

FMUC FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

HUGO MIGUEL BARCELOS FIGUEIREDO

***DOSEAMENTO DE VITAMINA D EM CRIANÇAS COM  
HEPATOPATIA CRÓNICA***

ARTIGO CIENTÍFICO

ÁREA CIENTÍFICA DE PEDIATRIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

MESTRE JULIANA RODA  
PROFESSORA DOUTORA GUIOMAR OLIVEIRA

MARÇO 2019

# **Doseamento de vitamina D em crianças com hepatopatia crónica**

Hugo Miguel Barcelos Figueiredo<sup>1</sup>, Guiomar Gonçalves de Oliveira<sup>1,2,3,4</sup>, Juliana Loureiro Fidalgo Roda<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

<sup>2</sup>Clínica Universitária de Pediatria, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

<sup>3</sup>Hospital Pediátrico, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal

<sup>4</sup>Centro de Desenvolvimento da Criança e Centro de Investigação e Formação Clínica, Hospital Pediátrico, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal

Trabalho final do 6.º ano médico com vista à atribuição do grau de mestre no âmbito do ciclo de estudos do Mestrado Integrado em Medicina.

Área científica: Pediatria

Orientadora: Mestre Juliana Loureiro Fidalgo Roda

Avenida Afonso Romão, 3000-062 Coimbra, Portugal

(juroda@hotmail.com)

## Índice

Resumo.....	iii
Abstract.....	v
Lista de Abreviaturas.....	vii
Lista de Tabelas.....	viii
Lista de Figuras.....	ix
1 Introdução.....	1
2 Materiais e Métodos.....	4
3 Resultados.....	7
4 Discussão.....	13
5 Conclusão.....	15
Agradecimentos.....	16
Referências Bibliográficas.....	17
Anexo I.....	20
Anexo II.....	27

## Resumo

A hepatopatia crónica em idade pediátrica está associada a défices de vitaminas lipossolúveis, nomeadamente da vitamina D. Além da sua importância no metabolismo fosfocálcico, a vitamina D apresenta também funções imunorreguladoras.

O objetivo principal deste projeto é verificar se o nível sérico de vitamina D em crianças e adolescentes com hepatopatia crónica é influenciado pelo estado de inflamação. Secundariamente, pretende-se identificar que outros fatores podem influenciar os níveis séricos de vitamina D nesta população de risco.

Realizou-se um estudo retrospectivo no qual foram analisados os doseamentos de vitamina D realizados em crianças e adolescentes com hepatopatia crónica, seguidos na Unidade de Transplantação Hepática – Hospital Pediátrico do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, num período de três anos, 2015 a 2017. Foram colhidos dados sociodemográficos e somatométricos, doença de base, estação do ano, dados laboratoriais e uso de suplementação vitamínica. Considerou-se deficiência grave de vitamina D valores séricos inferiores a 20 ng/mL e deficiência ligeira valores entre os 20 e os 30 ng/mL. Para a análise estatística foi utilizado SPSS versão 21.0.

No período do estudo foram analisados 200 doseamentos de vitamina D, correspondentes a 73 doentes, com uma idade mediana de 7 anos (mínimo 5 meses; máximo 17 anos), sendo 50% do género feminino.

A maioria dos doseamentos de vitamina D foi realizada em doentes pós-transplante hepático (67%). Existia deficiência grave em 21.5% dos doseamentos e ligeira em 36.5%.

Foi demonstrada uma correlação negativa fraca entre os valores de vitamina D e os de Proteína C-reativa (Rho de Spearman -0.249).

Verificou-se também uma correlação negativa fraca entre os valores de vitamina D e a aspartato aminotransferase (Rho de Spearman -0.196), alanina aminotransferase (Rho de Spearman -0.155), fosfatase alcalina (Rho de Spearman -0.155) e gama glutamil transferase (Rho de Spearman -0.235). Não foi encontrada correlação com a bilirrubina total, International Normalized Ratio, plaquetas e Índice de Massa Corporal.

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nos valores de vitamina D dividindo a amostra quanto ao género, raça, estação do ano, transplantação prévia ou suplementação de vitamina D.

O estado de inflamação parece influenciar negativamente o valor sérico de vitamina D, pelo que, em doentes com situação de inflamação aguda, isto deve ser considerado.

Como esperado, o nível sérico de vitamina D é tendencialmente mais baixo quanto mais grave for o estado de citólise e de colestase.

Não foi possível identificar subgrupos de risco, sendo necessária a monitorização dos valores desta vitamina e seu tratamento de forma individualizada.

**Palavras-chave:** Vitamina D, Doença Hepática Crónica, Pediatria.

## **Abstract**

Chronic liver disease in pediatric age is associated with deficits in fat-soluble vitamins, particularly vitamin D. In addition to its importance in phosphorus and calcium metabolism, vitamin D also has immunoregulatory functions.

The main objective is to verify if the vitamin D levels in children and adolescents with chronic liver disease is influenced by inflammation. Secondly, it is pretended to identify what other factors may influence the vitamin D levels in this at-risk population.

A retrospective study was carried out in order to analyze the vitamin D assays performed in children and adolescents with chronic liver disease, followed in the Unidade de Transplantação Hepática – Hospital Pediátrico do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, during a period of three years, between 2015 and 2017. To characterize the sample, socio-demographic and somatometric data were collected, as well as data related to the underlying disease, laboratory data, season of the year and usage of vitamin D supplements. Vitamin D levels below 20 ng/mL were considered as severe deficiency and levels between 20 and 30 ng/mL were considered as mild deficiency. For the statistical analysis, SPSS version 21.0 was used.

During the study period, 200 vitamin D assays were performed, corresponding to 73 patients, with a median age of 7 years (minimum 5 months, maximum 17 years), being 50% of those female.

Most vitamin D assays were performed in post-liver transplant patients (67%). It was found severe deficiency in 21.5% of the assays and mild deficiency in 36.5%.

A weak negative correlation was found between vitamin D and C-reactive protein levels (Spearman's Rho -0.249).

There was also a weak negative correlation between vitamin D levels and aspartate aminotransferase (Spearman's Rho -0.196), alanine aminotransferase (Spearman's Rho -0.155), alkaline phosphatase (Spearman's Rho -0.155) and gamma glutamyl transferase (Spearman's Rho -0.235).

No statistically significant differences were found in vitamin D levels when sorting the sample by gender, race, season, previous transplantation, or vitamin D supplementation.

The inflammation status appears to have a negative influence on the serum vitamin D levels, so, in patients with acute inflammation, this should be considered.

Vitamin D level is lower as cytolysis and cholestasis is more severe.

It was not possible to identify at-risk subgroups, so frequent monitoring of vitamin D levels and individualized treatment is still necessary.

**Keywords:** Vitamin D, Chronic liver disease, Pediatric.

## **Lista de Abreviaturas**

AAP – Academia Americana de Pediatria

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

AVBEH – Atrésia das Vias Biliares Extra-Hepáticas

CHUC – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

ESPGHAN – Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica

FA – Fosfatase Alcalina

IMC – Índice de Massa Corporal

INR – International Normalized Ratio

$\gamma$ -GT – Gama glutamil transferase

NAM – Academia Nacional de Medicina dos Estados Unidos

OPG – Osteoprotegerina

PCR – Proteína C-Reativa

PTH – Paratormona

RANKL – Ligante do recetor ativador do fator nuclear kappa B

VS – Velocidade de sedimentação



## Lista de Tabelas

Tabela I – Análise dos testes de normalidade e valores de <i>skewness</i> e <i>kurtosis</i> das diferentes variáveis analisadas.....	6
Tabela II – Frequência das diversas patologias na amostra considerada.....	7
Tabela III – Lista dos diferentes suplementos de vitamina D utilizados .....	8
Tabela IV – Análise descritiva das variáveis PCR, procalcitonina e VS.....	8
Tabela V – Resultado do teste de correlação de Spearman entre os doseamentos de vitamina D e de PCR.....	9
Tabela VI – Resultados do teste do Qui-quadrado com um <i>cut-off</i> de 0,5 mg/dL de PCR.....	10
Tabela VII – Análise descritiva das diferentes variáveis analisadas .....	10
Tabela VIII – Resultados do teste de correlação de Spearman .....	11
Tabela IX – Resultados do teste do Qui-quadrado com vitamina D.....	12

## Lista de Figuras

Figura 1 – Relação entre valores de PCR e valores de vitamina D .....	9
Figura 2 – Distribuição dos valores doseados de vitamina D.....	20
Figura 3 – Distribuição dos valores doseados de INR .....	20
Figura 4 – Distribuição dos valores doseados de PCR.....	21
Figura 5 – Distribuição dos valores doseados de Bilirrubina Total.....	21
Figura 6 – Distribuição dos valores doseados de Bilirrubina Direta .....	22
Figura 7 – Distribuição dos valores doseados de Fosfatase Alcalina.....	22
Figura 8 – Distribuição dos valores doseados de $\gamma$ -GT .....	23
Figura 9 – Distribuição dos valores doseados de AST .....	23
Figura 10 – Distribuição dos valores doseados de ALT .....	24
Figura 11 – Distribuição dos valores doseados de plaquetas .....	24
Figura 12 – Distribuição dos valores de IMC z-score.....	25
Figura 13 – Distribuição dos valores doseados de procalcitonina.....	25
Figura 14 – Distribuição dos valores doseados de VS.....	26
Figura 15 – Relação entre valores de INR e valores de vitamina D.....	27
Figura 16 – Relação entre valores de Bilirrubina total e valores de vitamina D.....	27
Figura 17 – Relação entre valores de Bilirrubina direta e valores de vitamina D .....	28
Figura 18 – Relação entre valores de Fosfatase Alcalina e valores de vitamina D .....	28
Figura 19 – Relação entre valores de $\gamma$ -GT e valores de vitamina D .....	29
Figura 20 – Relação entre valores de AST e valores de vitamina D .....	29
Figura 21 – Relação entre valores de ALT e valores de vitamina D .....	30
Figura 22 – Relação entre valores de Plaquetas e valores de vitamina D .....	30
Figura 23 – Relação entre valores de IMC z-score e valores de vitamina D .....	31

## 1 Introdução

A vitamina D é uma vitamina lipossolúvel reconhecida pelo seu papel no metabolismo fosfocálcico e ainda por complexas propriedades imunomoduladoras.<sup>1-3</sup> A maior parte da vitamina D circulante é sintetizada na pele através da exposição a radiação ultravioleta-B, convertendo o 7-deidrocolesterol (metabolito do colesterol) em pré-vitamina D3 na camada basal da epiderme, sendo rapidamente convertida em vitamina D3.<sup>1,2</sup> A produção cutânea desta vitamina é influenciada por múltiplos fatores, nomeadamente, pela pigmentação da pele, latitude e altitude em que se habita, estação do ano, ou a utilização de protetor solar.<sup>4</sup>

As crianças necessitam de menor exposição solar de modo a produzirem quantidades suficientes de vitamina D, uma vez que apresentam uma capacidade aumentada de produção desta vitamina e uma relação área corporal/volume aumentada.<sup>4</sup>

A pequena porção de vitamina D que se obtém através da alimentação provém de fontes alimentares como peixes gordos, cogumelos, laticínios, entre outros.<sup>5</sup> As vitaminas D2 (ergocalciferol) e D3 (colecalfiferol) são absorvidas através de um processo dependente dos ácidos biliares, sendo incorporadas em micelas no lúmen intestinal e posteriormente absorvidas pelos enterócitos e armazenadas em quilomícrons.<sup>1,2</sup> A vitamina D pode ser armazenada nos adipócitos ou continuar o seu metabolismo sofrendo uma hidroxilação no fígado. Este processo é mediado pela 25-hidroxilase dando origem à forma circulante mais comum da vitamina D, o 25-hidroxicolecalciferol que apresenta uma semivida de cerca de duas a três semanas, sendo este o metabolito usado para se determinar o *status* da vitamina D, embora esta se trate de uma forma inactiva.<sup>1,5</sup> O último passo corresponde à 1 $\alpha$ -hidroxilação que ocorre maioritariamente no túbulo contornado proximal do rim. Esta hidroxilação produz assim a forma activa da vitamina D - 1 $\alpha$ ,25-dihidroxicolecalciferol - também designada por calcitriol.<sup>1</sup>

A vitamina D apresenta efeitos pleotrópicos uma vez que o seu recetor se encontra expresso numa variedade de células e tecidos. O recetor influencia direta ou indiretamente mais de 200 genes, que por sua vez apresentam papel na proliferação e diferenciação celular, apoptose, imunomodulação e angiogénese.<sup>1</sup> Esta vitamina contribui significativamente para a mineralização óssea ao controlar os níveis séricos de cálcio e de fósforo. A nível intestinal promove a sua absorção, a nível esquelético a sua reabsorção e a nível renal a sua reabsorção e diminuição da excreção. A vitamina D atua ainda na diminuição da secreção da paratormona (PTH) e na maturação dos osteoclastos.<sup>4-6</sup> A

vitamina D tem complexas propriedades imunorregulatórias na medida em que modula tanto a imunidade inata como a adquirida, regulando ainda a resposta inflamatória. A vitamina D foi associada assim a doenças como a asma, dermatite atópica, Diabetes Mellitus tipo 1, doença celíaca, entre outras, embora existam ainda um número limitado de estudos relativamente à população pediátrica e alguma controvérsia quanto aos resultados obtidos.<sup>4,5</sup>

A deficiência de vitamina D em idade pediátrica apresenta uma elevada prevalência, mesmo quando são considerados países com uma boa exposição solar.<sup>4,6,7</sup> Em crianças e adolescentes europeus encontrou-se uma prevalência de deficiência de vitamina D (para um *cut-off* de 12 ng/mL) de 7%.<sup>4,6,7</sup> Em Portugal, são escassos os dados relativos à deficiência da vitamina D em idade pediátrica, salientando-se o estudo realizado por Ferreira S e colaboradores, de 2016, em que se verificou uma elevada prevalência de deficiência de vitamina D (47.8%) em crianças e adolescentes da região do Porto.<sup>8</sup>

Segundo a Academia Europeia de Pediatria, os valores de *cut-off* são ainda pouco claros devido à falta de consenso entre instituições.<sup>4,9</sup> Algumas entidades como a Academia Americana de Pediatria (AAP), Academia Nacional de Medicina dos Estados Unidos (NAM) e Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica (ESPGHAN) consideram como estado de suficiência de vitamina D valores acima dos 30 ng/mL, deficiência ligeira com valores compreendidos entre 20 e 30 ng/mL e deficiência grave valores inferiores a 20 ng/mL.<sup>7,9</sup>

As hepatopatias crónicas, tais como hepatites autoimunes, atresia das vias biliares extra-hepáticas, esteatohepatite não alcoólica, entre outras, representam um conjunto de doenças crónicas que implicam uma alteração irreversível na estrutura hepática, podendo culminar em complicações como a cirrose, falência hepática e morte prematura.<sup>10-12</sup>

O défice das vitaminas lipossolúveis, nomeadamente da vitamina D, encontra-se associado às hepatopatias crónicas, uma vez que a sua síntese e absorção depende maioritariamente deste órgão.<sup>1,13</sup> Crianças com doença hepática terminal constituem um grupo de risco para deficiência desta vitamina e osteodistrofia hepática que, se não corrigida, conduzem a alterações de elevada gravidade, nomeadamente ao aumento de incidência de fraturas patológicas, dores ósseas, atraso no crescimento, alteração das placas de crescimento, osteomalácia e raquitismo.<sup>1,5,14</sup> Compreende-se assim a importância da monitorização da

vitamina D em crianças de risco, como é o caso de crianças portadoras de doença hepática crónica.<sup>15</sup>

Inúmeros estudos tentaram demonstrar a relação entre o nível de vitamina D e marcadores de inflamação. No entanto, desconhece-se se o estado inflamatório pode influenciar negativamente o doseamento sérico de vitamina D ou se, por outro lado, é a vitamina D que diminui a inflamação. Portanto, o valor do doseamento de vitamina D quando obtido em situações de inflamação, poderá não corresponder ao valor real em condições basais.<sup>16,17</sup>

Os doentes com hepatopatia são uma população de risco para défice de vitamina D e, como tal, são submetidos a doseamentos séricos regulares. Daí a utilização desta população para a realização deste projeto, cuja hipótese científica subjacente é, então, que o estado inflamatório influencia o valor de doseamento sérico de vitamina D.<sup>18</sup> Pretende-se também compreender quais os outros fatores que influenciam este valor, particularmente nestes doentes com elevado risco de défice desta vitamina.

## 2 Materiais e Métodos

Procedeu-se a um estudo retrospectivo, onde foram incluídos todos os doentes da Unidade de Transplantação Hepática – Hospital Pediátrico do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC) que realizaram pelo menos dois doseamentos de vitamina D, em situação de consulta ou internamento, num período de três anos, entre janeiro de 2015 e dezembro de 2017.

Na tentativa de avaliar se o estado de inflamação influencia o valor sérico de vitamina D foram colocadas as seguintes questões de investigação:

1 – Existe correlação entre o doseamento de vitamina D e o valor de Proteína C-Reativa (PCR), velocidade de sedimentação (VS) ou procalcitonina?

2 – Existe diferença entre doentes mediante o seu estado de inflamação, considerando como *cut-off* um valor de PCR de 0.5 mg/dL?

Para identificar quais os outros fatores que poderão influenciar o doseamento de vitamina D foram colocadas as seguintes questões de investigação:

3 – O doseamento de vitamina D está relacionado com a gravidade da doença hepática, particularmente com o grau de citólise [aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT)]; colestase [gama glutamil transferase ( $\gamma$ -GT), fosfatase alcalina (FA) bilirrubina total, bilirrubina direta]; função hepática [International Normalized Ratio (INR)] e hipertensão portal (plaquetas)?

4 – O doseamento de vitamina D é influenciado pelo género, raça, estação do ano, transplantação prévia, uso de suplementação desta vitamina e Índice de Massa Corporal (IMC)?

Foram analisados todos os doseamentos séricos de vitamina D realizados no período de estudo e posteriormente, colhidos os dados relativos aos processos clínicos dos doentes correspondentes. Foram excluídos os doentes com informação insuficiente.

Para caracterização da amostra foram colhidos dados sociodemográficos (género, idade, raça, peso e estatura), dados relacionados com a doença de base (diagnóstico, realização de transplante hepático); dados laboratoriais (AST, ALT,  $\gamma$ -GT, FA, bilirrubina total e direta, INR, plaquetas, PCR, procalcitonina e VS), estação do ano, utilização de suplementos de vitamina D, doseamentos de vitamina D e método utilizado.

Para este estudo, de acordo com os valores séricos de vitamina D, foi considerado deficiência grave valores inferiores a 20 ng/mL, deficiência ligeira valores entre os 20 e os 30 ng/mL e suficiência valores superiores a 30 ng/mL.

O doseamento da vitamina D foi realizado no laboratório do Serviço de Patologia Clínica do CHUC, pelo método *Liaison 25 OH Vitamin D Total* (32% dos doseamentos analisados) que utiliza tecnologia de imunoensaio quimioluminescente para a determinação quantitativa de vitamina D e pelo método *ADVIA Centaur Vitamin D Total* (68% dos doseamentos) que determina quantitativamente os valores desta vitamina no soro e plasma.<sup>19-21</sup>

Os resultados do IMC, de doentes com idade superior a 2 anos, foram apresentados através de valores z padronizados calculados através do Pediatric Z-Score Calculator. Considerou-se como normal um valor de z-score compreendido entre -2 e 2.<sup>13,22</sup>

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o programa SPSS versão 21.0. Foi testada a normalidade das diferentes variáveis através da realização do teste de Kolmogorov-Smirnov (amostras de dimensão superior a 30) e de Shapiro-Wilk (amostras de dimensão inferior a 30), distribuição do histograma (Anexo I) e analisando os valores de assimetria (*skewness*) e curtose (*kurtosis*). Na Tabela I podemos encontrar os respetivos valores dos testes de normalidade, *skewness* e *kurtosis*.

Tabela I – Análise dos testes de normalidade e valores de *skewness* e *kurtosis* das diferentes variáveis analisadas

	<b>N</b>	<b>Skewness</b>	<b>Kurtosis</b>	<b>Statistic</b>	<b>df</b>	<b>p</b>
	<b>Teste de Kolmogorov-Smirnov</b>					
<b>Vitamina D [ng/mL]</b>	200	1.444	6.284	0.096	200	0.000
<b>INR</b>	166	1.723	6.233	0.128	166	0.000
<b>PCR [mg/dL]</b>	65	4.346	28.8141	0.301	65	0.000
<b>Bilirrubina total</b>	198	5.993	46.341	0.350	198	0.000
<b>Bilirrubina direta</b>	182	5.859	43.822	0.405	182	0.000
<b>Fosfatase Alcalina</b>	197	2.518	6.746	0.260	197	0.000
<b>γ-GT</b>	184	3.62	17.905	0.275	184	0.000
<b>AST [UI]</b>	198	5.292	33.967	0.275	198	0.000
<b>ALT [UI]</b>	197	2.706	8.126	0.213	197	0.000
<b>Plaquetas</b>	196	1.061	1.654	0.087	196	0.001
<b>IMC z-score</b>	109	-0.502	2.346	0.056	109	0.200
	<b>N</b>	<b>Skewness</b>	<b>Kurtosis</b>	<b>Teste de Shapiro-Wilk</b>		
<b>Procalcitonina</b>	19	3.505	13.549	0.540	19	0.000
<b>VS [mm 1ª hora]</b>	20	1.821	3.133	0.779	20	0.000

Ao analisar estes quatro elementos (histograma, testes de normalidade, *skewness* e *kurtosis*) concluiu-se que as diferentes variáveis não apresentavam uma distribuição normal.

Por este motivo, optou-se por utilizar o teste de correlação de Spearman (teste não-paramétrico) que permite averiguar a existência de uma correlação entre os valores de vitamina D e os valores das restantes variáveis analisadas. Foi considerado um valor de  $p < 0.05$  como estatisticamente significativo.<sup>23</sup> Adicionalmente, utilizando o teste do Qui-quadrado, procurou-se verificar a existência de uma diferença estatisticamente significativa dentro da amostra, dividindo-a de acordo com as seguintes variáveis categóricas: género, raça, estação do ano, realização de transplante e pela toma ou não de suplemento de vitamina D.<sup>24</sup>

Através do teste do Qui-quadrado procurou-se ainda verificar a independência entre os valores doseados de vitamina D em dois grupos de doentes, divididos de acordo com o valor de PCR. Nesta divisão da amostra considerou-se o *cut-off* de 0.5 mg/dl de PCR, de modo a verificar a possível existência de uma diferença estatisticamente significativa entre os valores doseados de vitamina D nestes dois grupos.



### 3 Resultados

No período de três anos selecionado para o estudo, foram realizados 200 doseamentos de vitamina D a 73 doentes (37 do género feminino) seguidos na Unidade de Transplantação Hepática – Hospital Pediátrico do CHUC. Destes, quarenta e nove (67%) foram submetidos a transplante hepático.

Caracterização da amostra detalhada na Tabela II.

Tabela II – Frequência das diversas patologias na amostra considerada

<b>Doença de Base</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentagem (%)</b>
Status pós-transplante hepático	49	67
Atrésia das Vias Biliares Extra-Hepáticas (AVBEH)	5	6.8
Hepatite Autoimune tipo 2	3	4.1
Défice de alfa1-antitripsina	2	2.7
Hepatite Autoimune tipo 1	2	2.7
Agénese da Veia Porta	1	1.4
<i>Autosomal Recessive Polycystic Liver and Kidney Disease</i>	1	1.4
Colangite esclerosante autoimune IgG4 positiva	1	1.4
Colangite Esclerosante Primária	1	1.4
Colestase Neonatal de causa desconhecida	1	1.4
Doença de Wilson	1	1.4
Doença hepatometabólica não classificada	1	1.4
Esteatohepatite de etiologia desconhecida	1	1.4
Síndrome de Alagille	1	1.4
Outras	3	4.2
Total	73	100

A maior parte dos doentes desta amostra realizou doseamentos de vitamina D no contexto de pós-transplante hepático (67%), seguindo-se de doentes com atrésia das vias biliares extra-hepáticas (6.8%) como doença de base (Tabela II). A maior parte dos doentes era de raça caucasiana (86.3%), sendo os restantes de raça negra.

Cada doente realizou no mínimo dois doseamentos de vitamina D, 159 foram realizados em contexto de consulta (79.5%) e os restantes em internamento (20.5%). A mediana das idades foi de 7 anos, variando entre 5 meses e 17 anos. Os doentes apresentavam uma mediana de IMC z-score de 0.01 (mínimo -5.00 e máximo 3.36).

Dos 200 doseamentos de vitamina D efetuados, 43 (21.5%) correspondiam a deficiência grave, 73 (36.5%) a deficiência ligeira e 84 (42%) a um valor normal. A média dos valores doseados foi de 28.16 ng/mL (desvio padrão de 11.99 ng/mL) e a mediana de 27.94 ng/mL.

Setenta e nove (39.5%) dos doseamentos foram realizados em doentes sob suplementação de vitamina D. Os diversos suplementos de vitamina D utilizados encontram-se listados na Tabela III. Nesta amostra foram realizados 133 (66.5%) doseamentos de vitamina D em doentes submetidos a transplante hepático.

Tabela III – Lista dos diferentes suplementos de vitamina D utilizados

Suplemento de Vitamina D	Frequência
Colecalciferol	57
Calcifediol	4
Calcitriol + Colecalciferol	4
Calcitriol	3
Multivitamínico	1
Não Especificado	10
Total	79

Em relação aos doseamentos que demonstravam deficiência desta vitamina, é de referir que 17 (39.5%) foram realizados em doentes que se encontravam sob suplementação de vitamina D. Verificou-se ainda que a maioria destes doseamentos foi realizada em doentes pós-transplante hepático (60.5%) e em doentes com atresia das vias biliares extra-hepáticas (23.3%).

#### **Doseamento de vitamina D e inflamação:**

A análise descritiva das variáveis PCR, procalcitonina e VS encontram-se na Tabela IV.

Tabela IV – Análise descritiva das variáveis PCR, procalcitonina e VS

	N	Média	Desvio Padrão
PCR [mg/dl]	65	1.09	0.25
Procalcitonina [ng/mL]	19	0.28	0.09
VS [mm 1ª hora]	20	25.35	5.33

A correlação testada entre os valores de vitamina D e os de PCR apresentou significância estatística, uma vez que o valor de  $p$  calculado foi inferior a 0.05 (Tabela V e Figura 1). Analisando o valor do coeficiente de Spearman verificamos que estas variáveis apresentam uma correlação negativa fraca.

Tabela V – Resultado do teste de correlação de Spearman entre os doseamentos de vitamina D e de PCR

	Spearman's rho Vitamina D		
	Coeficiente de correlação	p (2-tailed)	N
PCR [mg/dL]	-0.249	0.046	65

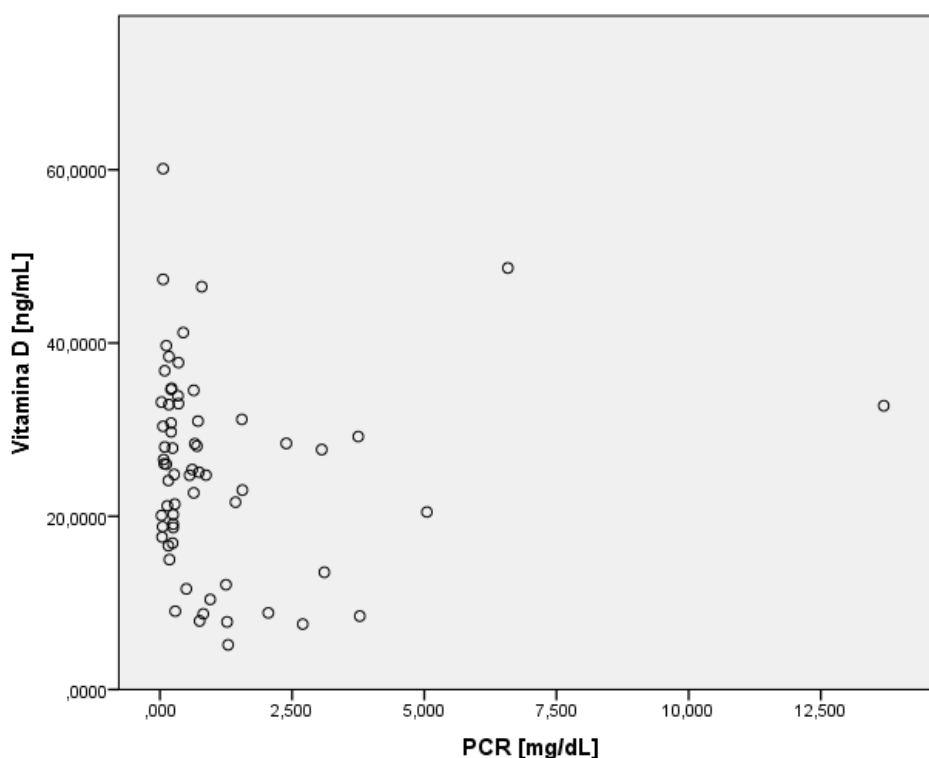


Figura 1 – Relação entre valores de PCR e valores de vitamina D

Os dados relativamente à procalcitonina e VS não foram avaliados dado o reduzido número disponível (Tabela IV).

O teste do Qui-quadrado foi realizado posteriormente de forma a verificar a existência de uma diferença estatisticamente significativa entre os doseamentos de vitamina D, dividindo a amostra em dois grupos, usando como *cut-off* um valor de PCR de 0,5 mg/dl. Uma vez que o valor de *p* foi superior a 0.05, considerou-se que não havia diferença estatisticamente significativa (Tabela VI).

Tabela VI – Resultados do teste do Qui-quadrado com um *cut-off* de 0,5 mg/dL de PCR

		Pearson Chi-Square	N
PCR ( <i>cut-off</i> de 0,5 mg/dL)	Value	124.000	124
	<i>p</i> (2-sided)	0.407	

#### Doseamento de vitamina D e outros fatores:

A análise descritiva das diversas variáveis analisadas encontra-se na Tabela VII.

Tabela VII – Análise descritiva das diferentes variáveis analisadas

	N	Média	Desvio Padrão
Vitamina D [ng/mL]	200	28.16	11.99
INR	166	1.14	0.01
Bilirrubina Total [ $\mu$ mol/L]	198	28.81	4.94
Bilirrubina Direta [ $\mu$ mol/L]	182	21.06	4.8
<b>Fosfatase Alcalina [UI/L]</b>	<b>197</b>	<b>255.94</b>	<b>13.95</b>
<b><math>\gamma</math>-GT [UI/L]</b>	<b>184</b>	<b>92.43</b>	<b>10.18</b>
<b>AST [UI/L]</b>	<b>198</b>	<b>68.13</b>	<b>5.9</b>
<b>ALT [UI/L]</b>	<b>197</b>	<b>67.68</b>	<b>4.68</b>
Plaquetas [ $\times 10^3$ /uL]	196	219.24	6.93
IMC z-score	109	-0.0045	1.17

Os resultados obtidos da correlação entre os valores de vitamina D e as restantes variáveis encontram-se na Tabela VIII. As correlações testadas entre os valores de vitamina D doseados e a FA,  $\gamma$ -GT, AST e ALT apresentaram significância estatística, uma vez que o valor de *p* calculado foi inferior a 0.05 (Tabela VIII e Anexo II). Analisando os valores dos

coeficientes de Spearman verificamos que apresentam uma correlação negativa fraca. Nas restantes não foi encontrada correlação estatisticamente significativa.

Tabela VIII – Resultados do teste de correlação de Spearman

	Spearman's rho Vitamina D		
	Coeficiente de correlação	p (2-tailed)	N
INR	0.035	0.650	166
Bilirrubina Total [ $\mu\text{mol/L}$ ]	-0.134	0.060	198
Bilirrubina Direta [ $\mu\text{mol/L}$ ]	-0.128	0.085	182
<b>Fosfatase Alcalina [UI/L]</b>	<b>-0.155</b>	<b>0.029</b>	<b>197</b>
<b><math>\gamma</math>-GT [UI/L]</b>	<b>-0.235</b>	<b>0.001</b>	<b>184</b>
<b>AST [UI/L]</b>	<b>-0.196</b>	<b>0.006</b>	<b>198</b>
<b>ALT [UI/L]</b>	<b>-0.155</b>	<b>0.030</b>	<b>197</b>
Plaquetas [ $\times 10^3/\text{uL}$ ]	-0.122	0.089	196
IMC z-score	0,035	0,722	109

O teste do Qui-quadrado foi realizado posteriormente de forma a verificar a existência de uma diferença estatisticamente significativa dentro da amostra, quando consideradas divisões segundo: género, raça, estação do ano em que foi realizado o doseamento, realização de transplante e toma ou não de suplemento de vitamina D (Tabela IX). Uma vez que os resultados obtidos com o teste do Qui-quadrado, para as diversas divisões realizadas, apresentaram um valor de  $p$  superior a 0.05, considerou-se que as mesmas não são independentes, ou seja, estas variáveis não parecem influenciar o valor de vitamina D.

Tabela IX – Resultados do teste do Qui-quadrado com vitamina D

		<b>Pearson Chi-Square</b>	<b>N</b>
Género (Masculino/Feminino)	Value	187.313	200
	<i>p</i> (2-sided)	0.500	
Raça (Caucasiana/Negra)	Value	191.891	200
	<i>p</i> (2-sided)	0,408	
Estação do ano (Primavera/Verão/Outono/Inverno)	Value	572.068	200
	<i>p</i> (2-sided)	0.398	
Realização de Transplante Hepático (Sim/Não)	Value	187.282	200
	<i>p</i> (2-sided)	0.501	
Suplementação (Sim/Não)	Value	388.767	200
	<i>p</i> (2-sided)	0.314	

## 4 Discussão

Nos últimos anos, a vitamina D tem vindo a ganhar um papel de destaque dado o interesse da comunidade científica em conhecer os seus efeitos na saúde dos doentes, em particular nos doentes em idade pediátrica.<sup>4,13</sup>

Os doentes com hepatopatia crónica são amplamente reconhecidos como de risco para deficiência de vitamina D, no entanto, os estudos publicados são escassos.<sup>4,6-8,13</sup>

A deficiência de vitamina D em idade pediátrica apresenta uma elevada prevalência.<sup>4,6,7</sup> Num estudo, realizado apenas em crianças e adolescentes com status pós-transplante hepático, foi encontrada uma prevalência de deficiência de vitamina D de 67%.<sup>13</sup> Num estudo, realizado em doentes pediátricos com esteato-hepatite não alcoólica, foi encontrada uma prevalência de deficiência desta vitamina de 78%, não se tendo apurado correlação com as características histológicas ou com a severidade da esteato-hepatite.<sup>25</sup> No presente estudo verificou-se, de facto, uma elevada prevalência de deficiência de vitamina D, correspondente a um total de 58%, sendo grave em 21.5%.

Os grupos de maior risco para défice grave de vitamina D foram os doentes transplantados (60.5%) e os doentes com atresia das vias biliares extra-hepáticas (23.3%), confirmando a persistência de risco de deficiência de vitamina mesmo após a transplantação.

Verificou-se uma correlação negativa fraca entre os níveis de vitamina D e o valor de PCR. Esta correlação pode significar que em estados de inflamação, traduzidos por valores mais elevados de PCR, os valores de vitamina D seriam mais baixos, pelo que não devem ser tão valorizados por não corresponderem ao valor em situações basais. Ou, pelo contrário, pode-se considerar ser necessário aumentar a dose de suplementação desta vitamina em estados de inflamação. Isto pode ser explicado pelas suas funções, não completamente esclarecidas, de modulação do sistema imunitário. A vitamina D liga-se ao seu recetor nuclear amplificando ou inibindo a transcrição de múltiplos genes. Estes recetores encontram-se presentes em variadas células, incluindo células do sistema imunitário, como é o caso dos linfócitos T, neutrófilos, células dendríticas, linfócitos B e macrófagos. A vitamina D suprime a proliferação e estimulação dos linfócitos T e dos monócitos e encontra-se associada à diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo a PCR, fator de necrose tumoral  $\alpha$ , interleucina 6, 8 e 1 e ainda ao aumento da produção de citocinas anti-inflamatórias, como a interleucina 10.<sup>16,17</sup>

Foram também encontradas correlações negativas fracas entre o valor de vitamina D e os níveis séricos das enzimas hepáticas AST e ALT, ou seja, à medida que o grau de citólise aumenta, a vitamina D tem tendência a diminuir. Os valores de FA e  $\gamma$ -GT também se correlacionaram negativamente com o valor de vitamina D, mas não o valor de bilirrubina, principal marcador de colestase. Não se verificou correlação estatística, entre as variáveis indicativas da função de síntese hepática (INR) e de hipertensão portal (plaquetas) e o nível sérico de vitamina D. Também não se verificou correlação estatística entre a variável IMC z-score e o nível sérico desta vitamina.

Ao contrário do esperado, nesta amostra o valor de vitamina D não foi influenciado pela estação do ano ou pela raça.<sup>13</sup> Também não foi encontrada diferença entre géneros, entre transplantados e não transplantados ou entre suplementação ou não de vitamina D.

Isto ocorreu possivelmente pelos diversos fatores que influenciam a absorção da vitamina D, como é o caso do tipo de roupa usada, alimentação, uso de protetor solar, exposição solar, assim como o uso de suplementação de vitamina D e o desconhecimento da dose utilizada.

Estes fatores apontam, mais uma vez, para a necessidade de doseamentos regulares desta vitamina e de implementar uma terapêutica personalizada.

Este estudo apresenta várias limitações: 1- nem todos os doentes apresentavam todos os dados laboratoriais disponíveis, não tendo sido possível analisar por exemplo os valores de procalcitonina e de VS; 2- a utilização de todos os valores obtidos, incluindo os valores denominados como *outliers*, que como se sabe podem ter influência no cálculo da correlação entre os valores doseados de vitamina D e os valores das diversas variáveis analisadas, 3- utilização de diversos suplementos de vitamina D e em diferentes doses.<sup>13,26</sup>

No futuro, seria importante realizar um estudo prospetivo, envolvendo doentes pediátricos com hepatopatia crónica, correlacionando os níveis séricos de vitamina D com o estado inflamatório, mas também com valores de densitometria e com marcadores de osteopenia, nomeadamente a osteoprotegerina (OPG) e o ligante do recetor ativador do fator nuclear kappa B (RANKL). A relação RANKL/OPG é um importante determinante da densidade mineral óssea e da integridade do esqueleto.<sup>27</sup>



## 5 Conclusão

O déficit de vitamina D é um problema atual na população pediátrica, tanto pela sua elevada prevalência na população saudável como em doentes de risco com hepatopatia crónica.<sup>4,9,13</sup> Neste estudo, mais de metade (58%) dos doentes apresentava déficit de vitamina D. Os doentes com maior risco são os transplantados hepáticos e os que sofrem de atresia das vias biliares extra-hepáticas ainda não transplantados.

O estado de inflamação parece influenciar negativamente o valor sérico de vitamina D, pelo que, em doentes com situação de inflamação aguda, este valor poderá não corresponder ao valor em situações basais. Pode-se ainda considerar aumentar a dose de suplementação de vitamina D em estados de inflamação.

Valores mais elevados de AST, ALT, FA e  $\gamma$ -GT, traduzindo maior gravidade da doença de base e maior inflamação, estão associados a doseamentos mais baixos de vitamina D. Por outro lado, não foi encontrada nenhuma correlação com o valor de bilirrubina, INR ou plaquetas. Não é assim possível definir um subgrupo de maior risco, nos doentes com hepatopatia crónica, pelo que doseamentos frequentes e regulares de vitamina D devem ser universalmente realizados e o seu tratamento deve ser individualizado.

Este é um estudo pioneiro, particularmente em doentes pediátricos com hepatopatia crónica e com uma amostra significativa, que permitiu aumentar o nosso conhecimento relativamente à influência da inflamação na vitamina D, apesar dos mecanismos subjacentes ainda não estarem completamente esclarecidos.

## **Agradecimentos**

À Dra. Juliana Roda, orientadora, e à Professora Doutora Guiomar Oliveira, co-orientadora, por toda a disponibilidade, empenho e ajuda que enriqueceram e facilitaram a realização deste trabalho.

À minha família e aos meus amigos por todo o apoio e amizade.

À Inês por toda a paciência, amor, carinho e boa disposição durante todo este processo.

## Referências Bibliográficas

1. Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: The importance of vitamin D status in chronic liver disease. *J Hepatol.* 2012;57(4):897-909. doi:10.1016/j.jhep.2012.04.033
2. O'malley T, Heuberger R. Vitamin D status and supplementation in pediatric gastrointestinal disease. *J Spec Pediatr Nurs.* 2011;16(2):140-150. doi:10.1111/j.1744-6155.2011.00280.x
3. Lee WS, Jalaludin MY, Wong SY, Ong SY, Foo HW, Ng RT. Vitamin D non-sufficiency is prevalent in children with chronic liver disease in a tropical country. *Pediatr Neonatol.* 2018:1-7. doi:10.1016/j.pedneo.2018.03.011
4. Saggese G, Vierucci F, Prodam F, et al. Vitamin D in pediatric age: Consensus of the Italian Pediatric Society and the Italian Society of Preventive and Social Pediatrics, jointly with the Italian Federation of Pediatricians. *Ital J Pediatr.* 2018;44(1):1DUMMY. doi:10.1186/s13052-018-0488-7
5. Lee JY, So T-Y, Thackray J. A review on vitamin d deficiency treatment in pediatric patients. *J Pediatr Pharmacol Ther.* 2013;18(4):277-291. doi:10.5863/1551-6776-18.4.277
6. Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M. Vitamin D Deficiency in Children and Its Management: Review of Current Knowledge and Recommendations. *Pediatrics.* 2008;122(2):398-417. doi:10.1542/peds.2007-1894.
7. Balasubramanian S, Dhanalakshmi K, Amperayani S. Vitamin D deficiency in childhood-a review of current guidelines on diagnosis and management. *Indian Pediatr.* 2013;50(7):669-675. doi:10.1007/s13312-013-0200-3
8. Ferreira S, Tomada I, Carreiro E, Poínhos R, Rêgo C. Défice de Vitamina D : Comorbilidade da Obesidade Pediátrica ou Consequência do Estilo de Vida ? *Acta Pediátrica Port.* 2016;47:38-45.
9. Sofia A, Machado N. Vitamina D na idade pediátrica : papel na prevenção e promoção da saúde Vitamina D na idade pediátrica : papel na prevenção e promoção da saúde. 2016.
10. Dhole SD. Chronic Liver Diseases in Children: Clinical Profile and Histology. *J Clin Diagnostic Res.* 2015;9(7):7-10. doi:10.7860/JCDR/2015/13383.6250

11. Hourigan S, Abrams S, Yates K, et al. The Relationship between Vitamin D Status and Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016;60(3):396-404. doi:10.1097/MPG.0000000000000598.The
12. Chang EJ, Yi DY, Yang HR. Vitamin D status and bone mineral density in obese children with nonalcoholic fatty liver disease. *J Korean Med Sci.* 2015;30(12):1821-1827. doi:10.3346/jkms.2015.30.12.1821
13. Legarda M, Gordon G, Lloyd C, et al. Vitamin D deficiency and insufficiency after pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant.* 2013;17(7):631-637. doi:10.1111/petr.12135
14. Höglér W, Baumann U, Kelly D. Growth and bone health in chronic liver disease and following liver transplantation in children. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2010;7(3):266-274. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-77955863852&partnerID=40&md5=22d5e1a71b1745d2d3399dd9f98e20b2>.
15. Iyer P, Diamond F. Detecting disorders of vitamin D deficiency in children: An update. *Adv Pediatr.* 2013;60(1):89-106. doi:10.1016/j.yapd.2013.04.006
16. Mousa A, Misso M, Teede H, Scragg R. Effect of vitamin D supplementation on inflammation: protocol for a systematic review. 2016:1-5. doi:10.1136/bmjopen-2015-010804
17. Calton EK, Keane KN, Newsholme P, Soares MJ. The Impact of Vitamin D Levels on Inflammatory Status: A Systematic Review of Immune Cell Studies. 2015:1-12. doi:10.1371/journal.pone.0141770
18. Keane JT, Elangovan H, Stokes RA, Gunton JE. Vitamin D and the liver—correlation or cause? *Nutrients.* 2018;10(4):1-19. doi:10.3390/nu10040496
19. Freeman J, Wilson K, Spears R, Shalhoub V, Sibley P. Performance evaluation of four 25-hydroxyvitamin D assays to measure 25-hydroxyvitamin D<sub>2</sub>. *Clin Biochem.* 2015;48(16-17):1097-1104. doi:10.1016/j.clinbiochem.2015.05.021
20. Freeman J, Diagnostics SH, Panaia-ferrari P. Standardization of the ADVIA Centaur Vitamin D Total Assay \* Standardization of the ADVIA Centaur Vitamin D Total Assay \*. 2017;5(8):1-19.

21. Alves M, Bastos M, Leitão F, Marques G, Ribeiro G, Carrilho F. Vitamina D— importância da avaliação laboratorial. *Rev Port Endocrinol Diabetes e Metab.* 2013;8(1):32-39. doi:10.1016/j.rpedm.2012.12.001
22. Berenson GS, Freedman DS. Tracking of BMI z Scores for Severe Obesity. 2017;140(3).
23. Hinkle DE, Wiersma W, Jurs SG. *Applied Statistics for the Behavioral Sciences*. 5th ed. Houghton Mifflin; 2003.
24. Mchugh ML. The Chi-square test of independence Lessons in biostatistics. *Biochem Medica.* 2013;23(2):143-149. doi:10.11613/BM.2013.018
25. Hourigan SK, Abrams S, Yates K, et al. Relation between vitamin D status and nonalcoholic fatty liver disease in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015;60(3):396-404. doi:10.1097/MPG.0000000000000598
26. Vaz-Carneiro A. A Vitamina D na prevenção de doenças crónicas: Uma análise baseada na evidência científica. *Acta Med Port.* 2017;30(5):351-353. doi:10.20344/amp.9176
27. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK , RANKL , and osteoprotegerin. 2007;7. doi:10.1186/ar2165

## Anexo I

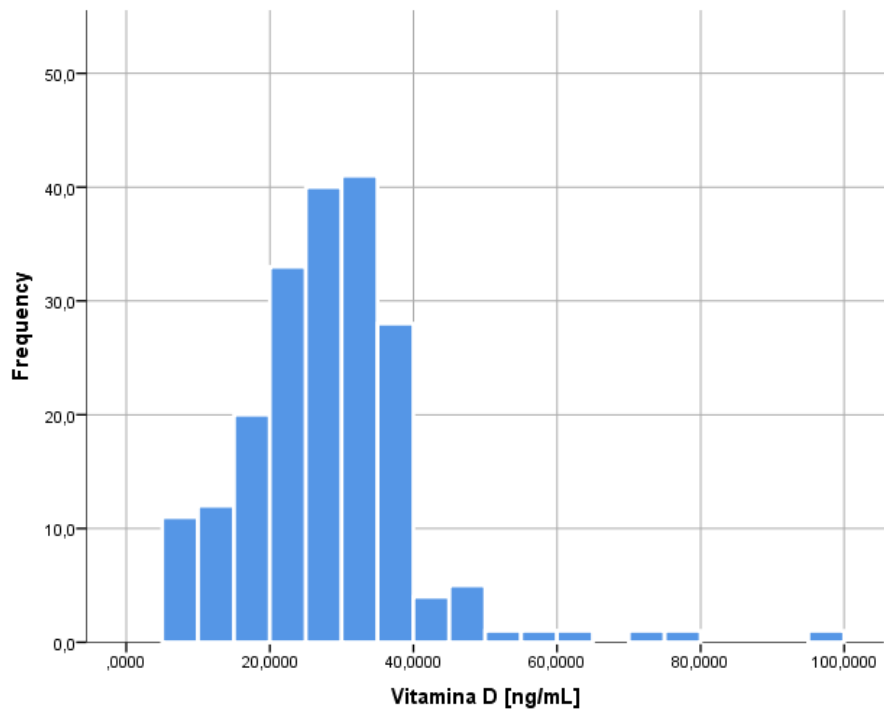


Figura 2 – Distribuição dos valores doseados de vitamina D

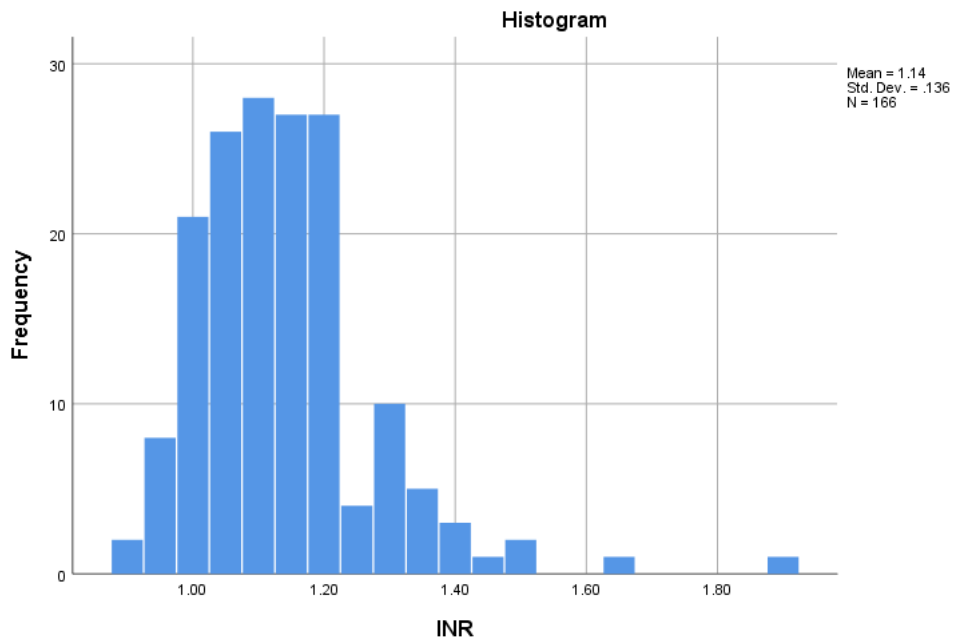


Figura 3 – Distribuição dos valores doseados de INR

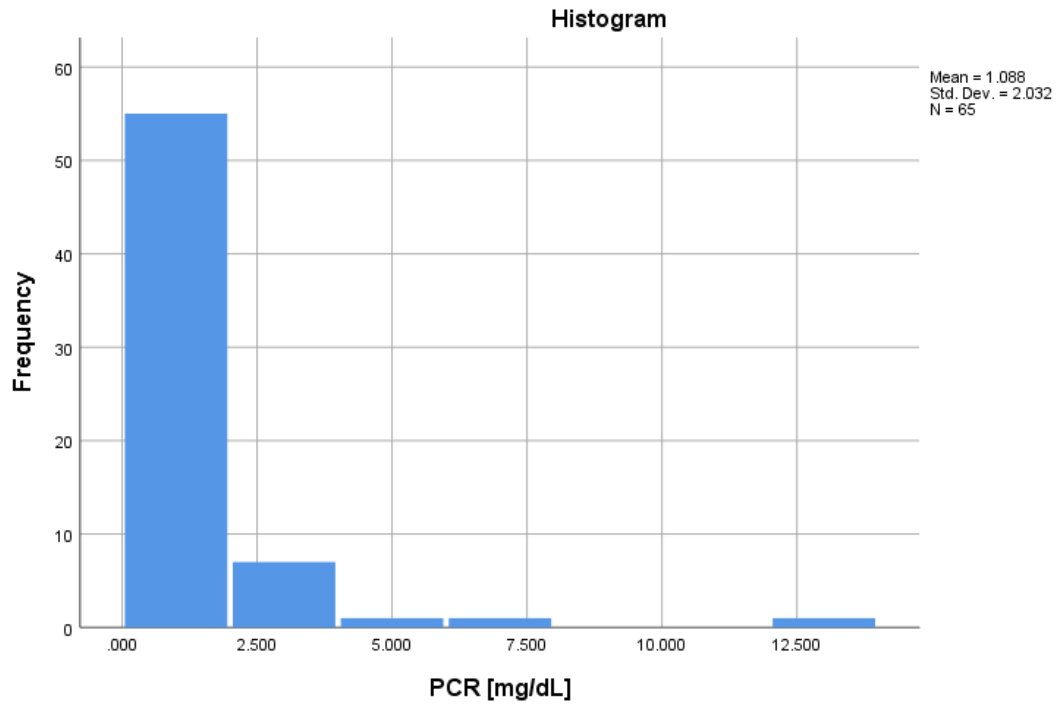


Figura 4 – Distribuição dos valores doseados de PCR

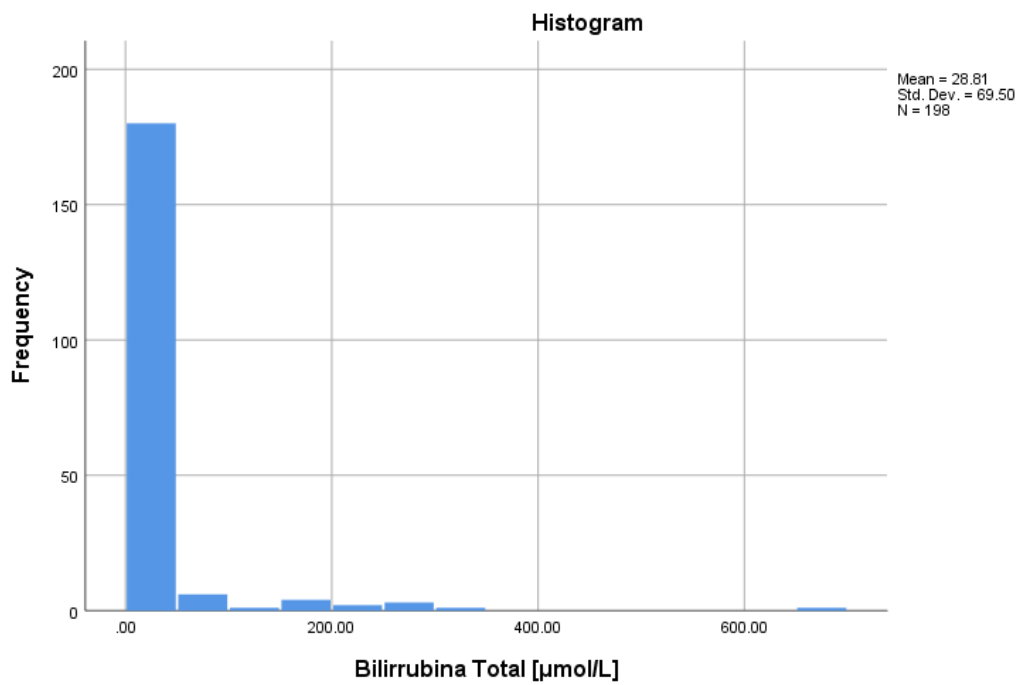


Figura 5 – Distribuição dos valores doseados de Bilirrubina Total

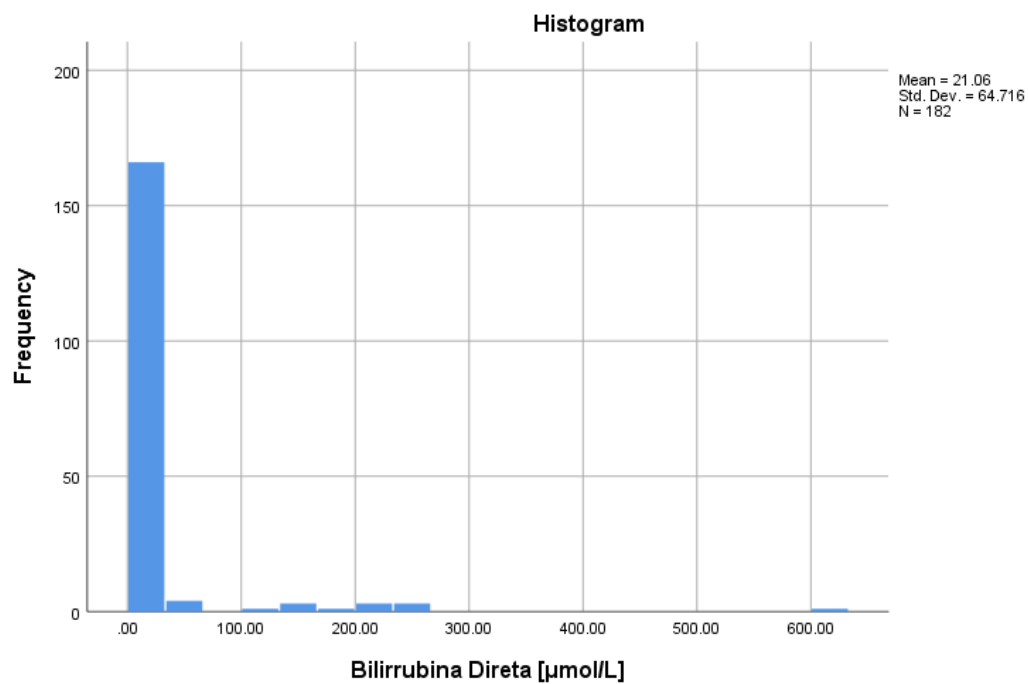


Figura 6 – Distribuição dos valores doseados de Bilirrubina Direta

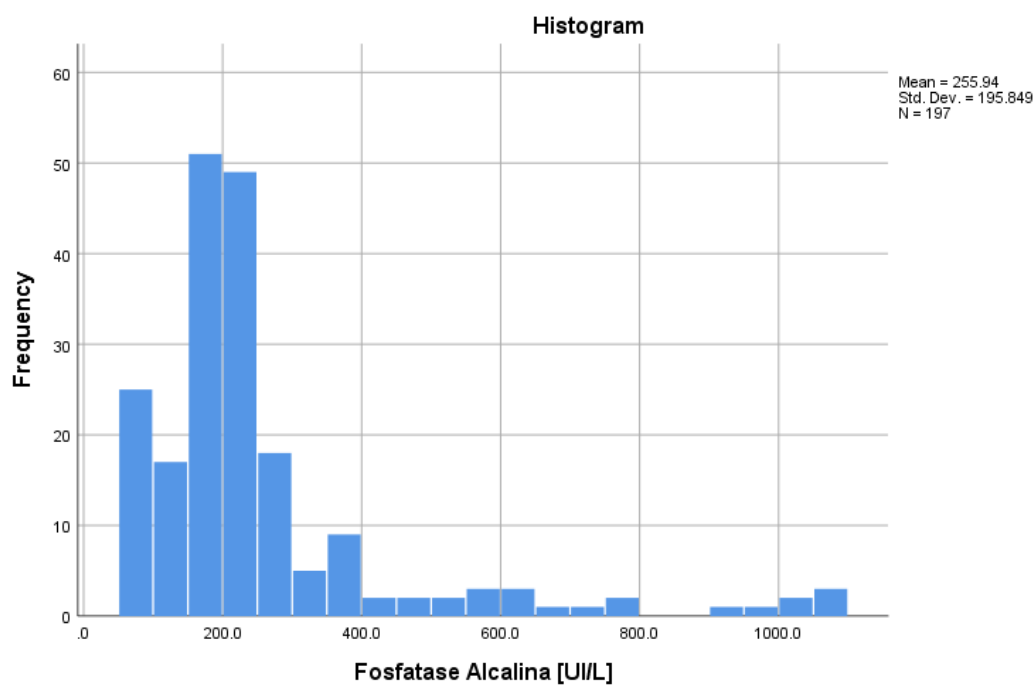


Figura 7 – Distribuição dos valores doseados de Fosfatase Alcalina



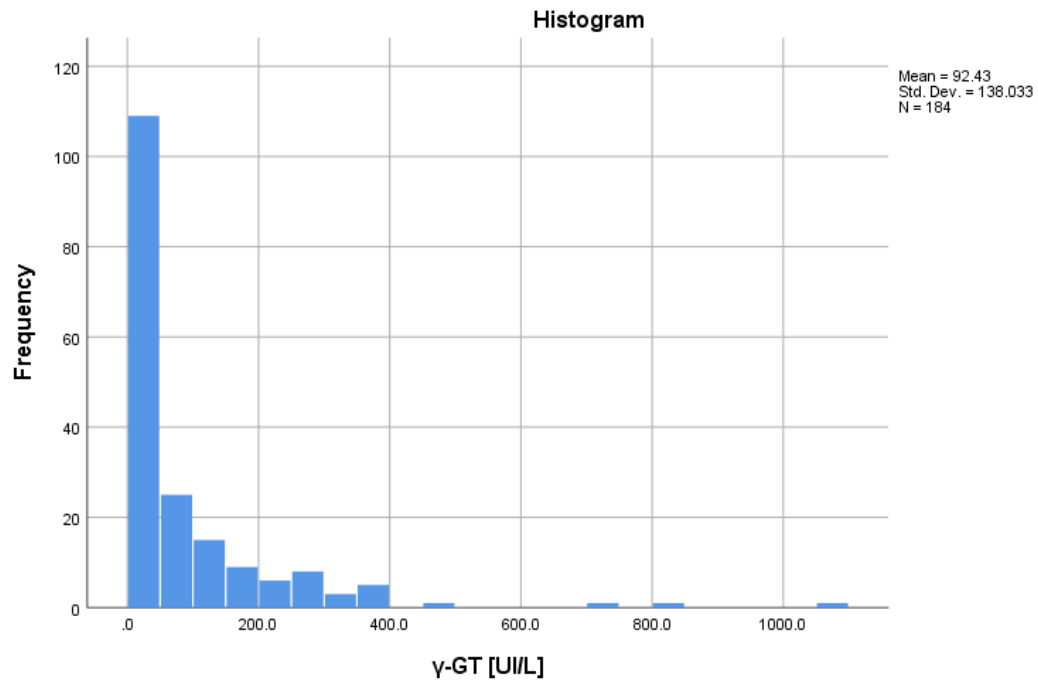


Figura 8 – Distribuição dos valores doseados de  $\gamma$ -GT

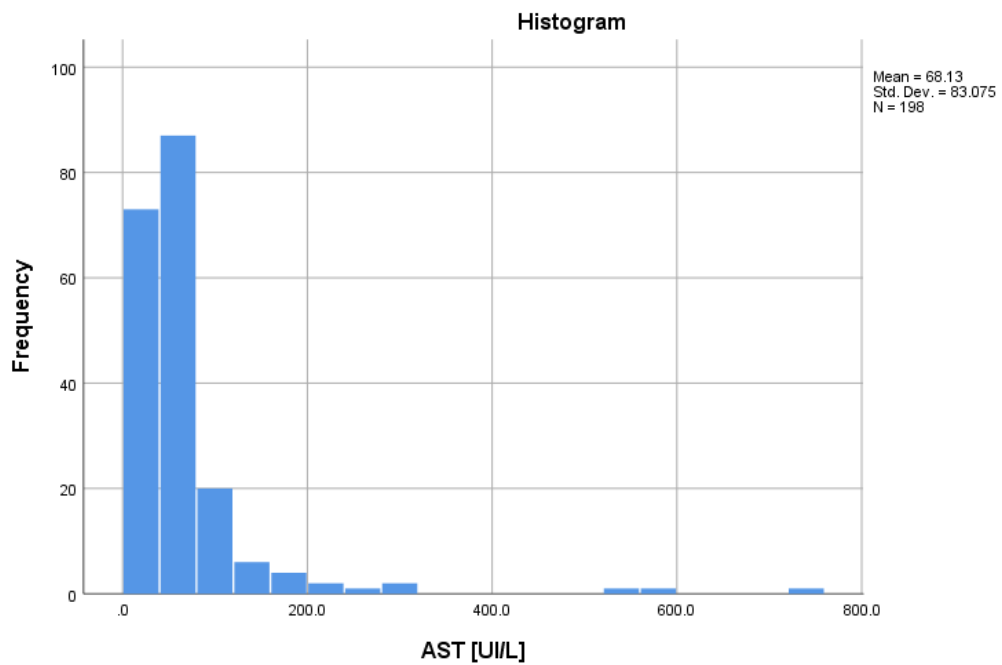


Figura 9 – Distribuição dos valores doseados de AST

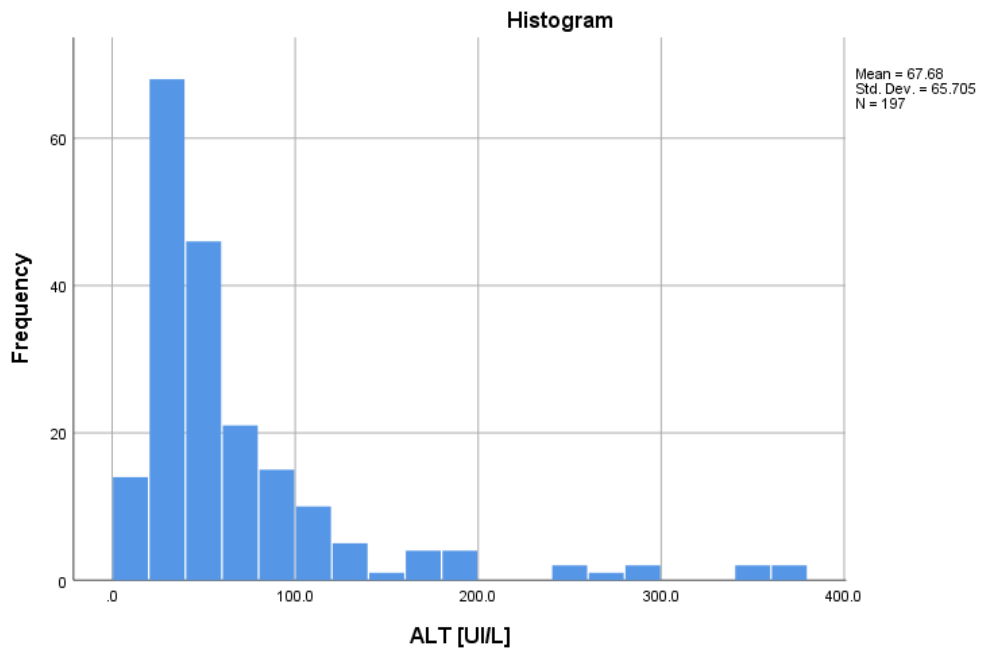


Figura 10 – Distribuição dos valores doseados de ALT

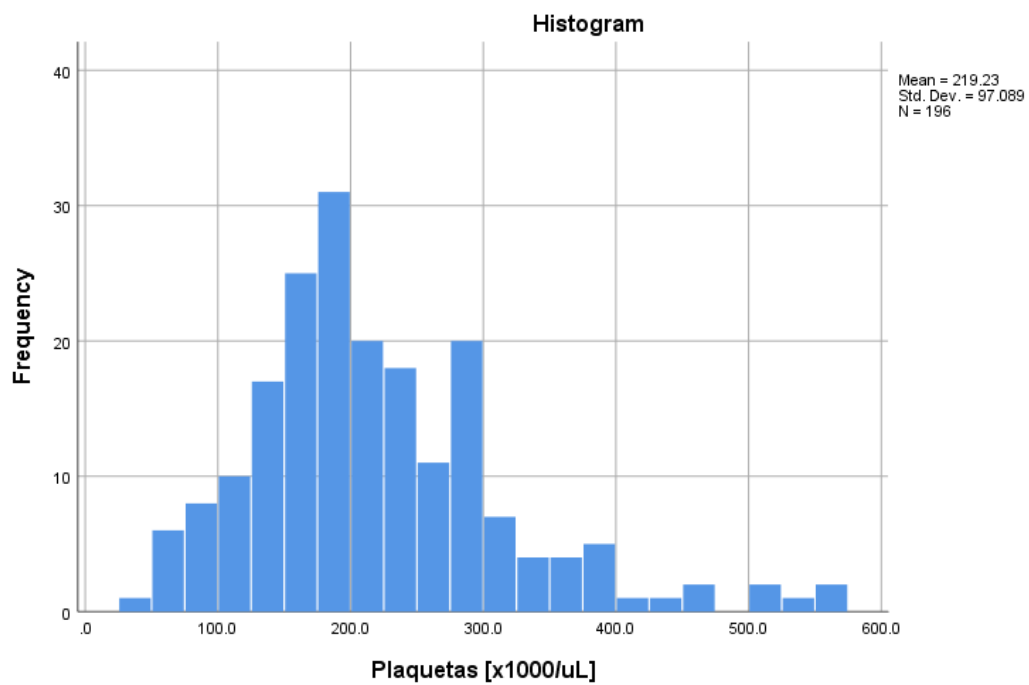


Figura 11 – Distribuição dos valores doseados de plaquetas

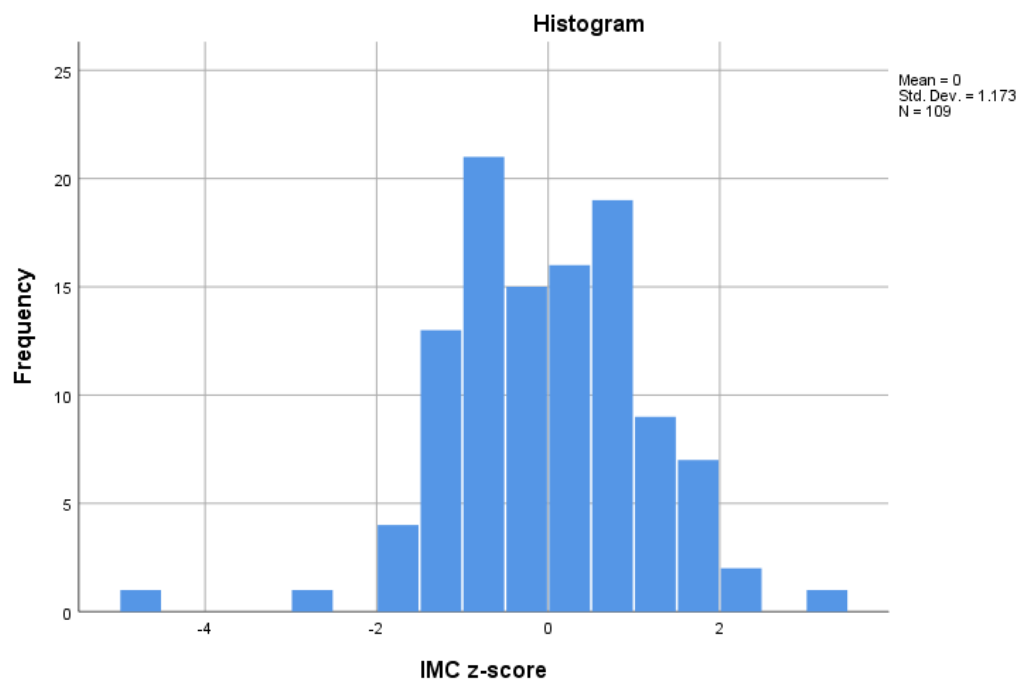


Figura 12 – Distribuição dos valores de IMC z-score

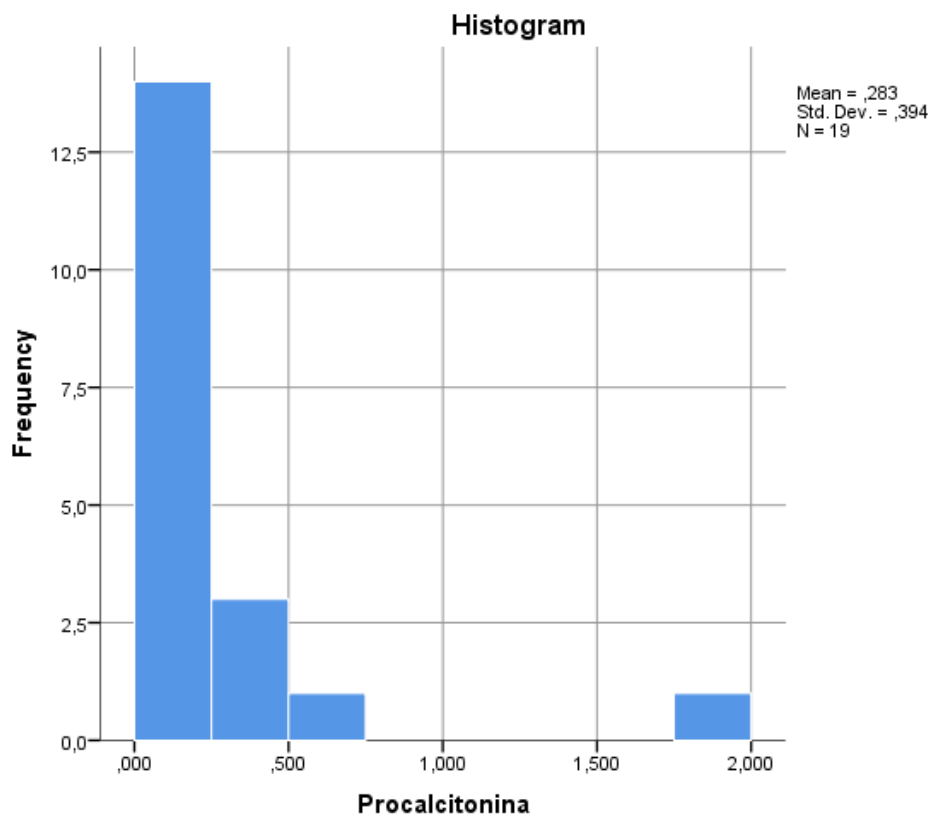


Figura 13 – Distribuição dos valores doseados de procalcitonina

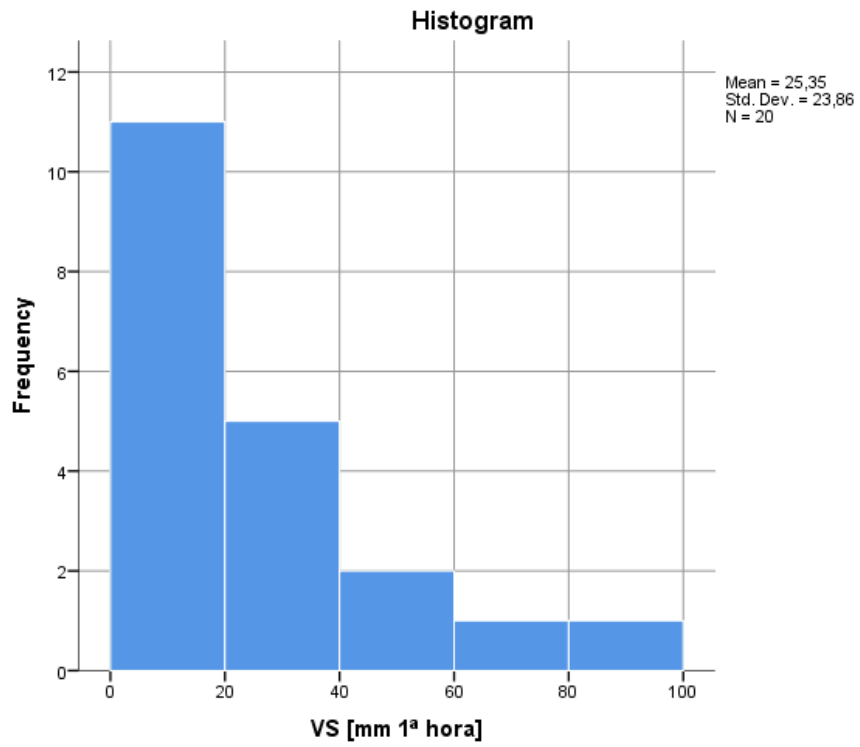


Figura 14 – Distribuição dos valores doseados de VS

## Anexo II

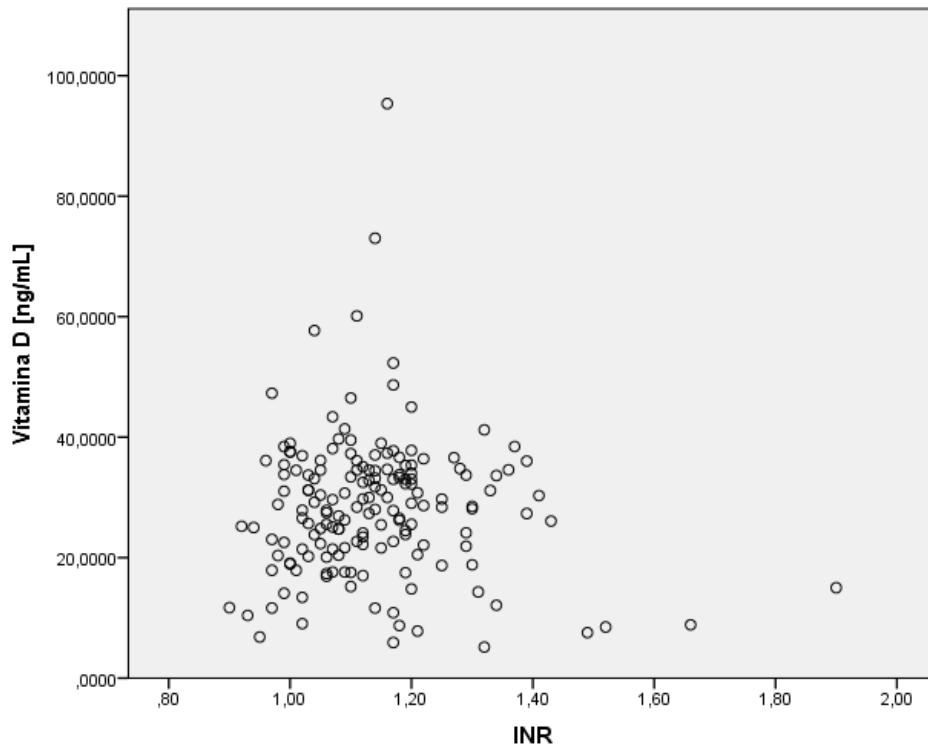


Figura 15 – Relação entre valores de INR e valores de vitamina D

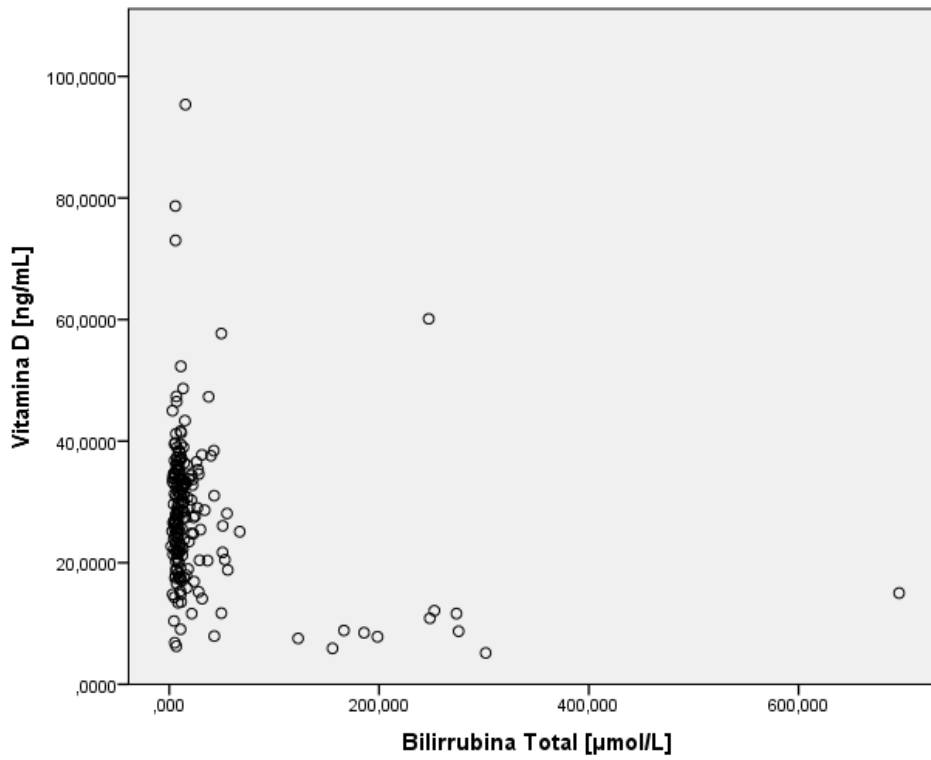


Figura 16 – Relação entre valores de Bilirrubina total e valores de vitamina D

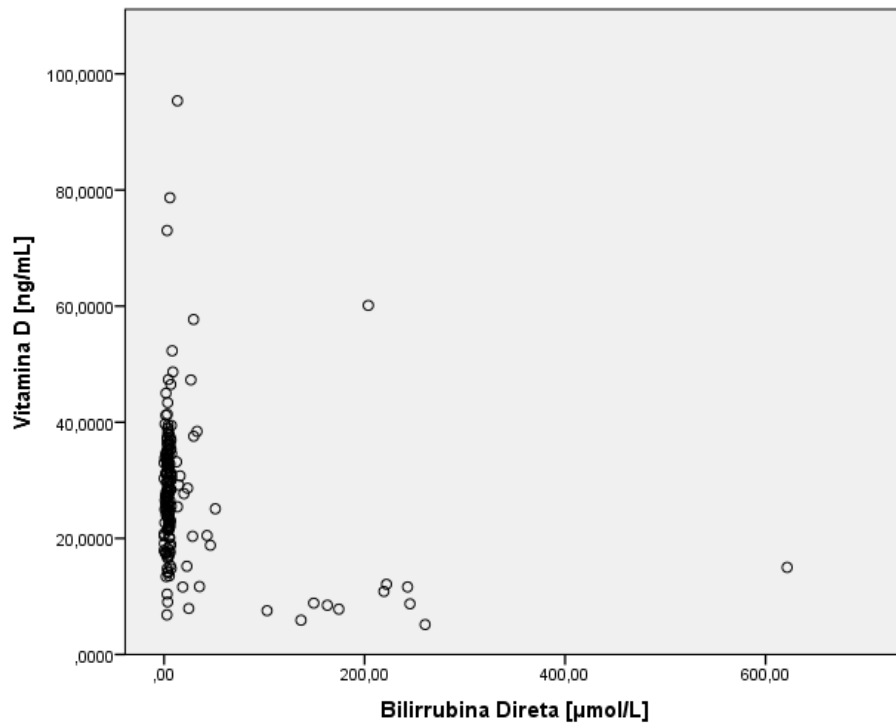


Figura 17 – Relação entre valores de Bilirrubina direta e valores de vitamina D

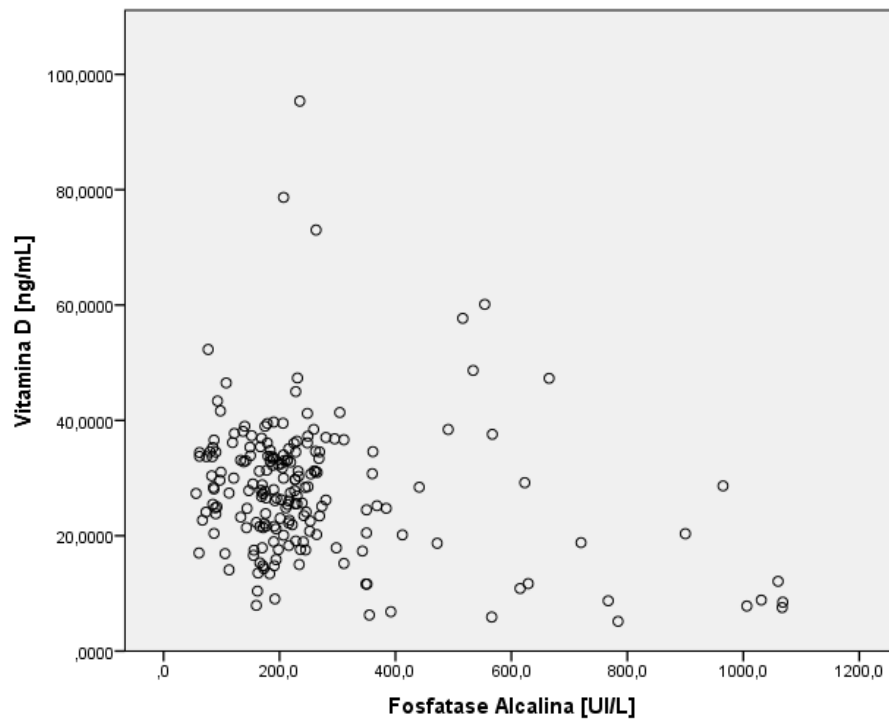


Figura 18 – Relação entre valores de Fosfatase Alcalina e valores de vitamina D

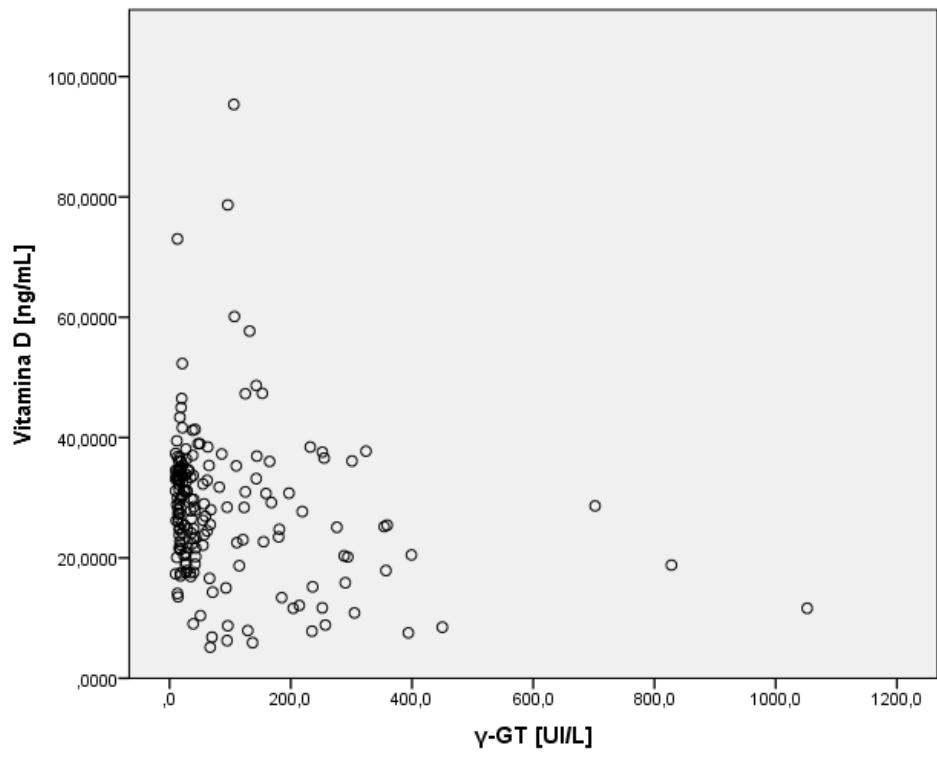


Figura 19 – Relação entre valores de  $\gamma$ -GT e valores de vitamina D

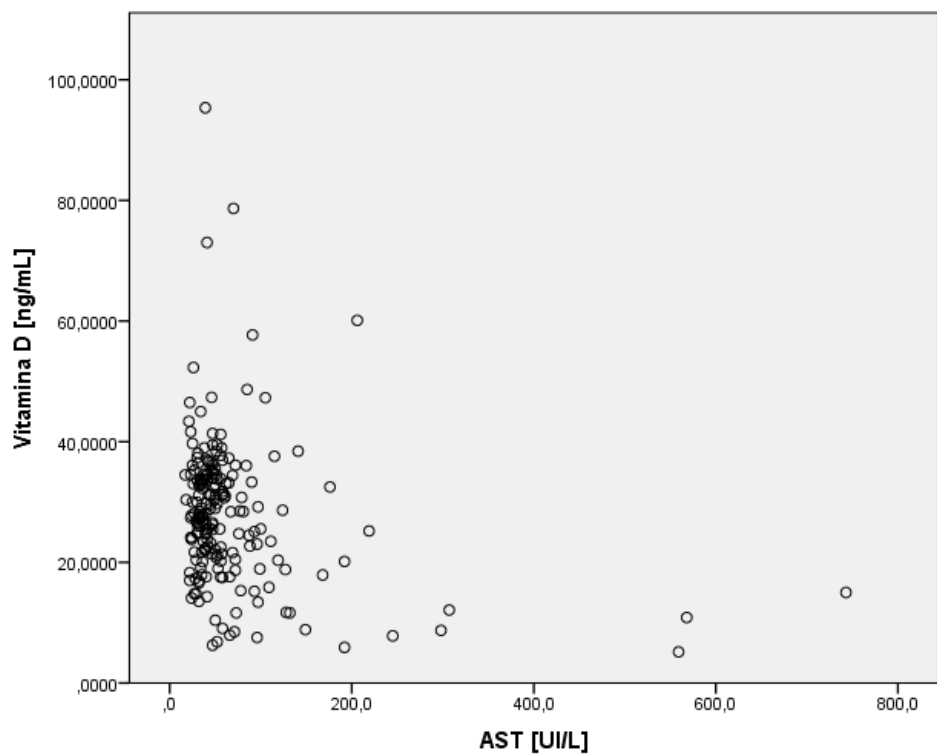


Figura 20 – Relação entre valores de AST e valores de vitamina D

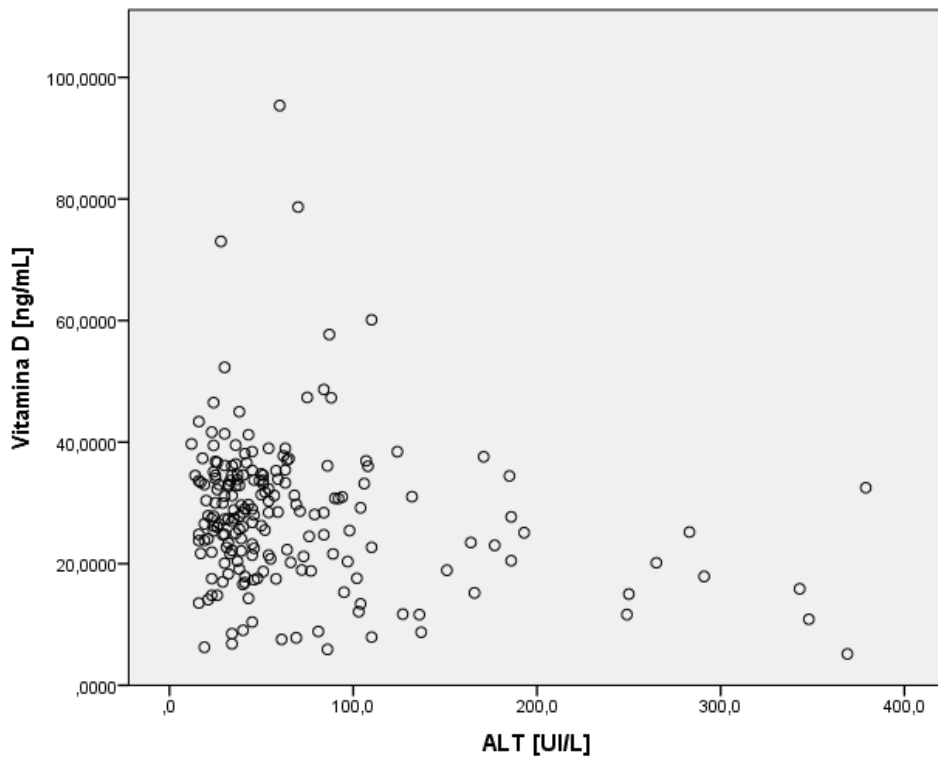


Figura 21 – Relação entre valores de ALT e valores de vitamina D

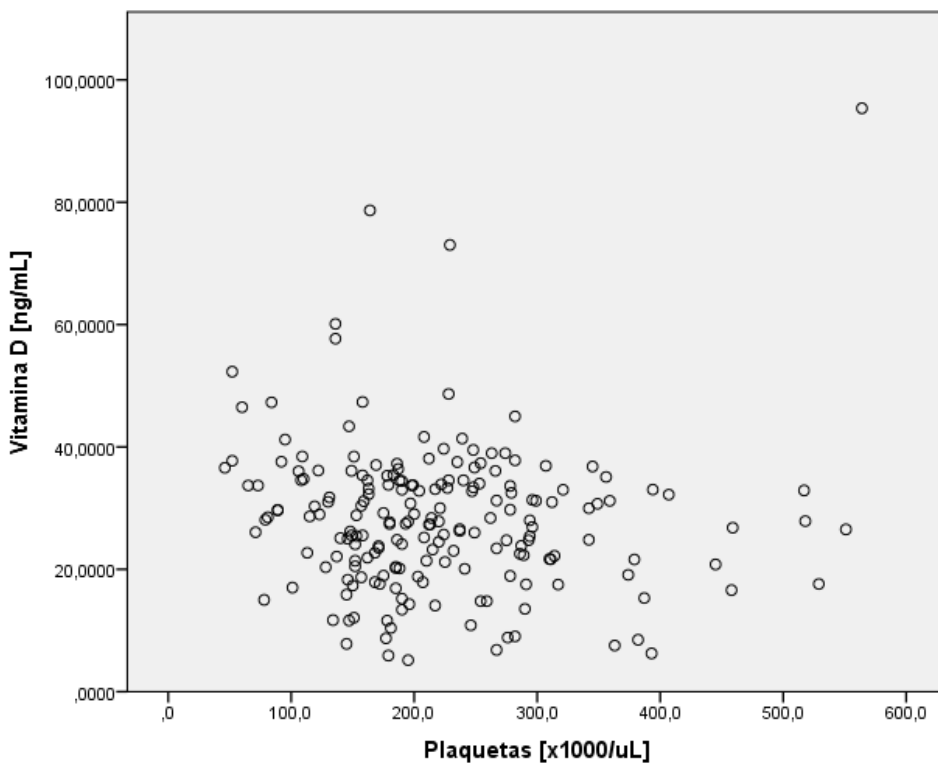


Figura 22 – Relação entre valores de Plaquetas e valores de vitamina D



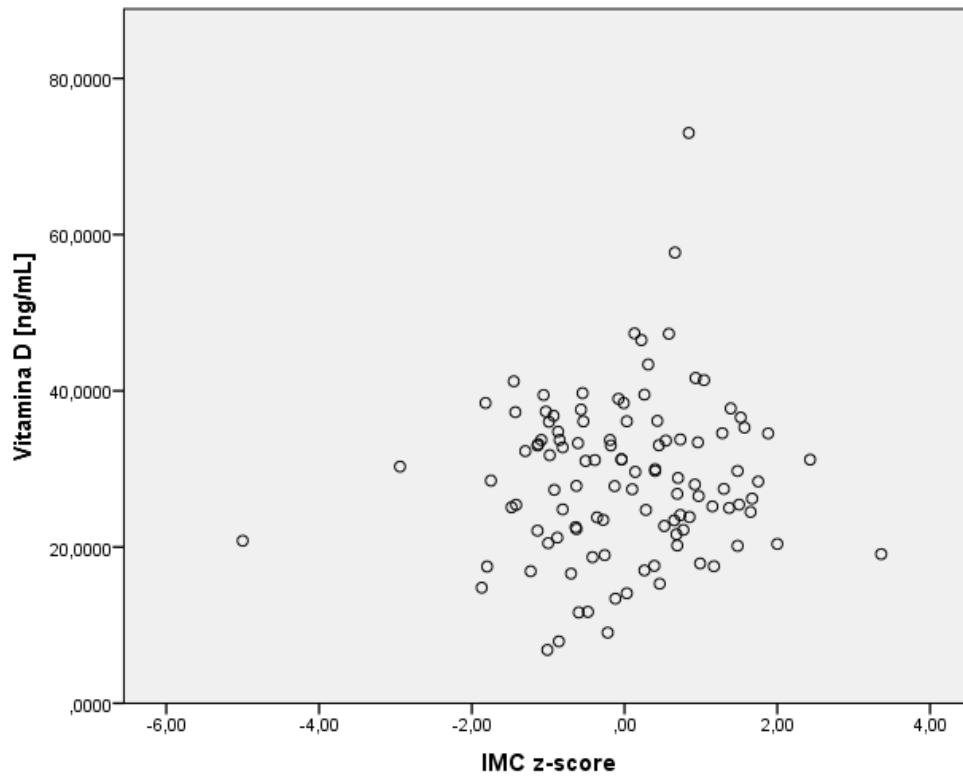


Figura 23 – Relação entre valores de IMC z-score e valores de vitamina D