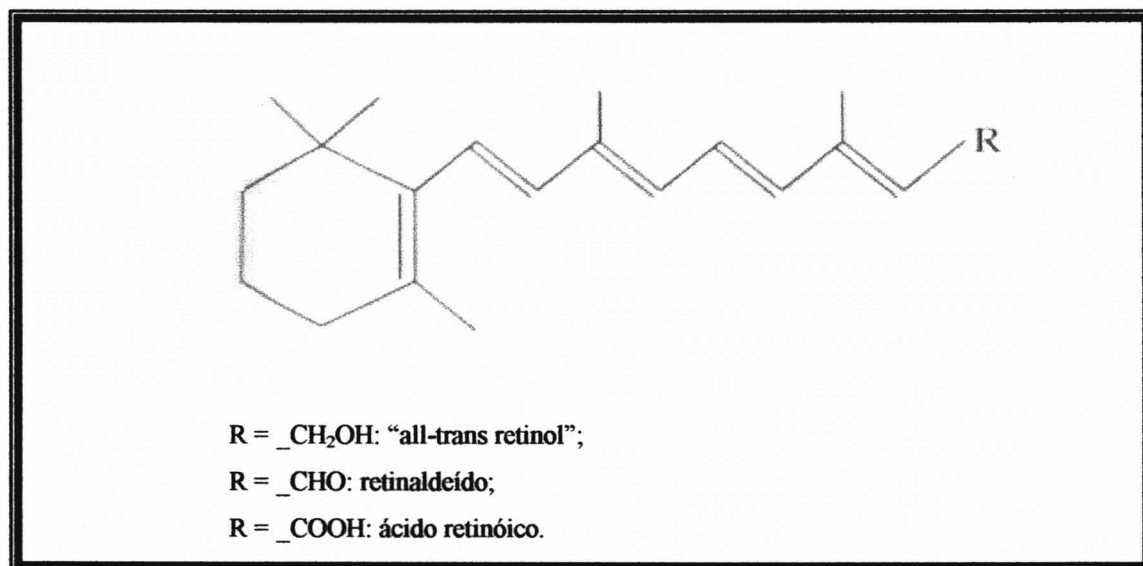
Em 1928, não muito depois de sua identificação, a vitamina A foi denominada de “vitamina anti-infecção” (ROSS e STEPHENSEN 1996). Por volta de 1960 observou-se que, entre os micronutrientes, nenhum representava melhor o sinergismo nutrição-infecção do que a vitamina A.

### **1.1 Magnitude e Conseqüências da Deficiência de Vitamina A**

O termo *Vitamina A* é genericamente empregado para designar todos os derivados da beta-ionona, excluindo os carotenóides, que possuem atividade biológica do “all-trans retinol”. Assim, os compostos como retinol, ácido retinóico e retinaldeído são genericamente denominados de vitamina A (Figura 1). Porém, em todos os tecidos, as funções da vitamina A são desempenhadas principalmente pela sua forma ácida (ácido retinóico) (RONCADA 1986; RONCADA 1998; McLAREN e FRIGG 2001).

A hipovitaminose A é definida como a “existência de reservas tissulares reduzidas e níveis baixos de vitamina A no soro, que podem ser conseqüência de uma deficiência prolongada e dar origem a graves lesões oculares” (OPAS 1970). Essa deficiência vem se destacando entre os principais problemas nutricionais, uma vez que, acomete a população da grande maioria dos países subdesenvolvidos, sobretudo crianças de 5 meses a 6 anos de idade (FAO 1991/1992; RUMORE 1993). Em 1995, estimava-se que a hipovitaminose A atingia até 250 milhões de crianças com idade inferior a 5 anos em regiões subdesenvolvidas (WHO 1995).

FIGURA 1.1. ESTRUTURA QUÍMICA GERAL DA VITAMINA A



*Adaptado de RONCADA 1998*

Na década de 60, a Organização Mundial de Saúde (OMS) patrocinou uma pesquisa para avaliar a deficiência de vitamina A em 50 países, a qual indicou que esta deficiência era endêmica no sul e leste da Ásia; e partes da África e América Latina (OOMEN *et al.* 1964). Em 1995, a OMS publicou uma monografia sobre a prevalência global de deficiência de vitamina A, que aponta o Brasil como uma região de risco de deficiência de vitamina A sub-clínica (WHO 1995).

Os estudos avaliando a hipovitaminose A em diversas regiões do Brasil desde a década de 70 sustentam esta informação (VARELA *et al.* 1972; RONCADA *et al.* 1978; RONCADA *et al.* 1981; SANTOS *et al.* 1983; FLORES *et al.* 1984; RONCADA *et al.* 1984; ARAÚJO *et al.* 1986; PRADO *et al.* 1995; SANTOS *et al.* 1996; FERRAZ *et al.* 2000; MARINHO 2000; RAMALHO *et al.* 2001).

Na região sudeste do Brasil, os primeiros estudos datam da década de 70, e tiveram o estado de São Paulo como local de estudo. Em 1975, RONCADA publicou os resultados de uma pesquisa envolvendo 1097 indivíduos com idade entre 15 a 60 anos, migrantes nacionais em trânsito pela Central de Triagem e Encaminhamento (CETREN), revelando que 25,1% dos indivíduos apresentavam valores de vitamina A sérica abaixo do normal. A autora demonstrou preocupação em relação a indivíduos de menor idade, ressaltando que: “se os valores encontrados indicam deficiência nutricional no adulto, somos conduzidos à ilação de que os indivíduos com idade abaixo de 15 anos devam apresentar estados carenciais ainda mais graves” (RONCADA 1975).

Em estudo publicado posteriormente, RONCADA *et al.* (1978) revelaram os resultados da avaliação realizada com os filhos dos migrantes em trânsito pela CETREN (109 crianças com idade entre 2 a 7 anos), onde verificaram que 51,4% das crianças apresentavam-se com valores baixos de vitamina A ( $< 20 \mu\text{g}/100\text{mL}$ ) e 13,9% apresentavam valores deficientes ( $< 10 \mu\text{g}/100\text{mL}$ ).

O Vale do Jequitinhonha tem sido apontado como uma área da região sudeste do Brasil onde a hipovitaminose A apresenta-se bastante preocupante. ARAÚJO *et al.* (1986), avaliando 2357 crianças menores de 12 anos nas cidades de Turmalina, Minas Novas e Capelinha, encontraram 5,8% e 26,9% de pré-escolares da zona rural com níveis deficientes e baixos de vitamina A, respectivamente. Na zona urbana, os autores encontraram 8,9% e 26,9% de pré-escolares respectivamente com níveis deficientes e baixos de vitamina A. O exame ocular realizado nas crianças mostrou alta incidência de xerose conjuntival nas zonas rural e urbana.

Estudos posteriores realizados em diversos municípios de São Paulo e em outros estados da região sudeste do Brasil, sugerem que a hipovitaminose A é um importante problema nutricional na região, e que requer atenção da comunidade científica e das autoridades governamentais (RONCADA *et al.* 1981; RONCADA *et al.* 1984; GONÇALVES-CARVALHO *et al.* 1995; FERRAZ *et al.* 2000; RAMALHO *et al.* 2001; FERRAZ *et al.* 2004).

Na região norte, MARINHO (2000) evidenciou percentuais de 15,5%, 19,6% e 32,4%, em crianças com 3 a 6 anos de idade, com valores menores que 20 µg/100mL nas cidades de Boa Vista, Manaus e Porto Velho, respectivamente.

O nordeste brasileiro, por se tratar de uma das regiões mais pobres do país, onde a desnutrição protéico-calórica, anemia ferropriva e outras carências nutricionais atingem uma grande parcela da população, tem sido alvo de muitos estudos sobre a hipovitaminose A (VARELA *et al.* 1972; SANTOS *et al.* 1983; FLORES *et al.* 1984; PRADO *et al.* 1995; SANTOS *et al.* 1996; MARTINS *et al.* 2004). Os estudos apontam uma prevalência elevada de hipovitaminose A em pré-escolares nessa região, conforme apresenta a Tabela 1.1.

**TABELA 1.1. PREVALÊNCIA DE HIPOVITAMINOSE A (RETINOL SÉRICO  $\leq 20 \mu\text{g/dL}$ )  
EM PRÉ-ESCOLARES, NORDESTE, BRASIL**

Estado	Faixa etária	N	%	Fonte (Ano)
	(meses)	Total	$\leq 20 \mu\text{g/dL}$	
Ceará (capital)	6 – 59	271	39,9	McAULIFFE (1991)
Ceará (interior)	6 – 59	244	31,1	McAULIFFE (1991)
Paraíba (capital)	14 – 72	203	17,7	McAULIFFE (1991)
Paraíba (interior)	12 – 59	236	16,1	McAULIFFE (1991)
Pernambuco (capital)	24 – 72	2.619	34,1	McAULIFFE (1991)
Bahia (interior)	0 – 72	554	55,1	McAULIFFE (1991)
Bahia (semi-árido)	6 – 72	161	44,7	PRADO <i>et al.</i> (1995)
Bahia (semi-árido)	0 – 72	563	54,7	SANTOS <i>et al.</i> (1996)
Sergipe	6 – 60	603	32,1	MARTINS <i>et al.</i> (2004)

No Piauí, até o momento, não foram realizados estudos que descrevam a prevalência da hipovitaminose A de acordo com a avaliação de marcadores bioquímicos. No entanto, alguns estudos realizados em Teresina, com base em inquéritos alimentares, indicaram que o consumo de alimentos fontes de vitamina A por crianças da região é insatisfatório, o que poderia levar a uma carência desta vitamina. CRUZ *et al.* (2001), avaliando o consumo de vitamina A em crianças assistidas em creches de Teresina, observaram que as crianças recebiam uma dieta com apenas 29% da adequação da oferta de vitamina A em relação às suas necessidades.

A avaliação do estado de vitamina A de uma população é um ponto de partida importante para determinar a magnitude, a gravidade e a distribuição da deficiência de vitamina A, com o intuito de identificar e caracterizar áreas e populações de risco e,

assim, orientar o desenvolvimento de programas de intervenção que visem o controle do problema. Além disso, é igualmente importante para avaliar o impacto de tais programas (WHO 1996). Tal avaliação pode ser conduzida mediante a utilização de indicadores biológicos (funcionais, bioquímicos e histológicos) e indicadores ecológicos (relacionados a antropometria e padrões alimentares) (WHO 1996; McLAREN e FRIGG 2001).

Clinicamente, a deficiência de vitamina A é identificada principalmente pela presença de manifestações oculares. Tais manifestações, que constituem a síndrome xerofáltica, ocorrem principalmente em três estruturas oculares: a retina, a conjuntiva e a córnea, que variam desde alterações no nível bioquímico/funcional (cegueira noturna) a variações no nível estrutural (*fundus xerofthalmicus*) (McLAREN e FRIGG 2001).

Mesmo na ausência de sinais clínicos, é consenso que a deficiência de vitamina A acarreta significativos efeitos deletérios ao organismo, podendo se manifestar com alterações no sistema imune e com déficit no crescimento e no desenvolvimento de crianças (UNDERWOOD 1994). No entanto, a deficiência de vitamina A subclínica é difícil de ser determinada, uma vez que, não existe um indicador definitivamente apropriado. Os indicadores bioquímicos são mais sensíveis do que o diagnóstico clínico, e incluem a determinação do retinol sérico ou plasmático, o retinol ligado à proteína (RBP), o "Relative Dose Response" (RDR), o RDR modificado (mRDR) e o "Serum 30-day dose-response test" (+S30DR) (UNDERWOOD 1994; WHO 1996; FERAZ *et al.* 2004).



Os níveis séricos ou plasmáticos de retinol constituem o indicador mais comumente utilizado para avaliar o estado nutricional de vitamina A. No entanto, apresenta algumas limitações: poucas horas após a ingestão de doses elevadas de vitamina A há nítida elevação dos níveis plasmáticos de retinol, sendo que, a magnitude da resposta plasmática e a duração da elevação dependem da dose recebida. Ainda, em indivíduos com reserva hepática adequada de vitamina A, a redução no consumo dietético da vitamina não exerce uma influência rápida na redução dos valores sanguíneos de retinol. (UNDERWOOD 1994; GONÇALVES-CARVALHO 1997; DINIZ e SANTOS 2000).

## **1.2 Relação entre Vitamina A e Infecção**

O final da década de 80 pode ser considerado como um marco no estudo bioquímico e molecular da vitamina A, uma vez que, nesta época, foram descobertos os receptores do ácido retinóico (GIGUERE *et al.* 1987; MANGELSDORF *et al.* 1990), e a partir de então, ocorreram muitos avanços no estudo da relação entre vitamina A e infecção.

Os estudos desenvolvidos nas duas últimas décadas indicaram que algumas infecções são mais graves e geram maior risco de morte quando as reservas teciduais de vitamina A são esgotadas, independentemente da presença de sinais clínicos (UNDERWOOD 1994; SEMBA 199a; STEPHENSEN 2001).

Os estudos epidemiológicos têm identificado uma associação entre a deficiência de vitamina A subclínica e altas taxas de morbidade e mortalidade por doenças infecciosas

em crianças, sendo notado o declínio nos valores de retinol sérico e de RBP durante a infecção (RUMORE 1993; VELASQUEZ-MELENDZ *et al.* 1994). De acordo com BEATON *et al.* (1993), a suplementação com vitamina A em crianças de países em desenvolvimento pode reduzir a mortalidade infantil de 20 a 30%.

O efeito da vitamina A na redução da mortalidade infantil por doenças infecciosas parece estar relacionado à sua participação, direta ou indiretamente, nos mecanismos de defesa do organismo, influenciando tanto os componentes da imunidade inata (natural) como os da imunidade adaptativa (adquirida).

O sistema imune inato consiste de barreiras epiteliais, fagócitos circulantes (principalmente neutrófilos e macrófagos), células citotóxicas (tais como as células “natural killer”) e algumas proteínas (lisozima, proteínas do sistema complemento e proteínas de fase aguda). Esse sistema representa a primeira linha de defesa contra agentes infecciosos, e é regulado pelas citocinas pró-inflamatórias (interleucinas IL-1, IL-6 e IL-12; e fator de necrose tumoral-TNF $\alpha$ ), e antiinflamatórias (interleucina IL-10) (WILSON 1997; ROITT *et al.* 1999; STEPHENSEN 2001).

A persistência de uma infecção leva a uma resposta imune adaptativa, caracterizada por: especificidade, memória e diversidade, com capacidade de responder a milhões de antígenos diferentes. Essa resposta é mediada tanto pela produção de anticorpos por células imunológicas presentes no plasma (linfócitos B) como pela atuação de linfócitos T ativados: linfócitos auxiliares ou “helper” (T CD4) e linfócitos citotóxicos (T CD8) (WILSON 1997; STEPHENSEN 2001).

---

A imunidade adaptativa pode ser classificada em dois componentes: a imunidade humoral (mediada por anticorpos) e a imunidade celular (mediada por células), as quais desempenham importante papel na defesa do hospedeiro contra agentes infecciosos de natureza extracelular, e na erradicação de agentes patogênicos intracelulares, respectivamente (WILSON 1997; ROITT *et al.* 1999).

Os estudos têm se preocupado em investigar o efeito da vitamina A em cada um dos componentes do sistema imunológico, e apesar de muitos avanços, o conhecimento obtido até o momento é insuficiente para esclarecer o complexo mecanismo de interação entre a vitamina A e o sistema imune.

A pele é uma importante barreira contra a infecção, e a deficiência de vitamina A provoca inchaço e queratinização das suas camadas, mas não obrigatoriamente compromete a sua função de proteção. Porém, nas mucosas da conjuntiva ocular e dos tratos respiratório, gastrointestinal e urogenital, a deficiência de vitamina A promove o comprometimento da função de barreira externa. Desta forma, favorece a diminuição na produção de muco e reduz a resistência à infecção por agentes patogênicos, propiciando o surgimento de infecções (CHANDRA 1988; SOMMER e WEST JR 1996; STEPHENSEN 2001). Além disso, a deficiência de vitamina A pode resultar em metaplasia escamosa e conseqüente dificuldade de regeneração no tecido epitelial dos órgãos do sistema respiratório, gastrointestinal e urogenital (SOMMER e WEST JR 1996).

Vários estudos têm alertado sobre uma maior suscetibilidade a infecções respiratórias e diarreia em crianças que apresentam deficiência de vitamina A, ressaltando que a

incidência de infecção respiratória aumenta de acordo com a gravidade da xeroftalmia em crianças (RUMORE 1993; SOMMER e WEST JR. 1996). PASATIEMPO *et al.* (1989) demonstraram que animais deficientes em vitamina A tiveram uma resposta de anticorpo anti-polissacáride de pneumococos significativamente diminuída quando comparados ao grupo controle.

Os trabalhos experimentais têm relatado menor resistência à infestação intestinal parasitária em animais deficientes em vitamina A, observando-se maior número de larvas penetrando a mucosa intestinal (JACOB 1992).

A vitamina A apresenta importantes propriedades imunomoduladoras, e os estudos realizados em animais de experimentação ou por meio de cultura celular demonstraram que a vitamina A e alguns retinóides foram capazes de influenciar em muitos aspectos da imunidade, compreendendo hematopoiese, apoptose, crescimento celular, diferenciação e função de neutrófilos, de células “natural killer”, de monócitos/macrófagos, de linfócitos T e B, equilíbrio entre células “helper” tipo 1 e células “helper” tipo 2, produção de anticorpos, expressão de citocinas, etc (ROSS e STEPHENSEN 1996; SEMBA 1998; STEPHENSEN 2001).

A ação da vitamina A sobre as células fagocitárias ainda é objeto de muitos estudos, uma vez que não existe consenso sobre o assunto. SEMBA (1998) referiu que a deficiência de vitamina A não obrigatoriamente afeta o número de neutrófilos circulantes. No entanto, alguns estudos realizados *in vitro* ou com animais de laboratório observaram que a vitamina A ocasionou um discreto aumento no número destas células (NAUSS *et al.* 1979; ZHAO e ROSS 1995). A maioria dos estudos

sugere que, independentemente de afetar o número de neutrófilos circulantes, a deficiência de vitamina A pode causar prejuízos na função destas células (NAUSS *et al.* 1979; ZHAO e ROSS 1995; SEMBA 1998).

Em relação aos macrófagos, os estudos indicam que a deficiência de vitamina A provoca uma intensificação do processo inflamatório mediado por essas células, devido a um aumento na produção de IL-12 e interferon, além de causar prejuízo na função fagocitária dos macrófagos. Assim, pode haver um aumento da replicação dos agentes patogênicos no local da infecção, com conseqüente piora do quadro infeccioso, inflamação e estimulação de respostas imunes secundárias, que foi observado tanto em infecções bacterianas (WIEDERMANN *et al.* 1996) como virais (NAUSS *et al.* 1985).

De acordo com SEMBA (1998), a deficiência de vitamina A pode promover redução no número e na atividade das células “natural killer” em animais. Estudos indicaram que o efeito protetor dessas células no estágio inicial de uma infecção viral encontra-se consideravelmente diminuído em ratos deficientes de vitamina A (DAWSON *et al.* 1999; STEPHENSEN 2001).

Em humanos, os poucos estudos disponíveis que avaliaram a relação entre a vitamina A e as células “natural killer”, resultaram em achados controversos. HUSSEY *et al.* (1996), estudando crianças portadoras de AIDS, demonstraram que a suplementação com mega doses de vitamina A ocasionou um aumento no número de células “natural killer” no sangue circulante. Contrariamente, JASON *et al.* 2002, estudando crianças acompanhadas em um hospital em Malawi, observaram um aumento no número de células “natural killer” em crianças que apresentavam deficiência de vitamina A.

A literatura refere que a atividade dos linfócitos B é modulada pela vitamina A, mas não está claro se existe um efeito direto da vitamina sobre estas células, ou se a modulação ocorre por intermédio de estimulação indireta, através da ação da vitamina nas células T CD4 e na liberação de citocinas, ou ainda, por ambos os mecanismos (STEPHENSEN 2001).

Alguns autores sugeriram que o retinol acelera o crescimento e a ativação dos linfócitos B no homem (BUCK *et al.* 1990), bem como, o 14-hydroxy-4,14-retro-retinol, um metabólito do retinol, exerça um papel de mediador do crescimento destas células (BUCK *et al.* 1991). Também foi verificado que o tratamento de linfócitos B *in vitro* com ácido retinóico induziu a maior secreção de IgM, IgG (BALLOW *et al.* 1996) e IgA (STEPHENSEN *et al.* 1996), e influenciou a apoptose (STEPHENSEN 2001).

Os linfócitos humanos contêm retinol e ácido retinóico em sua estrutura (SKLAN *et al.* 1995), e a ativação dos linfócitos T requer a ação do retinol (GARBE *et al.* 1992). A deficiência de vitamina A afeta o tecido linfóide e existem evidências de atrofia do timo em crianças com deficiência de vitamina A associada à desnutrição. Por outro lado, não existe consenso sobre a ocorrência de atrofia do timo em crianças com deficiência de vitamina A sem desnutrição (WEST JR *et al.* 1991).

SIJTSMA *et al.* (1990), estudando aves infectadas com vírus e deficientes de vitamina A, observaram um prejuízo na função dos linfócitos T citotóxicos (T CD8) nesses animais. Em humanos, SEMBA *et al.* (1993) não observaram mudança significativa no número de células T CD8 de crianças, cinco semanas após receberem suplementação com vitamina A.

Em estudo com ratos, CARMAN *et al.* (1989) verificaram que a deficiência de vitamina era associada com a perda de linfócitos T CD4 nos nódulos linfáticos. Concordando com esses achados, SEMBA *et al.* (1993) observaram um aumento significativo, embora discreto, no número de linfócitos T CD4 “naive” de crianças suplementadas com vitamina A, quando comparadas com crianças que receberam placebo. Ainda, os autores relataram um aumento na relação T CD4/CD8 nestas crianças após a suplementação com vitamina A.

Vale ressaltar a importância de se considerar a presença de outras carências nutricionais comumente associadas à deficiência de vitamina A, tais como a deficiência de ferro, no estudo da relação entre a vitamina A e o sistema imunológico, uma vez que outros nutrientes parecem também afetar o sistema imune (BHASKARAM 2001).

Não está claro se a deficiência de ferro associada a hipovitaminose A poderia influenciar na ação da vitamina A na atividade imunológica. Os estudos investigando isoladamente o papel do ferro no sistema imune têm apontado os efeitos da deficiência deste mineral em várias fases da resposta imune, mostrando alterações mais pronunciadas na imunidade mediada por células. Em ratos, a deficiência de ferro tem sido associada à diminuição na atividade das células “natural killer”, bem como na resposta exercida pelos linfócitos B (LEVY 1998).

Em humanos os estudos não têm sido conclusivos (OPPENHEIMER 2001). Os estudos prospectivos desenvolvidos até a década de 70, envolvendo populações de países desenvolvidos, alertaram para o fato da possibilidade da suplementação com ferro ser

---

uma medida eficaz na redução de infecções respiratórias em crianças (ANDELMAN e SERED 1966; CANTWELL 1972).

Contudo, os estudos subseqüentes não confirmaram tais achados. BERGER *et al.* (2000) avaliaram o impacto da suplementação oral com ferro nos parâmetros hematológicos e na imunidade celular em crianças de idade entre 6 a 36 meses. Os autores observaram um efeito significativo na reversão do quadro de deficiência de ferro, mas não verificaram impacto na incidência de infecções, incluindo a malária. Os autores não fizeram qualquer menção quanto às alterações no percentual de linfócitos B e T.

De acordo com o exposto, evidencia-se a necessidade de mais esclarecimentos sobre a ação da vitamina A no sistema imune de humanos. Os estudos indicam que a vitamina A exerça influência sobre a atividade imunológica mediada por células, no entanto, os mecanismos envolvidos permanecem desconhecidos. Além disso, as conseqüências decorrentes da carência sub-clínica de vitamina A sobre a atividade imunológica em humanos foi pouco estudada, e requer estudos adicionais.

Acredita-se que o desenvolvimento desta pesquisa possa contribuir no conhecimento sobre a associação entre a vitamina A e a atividade imunológica celular de crianças com estado nutricional inadequado em relação à vitamina A. O estudo deverá contribuir também com o conhecimento dos primeiros dados sobre a ocorrência de hipovitaminose A no Estado do Piauí, especificamente em sua capital, Teresina.





# *Objetivos*

---

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

Avaliar o efeito da suplementação de vitamina A nos parâmetros bioquímicos, nos marcadores imunológicos celulares e no estado nutricional de pré-escolares com níveis deficientes, baixos e aceitáveis de retinol sérico.

### **2.2. Específicos**

- Identificar os pré-escolares com níveis deficientes, baixos e aceitáveis de retinol sérico;
- Avaliar os níveis de retinol sérico e os índices antropométricos dos pré-escolares antes e após suplementação de vitamina A;
- Avaliar os marcadores imunológicos celulares antes e após a suplementação com vitamina A, controlando-se o estado nutricional de ferro.





## *Casuística & Métodos*

---

### **3. CASUÍSTICA E MÉTODOS**

#### **3.1. Delineamento, Local e População**

Este estudo é uma parte do Projeto Temático intitulado “O Impacto da Suplementação com Vitamina A no Sistema Imunológico de Pré-Escolares”, desenvolvido em parceria entre os Departamentos de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública/USP, da Universidade Federal do Piauí e da Universidade do Chile e o Instituto Adolfo Lutz de São Paulo.

Trata-se de um estudo de coorte, prospectivo, de intervenção, realizado no município de Teresina, capital do estado do Piauí, região nordeste do Brasil.

Teresina é uma cidade planejada fundada em 1852, localizada entre os rios Poty e Parnaíba, a qual apresenta área geográfica total de 1679,8 Km<sup>2</sup> e população de 751 464 habitantes, tendo como principal atividade econômica o comércio (IBGE 2000). A escolha desta cidade para o desenvolvimento do estudo se deu pela sua localização na região nordeste do Brasil, considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como região de risco de deficiência de vitamina A sub-clínica. Outro motivo para a escolha foi a inexistência de pesquisas sobre o problema da deficiência de vitamina A nessa cidade, com base em dados bioquímicos.

O estudo envolveu todas as crianças elegíveis com idade de 36 a 83 meses (3 a 6 anos, 11 meses, 29 dias), freqüentadoras de cinco creches comunitárias localizadas em quatro regiões da cidade (norte, sul, leste e sudeste). As creches comunitárias de Teresina são assim denominadas por serem mantidas pela Prefeitura do



município em conjunto com a comunidade, apresentando uma característica mista no que se refere à manutenção de suas despesas. As creches se destinam à assistência da população que reside nos bairros ou vilas próximos a elas, cujo perfil é de uma população com baixo poder aquisitivo e baixo nível de escolaridade (TERSINA 1996). A figura 3.1 apresenta o mapa da cidade com localização aproximada das creches do estudo.

**FIGURA 3.1. MAPA DE TERESINA E LOCALIZAÇÃO DAS CRECHES INCLUÍDAS NO ESTUDO**



As creches foram selecionadas por conveniência, entre um total de 63, por não terem participado de programas de suplementação de vitamina A nos quatro anos anteriores à presente pesquisa.

Os critérios de exclusão das crianças no projeto foram: transfusão de sangue e hemoderivados, suplementação de ferro e/ou vitamina A nos últimos seis meses, terapêutica imunossupressora ou corticoterapia, doença crônica, infecção por HIV ou qualquer processo infeccioso grave no início ou no decorrer da pesquisa. A inclusão da criança no estudo dependeu da participação dos pais ou responsáveis em reunião, onde foram expostos os objetivos e procedimentos da pesquisa. O total de crianças matriculadas em cada creche e o número de crianças envolvidas no estudo estão apresentados na tabela 3.1.

**TABELA 3.1. DISTRIBUIÇÃO DE CRIANÇAS DO ESTUDO SEGUNDO A CRECHE**

CRECHE	Crianças Matriculadas	Zona Urbana	Crianças Estudadas*
Creche Comunitária da Vila Irmã Dulce	210	Sul	135
Creche Comunitária Residencial Firmino Filho	210	Sudeste	106
Creche Comunitária Ladeira do Uruguai	210	Leste	131
Creche Comunitária Dom Avelar	210	Leste	134
Creche Comunitária Tia Vangi	225	Norte	125

\* *Crianças estudadas = crianças matriculadas – (crianças excluídas + crianças cujos responsáveis não compareceram às reuniões).*

*Nota: Nenhuma criança deixou de participar do estudo por recusa formal dos responsáveis.*

Foram inicialmente envolvidas no estudo 631 crianças, com as quais foi realizado o exame para a determinação dos níveis de retinol sérico. Em seguida foram selecionadas as crianças que apresentaram níveis deficientes, baixos e aceitáveis de retinol para compor a amostragem da coorte do estudo. Essa seleção foi realizada considerando-se os seguintes pontos de corte, estabelecidos pela OMS (WHO 1996):

- níveis deficientes de retinol sérico:  $< 0,35 \mu\text{mol/L}$ ;
- níveis baixos de retinol sérico:  $\geq 0,35 \mu\text{mol/L}$  e  $< 0,70 \mu\text{mol/L}$ ;
- níveis aceitáveis de retinol sérico:  $\geq 0,70 \mu\text{mol/L}$  e  $< 1,05 \mu\text{mol/L}$ .

Em relação à categoria com níveis de retinol sérico aceitáveis, foram selecionadas para compor a coorte do estudo somente as crianças cujos valores de retinol foram  $\geq 0,70 \mu\text{mol/L}$  e  $< 0,80 \mu\text{mol/L}$ . Esse procedimento foi realizado com a intenção de estudar as crianças que apresentavam níveis de retinol aceitáveis bem próximos ao ponto de corte que caracteriza a deficiência sub-clínica de vitamina A.

### **3.2. Amostragem**

O tamanho da amostra foi estabelecido com base em um estudo que avaliou as alterações no sistema imune infantil (SEMBA 1993), visto que não há disponibilidade de valores de referência precisos para os testes de avaliação imunológica de crianças em idade semelhante ao do presente estudo. Além disso, foi considerada a viabilidade financeira para o desenvolvimento da pesquisa.

O tamanho da coorte ( $n$ ) foi estipulado em 100 crianças, e estimou-se que pelo menos 625 crianças deveriam ser inicialmente avaliadas (triagem) para alcançar tal  $n$ . Essa estimativa foi realizada considerando-se a menor prevalência de deficiência de vitamina A observada no nordeste brasileiro (16,1%, na Paraíba) (MCAULIFFE *et al.* 1991).

### **3.3. Execução da Pesquisa**

Os dados dessa pesquisa foram colhidos no período de março de 2003 a agosto de 2004. As creches foram estudadas uma por vez e os procedimentos na creche seguinte eram iniciados quando se estava finalizando o estudo na creche anterior. Os procedimentos realizados na colheita de dados foram divididos em três fases, as quais são descritas a seguir.

- **Fase I: Triagem**

A primeira fase compreendeu a triagem de crianças para compor a coorte. Os pais ou responsáveis foram convidados a participar de reunião onde foram esclarecidos os objetivos e os procedimentos da pesquisa. Ao final da reunião, o pai, a mãe ou a pessoa responsável pela respectiva criança recebeu orientação individual e foi agendada a data para realização da colheita de sangue, que aconteceu geralmente na mesma semana ou na semana seguinte à reunião.



As crianças foram selecionadas para a colheita de sangue respeitando-se os critérios de exclusão e inclusão estabelecidos para a pesquisa. Quando a criança não era selecionada, os motivos eram explicados aos seus pais ou responsáveis.

Após a orientação e seleção das crianças para o exame sangüíneo, a pesquisadora e a mãe ou o responsável pela criança assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1). Em seguida, foram obtidas as informações sócio-econômicas e demográficas das crianças e de suas respectivas famílias mediante a aplicação de questionário específico respondido pela mãe ou responsável, com o objetivo de caracterizar as condições de vida de tais crianças (Anexo 2).

Todas as crianças que não haviam recebido prévia medicação à base de vermífugo nos últimos 2 meses, inclusive as que não foram selecionadas para participar do presente estudo, receberam dois tipos de medicamento sete a dez dias antes da colheita de sangue, acompanhado de orientação para o uso e posologia:

- 1) Albendazol: Frasco com 10 mL de suspensão, para administração em dose única. Este medicamento possui efeito similar ao do mebendazol, atuando como anti-helmíntico polivalente. O medicamento é efetivo contra infecções por *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Taenia sp* e *Strongyloides stercoralis*.
- 2) Metronidazol: Frasco com 80 mL de suspensão oral, contendo 40 mg/mL. O medicamento combate as infecções causadas por *Trichomonas vaginalis*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*.

A administração de vermífugos para as crianças deste estudo foi realizada no sentido de controlar o possível efeito das infestações parasitárias na absorção da vitamina A, uma vez que infecções por *Ascaris lumbricoides* e *Giardia lamblia* podem prejudicar a absorção desta vitamina (MAHALANABIS *et al.* 1979; TANUMIHARDJO *et al.* 1996).

#### *Obtenção das amostras de sangue*

Amostras de sangue foram colhidas de criança em jejum de 8 horas, no início da manhã, por punção venosa periférica utilizando-se agulhas e seringas descartáveis (Becton & Dickinson - B&D, Argentina).

Foram colhidos 2 mL de sangue, em tubos transparentes sem anticoagulante, envolvidos em papel alumínio. Os tubos contendo as respectivas amostras foram tampados e acondicionados durante o processo de colheita em caixa de isopor contendo gelo reciclável, de forma a amenizar perdas do analito em questão, uma vez que vitamina A é sensível à luz, ao oxigênio (BARRETO-LINS 1988; RONCADA 1998) e ao calor (BARRETO-LINS 1988). Após a retração do coágulo o soro foi separado por centrifugação a 1 500 rpm por 10 minutos (Centrifuga TOMY, modelo IC-15AN, Tominaga Works LTD, Tóquio, Japão), no ambiente em penumbra.

Cada amostra de soro foi dividida em duas alíquotas, que foram acondicionadas em tubos do tipo “ependorf” de cor âmbar e transparentes. Ambas alíquotas foram acondicionadas em caixa de isopor contendo gelo seco e foram enviadas por via aérea para São Paulo: uma das alíquotas foi enviada ao Laboratório de Micronutrientes da Faculdade de Saúde Pública-USP para determinação dos níveis de retinol sérico e outra

à Seção de Sorologia do Instituto Adolfo Lutz, para a execução de teste de detecção de anticorpos anti-HIV (Anti Human Immunodeficiency Virus).

• **Fase II: Pré-suplementação**

Todas as crianças cujos valores de retinol sérico apresentaram concentração  $< 0,8$   $\mu\text{mol/L}$  foram convidadas para a segunda fase do estudo. Uma nova data para colheita de sangue foi agendada com os pais ou responsáveis, sendo reforçada a orientação para fazer o jejum de 8 horas na véspera do exame. Foram obedecidos os mesmos horários e os procedimentos da colheita de sangue anterior.

Nesta fase, foram colhidos 6 mL de sangue venoso, que foram distribuídos da seguinte forma:

- 2 mL de sangue colhidos em tubo contendo anticoagulante  $\text{K}_3\text{EDTA}$ ;
- 4 mL colhidos em tubo seco, transparente e sem anticoagulante, para obtenção do soro;
- o sangue total remanescente retido na seringa foi utilizado para preparar o esfregaço em lâmina de microscopia.

As amostras de sangue colhidas em tubos contendo anticoagulante foram divididas em duas alíquotas:

- uma das alíquotas de sangue total foi destinada para a quantificação e imunofenotipagem de marcadores celulares de sub-populações de linfócitos T e de células “natural killer”, sendo acondicionadas em

temperatura ambiente, em caixas de isopor contendo gelo reciclável, isolado por papelão para evitar que as amostras de sangue entrassem em contato direto com o gelo. As amostras foram enviadas por via aérea para o Laboratório de Citometria de Fluxo, na Seção de Sorologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo-SP.

- a outra alíquota de sangue foi destinada para realizar o hemograma completo, que foi realizado em laboratório privado na cidade de Teresina.

As amostras de sangue colhidas em tubos secos foram centrifugadas a 1500 rpm durante 10 minutos, e os soros resultantes foram utilizados para determinação de ferritina sérica, que foi realizada em laboratório privado na cidade de Teresina.

Após a colheita de material sanguíneo foi realizada a avaliação antropométrica das crianças. O peso corporal da criança descalça foi verificado em balança do tipo digital (SOHNLE). A altura foi aferida, mantendo-se a criança em posição ereta, descalça, com pés unidos e em paralelo, utilizando-se antropômetro (MICROTOISE) afixado na parede sem rodapé. Foram construídos os índices peso para idade (P/I), peso para estatura (P/E) e estatura para idade (E/I) em escores Z calculados em relação à população de referência do National Center for Health Statistics (NCHS 1977).

Após a segunda colheita de sangue, as crianças envolvidas no estudo receberam uma dose única de cápsula contendo 200 000 UI, conforme recomendação do Fundo das Nações Unidas para a Infância - UNICEF (OMS/UNICEF/GCIVA 1998). A suplementação de vitamina A foi oferecida também às demais crianças da creche, excluindo-se aquelas que haviam sido suplementadas nos últimos seis meses.

---

- **Fase III: Pós-suplementação**

Decorridos dois meses após a suplementação, as crianças da coorte foram submetidas a uma nova avaliação laboratorial. Nessa terceira fase, foram colhidos 3 mL de sangue venoso, que foram distribuídos da seguinte forma:

- 1 mL de sangue colhido em tubos contendo anticoagulante K<sub>3</sub>EDTA;
- 2 mL de sangue colhidos em tubos transparentes sem anticoagulante, envolvidos em papel alumínio, para obtenção do soro.

As amostras de sangue colhidas com anticoagulante foram utilizadas para nova avaliação dos marcadores imunológicos celulares, no Laboratório de Citometria de Fluxo do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, sendo enviadas por via aérea, em caixa de isopor com gelo reciclável isolado por papelão, empregando-se o procedimento anteriormente descrito.

As amostras de sangue colhidas em tubo sem anticoagulante foram centrifugadas (1500 rpm por 10 minutos); os soros resultantes foram enviados por via aérea em caixa de isopor contendo gelo seco, para determinação de retinol sérico no Laboratório de Micronutrientes da Faculdade de Saúde Pública - USP.

Após a colheita de sangue, foi aplicado o formulário para recolher os dados referentes à ocorrência de fatores intercorrentes que pudessem comprometer o estado de saúde das crianças acompanhadas (Anexo 3).

Em seguida, foi realizada a avaliação antropométrica, utilizando-se os mesmos procedimentos e instrumentos da fase pré-suplementação. Nessa ocasião, foram

entregues os resultados de exames realizados anteriormente e foram distribuídos os suplementos de ferro para as crianças que haviam apresentado deficiência do nutriente.

### 3.4. Testes Laboratoriais

- **Retinol sérico**

A determinação do retinol sérico foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), seguindo-se o procedimento técnico descrito por ERHARDT *et al.* (2002). O equipamento utilizado foi o cromatógrafo líquido (LC-10Avp, Shimadzu Corporation, Analytical Instruments Division, Kyoto, Japão), constituído de bomba (SCL-10Avp), detector UV-VIS munido de lâmpada de deutério (SPD-10Avp) e injetor manual; e controlado pelo programa de “software” Class-vp 6.12 SP 5. A separação cromatográfica foi feita em coluna de fase reversa C<sub>18</sub> (Shimadzu LC Column – CLC-ODS “M” 25 cm; 4,6 mmID X 25 cm – 5 µm).

A fase móvel composta por 80% acetonitrila, 3% metanol (100 Mm acetato de amônio, 0,1% trietilamina) e 15% dioxano, foi bombeada pelo sistema por fluxo de 1,5 mL/min, com pressões de 0,0 a 350,0 Kgf, sendo o retinol detectado a 325 nm. O tempo de retenção do retinol foi de 3,5 minutos e o tempo de corrida de 5 minutos.

Após o preparo das soluções, foram feitas oito injeções de padrão de retinol diluído em várias concentrações conhecidas variando de 1:20 a 1:50 µl, para que fosse construída a curva de calibração, indispensável para a determinação dos valores encontrados nas amostras das crianças, por comparação.

A preparação das amostras para a injeção de 50  $\mu$ l no HPLC consistiu em descongelamento do soro em temperatura ambiente e acondicionamento em microtubos de cor âmbar, sendo esses procedimentos realizados na penumbra. Foram pipetados 100  $\mu$ L de solução de extração (BHT, butanol e etanol) e 50  $\mu$ L de soro em microtubo âmbar, homogeneização, centrifugação e separação de aproximadamente 90  $\mu$ L de sobrenadante, com posterior refrigeração até o momento de injetar no HPLC.

Os procedimentos para o teste de recuperação foram realizados a cada 3 semanas, para identificar o quanto estava sendo recuperado. Nesse teste foram utilizados 50  $\mu$ L de uma mistura soro e padrão de retinol (200  $\mu$ L de soro e 20  $\mu$ L de padrão de retinol), os quais foram colocados em microtubo de 0,5 mL com 100 $\mu$ L de solução de extração.

Os limites de detecção e quantificação foram estabelecidos em, no máximo, 3 vezes maior do que altura do ruído de base e a limpeza do equipamento foi realizada diariamente, após o término das determinações realizadas em cada dia.

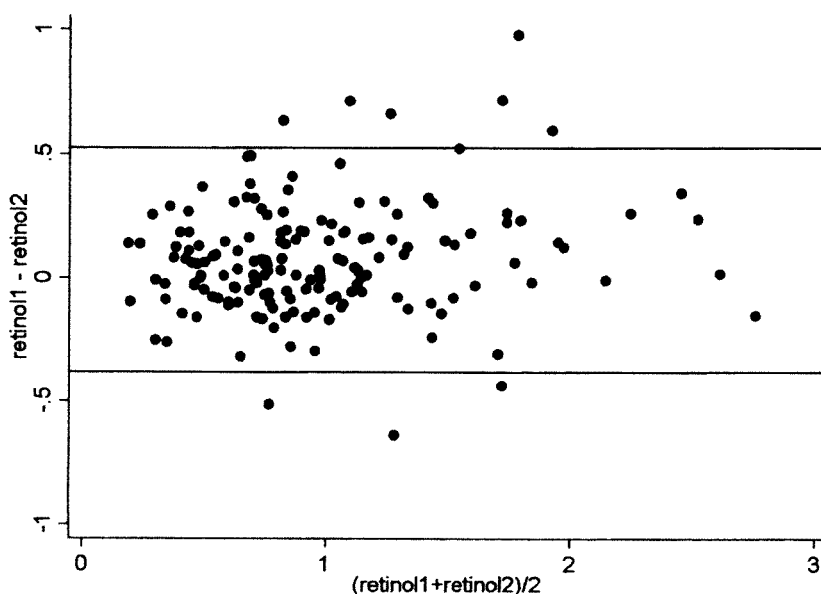
### ***Controle de qualidade dos valores de retinol sérico***

Como um dos procedimentos do processo de controle de qualidade analítica da determinação dos níveis de retinol, foi realizada a avaliação da repetibilidade de amostras em duplicata, para uma sub-amostra de crianças ( $n = 163$ ). Vale ressaltar que para a avaliação da repetibilidade o recomendável é considerar no mínimo três determinações; no entanto, por questões financeiras, isso não foi possível neste estudo.

Os testes estatísticos utilizados para o estudo de repetibilidade foram o coeficiente de correlação intraclassa ( $r_{icc}$ ) estimado pela Análise de Variância (ANOVA), modelo com

um fator aleatório; e análise da dispersão, segundo o gráfico de BLAND e ALTMAN (1986). Nesse gráfico foi apresentada a dispersão de pares de valores dados pela média das medidas e pela diferença entre elas, indicando-se o limite inferior (diferença média - 2 DP) e o limite superior de concordância (diferença média + 2 DP). Os resultados revelaram  $r_{icc}$  igual a 0,894 [IC (95%): 0,863 - 0,925]; a variabilidade dos resultados apresentou-se independente de sua magnitude, com 95% das diferenças entre a primeira e segunda medida dentro dos limites de concordância (Figura 3.2).

**FIGURA 3.2 DIFERENÇA E MÉDIA DOS VALORES DE RETINOL SÉRICO MENSURADOS EM DUPLICATA DE AMOSTRAS**



- **Teste de detecção de anticorpos anti- HIV**

Para a determinação qualitativa de anticorpos anti-HIV-1/2 foi utilizado o “kit” de reagentes de ensaio imunoenzimático *Vironostica*<sup>®</sup> *HIV Uni-Form II plus O* (bioMérieux bv - Boxtel, Holanda), seguindo-se o procedimento recomendado pela



firma fabricante. Para a detecção de anticorpos anti-HIV nas amostras de soros empregou-se o algoritmo de testes sorológicos para anticorpos anti-HIV, regulamentado pelo Programa Nacional de DST/Aids pela Portaria N° 59/GM/MS de 28/01/2003.

- **Hemograma**

O hemograma completo foi realizado por meio de analisador hematológico Cell Dyn 1400 (Abbott, EUA), que se baseia nos seguintes princípios:

- Impedância elétrica: para quantificação dos eritrócitos e das plaquetas e para a mensuração de seus respectivos volumes;
- Dispersão de raios laser polarizados: para quantificação e qualificação dos leucócitos;
- Análise fotométrica pelo método da cianometahemoglobina para a dosagem da concentração de hemoglobina.

- **Ferritina sérica**

A ferritina sérica foi determinada pelo método de quimioluminescência, utilizando-se o equipamento IMMULITE (DPC, EUA). Amostras de 100 µl de soro e a enzima fosfatase alcalina foram incubados na unidade teste, por um período de 30 minutos, a 37°C, para a reação imunológica. A enzima foi capturada proporcionalmente pela concentração do analito na amostra (ensaio do tipo sanduíche). A unidade teste foi então lavada e o substrato luminescente adicionado. A leitura da reação luminescente, a qual envolveu um éster e a produção de flash de luz, com amplificação da reação no equipamento, foi feita após 10 minutos.

- **Ensaio de imunofenotipagem para a quantificação de sub-populações de linfócitos T e de células “natural killer” por citometria de fluxo**

A quantificação de Linfócitos T CD3+, CD4+ e CD8+ e de células “natural killer” foi realizada com o auxílio do citômetro de fluxo FACSCalibur (B&D, San Jose-CA, EUA). Para a realização da imunofenotipagem de sub-populações de linfócitos T foram utilizados os anticorpos monoclonais (AcMo) conjugados a compostos fluorescentes (Tritest™ - B&D Immunocytometry Systems, San Jose-CA, EUA), marcados com os seguintes fluorocromos: o isotiocianato de fluoresceína (FITC) conjugado ao AcMo anti-CD4, a ficoeritrina (PE) conjugada ao AcMo anti-CD8 e a proteína peridrina clorofila (PerCP) conjugada ao AcMo anti-CD3. A quantificação de células “natural killer” foi realizada empregando-se reagente TriTEST®, composto de AcMo anti-CD3/anti-CD56+CD16+/anti-CD45, marcados respectivamente com FITC, PE e PerCP.

Para o processamento das amostras foram utilizados os tubos TruCount (B&D) contendo esferas de referência marcadas com os fluorocromos acima mencionados. Nesses tubos, foram pipetados 20 µL de anticorpos monoclonais Tritest™ (B&D) e 50 µL de sangue total das amostras; esses tubos foram colocados em ambiente ao abrigo de luz durante 15'. Foram, então, adicionados 450 µL de solução de lise (FACS™ Lysing Solution – B&D), diluída a 1:10 em água destilada. A mistura foi incubada por 15' à temperatura ambiente e ao abrigo de luz. Posteriormente, as amostras foram adquiridas no citômetro de fluxo; a aquisição e a análise das amostras foram realizadas com o auxílio do programa Multiset (B&D). A contagem de células “natural killer” foi efetuada com software CellQuest (B&D).

A quantificação de linfócitos T CD4 e CD8 “naive” e de memória foi realizada por meio de imunofenotipagem, com o auxílio do citômetro de fluxo. A imunofenotipagem foi realizada empregando-se AcMo anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, anti-CD45 RA e anti-CD45 RO, marcados com citocromo C, FITC, e PE, respectivamente. A aquisição de amostras e análise dos resultados foi realizada com o emprego do programa CellQuest (BD). A padronização dos parâmetros de aquisição e a calibração do citômetro de fluxo foram realizadas em todos os ensaios, com inclusão de controles isotípicos para cada amostra; os controles foram convenientemente marcados com os mesmos fluorocromos ligados aos AcMo utilizados em cada série. Nestes ensaios foram utilizados tubos Falcon (BD) para citometria de fluxo.

Após a etapa de incubação com a solução de lise, para a quantificação de linfócitos T CD4 e CD8 “naive” e de memória, as amostras foram centrifugadas a 1500 rpm por 5'; o sedimento foi lavado com 1 mL de tampão fosfato 0,01 M, pH 7.2 (PBS). Esse procedimento foi repetido duas vezes. Ao final, as amostras foram re-suspensas em 500  $\mu$ L de solução de lise. A aquisição foi realizada em até 24h após o processamento e o material para aquisição foi armazenado ao abrigo da luz, a +4 a +8 °C.

### **3.5. Análises Estatísticas**

Para o armazenamento e análise estatística dos dados foram utilizados os programas Epi-info, versão DOS 6.04 e Stata, versão 7, e para todos os testes estatísticos realizados neste estudo foi considerado o nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%. A descrição da amostra estudada foi feita utilizando-se as frequências absolutas e relativas, médias, desvios padrão e intervalo de confiança.

As prevalências dos níveis deficientes, baixos e aceitáveis de retinol foram estimadas por ponto e intervalo de confiança de 95%. Consideraram-se razões de prevalência na análise de associação com o sexo.

A análise das diferenças de médias das variáveis de interesse, segundo as categorias de crianças com níveis deficientes, baixos e aceitáveis de retinol, foi realizada utilizando-se a Análise de Variância (ANOVA) com teste de Bonferroni ou o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, para três amostras independentes. Para a análise de duas amostras independentes foram utilizados o teste *t de Student* ou o teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Para a avaliação da diferença de média das variáveis antes e após a suplementação de vitamina A foi utilizado o teste não paramétrico de Wilcoxon (Signed Rank Sum).

### **3.6. Questões Éticas**

O desenvolvimento deste estudo obedeceu aos requisitos da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde do Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE 1997), e as normas internas da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, que regulamentam pesquisas envolvendo seres humanos.

O projeto foi submetido e aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, da Universidade Federal do Piauí e foi, também, submetido à Comissão Nacional de Ética (CONEP).



## *Resultados*

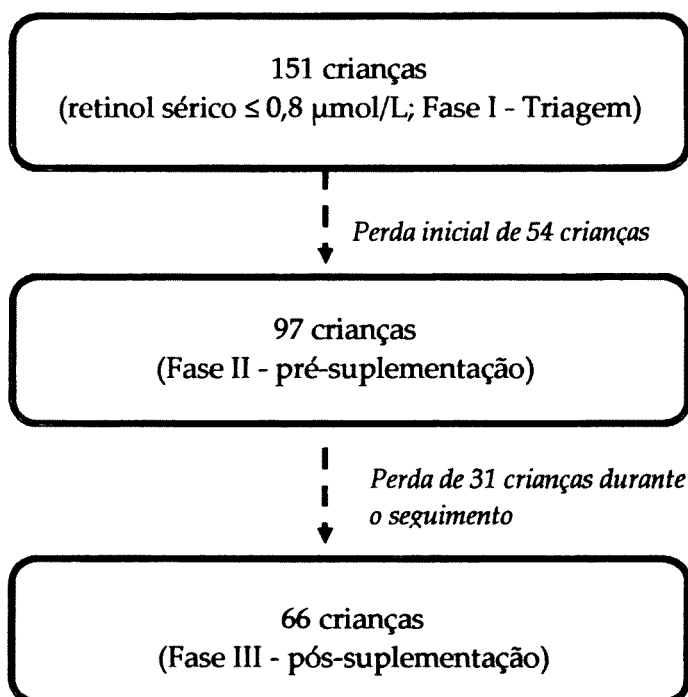
---

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Abrangência do Estudo

O presente estudo incluiu 631 crianças de idade de 36 a 83 meses, matriculadas em cinco creches comunitárias de Teresina, Piauí, o que correspondeu a 63,8% do total de crianças (990 crianças) matriculadas nessas creches. Das 359 crianças não participantes do estudo, quarenta e nove foram excluídas por terem recebido a suplementação de vitamina A ou de ferro nos últimos seis meses, cinco por apresentarem patologias crônicas relevantes (câncer hepático, cardiopatia, anemia falciforme, disfunção de tireóide ou doença neurológica) e vinte por apresentarem processo infeccioso acompanhado de febre na ocasião da colheita de sangue. As demais 285 crianças não foram incluídas no estudo por não terem comparecido à reunião ou ao local de exame de sangue. Nenhum pai ou responsável manifestou recusa à participação da respectiva criança na pesquisa.

Entre as 631 crianças estudadas, 151 (23,9%) apresentaram valores de retinol sérico < 0,8  $\mu\text{mol/L}$  e foram convidadas a compor a coorte; dessas, 66 concluíram o estudo de avaliação da imunidade celular, conforme mostrado no diagrama a seguir (Figura 4.1). A maior perda aconteceu entre as fases I e II (54 crianças) e após a terceira tentativa mal-sucedida de recrutar a criança para a realização dos testes imunológicos, considerou-se a ausência como uma recusa à continuidade na pesquisa.

**FIGURA 4.1 - NÚMERO DE PRÉ-ESCOLARES PARTICIPANTES DO ESTUDO.****TERESINA, PIAUÍ, 2004**

Para as trinta e uma crianças que não compareceram entre as fases II e III, foram observados os seguintes motivos: onze mudaram de residência ou de creche, ou estavam em viagem; duas tiveram varicela; cinco não compareceram aos encontros para a realização de exames, mesmo após a confirmação de comparecimento; e de doze crianças, não houve possibilidade de conseguir-se amostra de sangue em quantidade suficiente para a realização dos exames laboratoriais.

A Tabela 4.1 apresenta a comparação de algumas características observadas nas crianças da coorte e naquelas que não concluíram o estudo (perda). Não se verificou diferença estatisticamente significativa entre as variáveis idade, renda per capita e níveis de retinol sérico antes da suplementação com vitamina A nos dois grupos de crianças (teste *t de Student*,  $p > 0,05$ ).

**TABELA 4.1 - VARIÁVEIS (MÉDIA E DP) APRESENTADAS PELAS CRIANÇAS DA COORTE E PELAS CRIANÇAS QUE NÃO CONCLUÍRAM O ESTUDO (PERDA).**

**TERESINA, PIAUÍ, 2004**

<i>Variáveis</i>	<i>Crianças da coorte</i> <i>Média (DP)</i> <i>(n = 66 crianças)</i>	<i>Perda</i> <i>Média (DP)</i> <i>(n = 85 crianças)</i>	<i>Valor de p</i>
Idade (meses)	60,5 (12,8)	56,1 (13,9)	0,050
Renda per capita (R\$)	76,4 (167,5)	83,9 (178,8)	0,792
Retinol sérico ( $\mu\text{mol/L}$ )	0,598 (0,149)	0,617 (0,149)	0,438

#### **4.2. Níveis de Retinol dos Pré-Escolares Estudados na Fase de Triagem**

Entre as 631 crianças estudadas, 54% eram do sexo masculino. Estimou-se o nível médio de retinol sérico de 1,21  $\mu\text{mol/L}$ , com IC (95%): 1,17 – 1,25  $\mu\text{mol/L}$ , independentemente do sexo do pré-escolar ( $p = 0,259$ ).

A Tabela 4.2 apresenta a distribuição de pré-escolares segundo os valores de retinol sérico, em categorias definidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS 1996). As crianças com hipovitaminose A (retinol < 0,70  $\mu\text{mol/L}$ ) e com valores aceitáveis de retinol (entre 0,70 e 1,05  $\mu\text{mol/L}$ ) corresponderam respectivamente a 15,4% [IC (95%): 12,7 – 18,4%] e 29% [IC (95%): 25,2 – 32,4%].



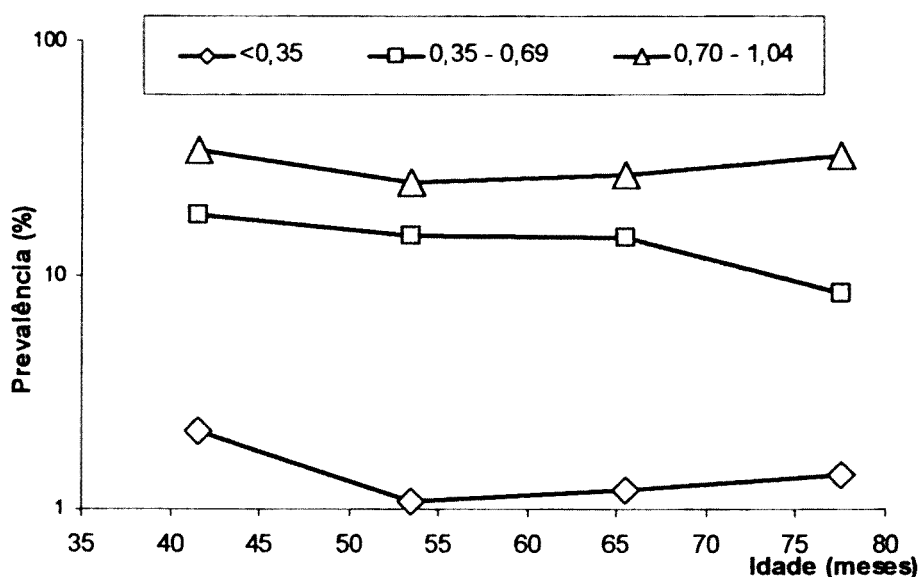
**TABELA 4.2 - DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DE PRÉ-ESCOLARES SEGUNDO OS NÍVEIS SÉRICOS DE RETINOL. TERESINA, PIAUÍ, 2004**

<i>Nível de retinol sérico (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</i>	<i>Feminino (%) (n=288)</i>	<i>Masculino (%) (n=343)</i>	<i>Total (%) (n=631)</i>	<i>Razão de prevalência</i>	<i>IC (95%)</i>
Deficiente (< 0,35)	0,69	2,04	1,43	2,94	0,62- 14,04
Baixo ( $\geq 0,35$ e < 0,70)	13,89	13,99	13,95	1,01	0,68 - 1,49
Aceitável ( $\geq 0,70$ e < 1,05)	29,51	28,57	29,00	0,97	0,76 - 1,24
Normal ( $\geq 1,05$ )	55,90	55,39	55,63	0,99	0,86 - 1,14

As prevalências de níveis de retinol deficiente, baixo e aceitável variaram segundo a idade da criança, observando-se uma tendência à diminuição da prevalência de níveis baixos ( $\geq 0,35$  e < 0,70  $\mu\text{mol/L}$ ) principalmente a partir do 65º mês de vida. Observou-se também tendência de queda da prevalência entre crianças de 40 a 55 meses de idade com nível deficiente de retinol sérico (< 0,35  $\mu\text{mol/L}$ ) (Figura 4.2).

Como o Estado do Piauí participa do Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A, uma entre cada duas crianças estudadas já havia sido suplementada pelo menos uma vez desde seu nascimento. A informação sobre a suplementação prévia de vitamina A, era desconhecida em 10% das crianças.

**FIGURA 4.2 - DISTRIBUIÇÃO DE PRÉ-ESCOLARES SEGUNDO A PREVALÊNCIA DE RETINOL SÉRICO EM NÍVEIS DEFICIENTES ( $< 0,35 \mu\text{mol/L}$ ), BAIXOS ( $0,35 - 0,69 \mu\text{mol/L}$ ) E ACEITÁVEIS ( $0,70 - 1,04 \mu\text{mol/L}$ ) E IDADE (MESES). TERESINA, PIAUÍ, 2004**



### 4.3. Estudo dos Pré-Escolares da Coorte

- **Características Sócio-Econômicas e Demográficas**

A coorte ficou composta em sua maioria por crianças do sexo masculino (67%), de cor não-branca (84,8%). A média de idade (DP) observada nas crianças analisadas foi de 60,5 meses (12,8 meses), e não houve diferença significativa da média de idade entre os sexos ( $p > 0,05$ ). A distribuição das crianças em cada faixa etária está apresentada na Tabela 4.3.

No que se refere à escolaridade dos pais, verificou-se que a maioria havia cursado pelo menos o ensino fundamental completo ou incompleto (80,3% das mães e 60,6% dos pais). Aproximadamente 80% das crianças da coorte eram mantidas com uma renda inferior a  $\frac{1}{4}$  de salário mínimo per capita por mês (R\$ 60,00), razão pela qual pode ser considerada como uma população de baixo poder aquisitivo (Tabela 4.3).

**TABELA 4.3 – NÚMERO E PERCENTUAL DE PRÉ-ESCOLARES, SEGUNDO AS CARACTERÍSTICAS SÓCIO-DEMOGRÁFICAS. TERESINA, PIAUÍ, 2004**

<i>Variáveis</i>	<i>N</i>	<i>%</i>
<i>Idade (meses)</i>		
36 – 47	13	19,7
48 – 59	15	22,7
60 – 71	21	31,8
72 – 83	17	25,8
<i>Cor</i>		
Branca	9	13,6
Não branca	56	84,8
Indeterminado	1	1,6
<i>Escolaridade da mãe</i>		
Analfabeta ou alfabetizada	5	7,6
Ensino fundamental	53	80,3
Ensino médio	6	9,1
Indeterminado	2	3,0
<i>Escolaridade do pai</i>		
Analfabeto ou alfabetizado	12	18,2
Ensino fundamental	40	60,6
Ensino médio	6	9,1
Indeterminado	8	12,1
<i>Renda per capita (SM)</i>		
< 0,25	52	78,8
0,25 – 0,49	9	13,6
0,50 – 0,99	3	4,6
Indeterminado	2	3,3
<i>Suplementação anterior</i>		
Não	40	60,6
Sim	24	36,4
Indeterminado	2	3,0

Os resultados deste estudo mostram que a maioria das crianças residia em condições razoáveis de habitação e saneamento básico (Tabela 4.4), exceto pela precariedade do sistema de esgotos, uma vez que 60,6% das crianças moravam em vilas ou bairros desprovidos da rede básica de esgotos. As casas eram predominantemente próprias, edificadas pelo próprio chefe da família com material de alvenaria, tendo em média quatro cômodos (mínimo de um e máximo de oito cômodos).

**TABELA 4.4 – NÚMERO E PERCENTUAL DE PRÉ-ESCOLARES, SEGUNDO AS CONDIÇÕES DE HABITAÇÃO E SANEAMENTO BÁSICO. TERESINA, PIAUÍ, 2004**

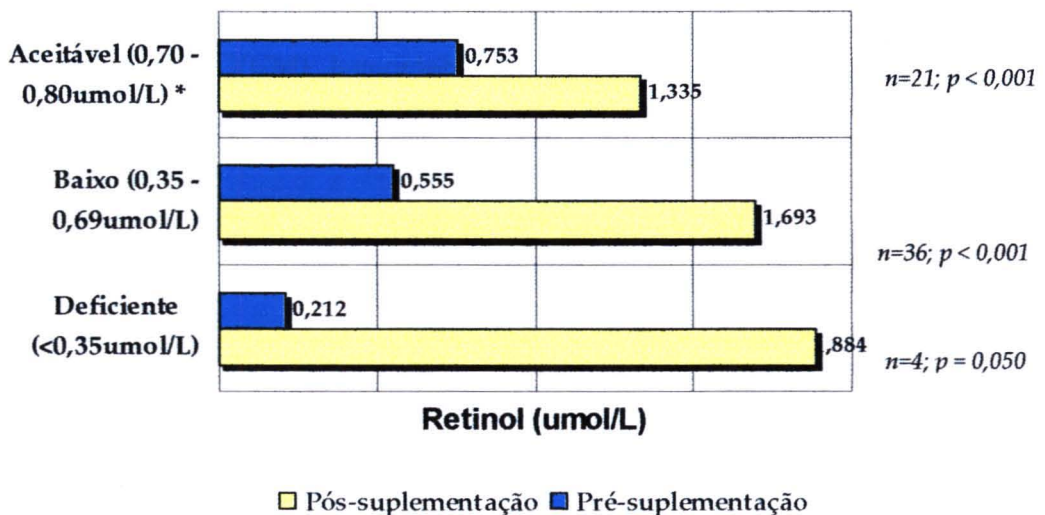
<i>Variáveis</i>	<i>N</i>	<i>%</i>
<i>Casa</i>		
Própria	57	86,4
Alugada ou Emprestada	8	12,1
<i>Tipo de Construção</i>		
Alvenaria	43	65,2
Taipa	20	30,3
Mista	2	3,0
<i>Abastecimento de água</i>		
Água encanada	55	83,3
Poço	10	15,2
<i>Coleta de lixo</i>		
Regular	48	72,7
Irregular ou inexistente	17	25,8
<i>Energia elétrica</i>		
Não	2	3,0
Sim	63	95,5
<i>Sistema de esgoto</i>		
Não	40	60,6
Sim	25	37,9

*Nota: 1 pré-escolar (1,5%) com respostas indeterminadas para todas as variáveis.*

### • Níveis de Retinol Sérico e Estado Nutricional de Ferro

A Figura 4.3. apresenta os valores de retinol sérico observados antes e após a suplementação de vitamina A, de acordo com a categoria de deficiência da vitamina nos pré-escolares analisados. A variável retinol sérico após a suplementação foi desconhecida em cinco crianças. Verificou-se que 100% das crianças tiveram aumento estatisticamente significativo nos níveis de retinol após a suplementação e as crianças com níveis deficientes atingiram os valores mais elevados (média = 1,884  $\mu\text{mol/L}$ ). Cabe ressaltar que o número de crianças deficientes de vitamina A foi bastante pequeno ( $n = 4$ ) e em função disso, as interpretações neste grupo devem ser feitas com cautela.

**FIGURA 4.3 – NÍVEIS MÉDIOS DE RETINOL SÉRICO ANTES E APÓS A SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA A, DE ACORDO COM O ESTÁGIO DE CARÊNCIA DA VITAMINA ( $n = 61$ ). TERESINA, PIAUÍ, 2004**



\* Crianças com valores de retinol aceitáveis entre 0,80 e 1,05  $\mu\text{mol/L}$  não foram incluídas neste estudo

Após a suplementação de vitamina A, 9% das crianças ( $n = 6$ ) não atingiram os valores de retinol superiores a  $1,05 \mu\text{mol/L}$  [média (DP) =  $0,922 (0,934) \mu\text{mol/L}$ ], apesar de apresentarem aumento dos valores quando comparados com aqueles observados antes da suplementação. As demais crianças atingiram valores altos de retinol sérico ( $> 1,05 \mu\text{mol/L}$ ).

A avaliação do estado nutricional de ferro, realizada somente na fase pré-suplementação de vitamina A, demonstrou a ocorrência de anemia em 16,1% dos pré-escolares da coorte ( $\text{Hb} < 11 \text{ g/dL}$ ), com média de hemoglobina igual a  $9,5 \text{ g/dL}$  [IC (95%):  $8,9 - 10,0 \text{ g/dL}$ ] e  $12,3 \text{ g/dL}$  [IC (95%):  $12,0 - 12,6 \text{ g/dL}$ ] para crianças anêmicas e não anêmicas, respectivamente ( $p < 0,001$ ).

A Tabela 4.5 apresenta alguns parâmetros relacionados ao estado nutricional de ferro segundo as categorias de níveis de retinol das crianças analisadas antes da suplementação de vitamina A.

Não foram observadas diferenças significativas nas médias dos valores de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e ferritina sérica entre as crianças com níveis deficientes e baixos e as crianças com níveis aceitáveis de retinol (Tabela 4.5).

**TABELA 4.5 – INDICADORES DO ESTADO NUTRICIONAL DE FERRO SEGUNDO AS CATEGORIAS DE NÍVEIS DE RETINOL. TERESINA, PIAUÍ, 2004**

<i>Parâmetro</i>	<i>Níveis de Retinol</i>		<i>Valor de p</i>
	<i>Deficiente se Baixos</i>	<i>Aceitáveis</i>	
	<i>Média</i>	<i>Média</i>	
	<i>(DP)</i>	<i>(DP)</i>	
Hb (g/dL)	11,74	11,85	0,3176 <sup>(1)</sup>
<i>N=62</i>	<i>(0,22)</i>	<i>(0,28)</i>	
VCM (fl)	79,77	79,77	0,9991 <sup>(1)</sup>
<i>N=62</i>	<i>(0,64)</i>	<i>(1,07)</i>	
HCM (pg)	26,04	25,96	0,8682 <sup>(1)</sup>
<i>n=62</i>	<i>(0,24)</i>	<i>(0,42)</i>	
Ferritina (ng/mL)	28,27	22,99	0,2393 <sup>(2)</sup>
<i>N=56</i>	<i>(14,33)</i>	<i>(11,26)</i>	

<sup>(1)</sup> ANOVA com teste de Bonferroni

<sup>(2)</sup> Teste de Kruskal-Wallis

#### • Estado Nutricional

A Tabela 4.6 apresenta os dados da avaliação nutricional dos pré-escolares, segundo os índices peso para idade (P/I), estatura para idade (E/I), e peso para estatura (P/E) antes e após a sua suplementação de vitamina A. Verificou-se que antes da suplementação, a prevalência de crianças com déficit de P/I e P/E, respectivamente de 9,4% e 19,3%, foi maior do que a prevalência de crianças com déficit de E/I (1,6%). Ademais, antes da suplementação, 6,4% das crianças apresentavam-se altas para a sua respectiva idade (E/I).

Após a suplementação com a vitamina A observou-se que houve uma redução na prevalência de crianças com déficit de P/I (de 9,4% para 4,7%), um aumento na prevalência de crianças com déficit de P/E (de 19,3% para 30,7%) e uma redução da

prevalência do déficit de E/I (de 1,6% para zero), com aumento da prevalência de crianças altas para a idade (de 6,4% para 16,3%). Esses dados sugerem que houve uma melhora no estado nutricional das crianças após a suplementação, sobretudo no que se refere ao crescimento linear (Tabela 4.6).

**TABELA 4.6 – PERCENTUAL DE CRIANÇAS CLASSIFICADAS QUANTO AO ESTADO NUTRICIONAL SEGUNDO OS ÍNDICES DE P/I, E/I E P/E, ANTES E APÓS A SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA A. TERESINA, PIAUÍ, 2004**

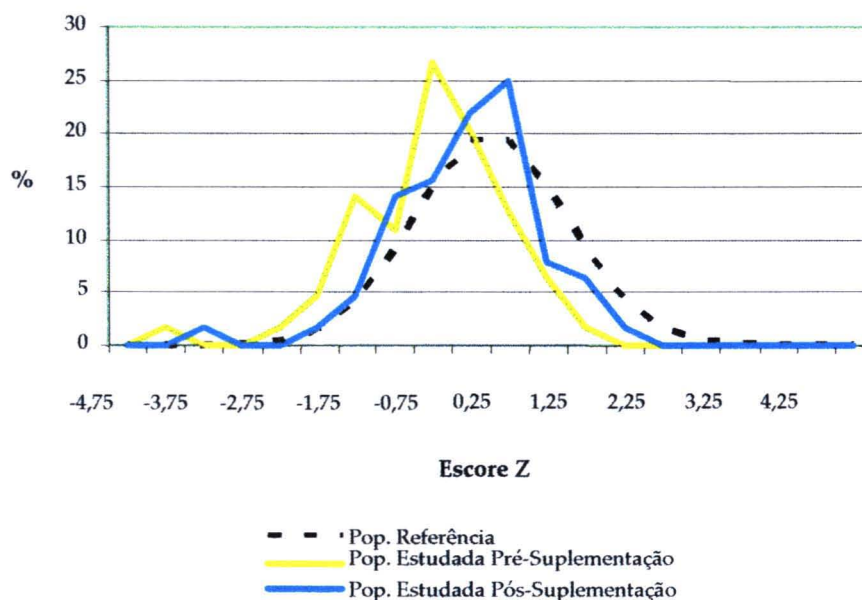
Índice	%		%		%		%	
	< -3 Escore Z		< -2 Escore Z		> -2 e < +2 Escore Z		> +2 Escore Z	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
P/I	1,6	1,6	7,8	3,1	90,6	95,3	-	-
E/I	-	-	1,6	-	92,0	83,7	6,4	16,3
P/E	1,6	6,5	17,7	24,2	80,7	69,3	-	-

As figuras 4.4 a 4.6 ilustram as curvas de P/I, P/E e E/I dos pré-escolares antes e após a suplementação com vitamina A.

Pode-se verificar que após a suplementação com vitamina A, a curva de P/I deslocou-se para a direita, aproximando-se da curva de referência do NCHS (1977), com diferença estatisticamente significativa entre os valores médios de Escore Z antes e após a suplementação ( $p = 0,020$ ) (Figura 4.4).



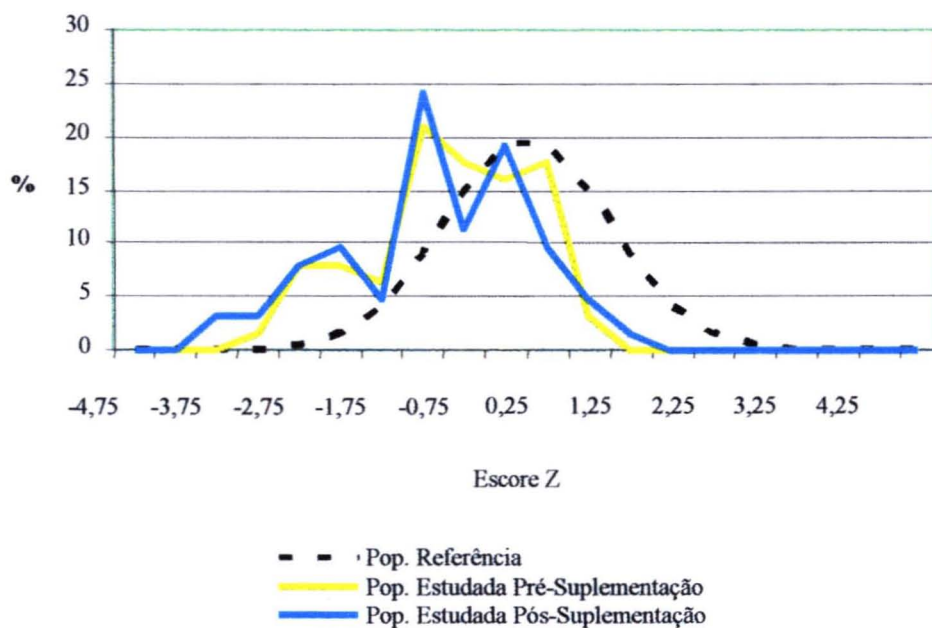
**FIGURA 4.4 – DISTRIBUIÇÃO DE PRÉ-ESCOLARES SEGUNDO O PESO PARA IDADE (P/I), ANTES E APÓS A SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA A. TERESINA, PIAUÍ, 2004**



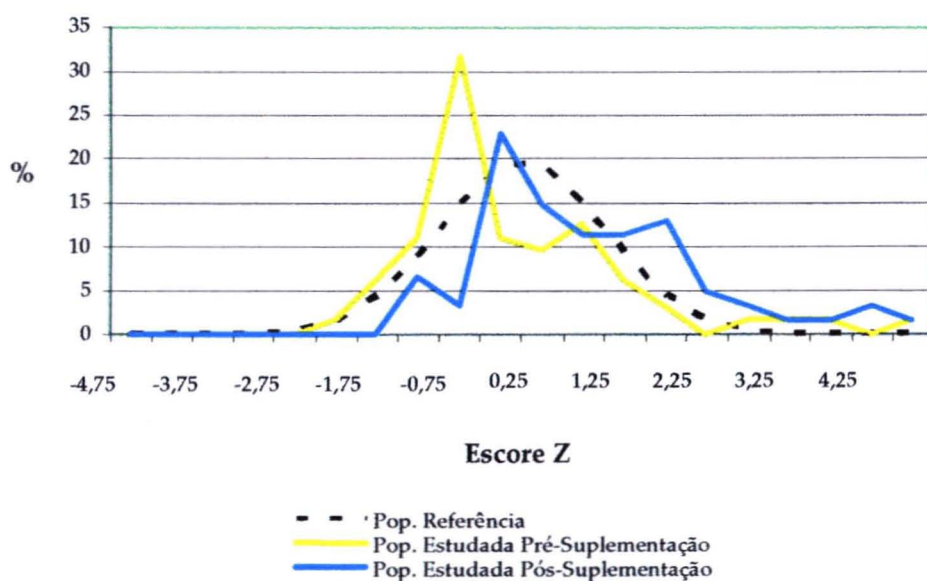
Em relação à curva de P/E, após a suplementação verificou-se um discreto aumento da área à esquerda da curva de pré-escolares antes da suplementação. No entanto, as médias de valores do Escore Z antes e após a suplementação com vitamina A não apresentaram diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,314$ ) (Figura 4.5).

Por sua vez, a curva de E/I deslocou-se para a direita após a suplementação com vitamina A (Figura 4.6). Este deslocamento ratifica o percentual elevado de crianças altas para a idade, apresentado na tabela anterior (Tabela 4.6). No entanto, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os valores médios de Escore Z antes e após a suplementação com vitamina A ( $p = 0,056$ ).

**FIGURA 4.5 – DISTRIBUIÇÃO DE PRÉ-ESCOLARES SEGUNDO O PESO PARA ESTATURA (P/E), ANTES E APÓS A SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA A. TERESINA, PIAUÍ, 2004**



**FIGURA 4.6 – DISTRIBUIÇÃO DE PRÉ-ESCOLARES SEGUNDO A ESTATURA PARA DADE (E/I), ANTES E APÓS A SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA A. TERESINA, PIAUÍ, 2004**



- **Imunização e Morbidade**

De forma geral os eventos mais freqüentes apresentados pelas crianças deste estudo quanto à morbidade, durante o período de acompanhamento, foram gripe, tosse, dor de barriga e febre (Tabela 4.8). Duas crianças apresentaram varicela e por essa razão foram excluídas do estudo. Nenhuma criança apresentou teste de anticorpos anti-HIV positivo. Entre os eventos citados como “outros” estavam incluídos: alergia, manchas no corpo, desmaio, tremores, torcicolo, gengivite, hérnia umbilical, sangramento nasal, abscesso na perna, escabiose e cefaléia.

**TABELA 4.7 – EVENTOS RELACIONADOS À MORBIDADE APRESENTADOS PELAS CRIANÇAS DURANTE O PERÍODO DE SEGUIMENTO. TERESINA, PIAUÍ, 2004**

<i>Evento</i>	<i>N</i>	<i>%</i>
Gripe	52	80,0
Tosse	42	64,6
Dor de barriga	21	32,3
Febre	20	30,8
Choro persistente	7	10,8
Dor de garganta	4	6,2
Vômito	4	6,2
Outros	11	14,1
Nenhum	4	6,2

Aproximadamente 38,5% das crianças ( $n = 25$ ) foram ao posto de saúde pelo menos uma vez no período de acompanhamento, sendo que cinco delas foram para realizar exames de rotina e nove em busca de tratamento para a gripe, tosse ou febre. Verificou-se que 19 crianças tomaram medicação: duas crianças com gripe foram tratadas com

amoxicilina, quatro crianças com tosse receberam xarope e uma foi medicada com diclofenaco para a inflamação na garganta. Um total de seis crianças recebeu medicação sem prescrição médica (3 mebendazol, 2 infectrin e 1 amoxicilina), administrada pelos respectivos pais ou responsáveis. Outros medicamentos mencionados em menor frequência foram antialérgicos, relaxante muscular, sulfasalazina, benzetacil e cataflan.

O acompanhamento pelo agente de saúde foi feito em 18 crianças deste estudo (27,3%): 12,1% receberam visitas bimestrais e 15,2% visitas mensais ou quinzenais.

O histórico de vacinação das crianças deste estudo está apresentado na Tabela 4.8. Entre as crianças que apresentaram o cartão de vacina, 100% haviam recebido as vacinas BCG e VOP (vacina oral contra a poliomielite), nas ocasiões devidas. O calendário atual de vacinação, instituído pela Portaria Nº 597/GM em 8 de abril de 2004, prevê que a BCG deve ser administrada em crianças ao nascer, em uma dose única. Quanto a VOP, deve ser recebida em três doses ou mais e pelo menos uma dose de reforço até os 15 meses de idade. Apenas uma criança não havia tomado qualquer dose da vacina DPT (tríplice bacteriana), que deve ser administrada em crianças aos 2, 4 e 6 meses de idade. As demais crianças receberam as três doses na idade preconizada.

No que se refere às vacinas anti-hepatite B, a qual deve ser administrada ao nascer e, posteriormente, aos 1 e 6 meses de idade, e às vacinas contra SRC (tríplice viral), cuja dose única deve ser tomada aos 12 meses de idade, respectivamente 11% e 12% das crianças não haviam recebido qualquer dose dessas vacinas.

**TABELA 4.8 – NÚMERO E PERCENTUAL DE PRÉ-ESCOLARES DE ACORDO COM AS VACINAS RECEBIDAS DESDE O NASCIMENTO. TERESINA, PIAUÍ, 2004**

<i>Vacinas</i>	<i>N</i>	<i>%</i>
<i>BCG</i>		
Não	0	-
Sim	58	88,5
<i>DPT</i>		
Não	1	1,5
Sim	57	86,4
<i>Hepatite B</i>		
Não	7	10,6
Sim	51	77,3
<i>Poliomielite</i>		
Não	0	-
Sim	58	88,5
<i>SRC</i>		
Não	8	12,1
Sim	50	75,6

*Nota: 8 pré-escolares (12,1%) não possuíam o cartão de vacinas.*

- **Efeito da Suplementação com Vitamina A no Sistema Imunológico Celular**

As médias (DP) dos valores dos marcadores imunológicos observados em pré-escolares antes da suplementação de vitamina A, segundo a categoria de níveis de retinol (com níveis deficientes e baixos ou com níveis aceitáveis), são apresentados da Tabela 4.9. Os resultados mostram que as médias de todos os marcadores imunológicos foram estatisticamente semelhantes quando comparadas as crianças com níveis deficientes e baixos vs as crianças com níveis aceitáveis de retinol ( $p > 0,05$ ).

**TABELA 4.9 – MÉDIAS DOS MARCADORES IMUNOLÓGICOS CELULARES EM PRÉ-ESCOLARES SEGUNDO NÍVEIS DE RETINOL, ANTES DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA A. TERESINA, PIAUÍ, 2004**

<i>Níveis de retinol</i> <i>Marcador Imunológico</i>	<i>Deficientes e Baixos</i> <i>Média (DP)</i>	<i>Aceitáveis</i> <i>Média (DP)</i>	<i>Valor de p</i> <sup>(1)</sup>
CD4 (nº células/mm <sup>3</sup> )	1.316,60 (583,32)	1.094,86 (364,56)	0,1043
CD8 (nº células/mm <sup>3</sup> )	928,32 (398,04)	800,86 (374,29)	0,1197
Relação CD4/CD8	1,49 (0,49)	1,49 (0,50)	0,8614
“Natural killer” (%)	13,20 (6,28)	12,14 (4,11)	0,8549
CD4 “naive” (% leucócitos)	8,55 (3,60)	7,86 (2,97)	0,6005
CD4 “naive” (% linfócitos)	33,67 (10,05)	29,90 (6,46)	0,1234
CD8 “naive” (% leucócitos)	6,60 (3,26)	6,40 (3,91)	0,5091
CD8 “naive” (% linfócitos)	25,20 (6,11)	23,39 (6,88)	0,2217
CD4 memória (% leucócitos)	3,75 (1,24)	3,82 (1,63)	0,9937
CD4 memória (% linfócitos)	14,91 (4,35)	15,81(6,12)	0,4038
CD8 memória (% leucócitos)	1,57 (0,96)	2,14 (1,38)	0,1743
CD8 memória (% linfócitos)	6,76 (4,25)	8,80 (7,36)	0,2949

<sup>(1)</sup> *Teste de Mann-Whitney*

A avaliação dos marcadores imunológicos observados após a suplementação de vitamina A, de acordo com as categorias de níveis de retinol dos pré-escolares, indicou que as crianças que apresentavam níveis deficientes e baixos de retinol tiveram valores médios de linfócitos T CD8 (nº células/mm<sup>3</sup>) estatisticamente maiores do que as crianças com níveis de retinol aceitáveis ( $p = 0,0252$ ). Esse dado sugere que a suplementação de vitamina A pode ter contribuído para um aumento significativo nos

valores de CD8 (nº células/mm<sup>3</sup>) em crianças com hipovitaminose A (níveis deficientes e baixos de retinol) (Tabela 4.10).

**TABELA 4.10 – MÉDIAS DOS MARCADORES IMUNOLÓGICOS CELULARES EM PRÉ-ESCOLARES SEGUNDO NÍVEIS DE RETINOL, APÓS A SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA A. TERESINA, PIAUÍ, 2004**

<i>Níveis de retinol</i> <sup>(1)</sup> <i>Marcador Imunológico</i>	<i>Deficientes e Baixos</i> <i>Média (DP)</i>	<i>Aceitáveis</i> <i>Média (DP)</i>	<i>Valor de p</i> <sup>(2)</sup>
CD4 (nº células/mm <sup>3</sup> )	1.363,78 (586,92)	1.079,90 (333,44)	0,0630
CD8 (nº células/mm <sup>3</sup> )	<b>1.031,32 (577,27)</b>	<b>769,57 (340,34)</b>	<b>0,0252</b>
Relação CD4/CD8	1,44 (0,48)	1,53 (0,49)	0,5795
“Natural killer” (%)	13,42 (5,88)	12,24 (4,52)	0,4840
CD4 “naive” (% leucócitos)	8,64 (3,18)	7,44 (2,75)	0,1743
CD4 “naive” (% linfócitos)	33,30 (9,14)	33,66 (8,03)	0,9576
CD8 “naive” (% leucócitos)	6,91 (3,29)	6,78 (2,56)	0,2077
CD8 “naive” (% linfócitos)	25,16 (5,65)	25,32 (7,58)	0,8674
CD4 memória (% leucócitos)	4,25 (2,27)	4,05 (1,30)	0,7788
CD4 memória (% linfócitos)	16,53 (6,38)	17,44(5,64)	0,4124
CD8 memória (% leucócitos)	1,98 (1,50)	1,82 (1,38)	0,7384
CD8 memória (% linfócitos)	7,78 (5,12)	8,10 (6,17)	0,9698

<sup>(1)</sup> Valores de retinol obtidos antes da suplementação de vitamina A

<sup>(2)</sup> Teste de Mann-Whitney

A Tabela 4.11 apresenta os resultados da comparação dos valores médios dos marcadores imunológicos observados antes da suplementação de vitamina A com os valores observados após a suplementação, de acordo com as categorias de níveis de retinol.

Os resultados mostram que após a suplementação de vitamina A houve um aumento significativo no valor médio de células T CD8 ( $n^{\circ}$  células/mm<sup>3</sup>) apenas no grupo de crianças com níveis deficientes e baixos de retinol ( $p = 0,0337$ ). Ainda, verificou-se diminuição nos valores médios da relação CD4/CD8 nessas crianças ( $p = 0,0304$ ).

Além disso, observou-se um aumento estatisticamente significativo nos valores médios de células T CD4 “naive” (% linfócitos) no grupo de crianças com níveis aceitáveis de retinol após a suplementação de vitamina A ( $p = 0,0012$ ), o mesmo não sendo observado no grupo de crianças com hipovitaminose A (Tabela 4.11).



**TABELA 4.11 – MÉDIAS DOS MARCADORES IMUNOLÓGICOS CELULARES EM PRÉ-ESCOLARES ANTES E APÓS A SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA A, SEGUNDO NÍVEIS DE RETINOL. TERESINA, PIAUÍ, 2004**

<i>Níveis de retinol</i>	<i>Deficientes e Baixos</i> <sup>(a)</sup>		<i>Aceitáveis</i> <sup>(b)</sup>		<i>Valor de p</i> <sup>(1)</sup>
	<i>Antes Média (DP)</i>	<i>Depois Média (DP)</i>	<i>Antes Média (DP)</i>	<i>Depois Média (DP)</i>	
CD4 (n° células/mm <sup>3</sup> )	1.316,60 (583,32)	1.363,78 (586,92)	1094,86 (364,56)	1079,90 (333,44)	0,1278 <sup>(a)</sup> 0,9861 <sup>(b)</sup>
CD8 (n° células/mm <sup>3</sup> )	<b>928,32</b> <b>(398,04)</b>	<b>1.031,32</b> <b>(577,27)</b>	800,86 (374,29)	769,57 (340,34)	<b>0,0337</b> <sup>(a)</sup> 0,4549 <sup>(b)</sup>
Relação CD4/CD8	<b>1,49</b> <b>(0,49)</b>	<b>1,44</b> <b>(0,48)</b>	1,49 (0,50)	1,53 (0,49)	<b>0,0304</b> <sup>(a)</sup> 0,3217 <sup>(b)</sup>
“Natural killer” (%)	13,20 (6,28)	13,42 (5,88)	12,14 (4,11)	12,24 (4,52)	0,5484 <sup>(a)</sup> 0,9024 <sup>(b)</sup>
CD4 “naive” (% leucócitos)	8,55 (3,60)	8,64 (3,18)	7,86 (2,97)	7,44 (2,75)	0,7726 <sup>(a)</sup> 0,8620 <sup>(b)</sup>
CD4 “naive” (% linfócitos)	33,67 (10,05)	33,30 (9,14)	<b>29,90</b> <b>(6,46)</b>	<b>33,66</b> <b>(8,03)</b>	0,6190 <sup>(a)</sup> <b>0,0012</b> <sup>(b)</sup>
CD8 “naive” (% leucócitos)	6,60 (3,26)	6,91 (3,29)	6,40 (3,91)	6,78 (2,56)	0,4557 <sup>(a)</sup> 0,4342 <sup>(b)</sup>
CD8 “naive” (% linfócitos)	25,20 (6,11)	25,16 (5,65)	23,39 (6,88)	25,32 (7,58)	0,7881 <sup>(a)</sup> 0,0853 <sup>(b)</sup>
CD4 memória (% leucócitos)	3,75 (1,24)	4,25 (2,27)	3,82 (1,63)	4,05 (1,30)	0,3607 <sup>(a)</sup> 0,3945 <sup>(b)</sup>
CD4 memória (% linfócitos)	14,91 (4,35)	16,53 (6,38)	15,81 (6,12)	17,44 (5,64)	0,2704 <sup>(a)</sup> 0,1592 <sup>(b)</sup>
CD8 memória (% leucócitos)	1,57 (0,96)	1,98 (1,50)	2,14 (1,38)	1,82 (1,38)	0,2040 <sup>(a)</sup> 0,0853 <sup>(b)</sup>
CD8 memória (% linfócitos)	6,76 (4,25)	7,78 (5,12)	8,80 (7,36)	8,10 (6,17)	0,2450 <sup>(a)</sup> 0,6142 <sup>(b)</sup>

<sup>(1)</sup> Teste de Wilcoxon; <sup>(a)</sup> Diferença entre as de médias obtidas antes e depois da suplementação de vitamina A em crianças com níveis deficientes e baixos <sup>(b)</sup> e crianças com níveis aceitáveis de retinol.

Ao serem analisadas as médias dos marcadores imunológicos em crianças anêmicas (Hb < 11 g/dL) vs crianças não anêmicas, verificou-se que não houve diferença estatisticamente significativa em qualquer um dos marcadores imunológicos após a suplementação de vitamina A ( $n = 57$ ,  $p > 0,05$ ).

Ao realizar a mesma análise considerando-se apenas as crianças com níveis deficientes ou baixos de retinol, observou-se que as crianças anêmicas tiveram um aumento significativo nos valores de CD4 (nº células/mm<sup>3</sup>) e CD8 (nº células/mm<sup>3</sup>) após a suplementação de vitamina A. Por sua vez, as crianças não anêmicas também apresentaram aumento significativo nos valores de CD8 (nº células/mm<sup>3</sup>) bem como nos valores de CD8 de memória (% leucócitos) (Tabela 4.12).

A avaliação dos marcadores imunológicos após a suplementação de vitamina A, considerando-se a história de gripe, febre, tosse ou dor de barriga, eventos mais frequentes durante o estudo, mostrou que não houve diferença significativa entre as médias dos valores observados nas crianças que não apresentaram tais sintomas comparadas com as crianças que os apresentaram (teste de Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

**TABELA 4.12 – MÉDIAS DOS MARCADORES IMUNOLÓGICOS CELULARES EM PRÉ-ESCOLARES COM NÍVEIS DEFICIENTES E BAIXOS DE RETINOL (n = 32), ANTES E APÓS A SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA A. TERESINA, PIAUÍ, 2004**

<b>Marcador Imunológico</b>	<b>Anemia <sup>(a)</sup> (n = 8)</b>		<b>Não Anemia <sup>(b)</sup> (n = 24)</b>		<b>Valor de p <sup>(1)</sup></b>
	<b>Antes Média(DP)</b>	<b>Depois Média(DP)</b>	<b>Antes Média(DP)</b>	<b>Depois Média(DP)</b>	
CD4 (n° células/mm <sup>3</sup> )	<b>1.181,38</b> (757,60)	<b>1.434,38</b> (934,59)	1.215,00 (384,29)	1.305,08 (501,63)	<b>0,0357 <sup>(a)</sup></b> 0,3313 <sup>(b)</sup>
CD8 (n° células/mm <sup>3</sup> )	<b>773,38</b> (425,01)	<b>1.022,12</b> (635,79)	<b>906,25</b> (320,38)	<b>1.072,29</b> (647,52)	<b>0,0357 <sup>(a)</sup></b> <b>0,0455 <sup>(b)</sup></b>
Relação CD4/CD8	1,51 (0,42)	1,48 (0,63)	1,43 (0,51)	1,36 (0,44)	0,2924 <sup>(a)</sup> 0,0764 <sup>(b)</sup>
“Natural killer” (%)	13,13 (3,94)	14,89 (5,44)	13,12 (6,46)	12,99 (6,21)	0,2059 <sup>(a)</sup> 0,8862 <sup>(b)</sup>
CD4 “naive” (% leucócitos)	9,81 (4,28)	9,80 (3,97)	8,00 (3,26)	8,50 (3,07)	0,9999 <sup>(a)</sup> 0,5019 <sup>(b)</sup>
CD4 “naive” (% linfócitos)	36,83 (8,01)	36,31 (9,43)	31,4 (9,32)	30,75 (8,97)	0,6744 <sup>(a)</sup> 0,7103 <sup>(b)</sup>
CD8 “naive” (% leucócitos)	7,10 (2,25)	7,36 (3,33)	6,71 (3,38)	7,23 (3,54)	0,5754 <sup>(a)</sup> 0,4405 <sup>(b)</sup>
CD8 “naive” (% linfócitos)	27,68 (8,29)	28,99 (7,88)	25,15 (5,73)	24,15 (4,97)	0,0929 <sup>(a)</sup> 0,5111 <sup>(b)</sup>
CD4 memória (% leucócitos)	3,83 (1,00)	3,67 (1,34)	3,81 (1,35)	4,92 (2,48)	0,7794 <sup>(a)</sup> 0,0520 <sup>(b)</sup>
CD4 memória (% linfócitos)	13,44 (3,89)	13,81 (2,62)	15,67 (3,86)	17,72 (7,19)	0,8860 <sup>(a)</sup> 0,2904 <sup>(b)</sup>
CD8 memória (% leucócitos)	1,68 (0,89)	1,56 (0,74)	<b>1,56</b> <b>(1,06)</b>	<b>2,44</b> <b>(1,71)</b>	<b>0,4008 <sup>(a)</sup></b> 0,0045 <sup>(b)</sup>
CD8 memória (% linfócitos)	6,11 (3,82)	5,93 (4,01)	7,11 (4,76)	8,89 (5,76)	0,8886 <sup>(a)</sup> 0,6142 <sup>(b)</sup>

<sup>(1)</sup> Teste de Wilcoxon; <sup>(a)</sup> Diferença entre as médias obtidas antes e depois da suplementação de vitamina A em crianças anêmicas <sup>(b)</sup> e crianças não-anêmicas



## *Discussão*

---

## **5. DISCUSSÃO**

A vitamina A é um nutriente de importância reconhecida na manutenção da saúde dos indivíduos, independentemente de sua faixa etária, sexo e etnia. Particularmente na população infantil, a deficiência de vitamina A destaca-se como uma grande preocupação face aos altos índices de prevalência que ocorrem principalmente nos países em desenvolvimento, associada à variedade e gravidade de suas conseqüências.

Por se tratar de um nutriente essencial na manutenção da integridade do epitélio ocular, na divisão e diferenciação celular e na atividade do sistema imune, a deficiência de vitamina A está envolvida na manifestação de distúrbios oculares, que vão desde a cegueira noturna até a xerofthalmia, no crescimento e na atividade de órgãos e tecidos e na morbidade e mortalidade materna e infantil (McLAREN e FRIGG 2001).

Embora a importância da vitamina A no funcionamento adequado do sistema imunológico seja reconhecida há muitas décadas, ainda permanecem desconhecidos os mecanismos de ação da vitamina nesse sistema. Nesse contexto, torna-se pertinente o desenvolvimento de estudos que proponham aprofundar o conhecimento sobre a relação entre a vitamina A e a atividade imunológica em seres humanos.

### **5.1. Validade do Estudo**

Uma importante limitação em estudos de coorte é a ocorrência de grandes perdas no tamanho da população em seguimento (PEREIRA 2001), sobretudo quando o tempo de

acompanhamento é longo ou quando existe a necessidade de deslocamento dos participantes da pesquisa de seu domicílio para o local onde são coletados os dados. Este último fato foi vivenciado no presente estudo.

De um total de 151 crianças que apresentaram valores de retinol sérico inferiores a 0,8  $\mu\text{mol/L}$ , que foi um dos critérios para a inclusão neste estudo de coorte, 85 (56%) não completaram o seguimento, devido à mudança de domicílio ou cidade de moradia, viagens, ocorrência de processo infeccioso grave (varicela), insuficiência na quantidade da amostra de sangue colhida ou por outro motivo ignorado.

Por motivos financeiros, devido ao elevado custo para o envio das amostras de sangue de Teresina a São Paulo, bem como dos reagentes químicos e imunológicos para efetuar as análises de retinol sérico e a determinação de marcadores imunes celulares, a reposição de indivíduos para completar a amostragem planejada de 100 crianças no estudo de coorte foi impraticável. Desta forma, o estudo foi finalizado com a avaliação de 66 crianças, acompanhadas por um período médio de dois meses consecutivos.

A análise comparativa de algumas variáveis de interesse verificadas nas crianças da coorte e nas crianças desistentes do estudo (idade, renda per capita e níveis de retinol sérico), permite-nos inferir que apesar de um percentual elevado de perda, a validade interna do estudo foi resguardada, uma vez que não foram encontradas diferenças significativas entre as duas populações (crianças participantes vs desistentes).

Segundo MEDRONHO (2003), a validade interna se refere à garantia das inferências originadas de um determinado estudo, correspondendo ao grau de veracidade das conclusões para a população de onde a amostra de indivíduos foi retirada.

## 5.2. Níveis de Retinol dos Pré-Escolares Estudados na Fase de Triagem

O presente estudo é pioneiro em Teresina e até mesmo no Piauí, uma vez que revela os resultados da primeira avaliação do estado nutricional de vitamina A em crianças com base em marcadores bioquímicos, que até o momento não haviam sido investigados em qualquer área do estado.

Os estudos baseados em inquéritos alimentares realizados em Teresina sugerem que o consumo de alimentos fontes de vitamina A pelas crianças da região é insatisfatório, o que poderia levar a uma carência desta vitamina (CRUZ *et al.* 2001; ARAÚJO *et al.* 2001). CRUZ *et al.* (2001) avaliaram o consumo de vitamina A em crianças assistidas em creches de Teresina e observaram que as crianças haviam recebido dieta com apenas 29% de adequação da oferta de vitamina A em relação às suas necessidades.

A avaliação dos níveis de retinol sérico dos pré-escolares das cinco creches deste estudo revelou que 15,4% das crianças apresentaram hipovitaminose A (retinol < 0,70  $\mu\text{mol/L}$ ), o que caracteriza um problema moderado de saúde pública (WHO 1996). A situação torna-se mais preocupante se considerarmos que 29% das crianças estavam em risco de deficiência de vitamina A, com valores de retinol situados entre 0,70 e 1,05  $\mu\text{mol/L}$ . Os resultados obtidos na presente investigação corroboram os dados relatados nos outros estudos realizados no nordeste do Brasil, os quais têm apontado prevalências elevadas de hipovitaminose A em pré-escolares.

Em um dos primeiros estudos realizados no nordeste brasileiro, em 1972, VARELA *et al.* alertaram que a hipovitaminose A constituía um problema de saúde pública potencialmente grave na região da cana de açúcar ao sul do estado de Pernambuco.

Segundo os autores, 4% dos pré-escolares da região tiveram níveis de retinol abaixo de 0,35  $\mu\text{mol/L}$ . Considerando apenas as crianças com desnutrição, os autores observaram que 7% apresentaram níveis de retinol sérico abaixo de 0,35  $\mu\text{mol/L}$  e 18% abaixo de 0,70  $\mu\text{mol/L}$ .

Dados mais recentes referentes ao estado de Pernambuco indicaram uma prevalência de 19,3% de crianças menores de 5 anos com níveis séricos de retinol abaixo de 0,70  $\mu\text{mol/L}$  (INAN/MS – IMIP – DN/UFPE – SES/PE, 1998).

Na Bahia, PRADO *et al.* (1995) investigaram a deficiência de vitamina A em crianças de 6 a 72 meses de idade na zona rural do município de Cansanção e observaram 44,7% de prevalência de hipovitaminose A nessas crianças. Posteriormente, SANTOS *et al.* (1996) avaliaram a existência dessa carência em amostras de pré-escolares residentes em nove municípios do estado e observaram 54,7% de crianças com valores de retinol sérico  $< 0,70 \mu\text{mol/L}$ .

Embora já tenha sido sugerido que crianças do sexo masculino sejam mais suscetíveis à deficiência de vitamina A do que crianças do sexo feminino (OOMEN *et al.* 1964), no presente estudo, os níveis médios de retinol sérico foram semelhantes em ambos os sexos, como descrito por outros autores (GONÇALVES-CARVALHO *et al.* 1995; FERRAZ *et al.* 2000; NESTEL *et al.* 1999; FERNÁNDEZ *et al.* 2003).

Nossos achados que relacionam os níveis de retinol com as idades das crianças são semelhantes aos observados por SANTOS *et al.* (1996) em estudo envolvendo pré-escolares no estado da Bahia. De acordo com os nossos resultados, a prevalência de hipovitaminose A parece diminuir com a idade, com tendência de queda entre 40 a 80



meses de idade para crianças com níveis baixos de retinol (0,35 - 0,69  $\mu\text{mol/L}$ ). A curva de prevalência em crianças com nível deficiente de retinol sérico deve ser interpretada com cuidado, uma vez que este grupo era constituído de um pequeno número de crianças ( $n = 9$ ). É possível que a idade tenha sido apenas uma variável de confusão e que essa tendência esteja verdadeiramente associada a fatores tais como crescimento físico, efeito adverso de infecções por vírus e bactérias e das infestações parasitárias comuns nessa faixa etária ou, ainda, por uma maior diversificação do padrão dietético observado em crianças mais velhas (PRADO *et al.* 1995; UNDERWOOD 1993; SOMMER 1995).

Por situar-se em região considerada de risco de hipovitaminose A, o estado do Piauí tem participado de programas de combate à deficiência de vitamina A, estabelecidos pelo Ministério da Saúde do Brasil desde a década de 80. Atualmente, o programa é denominado “Vitamina A Mais – Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A”, e propõe a administração periódica de mega doses de vitamina A para todas as crianças menores de cinco anos de idade residentes nas áreas de risco, somada a outros cuidados que integram as ações básicas de saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2004).

Os resultados do presente estudo mostraram que aproximadamente 57% das crianças estudadas já haviam recebido mega doses de vitamina A pelo menos uma vez desde o seu nascimento. No entanto, este percentual pode não ser representativo para o estado ou mesmo para a capital, uma vez que este estudo não foi delineado para estimar a cobertura de crianças suplementadas com vitamina A.

### 5.3. Estudo dos Pré-Escolares da Coorte

- **Características Sócio-Econômicas e Demográficas**

A saúde infantil depende da escolaridade e do poder aquisitivo das famílias, uma vez que estes são fatores determinantes para a maior disponibilidade de alimentos, da qualidade de moradia e do acesso aos serviços de saneamento básico e de assistência à saúde. Além disso, a escolaridade exerce influência sobre as oportunidades de emprego e de melhores salários (MONTEIRO E FREITAS 2000).

As condições de renda e de escolaridade observadas neste estudo caracterizaram a população como de baixo poder aquisitivo, uma vez que aproximadamente 80% das crianças eram mantidas com renda per capita menor do que  $\frac{1}{2}$  salário mínimo e a maioria dos pais tinham escolaridade até o ensino fundamental (78,8% e 87,9%, respectivamente).

Segundo os indicadores sociais brasileiros (UNICEF 2001), 45% das famílias com crianças menores de 6 anos de idade residentes no estado do Piauí têm se mantido com renda per capita igual ou inferior a  $\frac{1}{2}$  salário mínimo, sendo observados percentuais alarmantes, como de 94,8% das famílias nessas condições no município de Nossa Senhora dos Remédios.

Estudo realizado com pré-escolares de creches comunitárias de Teresina revelou a presença de características similares às observadas nesta investigação (PAZ 2005). A população estudada pelo autor foi constituída por crianças de idade entre 48 a 83 meses, apresentou baixa renda familiar (90% com menos de 2 SM de renda familiar mensal) e

nível de escolaridade dos pais em torno de oito anos de estudo (o que corresponde ao ensino fundamental).

Apesar de residirem em vilas ou bairros desprovidos da rede básica de esgotos, a população estudada apresentava condições de moradias satisfatórias, no que se refere à construção dos domicílios, ao abastecimento de água e energia elétrica e ao sistema de coleta de lixo. Estes resultados refletem o perfil de condição de moradia da população brasileira obtido pela última Pesquisa de Orçamentos Familiares realizada no país, para os anos de 2002 e 2003 (IBGE 2004). Segundo essa pesquisa, no Brasil urbano, os serviços de água, coleta de lixo, iluminação pública, energia elétrica e drenagem foram considerados bons para a maioria das famílias entrevistadas. Para a região nordeste, os dados apontaram que os serviços de água, coleta de lixo e energia elétrica foram citados como bons por 54,47%, 58,05% e 82,75% das famílias, respectivamente. Em relação ao serviço de drenagem e escoamento de água, apesar de ter sido considerado como bom por mais de 40%, essa facilidade foi inexistente para 34,70% das famílias.

- **Níveis de Retinol Sérico e Estado Nutricional de Ferro**

A avaliação dos níveis de retinol nos soros das crianças da coorte antes e após a suplementação com mega doses de vitamina A confirmou a eficácia da intervenção na recuperação da carência desta vitamina, pois 91% das crianças atingiram níveis normais de retinol. Para as demais (9%), houve aumento significativo na concentração de retinol, mas não o suficiente para ultrapassar os níveis aceitáveis de vitamina A ( $>1,05 \mu\text{mol/L}$ ).

A estratégia de suplementação com altas doses de vitamina A se fundamenta no fato de que grande quantidade dessa vitamina pode ser armazenada no fígado para serem utilizadas quando forem necessárias (SOMMER 1995).

A administração oral de 110 mg de palmitato de retinil ou 66 mg de acetato de retinil (200 000 UI de vitamina A) ou a metade desta dose em crianças de 6 a 11 meses de idade, a cada 4 a 6 meses, exerce uma ação eficaz e de custo moderado contra a carência grave da vitamina e de suas seqüelas (SOMMER 1995).

Diversos estudos provaram a eficácia da administração de mega doses de vitamina A na recuperação da sua carência e no controle de suas conseqüências (SINHA e BANG 1976; COHEN *et al.* 1987; BLOEN *et al.* 1995; ROBLES-SARDIN *et al.* 1998; RAMALHO *et al.* 2001). ROBLES-SARDIN *et al.* (1998) avaliando o efeito da suplementação de vitamina A em 60 crianças no México, verificaram um aumento nos níveis de retinol sérico após duas semanas da suplementação em 100% das amostras. Os autores relataram ainda que a taxa de prevalência de hipovitaminose A caiu de 6,3% para zero após apenas duas semanas.

A avaliação do estado nutricional de ferro nas crianças da coorte indicou a ocorrência de anemia em 16,1% das crianças da coorte do presente estudo (Hb < 11 g/dL). No que se refere a ferritina, não foi observada diferença significativa nos valores médios comparando-se as crianças anêmicas e as não anêmicas ( $p > 0,05$ ). Cabe ressaltar que a ferritina é um valioso indicador das reservas de ferro corporais, porém este marcador pode apresentar baixa especificidade, podendo ser influenciada por infecções, neoplasias, doenças hepáticas, entre outros fatores. Além disso, apresenta limitações na

infância e na gestação, quando os valores médios observados são geralmente próximos àqueles considerados deficientes (PAIVA *et al.* 2000).

Nossos achados corroboram outros estudos realizados em Teresina, os quais verificaram que a anemia é um problema de saúde pública na região (ARAÚJO 2000; PEREIRA 2002; MATOS 2002). ARAÚJO (2000), estudou 260 pré-escolares de creches municipais de Teresina e encontrou uma prevalência elevada de 62,3% de crianças com anemia; mais recentemente, MATOS *et al.* (2002) observaram a prevalência de 18,4% de crianças com anemia em 108 pré-escolares de creche municipal dessa cidade.

Ressalta-se que neste estudo mediu-se a ocorrência de anemia apenas em crianças com níveis de retinol  $< 0,8 \mu\text{mol/L}$ ; por conseguinte a avaliação da presença de anemia em todos os pré-escolares do estudo ( $n=631$ ) poderia ter revelado resultados diferentes dos acima citados.

De acordo com a literatura consultada, alguns estudos têm demonstrado a existência de uma relação sinérgica entre a vitamina A e o ferro (ROODENBURG *et al.* 1996). Neste estudo, a avaliação dos parâmetros relacionados ao estado nutricional de ferro nas crianças segundo as categorias de níveis de retinol sérico, mostrou a ocorrência de valores de hemoglobina aparentemente menores nas crianças com níveis de retinol deficientes e baixos; no entanto, as diferenças não foram estatisticamente significativas. Além disso, os valores de ferritina sérica também não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre as categorias de níveis de retinol.

Os mecanismos pelos quais a vitamina A poderia melhorar a utilização do ferro e ajudar na reversão da anemia não estão esclarecidos. É possível que a vitamina A promova um

aumento na absorção do ferro (pela formação de um complexo solúvel de ferro não heme-vitamina A) ou aumente a mobilização do ferro dos tecidos (por um aumento dos níveis de receptores de transferrina) (MWANRI *et al.* 2000).

- **Estado Nutricional**

O nordeste do Brasil é identificado como a região com maior contingente de desnutridos do país. Apesar da gravidade desta realidade, a prevalência de desnutrição na região nordeste tem declinado, semelhantemente ao que vem acontecendo em todo o país, com uma redução de 34,4% entre os anos de 1989 e 1996 (UNICEF 2001).

ARAÚJO (2000), estudando 260 crianças na faixa etária de 2,8 a 6 anos de idade e assistidas em duas creches municipais na zona norte de Teresina, evidenciou as taxas de 6,9% e 25,4% de crianças com desnutrição grave e moderada, segundo o índice peso para idade (P/I). Em estudo mais recente envolvendo 122 crianças de 4 a 6 anos de idade, assistidas também em creches municipais de Teresina, PAZ (2004) observou percentuais menores de desnutrição, os quais foram de 4,9%, 4,9% e 1,6%, segundo os índices P/I, estatura para idade (E/I) e peso para estatura (P/E).

No presente estudo, verificou-se que antes da suplementação com vitamina A, a desnutrição ( $< -2$  Escore z) atingiu 9,4%, 1,6% e 19,3% das crianças segundo a avaliação dos índices P/I, E/I e P/E, respectivamente. Após a suplementação notou-se uma melhora do estado nutricional em relação aos índices P/I e E/I, em que 4,7% das crianças apresentaram baixo P/I, e nenhuma criança demonstrou déficit de E/I. Em contrapartida, a prevalência de baixo P/E aumentou para 30,7%.

Esses dados nos permitem entender que as crianças apresentaram-se altas para a sua idade cronológica e que após a suplementação com vitamina A houve um incremento no crescimento linear, o que pode ter favorecido um aumento do déficit de peso em relação à estatura. Contudo, não é possível atribuir com exatidão esse crescimento à suplementação com vitamina A, pois uma série de outras variáveis podem ter contribuído para tal incremento de estatura, como modificações no padrão alimentar ou outros fatores.

A vitamina A, especialmente o ácido retinóico, atua no controle do crescimento e desenvolvimento de tecidos e do sistema músculo-esquelético. Um dos prováveis mecanismos seria um aumento da secreção do hormônio de crescimento humano em decorrência de uma rápida liberação de monofosfato de adenosina (AMPc) nas células hipofisárias, estimulada pelo ácido retinóico (DJAKOURE *et al.* 1996).

É comum considerar que a hipovitaminose A seja mais um componente do complexo conjunto de fatores determinantes da desnutrição energético-protéica. RAMALHO *et al.* (2001) estudaram os pré-escolares atendidos em uma unidade de saúde no Rio de Janeiro e encontraram a associação entre o déficit de estatura para idade e os baixos valores de retinol sérico, embora os autores tenham relatado que a prevalência de hipovitaminose A foi elevada tanto em crianças desnutridas quanto em eutróficas.

- **Imunização e Morbidade**

De forma geral, as crianças deste estudo apresentaram boa situação vacinal, com cumprimento de grande parte do calendário básico de vacinação, instituído pelo

Ministério da Saúde com a Portaria Nº 597/GM de 8 de abril de 2004. Estes resultados também refletem uma situação observada na população brasileira.

Uma das maiores conquistas do Brasil nos últimos anos foi, sem dúvida, a abrangência de imunização contra coqueluche, difteria, tétano, sarampo tuberculose e poliomielite. Todos os índices de imunização têm crescido, o que favorece a prevenção de doenças e manutenção da qualidade de vida. Em 1994 a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) concedeu ao Brasil o certificado de erradicação da poliomielite; e em 2000 o país concentrava seus esforços na erradicação do sarampo, que foi considerada pela OPAS como iminente em todo o continente americano (UNICEF 2001).

Convém ressaltar que, de acordo com nossos dados, é prudente estar atento às campanhas de imunização que contemplem as vacinas anti-hepatite B e tríplice viral, as quais tiveram menor frequência entre as crianças analisadas neste estudo.

No que se refere aos dados relativos à morbidade entre as crianças da coorte, foi verificado que mais de dois terços da população apresentou os sintomas de gripe e tosse durante o acompanhamento, e mais de um terço referiu dor de barriga e febre. Os demais sintomas foram pouco referidos entre as crianças desse estudo.

Cabe ressaltar que os eventos foram investigados mediante a realização de recordatório com os pais ou responsáveis pelas crianças, e podem não refletir a verdade, estando sujeitos a viés de memória ou à dificuldade na identificação dos sintomas por parte dos entrevistados. A presença de infecção sub-clínica, com confirmação de diagnóstico por exames tais como a proteína C-reativa, não foram possíveis de serem realizados neste estudo.



- **Efeito da Suplementação com Vitamina A no Sistema Imunológico Celular**

Além do impacto positivo da suplementação com vitamina A na prevenção e cura de manifestações decorrentes de sua carência, a administração de mega doses da vitamina tem sido associada à redução na taxa de mortalidade infantil em até 30% conforme os dados de diversos estudos (WEST JR *et al.* 1989; BEATON *et al.* 1993; SEMBA 1999b; TOMKINS 2000; FAWZI *et al.* 2000; VILAMOR e FAWZI 2000; TOMKINS 2001).

O estudo realizado em zona rural do Nepal apontou redução de 30% no risco relativo de morte em crianças de 6 a 72 meses de idade, após 12 meses de tratamento com 60.000 E.R. (equivalentes de retinol) em intervalos de quatro meses, quando comparadas com grupo controle recebendo placebo (300 E.R.). A redução da mortalidade foi evidente em ambos os sexos (RR para meninos 0,77 e para meninas 0,65) e em todas as faixas de idade (RR variando de 0,83-0,50). O menor efeito protetor se deu na faixa etária de 24 a 35 meses tornando-se mais forte com o avançar da idade (WEST JR *et al.* 1991).

A influência da vitamina A na redução da morbidade e mortalidade infantil está relacionada ao seu efeito sobre o crescimento infantil, às alterações metabólicas decorrentes de sua carência, e, sobretudo, ao sinergismo que a vitamina mantém com as infecções. Sabe-se que os níveis de retinol sanguíneos encontram-se diminuídos na presença de quadros infecciosos de natureza viral, bacteriana e parasitária, as quais geram prejuízos na absorção, utilização e excreção da vitamina A (SEMBA 1999b).

Por sua vez, a depleção progressiva da vitamina A no organismo desencadeia uma série de respostas sistêmicas, que incluem desaceleração do crescimento, perda de apetite,

metaplasia epitelial, redução das funções secretoras e prejuízos no sistema imunológico (WEST JR *et al.* 1991; SEMBA 1998).

O mecanismo exato de ação da vitamina A sobre o sistema imunológico não está claro, mas acredita-se que a vitamina exerça efeitos tanto na atividade imunológica humoral quanto na celular.

Alguns estudos se propuseram a avaliar o efeito da suplementação com vitamina A no sistema imune celular de humanos (REDDY *et al.* 1986; SEMBA *et al.* 1993; RAHMAN *et al.* 1997; JASON *et al.* 2002; BLOMHOFF 2004), porém, a maioria tem investigado os indivíduos com sinais clínicos da deficiência de vitamina A.

No presente estudo, que se propôs a avaliar o efeito da suplementação de vitamina A nos marcadores imune celulares de crianças, observou-se um aumento significativo nas células T CD8 ( $n^{\circ}$  células/mm<sup>3</sup>) em crianças com níveis deficientes e baixos de retinol, após a suplementação com 200 000 UI de vitamina A. A relação T CD4/CD8 apresentou uma diminuição significativa, devido ao aumento nos valores de T CD8 ( $n^{\circ}$  células/mm<sup>3</sup>) e manutenção dos valores de T CD4 ( $n^{\circ}$  células/mm<sup>3</sup>) nessas crianças.

As células T CD8 são responsáveis pela atividade imune citotóxica, através da liberação de grânulos citoplasmáticos que induzem a morte das células-alvo, após o reconhecimento dessas células pelo receptor do linfócito T (TCR) (ROITT *et al.* 1999).

A ativação dos linfócitos T CD8 depende da ação de citocinas produzidas principalmente pelas células T CD4; no entanto, o próprio linfócito T CD8 é capaz de produzir citocinas para a sua auto-ativação. Desta forma, o aumento nos valores de linfócitos T CD8 ( $n^{\circ}$  células/mm<sup>3</sup>) neste estudo, verificado apenas em crianças com

níveis deficientes e baixos de retinol, pode ter ocorrido a partir de um efeito da vitamina A nessas células, promovendo a sua ativação.

Além disso, observou-se um aumento significativo nas células CD4 “naive” (% linfócitos) em crianças com níveis aceitáveis de retinol. As sub-populações de células “naive” e de memória constituem grupos fenotípicos e funcionais (CD45RA e CD45RO) das células T, e parecem representar estágios de maturação dessas células, e não linhagens celulares distintas. Uma vez ativados, os linfócitos T CD4 e T CD8 sofrem modificações fenotípicas, passando de CD45RA para CD45RO (NISENGARD e NEWMAN 1997).

É possível que a vitamina A tenha favorecido uma ativação dos linfócitos T CD4, provocando aumento nas células “naive” em crianças com níveis aceitáveis de vitamina A, o que poderia, em longo prazo, promover também o aumento das células T CD4 de memória. Estranhamente, esse achado ocorreu apenas em crianças com níveis aceitáveis de retinol.

O estudo realizado na Indonésia em 30 crianças com xeroftalmia e 25 sem xeroftalmia, submetendo-as ao tratamento com placebo ou vitamina A (60 mg de equivalente de retinol) por cinco semanas, buscou avaliar o efeito da suplementação com vitamina A nas sub-populações de células T (SEMBA *et al.* 1993). Os autores verificaram que crianças com deficiência clínica de vitamina A apresentaram anormalidades nas sub-populações de células T, exibindo alterações especificamente na proporção de CD4 “naive”, que se mostrou inferior àquela observada nas crianças sem deficiência clínica da vitamina. Esses autores sugerem que a vitamina A tenha sido importante no processo de diferenciação das células T CD4.

Um problema na detecção do efeito da vitamina A no sistema imune é que este pode ser mascarado pela presença de outros tipos de deficiência, como desnutrição energético-proteica e deficiência de ferro ou zinco (SEMBA *et al.* 1993). No presente estudo não foram observadas diferenças significativas nos valores dos parâmetros relacionados ao ferro quando comparadas as crianças com níveis baixos e deficientes de vitamina A àquelas com níveis aceitáveis da vitamina.

A investigação dos marcadores imunológicos em crianças que apresentavam concomitantemente anemia e hipovitaminose A (níveis deficientes e baixos de retinol), mostrou que a suplementação de vitamina A favoreceu o aumento significativo dos valores de CD8 (nº células/mm<sup>3</sup>) e de CD4 (nº células/mm<sup>3</sup>). Por sua vez, em crianças com hipovitaminose A, porém sem anemia, foi verificado aumento significativo apenas para as células CD8 (nº células/mm<sup>3</sup>). Esse dado indica que nas crianças que apresentaram deficiência de ferro associada à deficiência de vitamina A, a suplementação com mega dose de vitamina A parece ter exercido um efeito mais pronunciado na atividade imunológica do que naquelas crianças somente com deficiência de vitamina A.

A avaliação de parâmetros imunológicos em crianças é muito complexa, uma vez que não se dispõe de pontos de corte definidos para determinar as taxas de normalidade. É possível que um maior período de tempo de seguimento permitisse a verificação de resultados mais consistentes. Cabe também enfatizar que o presente estudo foi realizado analisando crianças que apresentavam deficiência moderada de vitamina A ou níveis aceitáveis de retinol sérico, que possivelmente podem não sofrer alterações imunológicas de forma tão precoce e expressiva como ocorre em crianças clinicamente deficientes desses nutrientes.



## *Conclusões*

---

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo mostram que a suplementação de vitamina A exerceu um efeito positivo nos níveis de retinol sérico, em alguns componentes da imunidade mediada por células e no estado nutricional dos pré-escolares estudados. Cabe ressaltar as seguintes conclusões:

- A ocorrência de hipovitaminose A (níveis deficientes e baixos de retinol) entre os pré-escolares de creches de Teresina correspondeu a 15,4% [IC (95%): 12,7 – 18,4%], caracterizando um problema moderado de saúde pública entre as crianças do estudo.
- As prevalências de níveis de retinol deficiente, baixo e aceitável variaram segundo a idade da criança, observando-se uma tendência à diminuição da prevalência de níveis baixos (0,35 – 0,69  $\mu\text{mol/L}$ ) principalmente a partir do 65<sup>o</sup> mês de vida.
- A suplementação com 200.000 UI de vitamina A favoreceu o aumento significativo dos níveis de retinol em 100% das crianças da coorte, as quais atingiram valores satisfatórios de retinol.
- As crianças da coorte apresentaram um incremento no crescimento linear após a suplementação com vitamina A.

- 
- Constatou-se a ocorrência de anemia em 16,1% das crianças da coorte, porém não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os valores de hemoglobina e ferritina sérica em pré-escolares, de acordo com os níveis de retinol.
  - Após a suplementação de vitamina A, foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos valores das células T CD8 ( $n^{\circ}$  células/ $mm^3$ ) em crianças com níveis deficientes e baixo de retinol e nos valores das células T CD4 “naive” (% linfócitos) em crianças com níveis aceitáveis de retinol.
  - A suplementação de vitamina A favoreceu o aumento significativo dos valores de células T CD8 ( $n^{\circ}$  células/ $mm^3$ ) e T CD4 ( $n^{\circ}$  células/ $mm^3$ ) em crianças com anemia e hipovitaminose A concomitantes. Em crianças com hipovitaminose A, porém sem anemia, verificou-se aumento significativo apenas para as células T CD8 ( $n^{\circ}$  células/ $mm^3$ ) e CD8 de memória (% leucócitos), sugerindo um efeito mais pronunciado da vitamina A na atividade imunológica de crianças que apresentavam as duas deficiências.





## *Considerações Finais*

---



## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante algum tempo a deficiência de vitamina A despertou preocupação em função dos malefícios clinicamente detectáveis, que incluíam desde a cegueira noturna até a cegueira total e irreversível. A partir do final da década de 1980, surgiram evidências de que a carência sub-clínica dessa vitamina, mesmo na ausência completa de sinais clínicos, poderia contribuir para o aumento da morbidade e mortalidade em recém-nascidos, crianças menores de cinco anos, puérperas e lactantes.

Devido ao desconhecimento do efeito da vitamina A no sistema imunológico e da expressão deste efeito nos indivíduos, torna-se indispensável o desenvolvimento de pesquisas nessa área. Os estudos realizados com seres humanos são raros e os resultados disponíveis são de interpretação complexa. A realização de estudos de caso-controle ou estudos de seguimento por longos períodos, incluindo ampla amostra de indivíduos, são fundamentais para o esclarecimento de muitas questões, apesar de serem difíceis de conduzir, principalmente em função do custo.

Apesar das inúmeras lacunas no conhecimento dos mecanismos de ação da vitamina A, a sua importância na redução da morbidade e mortalidade infantil é um fato, tendo sido observado e comprovado em muitos estudos.

As pesquisas sobre vitamina A no Brasil ainda são escassas, considerando-se a diversidade da população brasileira, de sua cultura, de suas características biológicas e, ainda, a disponibilidade natural e a distribuição social dos alimentos que chegam à mesa dos indivíduos em cada região do país. Torna-se fundamental a busca de evidências que

---

sustentem não apenas a necessidade do estabelecimento de programas de combate à deficiência de vitamina A, mas também que revelem o seu resultado. Acreditamos enfaticamente na importância do desenvolvimento de programas de prevenção, combate e controle da hipovitaminose A, mas alertamos para a necessidade de monitoramento direto e efetivo, bem como da avaliação de impacto, como uma ferramenta importante na garantia da efetividade de tais programas.



## *Referências*

---

## 6. REFERÊNCIAS

Adelman MB, Sered BR. Utilization of dietary iron by term infants. A study of 1,048 infants from a low socioeconomic population. **Am J Dis Child** 1966; 111:45-55.

Araújo KC, Carvalho CMRG; Paz, SMRS. Avaliação do consumo alimentar de vitamina A de crianças assistidas em creches comunitárias, Teresina (PI), Brasil. **Nutrire – Rev Soc Bras Alim Nutr** 2001; 22:7-19.

Araújo RL, Araújo MBDG, Sieiro RO, Machado, RDP, Leite BV. Diagnóstico da situação da hipovitaminose A e da anemia nutricional na população do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. **Arch Latinoam Nutr** 1986; 4:642-53.

Araújo, RSRM. **Utilização de snack com elevado conteúdo de ferro em pré-escolares para controle da anemia ferropriva** [tese de doutorado]. São Paulo (Brasil): Faculdade de Saúde Pública-USP; 2000.

Ballow M, Wang W, Xiang S. Modulation of B-cell immunoglobulin synthesis by retinoic acid. **Clin Immunol Immunopath** 1996; 80:S73-81.

Barreto-Lins MHC, Campos FACS, Azevedo MCNA, Flores H. A re-examination of the stability of retinol in blood and serum, and effects of a standardized meal. **Clin Chem** 1988; 34(11):2308-10.

---

Beaton GH, Martorell R, Aronson U, *et al.* **Effectiveness of vitamin A supplementation in the control of young child morbidity and mortality in developing countries.** ACC/SCN State-of-The-Art Series, Nutrition Policy Discussion Paper n. 13, United Nations, Geneva; 1993.

Berger J, Dyck JL, Galan P, Aplogan A, Schneider D, Traissac P, Hercberg S. Effect of daily iron supplementation on iron status, cell-mediated immunity, and incidence of infections in 6-36 month old Togolese children. **Eur J Clin Nutr** 2000; 54:29-35.

Bhaskaram P. Immunobiology of mild micronutrient deficiencies. **Br J Nutr** 2001; 85 suppl. 2:S75-80.

Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **The Lancet** 1986; 8:307-10.

Bloem MW, Hye A, Wijnroks M, Ralte A, West Jr KP, Sommer A. The role of universal distribution of vitamin A capsules in combating vitamin A deficiency in Bangladesh. **Am J Epidemiol** 1995; 142: 843-55.

Blomhoff HK. Vitamin A regulates proliferation and apoptosis of human T-cells and B-cells. **Biochem Soc Trans** 2004; 32:982-4.

Buck J, Derguini F, Levi E. Intracellular signaling by 14-hydroxy-4,14-retro retinol. **Science** 1991; 254:1654-5.

---

Buck J, Ritter G, Dannecker L. Retinol is essential for growth of activated human B cells. **J Exp Med** 1990; 171:1613-24.

Cantwell RJ. Iron deficiency anemia of infancy: some clinical principles illustrated by the response of Maori infants to neonatal parenteral iron administration. **Clin Pediatr** 1972; ii:443-9.

Carman JA, Smith SM, Hayes CE. Characterization of helper T lymphocyte defect in vitamin A deficient mice. **J Immunol** 1989; 142:388-93.

Chandra R. Increased bacterial binding to respiratory epithelial cells in vitamin A deficiency. **Br Med J** 1988; 297:834-5.

Cohen N, Rahman H, Mira M, Spregue J, Islam S, Regt E Lemhuis de, Jalil MA. Impact of massive doses of vitamin A on nutritional blindness in Bangladesh. **Am J Clin Nutr** 1987; 45:970-6.

Cruz GF da, Santos RS, Carvalho CMRG, Moita GC. Avaliação dietética em creches municipais de Teresina, Piauí, Brasil. **Rev Nutrição** 2001; 14(1):21-32.

Dawson HD, Li NQ, Decicco KL, Nibert JA, Ross AC. Chronic marginal vitamin A status reduces natural killer cell number and function in aging Lewis rats. **J Nutr** 1999; 129:1510-17.

Diniz AS, Santos LMP. Hipovitaminose A e xeroftalmia. **J Pediatr** 2000; 76 (supl. 3): S311-22.

Djakoure C, Guibourdeuche J, Porquet D. Vitamin A and retinoic acid stimulate within minute cAMP release and growth hormone secretion in human pituitary cells. **J Clin Endo Metab** 1996; 81:3123-6.

Erhardt JG, Mack H, Sobeck U, Biesalski HK.  $\beta$ -Carotene and  $\alpha$ -tocopherol concentration and antioxidant status in buccal mucosal cells and plasma after oral supplementation. **Br J Nutr** 2002; 87:471-5.

FAO – Food and Agriculture Organization. **The FAO vitamin A program**. Fourth Summary Progress Report, 1991/1992.

Fawzi WW; Mbise R; Spiegelman D; Fataki M, Hertzmark E; Ndossi G. Vitamin A supplements and diarrheal and respiratory tract infections among children in Dar es Salaam, Tanzania. **J Pediatr** 2000; 137:660-7.

Fernández DC, Calvo TA, Monge-Rojas R. Deficiência de vitamina A em niños preescolares: un problema reemergente en Costa Rica? **Arch Latinoam Nutr** 2003;53 (3):267-70.

Ferraz IS, Danelussi JC, Vannucchi H. Vitamin A deficiency in children aged 6 to 24 months in São Paulo State, Brazil. **Nutr Res** 2000; 20(6):757-68.

Ferraz IS, Daneluzzi JC, Vannucchi H, Jordão Jr. AA, Ricco RG, Del Ciampo LA, *et al*. Detection of vitamin A deficiency in brazilian preschool children using the serum 30-day dose-response test. **Eur J Clin Nutr** 2004; 58:1372-7.

---

Flores H, Campos F, Araújo CRC, Underwood B A. Assessment of marginal vitamin A deficiency in brazilian children using the relative dose response procedure. **Am J Clin Nutr** 1984; 40:1281-9.

Garbe A, Buck J, Hammerling U. Retinoids are important cofactors in T cell activation. **J Exp Med** 1992; 176:109-17.

Giguere V, Ong ES, Segui P, Evans RM. Identification of a receptor for the morphogen retinoic acid. **Nature** 1987; 330:366-70.

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

Gonçalves-Carvalho CMR, Amaya-Farfan J, Wilke BC. Uso dos indicadores do estado nutricional em vitamina A. **Cad Nutr** 1997; 13:01-10.

Hussey G, Hughes J, Potgieter S. Vitamin A status and supplementation and its effects on immunity in children with AIDS. **XVII International Vitamin A Consultative Group Meeting**. Guatemala, Washington (DC), 1996. p. 6.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico 2000**. Rio de Janeiro: IBGE; 2000.



IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003: Primeiros resultados – Brasil e grandes regiões**. Rio de Janeiro: IBGE; 2004.

INAN/MS – IMIP – DN/UFPE – SES/PE. **II Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição: saúde, nutrição, alimentação e condições sócio-econômicas no Estado de Pernambuco**. Recife; 1998.

Jacob CMA. Imunodeficiências Secundárias In: Carneiro-Sampaio MMS, Grumach AS. **Alergia e imunologia em pediatria**. São Paulo: Sarvier; 1992. p.179-91.

Jason J, Archibald LK, Nwanyanwu OC, Sowell AL, Buchanan I, Larned J, *et al*. Vitamin A levels and immunity in humans. **Clin Diagn Lab Immunol** 2002; 9:616-21.

Levy J. Immunonutrition: the pediatric experience. **Nutrition** 1998; 14:641-7.

Mahalanabis D, Simpson TW, Chakraborty ML, Ganguli C, Bhattacharjee AK, Mukherjee KL. Malabsorption of water miscible vitamin A in children with giardiasis and ascariasis. **Am J Clin Nutr** 1979; 32:313-8.

Mangelsdorf D, Ong E, Dyck J, Evans R. Nuclear receptor that identifies a novel retinoic acid response pathway. **Nature** 1990; 345:224-9.

Marinho, HA. **Prevalência da deficiência de vitamina A em pré-escolares de três capitais da Amazônia Ocidental Brasileira** [tese de doutorado]. São Paulo (Brasil): Faculdade de Saúde Pública-USP; 2000.

Martins MC, Santos LMP, Assis AMO. Prevalência de hipovitaminose A em pré-escolares no estado de Sergipe, 1998. **Rev Saúde Pública** 2004; 38(4):537-42.

Matos HR, Nogueira NN, Carneiro JGM, Santiago AKA, Nogueira AMT, Melo, MTSM, *et al.* Caracterização nutricional de uma multimistura e o seu efeito em indicadores antropométricos e no controle da anemia em pré-escolares no município de Teresina, PI. **XI Seminário de Iniciação Científica da UFPI**. Teresina, 27 a 29 de novembro, 2002. p. 59.

McAuliffe J, Santos LMP, Diniz AS, Batista Filho M, Barbosa RCC. **A deficiência de vitamina A e estratégias para seu controle: um guia para as Secretarias Municipais de Saúde**. Projeto Hope, Fortaleza/ CE, 1991.

McLaren DS, Frigg M. **Sight and life manual on vitamin A deficiency disorders (VADD)**. 2 ed. Switzerland: Task Force Sight and Life; 2001.

Medronho AR. **Epidemiologia**. São Paulo: Atheneu; 2003.

Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Brasil. **Resolução 196, de 10 de outubro de 1996**. Diário oficial 1997.

Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Vitamina A Mais: Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A: Condutas Gerais**. Série A. Normas e manuais técnicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

---

Monteiro CA, Freitas ICM. Evolução dos condicionantes sócio-econômicos da saúde na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). **Rev Saúde Pública** 2000; 34(6 supl): 8-12.

Mwanri L, Worsley A, Ryan P, Masika J. Supplemental vitamin A improves anemia and growth in anemic school children in Tanzania. **J Nutr** 2000; 130: 2691-6.

Nauss K, Anderson C, Conner M, Newberne P. Ocular infection with herpes simplex virus (HSV-1) in vitamin A-deficient and controls rats. **J Nutr** 1985; 115:1300-15.

Nauss K, Mark D, Suskind R. The effect of vitamin A deficiency on the in vitro cellular immune response of rats. **J Nutr** 1979; 109:1815-23.

NCHS – National Center for Health Statistics. Growth curves for children, birth to 18 year, United States. **Vital Health Stat** 1977; 11(165):1-74.

Nestel P, Melara A, Rosado J, Mora JO. Vitamin A deficiency and anemia among children 12 - 71 months old in Honduras. **Rev Panam Salud Publica** 1999; 6(1):34-43.

Nisengard RJ, Newman MG. **Microbiologia oral e imunologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.

OMS – Organização Mundial da Saúde. **El estado físico: uso e interpretación de la antropometria**. Série de Informes Técnicos 854. Genebra: WHO, 1995.

---

OMS/UNICEF/GCIVA – Organización Mundial de la Salud/ Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia/ Grupo Consultivo Internacional sobre la Vitamina A. **Suplementos de vitamina A: Guía para su uso en el tratamiento y la prevención de la deficiencia de vitamina A y de la xeroftalmía.** 2 ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 1998.

Oomen HAPC, McLaren DS, Escapini H. Epidemiology and public health aspects of hypovitaminosis A. A global survey on xerophthalmia. **Trop Geogr Med** 1964; 16:271:375.

OPAS – Organización Panamericana de la Salud. **Hipovitaminosis A em las Américas.** Washington (DC): 1970. (OPS - Série de Informes Técnicos, 198).

Oppenheimer SJ. Iron and its relation to immunity and infectious disease. **J Nutr** 2001; 131: 616S-35S.

Paiva AA, Rondó PHC, Guerra-Shinohara EM. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. **Rev Saúde Pública** 2000; 34(4):421-6.

Pasatiempo AM, Bowman TA, Taylor CE, Ross AC. Vitamin A depletion: effects on antibody response to the capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* type III. **Am J Clin Nutr** 1989; 49:501-10.

Paz, SMRS. **Estado nutricional e composição corporal de crianças de diferentes condições sócio-econômicas utilizando antropometria e bioimpedância elétrica** [tese de doutorado]. São Paulo (Brasil): Faculdade de Saúde Pública-USP; 2005.

Pereira JO, Nogueira NN, Nogueira AMT, Araújo RSRM, Moura JF. Utilização de cereal enriquecido com ferro no controle da anemia em crianças menores de 2 anos atendidas pelo município de Teresina. **XI Seminário de Iniciação Científica da UFPI**. Teresina, 27 a 29 de novembro, 2002. p. 155.

Pereira MG. **Epidemiologia: teoria e prática**. São Paulo: Guanabara-Koogan; 2001.

Prado MS, Assis AMO, Martins MC, Nazaré MPA, Rezende IFB, Conceição MEP. Hipovitaminose A em crianças de áreas rurais do semi-árido baiano. **Rev Saúde Pública** 1995; 29(4):295-300.

Rahman MM, Mahalanabis D, Alvarez JO, Wahed MA, Islam MA, Habte D. Effects of early vitamin A supplementation on cell-mediated immunity in infants younger than 6 mo. **Am J Clin Nutr** 1997; 65:144-8.

Ramalho RA, Anjos LA, Flores H. Valores séricos de vitamina A e teste terapêutico em pré-escolares atendidos em uma unidade de saúde do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev Nutrição** 2001; 14(1):5-12.

Reddy V, Bhaskaran P, Raghuramulu N, Rao MRC, *et al.* Relationship between measles, malnutrition, and blindness: a prospective study in indian children. **Am J Clin Nutr** 1986; 44:924-30.

Robles-Sardin AE, Astiazarán-García H, Dávalos-Navarro R, Quihui-Cota L, Cabrera-Pacheco M, Valencia ME. Efecto de la suplementación con una dosis masiva de vitamina A en niños de 6 a 36 meses de la edad. **Salud Pub Mex** 1998; 40(4):309-15.

Roitt I, Brostoff J, Male D. **Imunologia**. 5 ed. São Paulo: Manole; 1999. 423p.

Roncada MJ, Wilson D, Mazzilli RN, Gandra YR. Hipovitaminose A em comunidades do estado de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública** 1981; 15:338-49.

Roncada MJ, Wilson D, Netto AL, Netto OB, Kalil AC, Nunes MF, Okani ET. Hipovitaminose A em filhos de migrantes nacionais em trânsito pela capital do estado de São Paulo, Brasil. Estudo clínico-bioquímico. **Rev Saúde Pública** 1978; 12:345-50.

Roncada MJ, Wilson D, Okani ET, Aminos S. Prevalência de hipovitaminose A em pré-escolares de municípios da área metropolitana de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública** 1984; 18(3):218-24.

Roncada MJ. Hipovitaminose A. In: Nóbrega FJ. **Desnutrição intra-uterina e pós-natal**. 2 ed. São Paulo: Panamed; 1986. p. 445-50.

Roncada MJ. Inquérito entre migrantes atendidos pela Central de Triagem e Encaminhamento, na capital do estado de São Paulo, Brasil. II – Aspectos bioquímicos e hipovitaminose A. **Rev Saúde Pública** 1975; 9:313-29.

Roncada MJ. Vitaminas lipossolúveis. In: Dutra-de-Oliveira JE e Marchini JS. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier; 1998. p. 167-78.

Roodenburg AJC, West CE, Beynen AC. Vitamin A status affects the efficacy of iron repletion in rats with mild iron deficiency. **J Nutr Biochem** 1996; 7: 99-105.

Ross AC, Stephensen CB. Vitamin A and retinoids in antiviral responses. **FASEB J** 1996; 10:979-85.

Rumore RM. Vitamin A as an immunomodulating agent. **Clin Pharmacy** 1993; 12: 506-14.

Santos LMP, Assis AMO, Martins MC, Araújo MPN, Morris SS, Barreto ML. Situação nutricional e alimentar de pré-escolares no semi-árido da Bahia (Brasil): II – Hipovitaminose A. **Rev Saúde Pública** 1996; 30(1):67-74.

Santos LMP, Dricot JM, Ascitti L, Dricot-d'Ans C. Xerophthalmia in the state of Paraíba, Northeast of Brazil: clinical findings. **Am J Clin Nutr** 1983; 38:139-44.

Semba RD. Vitamin A as “anti-infective” therapy, 1920-1940. **J Nutr** 1999 (a); 129:783-91.

Semba RD. Vitamin A and immunity to viral, bacterial and protozoan infections. **Proc Nutr Soc** 1999 (b); 58:719-27.

Semba RD, Ward MJB, Griffin DE, Scott AL, Natadisastra G, West Jr KP, Sommer A. Abnormal T-cell subset proportions in vitamin A deficiency children. **The Lancet** 1993; 341:5-8.

Semba RD. The role of Vitamin A and related retinoids in immune function. **Nutr Rev** 1998; 55:S38-48.

---

Sijtsma SR, Rombout JHWM, West CE. Vitamin A deficiency impair cytotoxic T lymphocyte activity in Newcastle disease virus-infected chickens. **Vet Immunol Immunopath** 1990; 26:191-201.

Sinha DP, Bang FB. The effect of massive doses of vitamin A on the signs of vitamin A deficiency in preschool children. **Am J Clin Nutr** 1976; 29: 110-15.

Sklan D, Trifon S, Kedar O. Retinoid metabolism in human leukocytes. **Br J Nutr** 1995; 73:889-95.

Sommer A e West Jr. KP. **Vitamin A deficiency: health, survival and vision**. New York: Oxford University Press; 1996.

Sommer A. Vitamin A deficiency and its consequences: a field guide to detection and control. In: **Epidemiology**. 3 ed. Geneva: WHO; 1995.

Statacorp - Stata Corporation. **Stata Statistical Software: Release 7.0**. TX, USA: College Station, 2001.

Stephensen CB. Vitamin A. **Ann Rev Nutr** 2001; 21: 167-92.

Stephensen CB, Moldoveanu Z, Gangopadhyay NN. Vitamin A deficiency diminishes the salivary immunoglobulin A response and enhances the serum immunoglobulin G response to influenza A virus infection in BALB/c mice. **J Nutr** 1996; 126:94-102.



Tanumihardjo SA, Permaesih D, Muherdiyantiningsih ER, Rusmil K, Fatah AC, Muhilal SW, *et al.* Vitamin A status of Indonesian children infected with *Ascaris lumbricoides* after dosing with vitamin A supplements and albendazole. **Am J Clin Nutr** 1996; 126:451-7.

Teresina. Prefeitura Municipal de Teresina. **Censo das vilas e favelas de Teresina**. Teresina: Secretaria Municipal de Trabalho e Assistências Social, 1996.

Tomkins A. Malnutrition, morbidity and mortality in children and their mothers. **Proc Nutr Soc** 2000; 59:135-46.

Tomkins A. Nutrition and maternal morbidity and mortality. **Br J Nutr** 2001; 85(Suppl 2):S93-9.

Underwood BA. Estrategias a largo plazo para el control de las deficiencias de micronutrientes. Em: **Vitamin A Field Support Project (VITAL)**. Arlington, Virginia: USAID; 1993. Pp.70-6.

Underwood BA. Hipovitaminosis A: epidemiología de un problema de salud pública y estrategias para su prevención y control. **Bol Oficina Saint Panam** 1994; 117(6): 496-505.

UNICEF – **Fundo das Nações Unidas para a Infância. Situação da Infância Brasileira 2001**. Brasília: UNICEF, 2001.

---

Varela RM, Teixeira SG, Batista M. Hypovitaminosis A in the sugarcane zone of southern Pernambuco State, Northeast Brazil. **Am J Clin Nutr** 1972; 25:800-4.

Velasquez-Meléndez G, Okani ET, Kiertsman B, Roncada MJ. Níveis plasmáticos de vitamina A, carotenóides e proteína ligadora de retinol em crianças com infecções respiratórias agudas e doenças diarreicas. **Rev Saúde Pública** 1994; 28(5):357-64.

Vilamor E, Fawzi WW. Vitamin A supplementation: implications for morbidity and mortality. **J Infect Dis** 2000; 182(Suppl 1):S122-33.

West Jr KP, Howard GR, Sommer A. Vitamin A and infection: public health implications. **Annu Rev Nutr** 1989; 9:63-86.

West Jr. KP, Pokhrel RP, Katz J, LeClerq SC, Khattry SK, Shrestha SR, Pradhan EK, Tielsch JM, Pandey MR, Sommer A. Efficacy of vitamin A in reducing preschool child mortality in Nepal. **The Lancet** 1991; 338:67-71.

WHO - World Health Organization. **Global prevalence of vitamin A deficiency.** MIDIS working paper 2 (WHO/NUT/95.3). Geneva; 1995.

WHO - World Health Organization. **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating interventions programmes.** Micronutrientes series (WHO/NUT/96.10). Geneva; 1996.

---

Wiedermann U, Tarkowski A, Bremell T, Hanson LA, Kahu H, *et al.* Vitamin A deficiency predisposes to *Staphylococcus aureus* infection. **Infect Immun** 1996; 64:209-14.

Wilson ME. O sistema imune e as defesas do hospedeiro. In: Nisengard RJ e Newman MG. **Microbiologia oral e imunologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p. 7-18.

Wolf G, Phil D. A historical note on the mode of administration of vitamin A for the cure of night blindness. **Am J Clin Nutr** 1978; 31:290-2.

Zhao Z, Ross AC. Retinoic acid repletion restores the number of leukocytes and their subsets and stimulates natural cytotoxicity in vitamin A-deficient rats. **J Nutr** 1995; 125:2064-73.

# *Anexos*

---

# ANEXO 1

## Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ e responsável pela criança \_\_\_\_\_, declaro, para os devidos fins, que livremente autorizo a participação desta criança na pesquisa intitulada **“O impacto da suplementação com vitamina A no sistema imunológico de pré-escolares”**, coordenado pela Dra. PATRÍCIA HELEN DE CARVALHO RONDÓ, professora da Faculdade de Saúde Pública – USP, cujo objetivo é avaliar o impacto dos níveis de vitamina A no sistema imunológico de pré-escolares provenientes de creches públicas. Fui informada e esclarecida de que os seguintes procedimentos serão realizados com a criança:

1. tratamento de verminoses com a ingestão de medicamentos, albendazol (antihelmíntico) e metronidazol (antiparasitário), cujos efeitos adversos são próprios da sua ação sobre os vermes, e incluem dores abdominais e náuseas.
2. colheita de sangue venoso antes e após suplementação com cápsulas de vitamina A;
3. tomada de medidas antropométricas (peso, altura e circunferências);
4. coleta de informações sobre a alimentação da criança;
5. coleta de informações referentes às condições sócio-econômicas.

Ficou estabelecido que a pesquisadora ADRIANA DE AZEVEDO PAIVA, integrante da equipe do estudo, será a responsável pela seleção das crianças que serão incluídas neste estudo, bem como pelo acompanhamento de tais crianças e pelo retorno dos resultados.

Foi garantido que as técnicas utilizadas para os procedimentos de colheita de sangue serão feitas tomando-se os cuidados cabíveis, ficando garantida a ausência de riscos à integridade física, mental ou moral da criança. As amostras de sangue serão utilizadas para determinação de retinol, RBP, ferro, zinco e análises imunológicas, além de verificação de infecção pelo vírus HIV.

No caso de o teste para HIV ser positivo, a criança será encaminhada pela pesquisadora responsável pela coleta de dados, ADRIANA DE AZEVEDO PAIVA, para o devido tratamento e acompanhamento médico e psicológico pela equipe da UNIDADE DE SAÚDE MAIS PRÓXIMA.

Ficou ainda garantida a privacidade das informações que serão prestadas.

Fui esclarecida sobre a importância da pesquisa para a comunidade científica e para a população. Qualquer dúvida será esclarecida pela equipe responsável, sendo assegurado que, em qualquer momento do estudo, posso anular este termo de consentimento, sem qualquer constrangimento ou prejuízo para mim ou para a criança.

Durante a realização da pesquisa, nós os pais/responsáveis, bem como os funcionários e professores das creches, receberemos palestras contendo informações sobre alimentação e nutrição adequada das crianças, para evitar as deficiências de nutrientes como vitamina A, zinco e ferro, dentre outros. As palestras serão realizadas pela pesquisadora e nutricionista ADRIANA DE AZEVEDO PAIVA.

Após todo o exposto acima, livremente autorizo a participação da criança pela qual sou responsável nesta pesquisa.

Teresina, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

---

Responsável

---

Pesquisadora

**Dúvidas ou informações, procurar:**

Adriana de Azevedo Paiva – Rua Pires Gayoso 144, Noivos, Teresina/PI – Telefone: (86)232-5562 ou 9401-3881;

ou Patrícia Helen de Carvalho Rondó. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - Av. Dr. Arnaldo, 715. São Paulo/SP. Tel (011) 3066-7701/7705 (ramal 31).

## ANEXO 2

### FORMULÁRIO DE ENTREVISTA

CRIANÇA Nº  Data entrevista:

Nome da Creche: \_\_\_\_\_

#### A. Dados pessoais

1. Nome da criança : \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) M ( ) F

2. Nome da mãe/responsável: \_\_\_\_\_

3. Endereço: \_\_\_\_\_

Ponto de referência: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_

3. Data de nascimento /\_\_\_\_/\_\_\_\_

4. Idade (anos e meses)

5. Cor da pele: (0) branca (1) negra (2) mulata  
(3) outra

6. Escolaridade da mãe: (0) analfabeto (1) alfabetizado  
(2) primeiro grau incompleto (3) primeiro grau completo  
(4) Segundo grau incompleto (5) segundo grau completo  
(6) terceiro grau (7) outros: \_\_\_\_\_

7. Escolaridade do pai: (0) analfabeto (1) alfabetizado  
(2) primeiro grau incompleto (3) primeiro grau completo  
(4) Segundo grau incompleto (5) segundo grau completo  
(6) terceiro grau (7) outros: \_\_\_\_\_

8. A mãe tem atividade remunerada? (0) não (1) sim   
Se sim, especificar: \_\_\_\_\_

9. O pai tem atividade remunerada? (0) não (1) sim   
Se sim, especificar: \_\_\_\_\_

#### B. Dados sócio-econômicos da família

10. Renda familiar mensal: \_\_\_\_\_ reais

11. Número de pessoas que contribuem com a renda familiar			
12. Números de pessoas da casa			
13. Renda per-capita: _____ reais Salários mínimos (SM): (0) ≤ 1 SM (1) > 1 e ≤ 2 SM (2) > 2 e ≤ 5 SM (3) > 5 e ≤ 10 SM (4) > 10 SM			
14. Casa: (0) Própria (1) Alugada (2) Emprestada (3) Outros _____			
15. Tipo de casa: 9. (0) Alvenaria (1) Madeira (2) Mista (3) Outros: _____			
16. Número de cômodos			
17. Água: (0) Encanada (1) Poço (2) Rio (3) Cacimba (4) Outro: _____			
18. Esgoto: (0) Não (1) Sim			
19. Energia elétrica: (0) Não (1) Sim			
20. Coleta de lixo: (0) Regular (1) Irregular (2) Inexistente			

Observações:

---



---

Entrevistador:

---



11. Número de pessoas que contribuem com a renda familiar			
12. Números de pessoas da casa			
13. Renda per-capita: _____ reais Salários mínimos (SM): (0) ≤ 1 SM (1) > 1 e ≤ 2 SM (2) > 2 e ≤ 5 SM (3) > 5 e ≤ 10 SM (4) > 10 SM			
14. Casa: (0) Própria (1) Alugada (2) Emprestada (3) Outros _____			
15. Tipo de casa: 9. (0) Alvenaria (1) Madeira (2) Mista (3) Outros: _____			
16. Número de cômodos			
17. Água: (0) Encanada (1) Poço (2) Rio (3) Cacimba (4) Outro: _____			
18. Esgoto: (0) Não (1) Sim			
19. Energia elétrica: (0) Não (1) Sim			
20. Coleta de lixo: (0) Regular (1) Irregular (2) Inexistente			

Observações:

---

Entrevistador:

---

## ANEXO 3

### FORMULÁRIO DE ACOMPANHAMENTO DA CRIANÇA

CRIANÇA N°

Nome da criança: \_\_\_\_\_

Nome da Creche: \_\_\_\_\_

#### 1. Vacinas:

Nome da vacina	Data da vacinação

#### 2. Dados antropométricos:

Primeira medição - Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Peso (g): \_\_\_\_\_

Altura (cm): \_\_\_\_\_

Circunferência do tórax (cm): \_\_\_\_\_

Circunferência do abdômen (cm): \_\_\_\_\_

Segunda medição - Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Peso (g): \_\_\_\_\_

Altura (cm): \_\_\_\_\_

Circunferência do tórax (cm): \_\_\_\_\_

Circunferência do abdômen (cm): \_\_\_\_\_

### 3. Registro de intercorrências:

Período: de \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ a \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Durante este período a criança apresentou:

Diarréia	Vômito	Febre	Choro persistente	Dor de barriga	Gripe	Tosse	Internação	Visita a Posto de Saúde	Outras

- A criança apresentou alguma intercorrência que não esteja designada acima (outras): ( ) Não ( ) Sim, especifique: \_\_\_\_\_
- Se a criança visitou o Posto de Saúde, indique quantas vezes, e quais os motivos: \_\_\_\_\_
- Se a criança foi internada em Hospital ou serviço similar, indique quantas vezes e quais os motivos: \_\_\_\_\_
- Se a criança visitou o Posto de Saúde ou esteve internada em Hospital e serviço similar, foi receitado algum medicamento? ( ) Não ( ) Sim, \_\_\_\_\_
- A criança recebeu a visita de agente de Saúde neste período? ( ) Não ( ) Sim, \_\_\_\_ vezes.
- Neste período, a criança fez uso de:
  - ( ) multimistura ou outro tipo de suplementação alimentar: \_\_\_\_\_;
  - ( ) medicação a base de vitaminas ou minerais;
  - ( ) vacina: \_\_\_\_\_;
- Observações:  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-COEP**

Av. Dr. Arnaldo, 715 - Cerqueira César  
São Paulo-SP - CEP: 01246-904

Telefone: (0xx11) 3066-7779 - e-mail: mdgracas@usp.br


---

Of.COEP/122/01

08 de agosto de 2001

Pelo presente, informo que o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo-COEP, analisou e aprovou, em sua 6.ª/01, Sessão Ordinária, realizada em 07.08.01, de acordo com os requisitos da Resolução CNS/196/96, o Protocolo de Pesquisa n.º 501, intitulado: "O IMPACTO DA SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA A NO SISTEMA IMUNOLÓGICO DE PRÉ-ESCOLARES", apresentado pela pesquisadora Patrícia Hélen de Carvalho Rondó.

Atenciosamente,

  
**Paulo Antonio de Carvalho Fortes**  
Professor Associado  
Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da FSP-COEP