

CRISTIANE MARROCOS SILVA

**STATUS DE VITAMINA D EM LACTENTES COM
ALERGIA À PROTEÍNA DO LEITE DE VACA**

RECIFE,

2015

CRISTIANE MARROCOS SILVA

**STATUS DE VITAMINA D EM LACTENTES COM
ALERGIA À PROTEÍNA DO LEITE DE VACA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientadora: Prof^a Dra. Kátia Galeão Brandt

Recife

2015

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa- CRB4-1010

S586s Silva, Cristiane Marrocos.
Status de vitamina D em lactentes com alergia à proteína do leite de vaca /
Cristiane Marrocos Silva. – Recife: O autor, 2015.
71 f.: il.; tab.; quadr.; 30 cm.

Orientadora: Kátia Galeão Brandt.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, 2015.
Inclui referências e anexos.

1. Hipersensibilidade a leite. 2. Lactente. 3. Vitamina D. 4. Aleitamento materno. 5. Luz solar. I. Brandt, Kátia Galeão (Orientadora). II. Título.

618.92

CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2015-203)

CRISTIANE MARROCOS SILVA

**STATUS DE VITAMINA D EM LACTENTES COM ALERGIA À
PROTEÍNA DO LEITE DE VACA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestra em Saúde da Criança e do Adolescente.

Aprovada em: 31/08/2015

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Gisélia Alves Pontes da Silva (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^a. Dr^a. Margarida Maria de Castro Nunes (Examinador Interno)

Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

Prof^a. Dr^a. Poliana Coelho Cabral (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

DIRETOR CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETORA

Profa. Dra. Vânia Pinheiro Ramos

COORDENADORA DA COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO DO CCS

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

COLEGIADO

CORPO DOCENTE PERMANENTE

Profa. Dra. Luciane Soares de Lima (Coordenadora)

Profa. Dra. Claudia Marina Tavares de Araújo (Vice-Cordenadora)

Prof. Dr. Alcides da Silva Diniz

Profa. Dra. Ana Bernarda Ludermir

Profa. Dra. Andréa Lemos Bezerra de Oliveira

Prof. Dr. Décio Medeiros Peixoto

Prof. Dr. Emanuel Savio Cavalcanti Sarinho

Profa. Dra. Estela Maria Leite Meirelles Monteiro

Profa. Dra. Gisélia Alves Pontes da Silva

Profa. Dra. Maria Gorete Lucena de Vasconcelos

Profa. Dra. Marília de Carvalho Lima

Prof. Dr. Paulo Sávio Angeiras de Góes

Prof. Dr. Pedro Israel Cabral de Lira

Profa. Dra. Sílvia Regina Jamelli

Profa. Dra. Sílvia Wanick Sarinho

Profa. Dra. Sophie Helena Eickmann

(Genivaldo Moura da Silva- Representante discente - Doutorado)

(Davi Silva Carvalho Curi - Representante discente -Mestrado)

CORPO DOCENTE COLABORADOR

Profa. Dra. Bianca Arruda Manchester de Queiroga

Profa. Dra. Cleide Maria Pontes

Profa. Dra. Daniela Tavares Gontijo

Profa. Dra. Kátia Galeão Brandt

Profa. Dra. Margarida Maria de Castro Antunes

Profa. Dra. Rosalie Barreto Belian

SECRETARIA

Paulo Sergio Oliveira do Nascimento (Secretário)

Juliene Gomes Brasileiro

Nathanael Noberto da Silva

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, saúde e por todas as oportunidades que me proporciona;

À minha família, pelo amor e paciência diante minhas ausências necessárias;

À profª Kátia Brandt, pela disponibilidade, dedicação e ensinamentos proporcionados;

À Sílvia Alves, com que compartilhei as dificuldades dessa jornada;

Às famílias dos pacientes, pela disponibilidade e confiança na participação do estudo;

Às amigas de turma do mestrado, pelos laços de amizade construídos nesses dois anos;

Aos demais amigos, pela cumplicidade e incentivo em todos os momentos;

Aos professores da POSCA, pelos ensinamentos proporcionados;

À Paulo Nascimento e demais funcionários da POSCA, pela colaboração aos alunos.

RESUMO

A deficiência de vitamina D pode estar relacionada a distúrbios do sistema imunológico. A avaliação dessa deficiência em crianças com alergia à proteína do leite de vaca (APLV) residentes em locais ensolarados ainda é escassa, e restrita à forma IgE mediada. Esta pesquisa teve como objetivo verificar se lactentes com APLV possuem menores níveis de vitamina D, quando comparados aos lactentes saudáveis. A amostra foi composta por lactentes atendidos nos ambulatórios de Gastroenterologia Pediátrica, Alergologia Pediátrica e Puericultura, do Hospital das Clínicas- Universidade Federal de Pernambuco, situado em região ensolarada do Brasil. Foram avaliados os níveis de vitamina D de 59 lactentes com APLV e de 61 saudáveis. Foram obtidas informações dos lactentes e dos pais, quanto às características socioeconômicas e biológicas, assim como da prática do aleitamento materno, da exposição solar e do uso de suplementos. As variáveis foram expressas em frequência, média e desvio-padrão, mediana e quartis. Foram utilizados o teste de Kolmogorov Smirnov para testar a normalidade das variáveis contínuas, e o Qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher, para as diferenças de frequência e associação entre as variáveis categóricas. O nível de significância empregado nos testes foi de 5%. Verificou-se que crianças com APLV apresentaram menor média do nível da vitamina D (30,93ng/ml vs 35,29ng/ml) ($p=0,041$) e maior frequência de níveis deficientes (20,3% vs 8,2%) ($p=0,049$). Foi observada uma maior frequência de níveis inadequados de vitamina D ($p=0,002$) nas crianças com APLV que estavam em aleitamento materno exclusivo/predominante. Independentemente do período de exposição solar, a frequência de um status inadequado de vitamina D foi semelhante entre os grupos ($p=0,972$). Conclui-se que menores níveis de vitamina D foram observados em lactentes com APLV residentes de uma região ensolarada, especialmente naquelas em aleitamento materno exclusivo/predominante, configurando este como um possível grupo de risco para essa deficiência. Pode-se supor que a identificação e correção dos níveis de vitamina D entre as crianças com APLV poderiam auxiliar na regulação imunológica futura destes indivíduos. No grupo estudado, a suplementação vitamínica, prática que poderia reduzir a ocorrência de deficiências, não foi realizada.

Palavras-chave: Hipersensibilidade a leite. Lactente. Vitamina D. Aleitamento materno. Luz solar.

ABSTRACT

Vitamin D deficiency may be related to immune system disorders. There are very few assessments of this deficiency in children allergic to cow milk protein (ACMP) living in sunny places, and they restricted to the IgE-mediated type. This study verified whether nurslings with ACMP have lower levels of vitamin D than healthy nurslings. The sample consisted of nurslings attending the Pediatric Gastroenterology, Pediatric Allergology, and Childcare outpatient clinic of the Clinics Hospital of the Federal University of Pernambuco, located in a sunny region in Brazil. The vitamin D levels of 59 nurslings with ACPM and 61 healthy nurslings were measured. The parents' and nurslings' socioeconomic, biological, breastfeeding, sunlight exposure, and vitamin supplement use data were collected. The variables were expressed as frequency, mean and standard deviation, median, and quartiles. The Kolmogorov Smirnov test determined whether the continuous variables had normal distribution. Pearson's chi-square test or Fisher's exact test compared the frequencies and associations of the categorical variables. All tests used a significance level of 5%. Children with ACPM had lower mean vitamin D level (30.93ng/ml vs 35.29ng/ml) ($p=0.041$) and higher frequency of deficiency (20.3% vs 8.2%) ($p=0.049$). Children with ACPM who received exclusive or predominant breastfeeding had a higher frequency of inadequate vitamin D level ($p=0.002$). The two groups had similar frequencies of inadequate vitamin D status, regardless of duration of sunlight exposure ($p=0.972$). In conclusion, low levels of vitamin D were found in nurslings with ACPM living in a sunny region, especially in those receiving exclusive or predominant breastfeeding, making these children a possible risk group for this deficiency. Determining and correcting the vitamin D levels of children with ACPM may help to regulate the future immune function of these individuals. The study group did not use vitamin supplements, a practice that could reduce the occurrence of deficiencies.

Keywords: Milk hypersensitivity. Infant. Vitamin D. Breastfeeding. Sunlight.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Métodos

Quadro 1 Descrição das variáveis do estudo.

Artigo Original

Figura 1 Frequências dos graus de suficiência da vitamina D nos lactentes.

LISTA DE TABELAS

Artigo Original

Tabela 1 Características socioeconômicas e biológicas dos lactentes com APLV e do grupo controle.

Tabela 2 Status da vitamina D dos lactentes com APLV e do grupo controle, em relação à prática alimentar.

Tabela 3 Status da vitamina D dos lactentes com APLV e do grupo controle, em função da exposição solar.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM – Aleitamento Materno

APLV – Alergia à Proteína do Leite de Vaca

DRACMA – Diagnosis and Rationale for Action Against Cow's Milk Allergy

ESPGHAN – European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition

IFN- γ – Interferon Gama

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IgA - Imunoglobulina A

IgE – Imunoglobulina E

IgG - Imunoglobulina G

IL4 – Interleucina 4

IL10 – Interleucina 10

IL13 – Interleucina 13

IOM – Institute of Medicine

LM – Leite Materno

NHANES – National Health and Nutrition Survey

OMS – Organização Mundial da Saúde

P/I – Indicador Peso-Idade

RDA – Recomendada Dietary Allowance

RVD – Receptor de vitamina D

SBP - Sociedade Brasileira de Pediatria

SUS – Sistema Único de Saúde

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TGF- β – Fator Transformador de Crescimento Beta

Th1 – Linfócitos Th-1

Th2 – Linfócitos Th-2

TO – Tolerância Oral

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral α

Tregs – Células T Regulatórias

UVB – Radiação Ultravioleta B

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	14
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1	Introdução.....	16
2.2	Vitamina D: metabolismo e funções.....	16
2.3	Atuação da vitamina D no sistema imunológico e sua relação com a alergia à proteína do leite de vaca.....	19
2.4	Alergia à proteína do leite de vaca no lactente e tolerância oral.....	21
2.5	Fatores determinantes dos níveis de vitamina D nos lactentes.....	25
2.6	Considerações finais.....	27
3	MÉTODOS.....	28
3.1	Local e período do estudo	28
3.2	Delineamento do estudo e sujeitos do estudo.....	29
3.3	Variáveis do estudo.....	30
3.4	Operacionalização do estudo.....	31
3.4.1	Recrutamento dos sujeitos e coleta dos dados.....	31
3.4.2	Aplicação do formulário.....	31
3.4.3	Teste de tolerância oral.....	32
3.4.4	Avaliação antropométrica.....	33
3.4.5	Dosagem da vitamina D.....	33
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
3.6	Aspectos éticos.....	34
3.7	Problemas metodológicos.....	35
4	RESULTADOS – ARTIGO ORIGINAL.....	36

Lactentes com alergia à proteína do leite de vaca apresentam níveis inadequados de vitamina D?

Resumo..... 36

Abstract..... 37

Introdução.....	38
Método.....	39
Resultados.....	41
Discussão.....	43
Conclusão.....	48
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
REFERÊNCIAS.....	57
ANEXOS.....	62
ANEXO A.....	62
ANEXO B.....	65
ANEXO C.....	68

1. APRESENTAÇÃO

A deficiência de vitamina D é um importante problema nutricional da atualidade a nível mundial, atinge crianças pequenas e pode contribuir para o aumento do risco de alergias alimentares nos lactentes, inclusive da alergia à proteína do leite de vaca (APLV), tendo em vista que o leite de vaca muitas vezes é ofertado precocemente à criança.

Níveis adequados de vitamina D parecem atuar de forma benéfica na regulação imunológica, tanto através da resposta imune inata quanto da adaptativa. Um de seus principais papéis está na capacidade de estimular a produção de células T reguladoras (Tregs), para que seja alcançado o equilíbrio da resposta imunológica. Devido à essas funções exercidas pela vitamina D, é sugerido que a identificação precoce e correção de sua deficiência possam auxiliar no desenvolvimento do sistema imunológico. Vale salientar que a maioria dos trabalhos existentes que estudaram essa relação, avaliaram outras doenças alérgicas como a asma e dermatite atópica, sendo ainda escassos estudos com APLV.

Os baixos níveis da vitamina D nas crianças podem estar associados a fatores como: consumo de alimentos pobres em vitamina D, não uso de suplementos e exposição solar inadequada. Crianças amamentadas podem não atingir as necessidades diárias pela baixa concentração de vitamina D no leite materno (LM), e em função disso, a Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP) (2012) recomenda que lactentes amamentados, não expostos regularmente ao sol ou que recebam menos que 500ml/dia de fórmula infantil, sejam suplementados com 400UI/dia de vitamina D até os 18 meses de idade. De forma oposta, a SBP sugere que, tanto as crianças que residem em regiões ensolaradas e são expostas regularmente ao sol (mesmo que amamentadas exclusivamente), quanto aquelas que estejam utilizando um volume adequado de fórmula infantil, não necessitam de suplementação. Assim, subtende-se que não seja realizada a suplementação profilática, rotineira, de vitamina D, para as crianças que residem na região Nordeste do Brasil, região ensolarada na maior parte do ano.

Para nortear este estudo foi realizada a seguinte pergunta condutora: ***“Lactentes com APLV apresentam menores níveis de vitamina D quando comparados aos de lactentes saudáveis?”***. Com o objetivo de avaliar se as crianças com APLV na faixa etária de até dois anos de idade, cursam com baixos níveis de vitamina D, investigamos a frequência dos graus de suficiência nesse grupo e sua relação com a prática alimentar e exposição solar.

Motivado pelo interesse de compreender melhor o status de vitamina D em lactentes com APLV, este estudo foi realizado dentro da linha de pesquisa “Avaliação bioquímica, gastrointestinal, molecular, sensório-motora e nutricional das doenças orgânicas e funcionais”, do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Pernambuco. Esta dissertação consta de um capítulo de revisão da literatura acerca da APLV, da vitamina D e da relação entre elas, além da descrição de outros fatores que possam se relacionar com os níveis da vitamina D nas crianças com APLV. Também apresenta o capítulo de métodos, no qual são detalhados os procedimentos para realização da investigação, um capítulo de resultados, cujo produto foi a elaboração de artigo original intitulado “Lactentes com alergia à proteína do leite de vaca apresentam níveis inadequados de vitamina D?”, além das considerações finais baseadas nos achados deste estudo.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 INTRODUÇÃO

A deficiência de vitamina D vem sendo reconhecida como um problema comum nos lactentes. Diversos são os fatores que podem estar associados a esse achado, dentre eles, a exposição solar e práticas alimentares inadequadas, visto que essa vitamina é obtida principalmente através da exposição à luz solar e é encontrada naturalmente em poucos alimentos. O teor de vitamina D no LM, importante fonte alimentar do lactente, é considerado baixo, sendo questionada a necessidade de suplementação durante o período de amamentação (HOLICK; CHEN, 2008).

A vitamina D, anteriormente reconhecida por seu papel no metabolismo ósseo, possui também uma importante função imunomoduladora. Estudos sugerem que a deficiência nos períodos iniciais da vida pode estar relacionada ao desenvolvimento das alergias alimentares (MULLINS; CAMARGO, 2012). Dados epidemiológicos atuais apontam que a incidência de alergia alimentar vem crescendo no meio infantil, sendo a APLV a mais comum na infância (VASSALO; CAMARGO, 2010).

Devido à possível importância da vitamina D no desenvolvimento das alergias e sendo a APLV problema frequente entre os lactentes, se faz necessário compreender de forma mais detalhada os mecanismos envolvidos nessa associação.

Nesta revisão abordaremos: a) a vitamina D e suas funções; b) a relação existente entre a vitamina D e a APLV; c) APLV no lactente e o desenvolvimento de tolerância; d) fatores que podem influenciar no status da vitamina D nos lactentes.

2.2 VITAMINA D: METABOLISMO E FUNÇÕES

A vitamina D é considerada um hormônio esteroide, suas principais funções são a atuação na homeostase do cálcio e do fósforo, e a manutenção da saúde óssea (JÚNIOR et al., 2011; JONES et al., 2012). A constatação da existência de receptores da vitamina D (RVD)

em vários outros tecidos justifica as funções da vitamina D em outros sistemas, independente da atividade específica sobre o metabolismo mineral (BARRAL; BARROS; ARAÚJO, 2007).

É a única vitamina capaz de ser produzida na pele dos humanos, desde que haja exposição suficiente à radiação ultravioleta (ZITTERMAN; GUMMERT, 2010). Também pode ser obtida através de fontes alimentares sendo as melhores os peixes, principalmente o arenque, cavala, sardinha, bacalhau e óleos de fígado extraídos dos mesmos. Menores concentrações são encontradas em alimentos como leite, ovos e produtos fortificados (leite e derivados, suco de laranja, cereais matinais, massas, margarinas e fórmulas infantis) (NORMAN; BOUILLO, 2010). Para os lactentes, as principais fontes alimentares são o leite humano e as fórmulas infantis. No LM, as concentrações da vitamina D são baixas e dependem da ingestão e reservas maternas (BALLARD; MORROW, 2013).

A vitamina D se expressa de duas formas, como ergocalciferol ou vitamina D₂, e como colecalciferol ou vitamina D₃. A vitamina D₂ resulta da irradiação ultravioleta da luz solar sobre o ergosterol e a vitamina D₃ é resultante da conversão do 7-dehidrocolesterol pela atividade da radiação ultravioleta. Ao ser sintetizada na pele a vitamina D ainda é inativa, precisando ser ativada no fígado e no rim para originar a forma hormonal ativa predominante, ou seja, o 1,25-diidroxicolecalciferol ou calcitriol (BARRAL; BARROS; ARAÚJO, 2007).

Após serem incorporadas ao organismo, e devido a sua característica lipossolúvel, as vitaminas D₂ e D₃ dependem da formação de micelas no lúmen intestinal para poderem ser absorvidas. Após absorção, se ligam à uma proteína de transporte na corrente sanguínea e, ao alcançarem o fígado, são hidroxiladas, de forma que o colecalciferol origina o 25-hidróxi-D₃ [25-(OH)D₃] e o ergosterol se transforma no 25-hidróxiergocalciferol (25-(OH)D₂). Esses compostos possuem pouca atividade biológica e precisam de nova hidroxilação para se tornarem ativos. Nos rins, sofrem a segunda hidroxilação resultando no 1,25-diidroxicolecalciferol [1,25-(OH)₂D₃] e 1,25diidroxiergocalciferol [1,25-(OH)₂D₂] (HOLICK, 2003; BARRAL; BARROS; ARAÚJO, 2007).

A vitamina D atua mantendo os níveis séricos de cálcio no organismo, entretanto, na ausência de níveis ideais de cálcio e fósforo, a mineralização do tecido osteóide é diminuída, resultando em sinais clássicos de raquitismo em crianças; e maior risco de fraturas, osteoporose e osteomalácia em adultos. O progresso dessa deficiência leva a um aumento da estimulação da glândula paratireoide, resultando em hiperparatireoidismo secundário (JÚNIOR et al, 2011).

No metabolismo ósseo, a 1,25(OH)₂D₃ atua juntamente com o hormônio paratireoídeo, estimulando a reabsorção óssea pelos osteoclastos e aumentando as concentrações séricas de cálcio. O efeito biológico da 1,25(OH)₂D₃ é desencadeado a partir da conexão entre esse hormônio e receptores celulares específicos, com afinidade mil vezes maior por esse metabólito em comparação a 25(OH)D₃. Esse complexo interage com o elemento de resposta da vitamina D no DNA levando a transcrição dos genes e síntese de RNAm para várias proteínas como a osteocalcina, a fosfatase alcalina e a calbindin, proteína específica que tem afinidade pelo cálcio a nível de células intestinais (BARRAL; BARROS; ARAÚJO, 2007).

Aproximadamente trinta e seis tecidos do corpo possuem RVD, o que demonstra a importância da vitamina D em diferentes respostas biológicas. A presença da enzima responsável pela conversão da vitamina D na sua forma ativa em outros órgãos afora o rim, reforça que ocorre uma produção local deste hormônio esteroide (NORMAN, 2008). As evidências sugerem que a vitamina D module direta ou indiretamente cerca de 35% do genoma humano participando do controle de funções essenciais à manutenção da homeostase sistêmica (NORMAN, 2008; CASTRO, 2011). Foram descritas nos últimos anos atividades da vitamina D em diferentes tecidos do organismo, incluindo o sistema endócrino, cardiovascular, muscular, cerebral e o sistema imunitário (NORMAN; BOUILLON, 2010). Ela também é considerada reguladora de várias vias metabólicas celulares sendo importante para a maturação, diferenciação e apoptose celular (ZITTERMAN; GUMMERT, 2010).

À nível endócrino, a vitamina D interfere na homeostase glicídica através de ações diretas nas células betapancreáticas, controlando a síntese e secreção da insulina (CASTRO, 2011). Sua atuação em suprimir citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , evita a destruição de células pancreáticas reduzindo a incidência de diabetes autoimune. É demonstrado que a suplementação de vitamina D pode reduzir o risco de diabetes tipo 1 e 2 (ZITTERMAN; GUMMERT, 2010). No sistema cardiovascular, participa do controle da função cardíaca e da pressão arterial através da regulação das células musculares lisas, do grau de contratilidade miocárdica e da inibição da renina (CASTRO, 2011). A manutenção de um status adequado está associada com a redução de aproximadamente 50% do risco de morbimortalidade cardiovascular. Outra função relevante da vitamina D é a neuromuscular, na qual ela atua através de receptor específico exercendo ações que envolvem desde a síntese proteica até a cinética da contração muscular, o que repercute na melhora da força muscular e do equilíbrio (ZITTERMAN; GUMMERT, 2010).

No sistema imunológico desempenha papel em atividades importantes: imunorregulação de células do sistema imunológico (CD4+, CD8+, linfócitos T e células apresentadoras de antígeno), regulação da diferenciação das células precursoras em células mais especializadas do sistema monocítico-macrofágico, estímulo à expressão de genes que codificam peptídeos antimicrobianos (catelicidina e β -defensinas), assim como modula a autoimunidade mantendo o equilíbrio entre as respostas Th1 e Th2. Dessa forma, situações de baixas concentrações da vitamina poderiam predispor ao desenvolvimento de doenças relacionadas à desregulação imune, como a artrite reumatoide, a esclerose múltipla, doenças inflamatórias intestinais, infecções e alergias (PEDROSA, CASTRO; 2005).

2.3 ATUAÇÃO DA VITAMINA D NO SISTEMA IMUNOLÓGICO E SUA RELAÇÃO COM A ALERGIA À PROTEÍNA DO LEITE DE VACA

Têm sido demonstradas funções da vitamina D sobre a resposta imune, entretanto, seu papel ainda não está completamente esclarecido. A presença de RVD em células imunes, reforça sua atuação no sistema imunológico (BERTOLINI; TAZZANO-MARTINS, 2000). Níveis insuficientes e deficientes nos períodos iniciais da vida são considerados como um dos fatores de risco para a alergia alimentar (SUAINI et al.; 2015).

O efeito da vitamina D no sistema imunitário pode ser observado ao nível da resposta imune inata e adaptativa, dentre eles, a capacidade de reduzir o risco de infecções, a promoção da tolerância imune e o aumento da integridade epitelial do intestino (ZITTERMAN; GUMMERT, 2010; BERTOLINI; TAZZANO-MARTINS, 2000). O sistema imune inato constitui a primeira barreira de defesa imunológica, confere proteção contra a invasão microbiana e contribui para a manutenção da homeostase imune. Sua interferência na resposta imune inata ocorre pela capacidade de atuar nos monócitos e macrófagos com aumento da quimiotaxia e atividade fagocitária, e de estimular a síntese de peptídeos antimicrobianos, como a catelecidina e β -defensina, levando à manutenção e integridade da mucosa e fortalecimento da barreira epitelial (PERONI; BONER, 2013). A vitamina D promove um incremento na produção de óxido nítrico pelos macrófagos e expressão da óxido nítrico sintase. Também atua inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias pelas células dendríticas e células imunitárias inatas (SUAINI et al.; 2015).

Em relação à resposta imune adaptativa, ela atua nas células dendríticas e promove um fenótipo tolerogênico (JONES et al.; 2012). Vários estudos sugerem o potencial da vitamina D em aumentar a síntese de células Tregs, e consequentemente, reduzir a síntese das células T efetoras (Th1 e Th2) (CANTORNA et al.; 2004). As células Tregs suprimem outras células do sistema imunológico e contribuem para a homeostase imune por alguns mecanismos, inclusive através do contato célula-célula e da secreção de componentes antinflamatórios, tais como a IL-10 e TGF-β. A diferenciação periférica das Tregs é induzida pela vitamina D, a qual reprime a maturação de células dendríticas para gerar células dendríticas imaturas tolerogênicas. Outra função descrita é a capacidade de se ligar a um receptor do ácido retinóico para promover a diferenciação periférica de Tregs, de células T CD4+ naïve em Tregs T1 secretora de IL-10 (SUAINI et al.; 2015).

A vitamina D também inibe a proliferação de linfócitos B, assim como a produção de imunoglobulinas. Esses efeitos seriam mediados por ação direta da vitamina D sobre essas células ou através da atuação de outras células imunes que exercem efeito regular sobre o linfócito B, como monócitos, macrófagos e linfócitos T auxiliares (BERTOLINI; TAZZANO-MARTINS, 2000).

Variações nos níveis da vitamina D podem estar implicadas no desenvolvimento de alergias alimentares como a APLV. O National Health and Nutrition Survey (NHANES), realizado em 2005-2006, mostrou que essa deficiência vitamínica foi associada a maiores níveis de imunoglobulina E (IgE) e, consequentemente, à sensibilização alérgica à alimentos e ao ambiente em crianças e idosos. Esses achados foram reforçados por outros estudos, como o que constatou uma maior ocorrência de sensibilização alérgica em crianças cujas mães tiveram baixa ingestão da vitamina D durante a gestação. Estudo realizado na Austrália, cujo objetivo foi avaliar o efeito de níveis de vitamina D no cordão umbilical de recém-nascidos e seu impacto no desenvolvimento de sensibilização alérgica, encontrou maior prevalência de deficiência de vitamina D nas crianças com posterior desenvolvimento de alergia alimentar mediada por IgE (PERONI; BONER; 2013).

Em outro estudo australiano, realizado por Allen et al. (2013), onde foram obtidos os níveis de vitamina D de 481 crianças, foi constatada uma associação entre a deficiência de vitamina D com alergia alimentar. Foi observada uma frequência 3 vezes maior de alergia alimentar em lactentes deficientes de vitamina D, e de outra forma, observada também uma maior frequência de deficiência de vitamina D entre os lactentes com alergia alimentar (20-40%) quando comparados aqueles sem alergia (10%).

Sendo assim, as atividades descritas da vitamina D no sistema imunológico e a existência de pesquisas que avaliaram essa relação, reforçam que o status dessa vitamina em lactentes pode estar associado à ocorrência de APLV, havendo a necessidade de se estabelecer os fatores que podem implicar na carência vitamínica nessa faixa etária.

2.4 ALERGIA À PROTEÍNA DO LEITE DE VACA NO LACTENTE E TOLERÂNCIA ORAL

A APLV é definida como uma reação imunológica a uma ou mais proteínas presentes no leite de vaca. A suspeita clínica ocorre em 1% a 17% das crianças, mas a estimativa da prevalência real varia entre 2% a 3% (GREF et al., 2012).

O aumento da prevalência da APLV nas últimas décadas esteve associado a fatores ambientais potencialmente modificáveis como o estilo moderno de vida (ALLEN, MARTIN; 2010), gerando um importante problema de saúde no mundo, com um impacto negativo nos aspectos financeiras, sociais, e na qualidade de vida das crianças e familiares (FERREIRA; SEIDMAN, 2007). As restrições alimentares necessárias ao tratamento, bem como as substituições inadequadas, podem repercutir em agravos à saúde das crianças, como no surgimento de carências vitamínicas (PEARSON, 2010).

A APLV ocorre normalmente nos primeiros meses de vida, podendo ser decorrente da exposição precoce dos bebês às proteínas alergênicas do leite de vaca (CRITTENDEN; BENNET, 2005), o qual é muitas vezes utilizado como fonte nutricional daqueles que não são exclusivamente amamentados. É preciso haver exposição a essas proteínas para que a sensibilização imune e posterior resposta alérgica ocorra (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOPATOLOGIA, 2007). Há ainda relatos da possível passagem de pequenas partículas alergênicas presentes no leite de vaca através do LM (ZEIGER, 2003).

É classificada de acordo com o mecanismo imunológico envolvido em mediada por IgE (ou imediata), mediada por células (ou tardia) e mediada por mecanismos imunológicos mistos. Nas formas IgE mediadas os sintomas surgem de minutos até 2 horas após a ingestão de produtos lácteos, sendo comuns as manifestações cutâneas (eczema, urticária, angioedema), gastrintestinais (náusea, vômito, síndrome da alergia oral) e respiratórias (rinoconjuntivite, asma), podendo ainda ocorrer anafilaxia em casos mais raros. Quando não-

mediadas por IgE, os sintomas são subagudos ou crônicos, e são supostamente mediadas por células T (FERREIRA; SEIDMAN, 2007). Estes, podem ocorrer a partir de 2 horas a vários dias após ingestão do leite de vaca (SABRA et al., 2003) e, comumente, são observadas manifestações gastrointestinais. Lactentes e crianças podem apresentar náuseas, vômitos, regurgitação, distensão abdominal, constipação, diarréia, aversão alimentar, irritabilidade e até déficit de crescimento (ALLEN; MARTIN, 2010).

A APLV é considerada uma alergia transitória e a maioria das crianças supera essa condição por volta dos três anos de idade, quando adquirem tolerância às proteínas presentes no leite de vaca. O desenvolvimento da tolerância ocorre de forma mais precoce nas crianças que apresentam a forma mediada por células quando comparadas às que possuem o tipo IgE mediado (FERREIRA; SEIDMAN, 2007).

O desenvolvimento da APLV é resultante da incapacidade de se desenvolver processos tolerogênicos. A tolerância oral (TO), definida como um estado de ausência de resposta imunológica local e sistêmica induzida por um antígeno, tal como por proteínas alimentares, é mantida à custa de uma reação imunológica de supressão contínua ativa (LAND; KIM; BURKS, 2011; PABST; MOWAT, 2012).

Dentre os fatores que contribuem para o desenvolvimento da TO, destacam-se a genética, a idade do indivíduo, o tipo e dosagem do antígeno, condições fisiológicas do trato gastrointestinal (barreira física do muco e epitélio intestinal, os movimentos peristálticos, a acidez gástrica e de sucos digestivos), a flora intestinal e a ação do sistema imune de mucosas do trato gastrointestinal (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO, 2012).

A genética do hospedeiro pode influenciar no desenvolvimento da tolerância mas o papel dos fatores genéticos ainda não está bem esclarecido (LAND; KIM; BURKS, 2011). Estudos que examinaram a associação entre antígenos leucocitários humanos e as alergias alimentares são escassos, estando relacionados principalmente com os tipos IgE mediadas (BJÖRKSTÉN, 2005). Polimorfismos genéticos também poderiam contribuir para maior suscetibilidade à alergia alimentar (SZCZAWIŃSKA-POPŁONYK; BRĘBOROWICZ, 2012). Embora não haja até o momento, testes diagnósticos específicos disponíveis para identificar um gene específico que se relacione a alergia alimentar, a história familiar de atopia é considerada o melhor indicativo do aumento desse risco (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOLOGIA, 2008).

A criança pequena apresenta fatores que favorecem à não tolerância e à resposta de hipersensibilidade aos alimentos, fato que justifica a maior ocorrência desse distúrbio em lactentes. A barreira intestinal mais permeável é susceptível à penetração de diferentes抗ígenos ao sistema imunológico imaturo. A baixa produção de IgA e o predomínio de uma resposta Th2 também contribui para a ocorrência de reações alérgicas (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOLOGIA, 2008).

Condições ambientais como a exposição à抗ígenos microbianos também influenciam o desenvolvimento imunológico saudável, e a teoria da higiene advoga que a menor exposição à contaminantes microbianos poderiam comprometer a adequada regulação do sistema imune e explicar o aumento da incidência da doença alérgica, incluindo a APLV (ALLEN; MARTIN, 2010). A exposição à endotoxina bacteriana (lipossacarídeo) está associada à redução da doença alérgica por influenciar na regulação das respostas imunitárias através do envolvimento com os receptores Toll-like. Os receptores Toll-like são capazes de interferir na homeostase intestinal e na gênese de células Tregs (STROBEL; MOWAT, 2006). Uma redução na ocorrência de infecções ou na exposição aos produtos microbianos na primeira infância pode impedir o desenvolvimento de respostas imunorreguladoras precoces, deixando o sistema imunológico mais suscetível à inadequada reatividade a抗ígenos inócuos, resultando numa reação alérgica (ALLEN; MARTIN, 2010).

Outros fatores também podem influenciar precocemente no processo de TO, dentre eles, o período do AM e o status de vitamina D do lactente. O AM auxilia na maturação do trato gastrointestinal e na adequada maturação imunológica, além de evitar a exposição aos抗ígenos alimentares precocemente. Assim, quanto mais tempo o lactente for amamentado exclusivamente, maiores serão os benefícios ao sistema imune (FIOCCHI et al., 2010). Dentre as funções da vitamina D no processo tolerogênico, destaca-se o estímulo na produção de células Tregs, através do aumento da produção de IL-10 pelas células dendríticas (PENNA et al., 2000).

O processo de TO tem início com a quebra das proteínas alergênicas pela acidez gástrica e outras secreções digestivas. Um pequeno percentual de partículas proteicas não são totalmente digeridas, e permanecem com estrutura molecular alergênica (partículas抗ígenicas). Essas partículas抗ígenicas são absorvidas pela mucosa intestinal imatura, alcançando a circulação sistêmica, podendo induzir à resposta imune alérgica (sensibilização) (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOPATOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO, 2012).

A partícula alergênica na luz intestinal, pode ser capturada pela célula M, que apresenta a partícula à uma célula apresentadora de antígeno, sendo a célula dendrítica a que mais desempenha essa função. A célula dendrítica migra até o linfonodo mesentérico, e apresenta o antígeno ao linfócito CD4+. (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOPATOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO, 2012). Para que a célula dendrítica exerça essa o papel tolerogênico, ela precisa ser diferenciada, sendo importante o papel da microbiota intestinal. As bactérias comensais e seus produtos modulam as células dendríticas para um perfil de tolerância através da interação com os receptores de reconhecimento padrão de células dendríticas (JO et al., 2014).

As células dendríticas CD103+ são capazes de converter o linfócito CD4+, em FOXP3+ Treg através das células TGF-β e do ácido retinóico (AR). O AR CD103+ DC pode atuar como um cofator na produção de TGF-β mediando a conversão de células CD4 em células Tregs (PABST; MOWAT, 2012).

O equilíbrio entre o desenvolvimento da TO e a hipersensibilidade é regulado por mecanismos imunológicos específicos que envolvem principalmente a diferenciação de células T em células Tregs, as quais são produtoras de interleucinas imunomoduladoras (TGF-1 e IL-10). Essas células também são capazes de suprimir as células T efetoras (KOLETZKO et al., 2012). A atividade disfuncional de células Tregs foi identificada como um fator para o desencadeamento de alergia através de ambos mecanismos, desempenhando papel fundamental na falta de TO (KARLSSON; RUGTVEIT; BRANDTZAEG, 2004; TIEMENSSEN et al., 2002). A melhor população de células Tregs encontradas em outras formas de tolerância expressa FOXP3. Estas se apresentam de duas formas distintas, a natural FOXP3+ (nTregs) e as Tregs induzidas (iTregs), as quais são produzidas a partir de células T CD4 naïve no sistema imune periférico (PABST; MOWAT, 2012).

Além disso, a chegada de antígenos alimentares ao fígado através da veia porta, faz com que esse órgão também exerça função na TO. O fígado contém subgrupos especializados de células apresentadoras de antígenos. As células endoteliais sinusoidais hepáticas e as células de Kupffer realizam essa função, sendo mostrado que contribuem para a indução da tolerância em vez da imunidade ativa (PABST; MOWAT, 2012).

Dessa forma, considera-se que o processo de TO atenua uma série de respostas imunes e parece desempenhar uma função central na homeostase imune. Dentre seus efeitos estão a redução sistêmica de hipersensibilidade tardia, proliferação de células T tolerogênicas e

produção de citocinas. Anticorpos séricos também podem ser suprimidos como a IgE, assim como há a produção de IgG e linfócitos T auxiliares (PABST; MOWAT, 2012).

No caso da APLV com manifestação mediada por IgE, ocorre uma deficiência na síntese de células Tregs e polarização de células T efetoras específicas para uma resposta Th2, que conduzem a sinalização de células B para produzir IgE específica contra as proteínas do leite, e aumento principalmente os níveis de IL-4 e IL-13 (SCHADE et al, 2003; BEYER et al., 2002). Existem diferentes teorias para a patogênese das reações não mediadas por IgE sendo descrito uma resposta mediada por células Th1 e interações entre linfócitos T (KARLSSON; RUGTVEIT; BRANDTZAEG, 2004; TIEMENSSEN et al., 2002).

Em contrapartida, são descritas mudanças nas respostas imunológicas das crianças que passam a ser tolerantes às proteínas do leite de vaca com passar do tempo, ou seja, quando adquirem a tolerância posteriormente e superam a condição da alergia. Nas crianças que apresentam APLV do tipo IgE mediada, são observados uma menor produção de IgE e um incremento nos níveis de IgG4, sendo esta alteração mediada por IL-10. O IgG4 funciona como um anticorpo de bloqueio através da competição com os alérgenos pela ligação aos receptores da IgE e também atua como um fator anti-inflamatório (JO et al., 2014). Dentre outras alterações, é descrita uma maior produção de células Tregs do tipo CD4+CD25 e redução da resposta proliferativa a proteínas ao leite de vaca (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOPATOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO, 2012). Também ocorre normalização na produção de IFN- γ e na atividade de células T supressoras, além de um aumento nas células Tregs que expressam FOXP3 (ALLEN; MARTIN, 2010; FIOCCHI et al., 2010).

2.5 FATORES DETERMINANTES DOS NÍVEIS DE VITAMINA D NOS LACTENTES

Os níveis de vitamina D nas crianças durante o período gestacional dependem diretamente dos níveis maternos através da transferência transplacentária. Após o nascimento, essas fontes são provenientes do leite humano, da exposição à luz solar, ou ainda, de fórmulas infantis ou suplementos ofertados em situações específicas (DAWODU; TSANG, 2012). Alguns fatores maternos estão relacionados a baixos níveis de vitamina D e, dentre eles, estariam: baixo nível de escolaridade, ingestão dietética insuficiente, não uso de suplementos

contendo vitamina D na gestação e hábitos de vestuário com redução da exposição do corpo ao sol. Um estudo realizado em nosso meio, encontrou um baixo percentual de gestantes que utilizaram suplementos orais contendo vitamina D, e que nenhum deles atingia as recomendações da Recommended Dietary Allowance (RDA) e da Endocrine Society (PENA; 2014).

Em relação aos fatores determinantes do status de vitamina D em lactentes, podem ser citados o tipo de alimentação ofertada, incluindo o uso de fórmulas infantis, a utilização de suplementos e a exposição solar. O LM contém baixas concentrações de vitamina D, apenas cerca de 25UI/L (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012). Dessa forma, crianças em AM exclusivo podem apresentar deficiência de vitamina D, principalmente se não forem expostas adequadamente ao sol (TAYLOR; GEYER; FELDMAN, 2010). As fórmulas infantis atuais são suplementadas e apresentam níveis suficientes de vitamina D quando ingeridas em volumes adequados. Já as fórmulas lácteas e o leite de vaca não são indicadas para alimentação de crianças no primeiro ano de vida, mas por vezes são utilizadas de forma inadequada, e não possuem concentrações adequadas de vitamina D (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012).

De acordo com o Departamento de Nutrologia da SBP, não há necessidade de suplementação de vitamina D para lactentes que se encontram em AM com exposição regular ao sol e para aqueles que recebem um volume de pelo menos 500ml diários de fórmula infantil. Porém, nas demais situações, recomenda-se a suplementação de 400UI/dia até os dezoito meses de idade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA; 2012).

A exposição solar constitui uma dos principais determinantes do estado de vitamina D. Sua produção varia de acordo com a sazonalidade sendo maior no verão em relação ao inverno (RAJAKUMAR et al, 2011). Nos extremos de latitude, onde a intensidade de raios UVB é insuficiente durante os meses de outono e inverno, ocorre prejuízo na produção da vitamina D (MULLINS, CAMARGO; 2012). Por outro lado, numa região ensolarada, subentende-se que as crianças estejam protegidas do risco da deficiência. Ainda assim, estudos relatam a ocorrência de hipovitaminose D em crianças que residem em áreas ensolaradas (MARWAHA et al., 2011; DAWODU, 2003). No Brasil, especialmente na região Nordeste, que é considerada ensolarada, são poucos os estudos existentes que avaliaram o status de vitamina D em crianças. Numa pesquisa recente realizada na cidade do Recife (PENA, 2014), que incluíram recém-nascidos e as mães, foi observada uma elevada

frequência de níveis deficientes e insuficientes de vitamina D. Este estudo alerta para a ocorrência dessa deficiência mesmo no ensolarado Nordeste do Brasil.

Para estabelecer o status de vitamina D se verifica laboratorialmente a determinação dos níveis séricos de 25(OH)D. Essa forma da vitamina D possui um tempo de meia vida maior e é encontrada em elevada concentração na circulação (SUAINI et al.; 2015). Há controvérsias no estabelecimento dos pontos de corte que definam valores de normalidade para essa vitamina. Para o Instituto de Medicina dos EUA (2010), os níveis suficientes são aqueles superiores a 20ng/ml e adequados para manter a ação da vitamina D sobre o metabolismo ósseo (HEWISON, 2012). Porém, de acordo com a Sociedade de Endocrinologia Americana, que leva em consideração as funções clássicas e não clássicas da vitamina D, níveis deficientes são os que se encontram abaixo de 20ng/ml e suficientes aqueles iguais ou superiores a 30ng/ml (HOLICK et al., 2011).

2.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A vitamina D exerce um papel fundamental no metabolismo ósseo, e atualmente também é dada uma grande importância para outras atividades a ela atribuídas, como sua atuação no desenvolvimento imunológico. A deficiência descrita em crianças é uma realidade comum e pode acarretar em sérios agravos à saúde.

O status da vitamina D é dependente da interação de um conjunto de fatores, dentre eles, a exposição solar e a prática alimentar. A exposição aos raios solares deve ser enfatizada já que a maior produção de vitamina D ocorre na pele e é dependente da exposição aos raios UVB. Crianças não expostas ao sol regularmente são mais suscetíveis a cursar com essa carência vitamínica, contudo níveis inadequados também são observados naquelas que moram em regiões ensolaradas. Além disso, quando submetidas ao AME, deve-se atentar ao fato de que o LM possui baixas concentrações dessa vitamina. O tipo, volume e uso de fórmulas inadequadas para a faixa etária infantil também pode prover um aporte inadequado para manutenção das necessidades nutricionais.

A APLV também é uma doença prevalente na população pediátrica, principalmente entre lactentes. Ela ocorre devido à quebra da tolerância imunológica aos alimentos. Evidências sugerem a existência de uma associação entre a deficiência de vitamina D e as alergias alimentares, sendo a mais frequente a APLV. Entende-se que níveis inadequados de

vitamina D poderiam prejudicar a aquisição de tolerância imunológica nas crianças, estando associada a menores níveis de células T reguladoras. Desta forma, os deficientes de vitamina D teriam maior chance de evoluir para APLV e de outra forma, os portadores de APLV teriam maior risco de apresentarem baixos níveis desta vitamina. Crianças com APLV poderiam ainda apresentar níveis inadequados de vitamina D em função das restrições alimentares necessárias ao tratamento, bem como pelas substituições inapropriadas dos alimentos.

Outras investigações devem ser realizadas para verificar a relação entre os baixos níveis de vitamina D no grupo de crianças com APLV. Instituir na prática ambulatorial a investigação desse problema permitirá uma intervenção mais precoce no que diz respeito à indicação de suplementação e orientação nutricional adequada. O desenvolvimento de uma pesquisa com esse objetivo, numa cidade ensolarada do Nordeste, permitirá conhecer um pouco da realidade regional, possibilitando a proposta de medidas de vigilância e tratamento. Pode-se supor, que a correção da deficiência de vitamina D em crianças com APLV já instalada, poderia ser benéfica, não só para a saúde óssea destas crianças, mas também como um fator com potencial de auxiliar na melhor regulação imune destes indivíduos.

3. MÉTODOS

3.1 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

O estudo foi realizado no período de março de 2013 a abril de 2015 nos ambulatórios de Gastroenterologia Pediátrica, Alergologia Pediátrica e Puericultura do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE). O HC é uma unidade de saúde vinculada à UFPE que tem por objetivo oferecer atendimento médico e hospitalar à população nas mais diversas áreas. É um órgão suplementar, e tem como função apoiar o ensino de graduação e pós-graduação do Centro de Ciências da Saúde (CCS).

Os ambulatórios de Gastroenterologia Pediátrica e Alergologia Pediátrica são considerados de referência para o atendimento de crianças com suspeita de APLV. Estes serviços são credenciados pela prefeitura do Recife e governo do estado, para avaliação técnica do diagnóstico de APLV e dispensação de laudo para obtenção de fórmulas especializadas junto a estas instituições. Devido a este fato, estes ambulatórios possuem um perfil de pacientes diferente de outros setores do HC, uma vez que existe um maior

contingente de pacientes com melhores condições socioeconômicas, provenientes da rede privada, cujas famílias desejam avaliação para obtenção dos laudos. Também recebem pacientes do sistema único de saúde (SUS), encaminhados com a mesma finalidade.

O Ambulatório de Puericultura realiza o acompanhamento de crianças saudáveis, para vigilância e recebimento de orientações preventivas em saúde. O perfil socioeconômico destes pacientes é semelhante ao encontrado em outros setores do HC, caracterizado pela quase totalidade dos pacientes portadores de menores níveis socioeconômicos, recebendo atendimento médico exclusivamente através do SUS.

3.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO E SUJEITOS DO ESTUDO

Foi realizado um estudo observacional, de corte transversal, onde foram comparados os níveis de vitamina D de um grupo de lactentes portadores de APLV (casos) e lactentes saudáveis (controle).

Os participantes foram separados em dois grupos sendo um de caos e outro controles. O grupo de casos foi formado por 59 crianças com idade até dois anos, de ambos os sexos, com diagnóstico de APLV estabelecido pelos médicos especialistas nos ambulatórios de Gastroenterologia pediátrica e Alergologia pediátrica do HC. O diagnóstico de APLV foi construído levando em conta a história clínica, o exame físico e os antecedentes, e confirmado pelo teste de desencadeamento oral aberto, sempre que indicado. A necessidade do teste de desencadeamento foi baseada nas principais diretrizes vigentes - ESPGHAN e DRACMA (FIOCCHI et al., 2010; KOLETZKO et al., 2012). O teste de desencadeamento oral aberto foi realizado para confirmar o diagnóstico e para sua indicação foram levadas em consideração a presença de manifestações clínicas tardias (mais de 2 horas após exposição ao leite de vaca) não graves (gastrointestinais, cutâneas ou respiratórias) e de manifestações clínicas imediatas associadas a um teste de IgE negativo. O teste foi considerado positivo quando ocorreu o surgimento de sintomas compatíveis com a APLV durante a realização do teste, até um período de quatro semanas após a realização do mesmo. Nos casos de manifestações tardias com potencial gravidade para o paciente (principalmente quando sintomas compatíveis, associados à desnutrição e episódios recorrente de colite, sem outra justificativa) e na presença de reações imediatas associadas a um resultado de IgE positivo, o teste não foi indicado. O grupo controle foi formado por 61 crianças acompanhadas no ambulatório de

Puericultura, com as mesmas características do grupo de casos, com exceção dos sintomas sugestivos de APLV.

Os critérios de exclusão utilizados foram a suspeita clínica de outras patologias ou fatores que pudesse influenciar nos níveis de vitamina D, como doenças infecciosas agudas ou crônicas, outras doenças inflamatórias intestinais, doenças renais ou gastrointestinais.

3.3 VARIÁVEIS DO ESTUDO

As variáveis do estudo seguem descritas no quadro abaixo (**Quadro 1**).

Quadro 1 – Descrição das variáveis do estudo

Variáveis	Definição	Resultados permitidos
Sexo	Autoexplicativa	Masculino / Feminino
Idade atual	Idade em meses no momento da entrevista	0-24 meses
Grau de escolaridade materna	Grau de escolaridade da mãe	Ensino fundamental Ensino médio Ensino superior
Renda familiar	Renda familiar em números de salários mínimos de acordo com o IBGE	≥ 0 salários mínimos
Presença de atopia nos pais	Presença de doença atópica pelos pais (rinite alérgica, asma, medicamento, urticária, dermatite atópica, alimento)	Sim / Não
Tipo de parto	Via de nascimento da criança	Transvaginal / Cesáreo
Idade gestacional	< 37 semanas 37 - 41 semanas ≥ 42 semanas	Pré-termo Termo Pós-termo
Tempo de AME	Período da oferta de leite materno exclusivo até o momento da entrevista	0 - 6 meses
Avaliação antropométrica (P/I) (WHO, 2006)	< -2 score z $\geq -2 < +2$ score z $\geq +2$ score z	Baixo peso para a idade Peso adequado para a idade Peso elevado para a idade

Vitamina D	Concentração da 25(OH)D em ng/ml	≥ 0 ng/mL
Status da vitamina D (HOLICK, 2009)	≥ 30 ng/mL 21-29,9 ng/mL ≤ 20 ng/mL	Suficiente Insuficiente Deficiente
Prática atual do aleitamento materno (BRASIL, 2009)	Oferta ou não do leite materno no momento da entrevista de acordo com os critérios da OMS	AM exclusivo AM parcial AM predominante AM complementar Não amamentada
Exposição solar	Frequência semanal de exposição da criança à luz solar	≥ 0 minutos/semana

P/I = Relação peso/idade; 25(OH)D=25-hidroxivitamina D₃; AM = Aleitamento materno; IBGE= Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; OMS= Organização Mundial da Saúde

3.4 OPERACIONALIZAÇÃO DO ESTUDO

3.4.1 RECRUTAMENTO DOS SUJEITOS E COLETA DOS DADOS

As crianças foram recrutadas após as consultas nos ambulatórios de Gastroenterologia, Alergologia Pediátrica e Puericultura do HC/UFPE, de acordo com a demanda livre do serviço.

O recrutamento e a coleta de dados foram realizados pela pesquisadora, por uma aluna do doutorado e por duas alunas bolsistas do curso de medicina. Durante a coleta de dados, as pesquisadoras aplicaram o formulário com os pais ou responsáveis pelas crianças, aferiram o peso e estatura, e identificaram os tubos das amostras de sangue.

Antes da obtenção dados, os responsáveis pelas crianças que aceitaram participar da pesquisa receberam orientações quanto a realização do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A).

3.4.2 APLICAÇÃO DO FORMULÁRIO

Foi aplicado formulário específico estruturado (ANEXO B) investigando informações acerca da criança e dos pais, onde foram obtidos dados do lactente quanto ao sexo, idade, peso

atual e uso de suplemento de vitamina D. Dados das mães também foram coletados como grau de escolaridade, duração da gestação, via de nascimento da criança, presença de doenças alérgicas e uso de suplemento de vitamina D. Dados a respeito de doenças alérgicas do pai também foram obtidos. Quanto à APLV, foram registradas informações acerca da idade de início dos sintomas, manifestação clínica predominante e tipo de reação apresentada pela criança. Quanto à prática da amamentação, foram colhidas informações acerca do período do AM exclusivo e prática atual do AM. Também foram obtidas informações acerca do tempo de exposição do lactente ao sol.

3.4.3 TESTE DE TOLERÂNCIA ORAL

O teste de desencadeamento alimentar oral aberto foi realizado em ambiente hospitalar para confirmar o diagnóstico de APLV. Antes da realização do teste, as mães das crianças em AM exclusivo foram orientadas a seguir uma dieta de exclusão de leite de vaca e derivados por um período de duas semanas. Para as crianças que não se encontravam em AM exclusivo, foi orientado o uso de fórmula com proteína do leite extensamente hidrolisada ou a base de aminoácidos, de acordo com a prescrição médica, por mesmo período, adquirida junto ao SUS através do encaminhamento do laudo emitido pelas médicas especialistas.

As crianças que não apresentaram os sintomas da APLV durante o período da dieta de exclusão foram admitidas no HC/UFPE para realização do teste de desencadeamento. Aquelas que eram acompanhadas no ambulatório de Gastropediatria foram admitidas na enfermaria de Clínica Pediátrica enquanto que as acompanhadas na Alergologia, realizaram o teste ambulatorialmente, sob a supervisão da equipe médica.

Durante o teste as crianças receberam leite de vaca com concentrações que variaram de acordo com o tipo de reação apresentada. Para crianças com reações tardias, foram oferecidas doses progressivas de 1, 3, 10, 30 e 100mL em intervalos de 30 minutos. No caso das crianças com reações imediatas, foram dadas doses iniciais menores, de 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30 e 100mL em intervalos de 30 minutos. Quando os sintomas não aparecerem durante a observação médica, o paciente foi orientado a continuar o consumo da fórmula adequada para a idade em casa, com visita semanal de retorno até quatro semanas (KOLETZKO et al., 2012). O teste foi suspenso sempre que a criança reproduzia o sintoma referido pela família, quando surgiram outros sintomas compatíveis com a APLV ou ainda mediante sintomas graves como anafilaxia.

3.4.4 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

A obtenção do peso atual foi realizada com a finalidade de caracterizar a amostra. O peso foi obtido em quilogramas, sendo utilizada para aferição uma balança mecânica pediátrica com capacidade total para 16Kg e divisões de 10g. Durante a aferição, a criança foi posicionada deitada, sem roupas, no centro da concha anatômica da balança, com os pés juntos e braços estendidos ao longo do corpo. (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2009). O peso da criança foi comparado com os valores em escore Z das tabelas de referência, de acordo com a idade e sexo. De acordo com a OMS foram consideradas desnutridas as crianças com índice P/I inferior a -2 escores Z; aquelas com valores superiores a +2 escores Z acima da mediana de referência foram classificadas como em excesso de peso/obesidade e as que apresentarem resultados entre -2 e +2 escores Z foram consideradas com estado nutricional adequado (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006).

3.4.5 DOSAGEM DA VITAMINA D

As dosagens dos níveis de vitamina D foram solicitadas pelos médicos especialistas através de requisições. A coleta da amostra de sangue para realização dessa análise foi realizada no laboratório do HC, no laboratório conveniado à pesquisa (Marcelo Magalhães) ou ainda em outros laboratórios particulares, quando por opção da família. Foi coletada uma amostra de 4ml de sangue utilizando-se um tubo para coleta de sangue a vácuo contendo gel separador, com capacidade para 4ml. Quando a coleta foi realizada nos laboratórios não conveniados à pesquisa, a amostra obtida foi armazenada em condições adequadas e transportada imediatamente até o laboratório Marcelo Magalhães.

A análise da vitamina D foi realizada no laboratório conveniado à pesquisa, onde foi verificada a dosagem da 25(OH)D através do ensaio comercial LIAISON® 25OH Vitamin D Total (310600), da Diasorin Inc (EUA), o qual utiliza a técnica de quimioluminescência. Este ensaio determina tanto a 25(OH)D₂ quanto a 25(OH)D₃ no plasma ou soro, com intervalo de medição entre 4,0 e 150ng/mL. Foram seguidas rigorosamente as orientações do fabricante (LIAISON®), desde a coleta até a mensuração da vitamina D.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na construção do banco de dados foi utilizado o programa Epi-Info versão 6.04d (Epi-Info 6.04, WHO/CDC, Atlanta, USA). As análises estatísticas foram realizadas com o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 13.0 for windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

As variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade da distribuição pelo teste de *Kolmogorov Smirnov*, sendo expressas por média e desvio-padrão quando de distribuição simétrica, e mediana e quartis se distribuição assimétrica. As diferenças de frequência e a associação entre as variáveis categóricas foram testadas pelo método Qui-quadrado de *Pearson* ou teste exato de *Fisher* quando indicado. O nível de significância empregado em todos os testes foi de 5%.

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa original intitulado “Interação entre polimorfismo genético, aleitamento materno e vitamina D na transitoriedade ou persistência da alergia à proteína do leite de vaca” foi registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP/Plataforma Brasil e submetido à aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, com CAAE: 12878313.4.0000.5208 (ANEXO C).

Antes da aplicação do questionário, as mães que aceitaram participar desse estudo assinaram TCLE (ANEXO A) e ficaram cientes de que estava assegurado a confidencialidade e o sigilo acerca das informações prestadas.

O estudo apresentou um risco mínimo, tendo em vista que a coleta de sangue foi realizada por um profissional de enfermagem com treinamento e experiência em pediatria e o volume de sangue coletado para a determinação dos níveis de vitamina D foi considerado baixo, sem acarretar prejuízos em relação ao volume sanguíneo total da criança. Os demais procedimentos como aferição de peso e aplicação do formulário foram realizados durante a consulta por uma equipe treinada. O teste de desencadeamento alimentar oral aberto foi realizado de forma segura, em ambiente hospitalar, sendo a criança monitorada pelo enfermeiro, pediatra e nutricionista durante o mesmo.

Não houve nenhum custo financeiro por parte dos pais ou responsáveis, os quais puderam desistir da participação em qualquer momento do estudo, sem que isso acarretasse em prejuízo ao acompanhamento clínico e nutricional da criança.

Após identificadas as crianças que cursavam com os níveis de vitamina D inadequados, os pais receberam orientações sobre a dieta e suplementação vitamínica.

3.7 PROBLEMAS METODOLÓGICOS

Por se tratar de um estudo transversal, não pode ser avaliado se houve uma relação de causalidade entre os níveis de vitamina D e o desenvolvimento de APLV. A complexidade do problema a ser estudado constituiu uma das principais dificuldades encontradas na pesquisa, alguns fatores que poderiam estar relacionados aos níveis de vitamina D não foram controlados.

A heterogeneidade da amostra foi considerada um dos problemas devido às diferenças individuais da doença. O maior fluxo de pacientes para o ambulatório de Gastropediatria pode ter influenciado no perfil do grupo dos casos no que diz respeito aos sintomas apresentados, sendo mais frequentes os gastrointestinais. Também pode ter ocorrido viés de classe social devido à procura do ambulatório de Gastropediatria por famílias de melhor condição socioeconômica com o objetivo de obter laudo médico para receber as fórmulas especializadas fornecidas pelo serviço público.

A falta de consenso sobre os valores que definem os graus de suficiência/deficiência da vitamina D foi um dos problemas. Existem pontos de corte diferentes para essa classificação, que dependem dos aspectos a serem considerados. O Instituto de Medicina dos EUA reconhece a função da vitamina D na saúde óssea para essa determinação, e adotou como ponto de corte os níveis iguais ou superiores a 20ng/ml como seguros (HEWISON, 2012). Já a diretriz do Endocrine Society Clinical Practice Guidelines considera que esses níveis podem não assegurar a saúde óssea e leva em consideração situações especiais que podem demandar maiores necessidades (gestação, lactação e obesidade), e dessa forma, assume 30 ng/ml como ponto de corte (HOLICK, 2011).

4. RESULTADOS – ARTIGO ORIGINAL

Lactentes com alergia à proteína do leite de vaca apresentam níveis inadequados de vitamina D?

RESUMO

Objetivo: Verificar os níveis de vitamina D em lactentes com alergia à proteína do leite de vaca (APLV). **Método:** Estudo transversal, com 120 crianças de até 2 anos de idade, sendo um grupo com APLV e outro controle. Foi aplicado um formulário e coletadas amostras sanguíneas para a análise da vitamina D, sendo considerados inadequados os níveis < 30 ng/mL. Níveis de vitamina D foram expressos em média e desvio padrão, e a frequência dos graus de suficiência e demais variáveis, em proporções. **Resultados:** Os lactentes com APLV quando comparados aos saudáveis, apresentaram uma menor média do nível da vitamina D (30,93 vs 35,29ng/ml) ($p=0,041$) e maior frequência de deficiência (20,3% vs 8,2) ($p=0,049$) . Maior frequência de níveis inadequados de vitamina D foi observada nas crianças com APLV que estavam em aleitamento materno exclusivo/predominante ($p=0,002$). Independentemente do período de exposição solar, a frequência de um status inadequado de vitamina D foi semelhante entre os grupos ($p=0,972$). **Conclusões:** Menores níveis de vitamina D foram observados em lactentes com APLV residentes de uma região ensolarada, especialmente naquelas em aleitamento materno exclusivo/predominante, configurando este como um possível grupo de risco para essa deficiência. Pode-se supor que a identificação e correção dos níveis de vitamina D entre as crianças com APLV poderiam auxiliar na regulação imunológica futura destes indivíduos. No grupo estudado, a suplementação vitamínica, prática que poderia reduzir a ocorrência de deficiências, não foi realizada.

Palavras-chave: Hipersensibilidade a leite. Lactente. Vitamina D. Aleitamento materno. Luz solar.

Artigo de acordo com as normas do periódico Jornal de Pediatria

ABSTRACT

Objective: To verify the vitamin D levels of nurslings with allergy to cow milk protein (ACMP). **Method:** This cross-sectional study included 120 children aged two years or less, one group with ACMP and a control group. A form was used for collecting data. Blood samples were collected for vitamin D quantification; levels < 30 ng/mL were considered inadequate. Vitamin D levels were expressed as mean and standard deviation, and the frequency of the degrees of sufficiency and other variables, as proportions. **Results:** Compared with healthy nurslings, nurslings with ACMP had lower mean vitamin D level (30.93 vs 35.29ng/ml) ($p=0.041$) and higher deficiency frequency (20.3% vs 8.2) ($p=0.049$). Children with ACMP receiving exclusive or predominant breastfeeding had a higher frequency of inadequate vitamin D level ($p=0.002$). The two groups had similar frequencies of inadequate vitamin D status, regardless of duration of sunlight exposure ($p=0.972$). **Conclusions:** Nurslings with ACMP living in a sunny region had lower levels of vitamin D, especially those who received exclusive or predominant breastfeeding, making this a possible group risk for this deficiency. Determining and correcting the vitamin D levels of children with ACMP may help to regulate the future immune function of these individuals. The study group did not use vitamin supplements, a practice that could reduce the occurrence of deficiencies.

Keywords: Milk hypersensitivity. Infant. Vitamin D. Breastfeeding. Sunlight.

INTRODUÇÃO

A deficiência de vitamina D vem sendo reconhecida atualmente como um problema frequente em crianças pequenas e gestantes, e diversos são os fatores que podem contribuir com esse achado¹. Dentre os determinantes do status dessa vitamina, são referidos: idade, cor da pele, obesidade, prática alimentar, utilização de suplementos vitamínicos e exposição solar. O leite materno (LM) não é fonte de vitamina D e crianças em aleitamento materno exclusivo podem apresentar deficiência, principalmente se não forem expostas adequadamente ao sol².

Níveis insuficientes dessa vitamina podem interferir no desenvolvimento da imunidade em crianças pequenas, visto que, a vitamina D, anteriormente reconhecida apenas por seu papel no metabolismo ósseo, possui também uma importante função imunomoduladora. Atualmente é sugerido que sua deficiência nos períodos iniciais da vida pode estar relacionada na patogênese de algumas doenças, como as alergias alimentares³. A vitamina D atua no desenvolvimento tanto da resposta imune inata como adaptativa, sendo mais elucidado o estímulo das células T reguladoras (Tregs) para o alcance do equilíbrio da resposta imunológica⁴.

Dados epidemiológicos demonstram que o aumento na incidência da alergia à proteína do leite de vaca (APLV) na população infantil pode ser consequência de uma exposição precoce às proteínas do leite de vaca, sendo esse grupo também considerado de risco para a deficiência de vitamina D⁵. Além disso, as restrições alimentares durante o tratamento, podem proporcionar uma baixa oferta da vitamina D e contribuir para que níveis adequados não sejam alcançados⁶. Vale ressaltar que a maioria dos estudos que analisaram os níveis de vitamina D em crianças com APLV foram conduzidos naquelas com apresentação da forma IgE mediada, sendo ainda escassos os dados no tipo mediado por células. Além disso, poucas pesquisas foram realizadas em regiões ensolaradas, onde se pressupõe haver exposição adequada aos raios ultravioletas e, consequentemente, um menor risco de deficiência.

Considerando a importância do problema e de suas repercussões para a saúde, se faz necessário investigar o status da vitamina D em lactentes com APLV, bem como os possíveis fatores que possam estar relacionados aos níveis encontrados.

MÉTODO

Estudo observacional, de corte transversal, onde foram comparados os níveis de vitamina D de um grupo de lactentes portadores de APLV (casos) e lactentes saudáveis (controle). A pesquisa foi realizada no período de março de 2013 a abril de 2015, nos ambulatórios de Gastroenterologia Pediátrica, Alergologia Pediátrica e Puericultura do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE).

O grupo de crianças com APLV foi obtido nos ambulatórios de Gastroenterologia Pediátrica e Alergologia Pediátrica do HC, e composto por 59 lactentes de ambos os sexos, que apresentaram sintomas adversos relacionados à APLV. O diagnóstico foi construído levando em consideração a história clínica, o exame físico e os antecedentes, e confirmado pelo teste de desencadeamento oral aberto, sempre que indicado. A necessidade do teste de desencadeamento foi baseada nas principais diretrizes vigentes - ESPGHAN (2012) e DRACMA (2010)^{7,8}. Na prática, o teste foi indicado nos casos de manifestações clínicas tardias (mais de 2 horas após exposição ao leite de vaca) não graves (gastrointestinais, cutâneas ou respiratórias) e nos casos de manifestações clínicas imediatas associadas a um teste de IgE negativo. O resultado foi considerado positivo quando ocorreu o surgimento de sintomas compatíveis com a APLV durante a realização do teste, até um período de quatro semanas após a realização do mesmo. O teste não foi indicado nas seguintes situações: nos casos de manifestações tardias com potencial gravidade para o paciente (principalmente quando sintomas compatíveis, associados à desnutrição e episódios recorrente de colite, sem outra justificativa) e na presença de reações imediatas associadas a um resultado de IgE positivo. O grupo controle foi formado por 61 crianças saudáveis, de ambos os sexos e da mesma faixa etária do grupo com APLV, provenientes do ambulatório de Puericultura. Foram excluídas as crianças com suspeita clínica de outras patologias ou fatores que pudessem influenciar nos níveis de vitamina D, como doenças infecciosas agudas ou crônicas, outras doenças inflamatórias intestinais, doenças renais ou gastrointestinais.

Na coleta dos dados foi utilizado um formulário específico contendo todas as perguntas referentes a caracterização da amostra e demais variáveis do estudo. A entrevista foi realizada com os responsáveis pela criança em local reservado após a consulta ambulatorial. Antes de responder às perguntas, os responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e ficaram cientes de que estava assegurado a confidencialidade e o sigilo acerca das informações prestadas.

A amostra foi caracterizada segundo as condições socioeconômicas da família, características dos pais e do lactente (idade do lactente, escolaridade materna, renda familiar, tipo de parto, idade gestacional, tempo de aleitamento materno exclusivo, presença de doenças alérgicas nos pais, avaliação antropométrica). Também foram coletadas informações acerca do uso de suplemento de vitamina D pelo lactente e da mãe no período gestacional. Outros dados dos lactentes com APLV foram obtidos, como a idade de início dos sintomas, manifestações clínicas predominantes e tipo de reação apresentada. Para a avaliação antropométrica foi obtido o peso do lactente e utilizado o indicador peso/idade (P/I) proposto pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Para avaliação do P/I, foram adotados os seguintes pontos de cortes: < -2 escore z para peso baixo para a idade, ≥ -2 e < +2 escore z para peso adequado para a idade e $\geq +2$ escore z para peso elevado para a idade⁹.

Em relação à vitamina D, foram analisados os níveis e graus de suficiência, categorizados em insuficiente/deficiente e suficiente. Foi considerada deficiência quando a 25(OH)D foi igual ou inferior a 20ng/mL, insuficiência quando os níveis se encontravam entre 21-29ng/mL e suficiência quando foram iguais ou superiores a 30ng/mL¹⁰. Para essa análise, foi coletada uma amostra de sangue (4ml), por profissional capacitado, que foi armazenada em tubo com gel separador e posteriormente levada para o laboratório conveniado à pesquisa. A dosagem da 25(OH)D foi realizada pela técnica de quimioluminescência sendo utilizado o kit comercial LIAISON®. Para as crianças que cursaram com níveis inadequados de vitamina D, foram prestadas orientações aos pais sobre a necessidade de suplementação.

Para a classificação da prática atual do aleitamento materno (AM) foi utilizada a categorização da OMS, sendo considerado AM exclusivo (quando a criança recebe só leite materno sem outros líquidos ou sólidos, com exceção de gotas ou xaropes contendo vitaminas, sais de reidratação oral, suplementos minerais ou medicamentos), AM predominante (quando a criança recebe, além do leite materno, água ou bebidas à base de água, sucos de frutas e sucos rituais), AM complementado (quando a criança recebe, além do leite materno, qualquer alimento sólido ou semi-sólido com a finalidade de complementá-lo, e não substituí-lo) e AM misto ou parcial (quando a criança recebe leite materno e outros tipos de leite)¹¹.

Na avaliação da exposição solar, foi utilizada as orientações da Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP), que recomenda que a criança deve receber exposição direta da pele à luz solar a partir da segunda semana de vida, sendo suficiente a quota semanal de 30 minutos de exposição solar com a criança usando apenas fraldas¹².

A construção do banco de dados foi realizada utilizando o programa Epi-Info versão 6.04d (Epi-info 6.04, WHO/CDC, Atlanta, USA). As análises estatísticas foram realizadas com o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 13.0 for windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). As variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade da distribuição pelo teste de *Kolmogorov Smirnov*, sendo expressas por média e desvio-padrão quando de distribuição simétrica, e mediana e quartis se distribuição assimétrica. As diferenças de frequência e a associação entre as variáveis categóricas foram testadas pelo método Qui-quadrado de *Pearson* ou teste exato de *Fisher* quando indicado. O nível de significância empregado em todos os testes foi de 5%.

O projeto de pesquisa foi registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP/Plataforma Brasil e submetido à aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, com CAAE: 12878313.4.0000.5208.

RESULTADOS

A amostra foi composta por 120 crianças, das quais 59 tinham o diagnóstico de APLV e 61 constituíram o grupo controle. A mediana de idade do total da amostra foi de 8,5 meses (P25: 6,0; P75: 14,0), sendo que nas crianças com APLV a mediana foi de 7,0 meses (P25: 4; P75: 13) e no controle de 9,0 meses (P25: 6,0; P75: 16,0) ($p=0,02$). Dentre os lactentes com APLV, 67,8% começaram a apresentar os sintomas sugestivos da doença com idade entre 1 e 3 meses de vida. As manifestações clínicas mais frequentes foram do tipo imediatas (59,3%) e os sintomas gastrointestinais, associados ou não aos cutâneos, foram os mais comuns (84,7%).

Características socioeconômicas e biológicas da amostra são apresentadas na **Tabela 1**, e, dentre elas, observa-se diferença significativa entre os grupos no que diz respeito ao grau de escolaridade materna ($p<0,001$), renda familiar ($p<0,001$) e tipo de parto ($p=0,005$) e atopia familiar $p=0,002$ (mãe) e $p=0,041$ (pai). As mães de crianças com APLV tinham um melhor grau de escolaridade em relação às das crianças do grupo controle (69,5% vs 27,9% ensino superior), sendo maior também a renda familiar (51,7% vs 18%, > 4 salários mínimos). Quanto à renda observa-se ainda que 70,5% das famílias das crianças saudáveis possuíam renda inferior a 2 salários mínimos. Quando avaliado o tipo de parto, observa-se que houve predominância do parto cesariano (89,8%) no grupo das crianças com APLV. Verificou-se

também uma maior frequência de atopia entre as mães (62,7% vs 34,4%) e pais (46,6% vs 28,3%) das crianças com APLV, porém a atopia materna foi ainda mais significativa ($p<0,01$ vs $p=0,04$). Em relação ao tempo de AM exclusivo, não houve diferença entre os grupos, e aproximadamente 50% das crianças de cada grupo foi amamentada exclusivamente por um período inferior a três meses. Quando avaliado o estado nutricional através da avaliação antropométrica (índicador P/I), observou-se um maior percentual de eutrofia na amostra, com frequências semelhantes em ambos os grupos (91,5% no grupo com APLV e 96,6% no grupo controle).

A média dos níveis de vitamina D entre as crianças com APLV foi de 30,93ng/ml (\pm 12,33 DP) e de 35,29 (\pm 10,74 DP) nas crianças saudáveis, tendo sido essa diferença estatisticamente significante ($p=0,041$). A **Figura 1** mostra as frequências dos diferentes graus de suficiência da vitamina D nos dois grupos, onde se observou que dentre o total das crianças, houve uma maior frequência de níveis deficientes naquelas com APLV (20,3% vs 8,2%; $p=0,049$). A frequência de crianças com níveis insuficientes/suficientes foi de 79,7% nos lactentes com APLV e de 91,8% no grupo das crianças saudáveis. Vale salientar que nenhuma criança se encontrava em uso de suplemento de vitamina D no momento da entrevista e apenas 9 das mães de crianças com APLV relataram ter feito suplementação com vitamina D durante o período gestacional.

A **Tabela 2** mostra que dentre as crianças com APLV, as que eram submetidas a AM exclusivo/predominante no momento da entrevista, tiveram uma maior frequência de deficiência de vitamina D, tendo sido observado 25,9% de indivíduos deficientes e apenas 3,1% de indivíduos suficientes. O mesmo foi notado naquelas em AM parcial (25,9% vs 6,3%). De outra forma, crianças com APLV e não amamentadas, ou seja, que estavam em uso de fórmulas infantis, apresentaram em sua maioria níveis de suficiência (78,1%) com diferença significativa comparada às demais práticas alimentares. Essas diferenças foram estatisticamente significantes ($p=0,002$). No grupo controle, não houve associação das diferentes práticas alimentares e os graus de suficiência da vitamina D ($p=0,189$).

No total da amostra, foi maior a frequência de deficiência de vitamina D nas alérgicas com inadequada exposição solar em comparação aos controles na mesma condição (46,1% vs 21,1%). Além disso, dentre as crianças com APLV com níveis suficientes dessa vitamina, a frequência das que recebiam exposição solar adequada e inadequada foi semelhante (56,7% vs 43,3%). No grupo das crianças alérgicas, a frequência da exposição solar não interferiu no grau de suficiência da vitamina D, tendo sido os resultados semelhantes naquelas com graus

de deficiência/insuficiência e nas suficientes ($p=0,972$). Observou-se também que dentre as crianças com adequada exposição solar foi encontrado uma maior frequência de níveis suficientes da vitamina naquelas saudáveis (73,8%). Ressalta-se a baixa adesão às recomendações de exposição solar definidas pela SBP em ambos os grupos, pois em torno de 63% das crianças eram expostas adequadamente ao sol (**Tabela 3**).

DISCUSSÃO

A deficiência de vitamina D é comum em crianças de todo o mundo e pode implicar em consequências graves sobre a saúde, como interferir na regulação do sistema imunológico¹³. Níveis inadequados estão particularmente associados ao desenvolvimento de doenças alérgicas¹⁴. Subtende-se que a manutenção de um status adequado de vitamina D poderá contribuir no processo imune, podendo auxiliar no desenvolvimento da tolerância oral.

Nesta pesquisa foram encontrados níveis de inadequação de vitamina D em ambos os grupos, porém as crianças com APLV apresentaram um maior percentual de deficiência quando comparadas às crianças saudáveis (20,3% vs 8,2%; $p=0,049$). Uma menor média dos níveis de vitamina D também foi observada nas crianças alérgicas (30,93 vs 35,29; $p=0,041$). Contudo deve ser considerado que, apesar de terem sido verificados níveis de deficiência de vitamina D nos lactentes com APLV, o desenho do estudo, transversal, não permitiu estabelecer a existência de uma relação causal entre a deficiência de vitamina D e a alergia. Apenas pôde-se supor que houve uma contribuição dos níveis inadequados no desenvolvimento da doença ou ainda que a própria patogênese da alergia pode ter tido relação com as baixas concentrações de vitamina D. A resposta inflamatória sistêmica gerada durante o processo alérgico pode estar associada às baixas concentrações de vitaminas lipossolúveis, já que a vitamina D também se encontra ligada à albumina, a qual pode ter sua concentração reduzida nessa situação. Outro fator contribuinte seria que durante o processo inflamatório, a vitamina D também pode ser absorvida por macrófagos¹⁵. Mecanismos envolvidos na patogênese da alergia incluem a liberação imediata de mediadores inflamatórios. Na alergia mediada por IgE, a interação com os抗ígenos alimentares pode levar à liberação de mediadores inflamatórios pré-formados (histamina), e de outros mediadores (leucotrienos), proteases, citocinas inflamatórias e moléculas quimiotáticas¹⁶.

Alguns estudos investigaram a relação entre a deficiência de vitamina D e alergia, mas a maioria deles foi conduzido em crianças com atopia e poucos em crianças com APLV, sendo estudada mais frequentemente a forma IgE mediada¹⁷. No presente estudo, foram investigadas tanto crianças com a forma IgE mediada quanto não mediada. Um estudo envolvendo 3136 crianças e adolescentes americanos foi um dos primeiros a relacionar a deficiência de vitamina D e a ocorrência de alergia à alimentos, sendo a presença da alergia alimentar avaliada pelos níveis das IgE específicas para diferentes alimentos. Foi encontrada uma associação entre os baixos níveis de vitamina D e sensibilizações alérgicas à múltiplos alimentos¹⁷. Da mesma forma, Allen e colaboradores, ao estudar crianças australianas de 1 ano de idade, verificou que os graus de deficiência e insuficiência foram maiores naquelas que tinham diagnóstico de alergia alimentar, comprovado por teste cutâneo e desafio oral. Esse grupo de autores evidenciou que um nível suficiente dessa vitamina foi um fator de proteção no primeiro ano de vida¹⁵.

As principais fontes de vitamina D para os lactentes são a dieta, exposição solar e os suplementos vitamínicos¹⁸. O LM pode conferir um efeito protetor no desenvolvimento de vários tipos de alergias devido à presença de fatores imunológicos e nutrientes funcionais que favorecem um microambiente saudável para o desenvolvimento imunitário e maturação intestinal¹⁹. Entretanto, como possui baixas concentrações de vitamina D^{18,20}, as crianças em AM, principalmente quando amamentadas de forma exclusiva e sem receber exposição solar adequada, podem representar um grupo de maior risco para a deficiência de vitamina D²¹.

Baixos níveis de vitamina D foram observados nas crianças alérgicas que eram submetidas ao AM. Chamou atenção a frequência considerável de níveis deficientes/insuficientes da vitamina D dentre as crianças com APLV que estavam submetidas ao AM exclusivo/predominante (25,9%). O oposto foi visto naquelas que recebiam fórmulas, as quais apresentaram um melhor status dessa vitamina. Isto provavelmente ocorreu porque as fórmulas infantis são suplementadas com vitamina D, e, quando ingeridas em quantidades adequadas, podem atingir as recomendações infantis de 400UI/dia. Evidências também sugerem que crianças que desenvolvem APLV, mesmo em AM exclusivo, possuem fatores genéticos que as predispõem a esse desfecho²². É possível que no lactente em AM exclusivo que já possui uma predisposição genética para a APLV, a ocorrência de deficiência de vitamina D, atue como um gatilho para o desenvolvimento da doença. Nesse sentido, foi observado que dos 8 bebês que estavam em AM exclusivo/predominante e desenvolveram APLV (a maioria colite alérgica), 7 encontravam-se com níveis inadequados de vitamina D.

Outros estudos realizados em diversas regiões do mundo, inclusive em regiões ensolaradas ou durante o verão, também demonstraram deficiência de vitamina D em bebês em AM exclusivo²³. Num estudo indiano, ao se analisar 97 bebês em AM exclusivo foi observado uma elevada frequência de deficiência de vitamina D tanto nos bebês, quanto nas mães. Foi encontrado que, com 10 semanas de vida, cerca de 55% dos bebês e 70% das mães apresentavam níveis deficientes de vitamina D, e ainda, aos 6 meses, cerca de 16% dos bebês tinham raquitismo. Os autores afirmam que os bebês indianos receberam baixo aporte de vitamina D intraútero e também nos primeiros meses de vida, através do LM, devido ao baixo estoque de vitamina D de suas mães²⁴.

A suplementação materna com vitamina D durante o período da lactação pode aumentar a concentração da mesma no LM, sendo uma opção para otimizar o aporte para os bebês¹⁸. Estudos realizados em diferentes países, sugerem a necessidade de suplementação, do bebê em AM, e por vezes de sua mãe, mesmo quando residente em região ensolarada^{18,25,26}. Contudo, o departamento de Nutrologia da SBP não indica a suplementação para crianças em AM com adequada exposição solar e nem para os lactentes que recebem pelo menos 500ml/dia de fórmula infantil, e apenas recomenda uma suplementação de 400UI/dia até os 18 meses nas demais situações¹². Nenhuma das crianças desse estudo estava realizando suplementação vitamínica, e apenas 9 mães das crianças com APLV (15,3%) e 4 mães das crianças saudáveis (6,6%) estavam em uso de suplemento. Foi verificado que em nosso meio, a indicação de suplemento de vitamina D no período pré-natal e durante o aleitamento ainda não é uma prática comum e talvez fosse necessário considerá-la, tendo em vista que estudos já realizados encontraram melhores níveis de vitamina D em crianças quando suplementadas. Estudo realizado na Califórnia, local ensolarado, com 173 crianças sendo a maioria na faixa etária de 9 a 12 meses, mostrou que a amamentação não associada à suplementação de vitamina D, foi o fator de risco mais comum para essa deficiência vitamínica²⁷. Outro dado mostra que a suplementação materna e infantil de forma simultânea durante o a AM, parece aumentar em cerca de três vezes as concentrações séricas de vitamina D de lactentes²⁸.

A exposição solar é considerada um dos determinantes mais importantes do status da vitamina D²⁹. Os níveis de vitamina D do bebê tendem a diminuir ao longo dos primeiros meses de vida, caso ele não seja exposto à luz solar ou receba, por via digestiva, o adequado aporte de vitamina D. A SBP sugere como adequada a exposição da criança aos raios solares por 30 minutos semanais (quando expostas apenas de fraldas), e recomenda que aquelas que residem em locais ensolarados, quando expostas adequadamente ao sol, não possuem

indicação de suplementação de vitamina D, mesmo quando amamentadas¹². Sabe-se, entretanto, que a exposição solar depende de uma conjuntura de fatores, como a localização geográfica, horário do dia, estação do ano e área do corpo exposta ao sol. As diferenças sazonais podem influenciar na exposição aos raios solares e consequentemente na produção de vitamina D⁵, porém esse fator parece ter tido pouca influência no presente estudo, pois na localização geográfica da região Nordeste do Brasil, ocorrem raios solares abundantes durante quase toda parte do ano. Entretanto, o fato de residir em região ensolarada pode não proteger os lactentes desta deficiência vitamínica. Ao analisar a relação da exposição solar com os níveis de vitamina D nessa pesquisa, foi verificado que a exposição solar adequada não se relacionou à níveis suficientes de vitamina D em ambos os grupos (APLV (p=0,972); saudáveis (p=0,666)). Em estudo recente realizado nesta mesma região, níveis insuficientes de vitamina D também foram observados no binômio mãe/recém-nascido³⁰, corroborando com outros dados que apontam para o fato de que, mesmo em cidades com elevada irradiação solar, podem ocorrer frequências elevadas de hipovitaminose D. Pesquisa realizada na Califórnia, com 173 lactentes de idade entre 6 e 18 meses, encontrou níveis deficientes de vitamina D e concluiu que, mesmo numa região de clima ensolarado, essa deficiência permanece sendo um risco para crianças nessa faixa etária²⁷. Níveis deficientes de vitamina D foram encontrados em 68,8% das crianças, com idade de 0 a 15 anos, estudadas no Qatar (n=458)³¹. Estas pesquisas chamam atenção para a ocorrência de deficiência de vitamina D mesmo em locais ensolarados. O fato da exposição solar não ter se relacionado aos níveis adequados de vitamina D nesta pesquisa, pode ter sido devido à influência de outros fatores, como o horário em que a criança foi exposta, a cor da pele e o uso de protetor solar, os quais não foram possíveis de ser analisados.

A literatura sugere uma triangulação entre o surgimento de APLV, deficiência de vitamina D e exposição inadequada aos raios solares⁵. Embora os dados sobre este aspecto sejam limitados, foi evidenciada uma maior frequência práticas inadequadas de exposição solar entre as crianças alérgicas (46,1%) do que entre os controles (21,1%), sugerindo que, a não adesão às recomendações de exposição solar possa ter colaborado para um maior risco de hipovitaminose e suas consequências no grupo de crianças com APLV e fazendo pensar que, talvez não seja prudente confiar na exposição solar pela família, como fonte segura de vitamina D, particularmente nos grupos de risco.

Deve ser levado em consideração que o risco de um status de deficiência de vitamina D em lactentes com APLV aumenta quando é realizada uma substituição inapropriada do leite

de vaca e seus derivados por outros alimentos durante o período de dieta de exclusão. Muitas vezes se buscam alternativas que não são fontes de vitamina D ou não são devidamente enriquecidas²¹, o que pode requerer a associação de suplementos à dieta da criança. Uma pesquisa que avaliou o consumo de vitamina D em crianças com APLV mostrou que aquelas que recebiam suplementação tiveram uma oferta maior da vitamina, havendo uma correlação positiva entre o fornecimento da vitamina D e as concentrações séricas⁶. De outra forma, o fato das mães das crianças com APLV em AME já se encontrarem com a dieta de restrição de leite de vaca e derivados, antes mesmo da primeira consulta no ambulatório de Gastropediatria, também pode ter contribuído com a deficiência nesse grupo. Isso reforça que nesse grupo de lactentes a suplementação pode ser necessária, tendo em vista que independente da prática alimentar, nenhuma criança era suplementada no momento de entrada no estudo.

Na análise dos resultados deste estudo devem ser consideradas as suas limitações. A complexidade do problema a ser estudado constituiu uma das principais dificuldades encontradas, e outros fatores que poderiam estar relacionados aos níveis de vitamina D não foram controlados. A heterogeneidade da amostra foi considerada um dos problemas devido às diferenças individuais da doença. O maior fluxo de pacientes para o ambulatório de Gastropediatria pode ter influenciado no perfil do grupo dos casos no que diz respeito aos sintomas apresentados, sendo mais frequentes os gastrointestinais. Também pode ter ocorrido viés de classe social devido à procura do ambulatório de Gastropediatria por famílias de melhor condição socioeconômica com o objetivo de obter laudo médico para receber as fórmulas especializadas fornecidas pelo serviço público. Considera-se ainda que um maior número amostral poderia permitir que os lactentes com APLV fossem agrupados e analisados de acordo com as manifestações clínicas apresentadas (immediatas e tardias), levando em conta os diferentes mecanismos imunológicos envolvidos na patogênese da APLV.

A falta de um consenso em relação aos pontos de cortes que definem o status de vitamina D também foi considerado um dos vieses. Enquanto que Sociedade de Endocrinologia Norte Americana, estabelece que níveis deficientes são aqueles inferiores a 20ng/ml e suficientes os iguais ou acima de 30ng/ml³², o Instituto de Medicina dos EUA (2010), considera como adequados os níveis superiores a 20ng/ml³³. Nessa pesquisa, os níveis suficientes foram aqueles a partir de 30ng/ml.

CONCLUSÃO

Os achados deste estudo sugerem um maior risco de níveis inadequados de vitamina D em lactentes com diferentes formas de APLV. A prática do AM exclusivo/predominante se relacionou com os níveis inadequados principalmente nas crianças alérgicas, enquanto que a exposição solar parece não ter conferido um efeito protetor de níveis inadequados nesse grupo. O fato dos lactentes alérgicos não utilizarem suplemento de vitamina D pode ter contribuído com os achados do estudo. Também devem ser consideradas as limitações da pesquisa, vieses de seleção e o pequeno número da amostra, a qual pode não ter sido representativa da realidade.

REFERÊNCIAS

1. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87(4): 1080S-6S.
2. Taylor JA, Geyer LJ, Feldman KW. Use of supplemental vitamin D among infants breastfed for prolonged periods. *Pediatrics.* 2010; 125(1) : 105-111. doi: 10.1542/peds.2009-1195 .
3. Mullins RJ, Camargo CA. Latitude, sunlight, vitamin D, and childhood food allergy/anaphylaxis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2012; 12(1): 64-71. doi: 10.1007/s11882-011-0230-7.
4. Baeke F, Etten EV, Overbergh L, Mathieu C. Vitamin D3 and the immune system: maintaining the balance in health and disease. *Nutr Res Rev.* 2007; 20: 106-118. doi: 10.1017/S0954422407742713.
5. Vassalo MF, Camargo CA. Potential mechanisms for the hypothesized link between sunshine, vitamin D, and food allergy in children. *J Allerg Clin Immunol.* 2010; 126(2): 217-222.
6. Rowicka G, Strucińska M, Ambroszkiewicz J.. Vitamin D status in children with cow's milk allergy. *Med Wieku Rozwoj.* 2012; 16(4): 307-12.
7. Koletzko S, Niggemann B, Arato A, Dias JA, Heuschkel R, Husby S, *et al.* Diagnostic Approach and Management of Cow's-Milk Protein Allergy in Infants and Children: ESPGHAN GI Committee Practical Guidelines. *JPGN.* 2012; 55(2): 221–229.
8. Fiocchi A, Brozek J, Schünemann H, Bahna SL, Berg A, Beyer K, *et al.* World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines. *Pediatr Allergy and Immu.* 2010; 21: 1-125.
9. World Health Organization. Multicentre growth reference study group. WHO Child growth standards based on length/height and age. Geneva; 2006.
10. Holick MF. Vitamin D status: Measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol.* 2009; 19(2): 73-78.
11. Brasil. Saúde da Criança: nutrição infantil: aleitamento materno e alimentação complementar, Brasil. Brasília; 2009.
12. Sociedade Brasileira de Pediatria. Manual de Orientação do Departamento de Nutrologia: alimentação do lactente ao adolescente, alimentação na escola, alimentação saudável e vínculo mãe-filho, alimentação saudável e prevenção de doenças, segurança alimentar. Rio de Janeiro; 2012.
13. Holick MF. The vitamin D epidemic and its health consequences. *J Nutr.* 2005; 135(11): 2739S-48S.

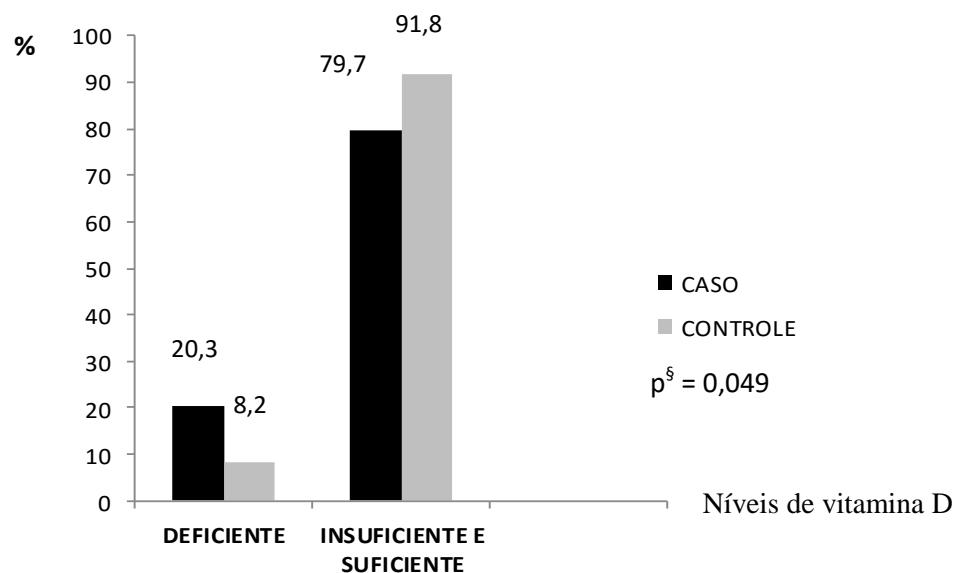
14. Allen KJ, Koplin JJ, Ponsonby AL, Gurrin LC, Wake M, Vuillermin P, *et al.* Vitamin D insufficiency is associated with challenge-proven food allergy in infants. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 131(4): 1109-1116. doi: 10.1016/j.jaci.2010.01.017.
15. Valenta R, Hocwahnner H, Linhart B, Pahr S. Food allergies: the basics. *Gastroenterology.* 2015; 148(6): 1120-1131. doi: 10.1053/j.gastro.2015.02.006. Epub 2015Feb11.
16. Gashut RA, Talwar D, Kinsella J, Duncan A, McMillan DC. The effect of the systemic inflammatory response on plasma vitamin 25 (OH)D concentrations adjusted for albumin. *Plos One.* 2014; 9(3): 1-7. doi: 10.1371/journal.pone.0092614.
17. Sharief S, Jariwala S, Kumar J, Muntner P, Melamed ML. Vitamin D levels and food and environmental allergies in the United States: results from NHANES 2005-2006. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127(5): 1195-1202.
18. Dawodu A, Tsang RC. Maternal vitamin D status: effect on milk vitamin D content and vitamin D status of breastfeeding infants. *Adv Nutr.* 2012; 3: 353-361. doi: 10.3945/an.111.000950.
19. Iyengar SR, Walker WA. Immunne factors in breast milk and the development of atopic disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012; 55,(6): 641-647. doi: 10.1097/MPG.0b013e3182617a9d.
20. Wall CR, Grant CC, Jones I. Vitamin D status of exclusively breastfed infants aged 2-3 months. *Arch Dis Child.* 2013; 98: 176-179. doi: 10.1136/archdischild-2012-302351.
21. Pearson D, Barreto-Chang O, Shepard WE, Greence A, Longhurst C. Vitamin D deficiencet rickets in a child with cow's milk allergy. *Nutr Clin Pratice.* 2010; 25(4): 394-8. doi: 10.1177/0884533610374199.
22. Hong X, Wang G, Liu X, Kumar R, Tsai H-J, Arguelles L, *et al.* Gene polymorphisms breast-feeding, and development of sensitization in early chidhood. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128(2): 374-81. doi: 10.1016/j.jaci.2011.05.007.
23. Dawodu A, Davidson D, Woo JG, Peng YM, Ruiz-Palacios GM, Guerrero ML, *et al.* Sun exposure and vitamin D supplementation in relation to vitamin D status of breastfeeding mothers and infants in the global exploration of human milk study? *Nutrients.* 2015; 7: 1081-1093. doi: 10.3390/nu7021081.
24. Agarwal N, Faridi MMA, Aggarwal A, Singh O. Vitamin D status of term exclusively breastfeed infants and their mothers from India. *Acta Paediatr.* 2010; 99: 1671-74. doi: 10.1111/j.1651-2227.2010.01912.x.
25. Bagnoli F, Casucci M, Toti S, Cecchi S, Iurato C, Coriolani G, *et al.* Is vitamin D supplementation necessary in the healthy full term breast-feed infants? A follow-up study of bone mineralization in healthy full-term infants with and without supplemntal vitamin D. *Minerva Pediatr.* 2013; 65(3): 253-60.

26. CS Kovacs. Vitamin D in pregnancy and lactation: maternal, fetal, and neonatal outcomes from human and animal studies. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88(2): 520S-8S.
27. Liang L, Chantry C, Styne DM, Stephensen C. Prevalence and risk factors for vitamin D deficiency among health infants and Young children in Sacramento, California. *Eur J Pediatr.* 2010; 169(11): 1337-44. doi: 10.1007/s00431-010-1226-3.
28. Saadi H, Dawodu A, Afandi B, Zayed R, Benedict S, Nagelkerke N, *et al.* Effect of combined maternal and infant vitamin D supplementation on vitamin D status of exclusively breastfed infants. *Matern Child Nutr.* 2009; 5(1): 25-32. doi: 10.1111/j.1740-8709.2008.00145.x.
29. Lips P, Schoor NM, Jongh RT. Diet, sun, and lifestyle as determinants of vitamin D status. *Ann N Y Acad Sci.* 2014; 1317: 92-98. doi: 10.1111/nyas.12443.
30. Pena, HR. Níveis maternos e neonatais de vitamina D: interferência da pré-eclâmpsia e da obesidade gestacional [dissertação]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente; 2014.
31. Bener A, Al-Ali M, Hoffmann GF. High prevalence of vitamin d deficiency in young children in a highly sunny humid country: a global health problem. *Minerva Pediatr.* 2009; 61(1): 15-22.
32. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney DA, *et al.* Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(7): 1911-1930. doi: 10.1210/jc.2011-0385.
33. Hewison M. Vitamin D and immune function: an overview. *Proc Nutr Soc.* 2012; 71(1): 50-61. doi: 10.1017/SDD2965511001650.

Tabela 1 - Características socioeconômicas e biológicas dos lactentes com APLV e do grupo controle atendidos ambulatorialmente em hospital universitário, Recife-PE (2013-2015).

Variáveis	APLV +		APLV -		p[§]
	n (59)	(%)	n (61)	(%)	
Sexo					
Masculino	25	42,4	30	49,2	0,454
Feminino	34	57,6	31	50,8	
Idade (meses)					
≤ 6	26	44,1	19	31,1	0,093
6 ≤ 12	18	30,5	19	31,1	
12 ≤ 18	13	22,0	13	21,4	
18 ≤ 24	2	3,4	10	16,4	
Grau de escolaridade materna					
Ensino fundamental/médio	18	30,5	44	72,1	<0,001
Ensino superior	41	69,5	17	27,9	
Renda em SM*					
≤ 2	15	25,9	43	70,5	<0,001
2 ≤ 4	13	22,4	7	11,5	
4 ≤ 10	23	39,6	6	9,8	
>10	7	12,1	5	8,2	
Atopia mãe					
Sim	37	62,7	21	34,4	0,002
Não	22	37,3	40	65,6	
Atopia pai**/***					
Sim	27	46,6	17	28,3	0,041
Não	31	53,4	43	71,7	
Tipo de parto					
Transvaginal	6	10,2	19	31,1	0,005
Cesáreo	53	89,8	42	68,9	
Idade gestacional*					
Pré-termo	10	17,2	11	18	0,612
Termo/Pós-termo	48	82,8	50	82	
Tempo de AME (meses)					
≤ 1	17	28,8	12	20	0,483
1 ≤ 3	15	25,4	15	25	
3 ≤ 6	27	45,8	33	55	
Avaliação antropométrica (P/I)***					
Baixo peso	5	8,5	2	3,4	0,439
Eutrófico	54	91,5	57	96,6	
Excesso de peso	-	-	-	-	

[§] Qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher



[§] Teste exato de Fisher

Figura 1. Frequências dos graus de suficiência da vitamina D nos lactentes com APLV e no grupo controle, atendidos ambulatorialmente em hospital universitário, Recife – PE (2013 – 2015).

Tabela 2 - Status da vitamina D dos lactentes com APLV e do grupo controle em relação à prática alimentar, atendidos ambulatorialmente em hospital universitário, Recife – PE (2013-2015).

Variável	APLV+			APLV-		
	Vitamina D		p [§]	Vitamina D		p [§]
	Deficiência/ Insuficiência	Suficiência		Deficiência/ Insuficiência	Suficiência	
Prática atual do AM						
	n IC 95%	n IC 95%		n IC 95%	n IC 95%	
Exclusivo/ Predominante	7 (25,9) 11,9-46,6	1 (3,1) 0,2-18,0	0,002	3 (15,7) 4,2-40,5	1 (2,4) 0,1-14,1	0,189
Parcial	7 (25,9) 11,9-46,6	2 (6,3) 1,1-22,2		-	2 (4,7) 0,8-17,4	
Complementar	4 (14,9) 4,8-34,6	4 (12,5) 4,1-29,9		4 (21,1) 7,0-46,1	12 (28,6) 16,2-44,8	
Não amamenta	9 (33,3) 17,2-54,0	25 (78,1) 59,6-90,1		12 (63,2) 38,6-82,8	27 (64,3) 48,0-78,0	
TOTAL	27 (100)	32 (100)		19 (100)	42 (100)	

[§]Qui-quadrado de Pearson

Tabela 3 - Status da vitamina D em lactentes com APLV e do grupo controle em função da exposição solar, atendidos ambulatorialmente em hospital universitário, Recife – PE (2013-2015).

Variável	APLV +			APLV -				
	Vitamina D		p	Vitamina D		p [§]		
	Deficiência/ Insuficiência	Suficiência		Deficiência/ Insuficiência	Suficiência			
n (%)								
Frequência da exposição solar (minutos/semana)								
≥30	14 (53,8) 33,7-72,9	17 (56,7) 37,7-74,0	0,972	15 (78,9) 53,9-93,0	31 (73,8) 57,7-85,6	0,666		
<30	3 (11,5) 3,0-31,3	3 (10,0) 2,6-27,7		-	-			
Não é exposta	9 (34,6) 17,9-55,6	10 (33,3) 17,9-52,9		4 (21,1) 7,0-46,1	11 (26,2) 14,4-42,3			
TOTAL	26 (100)	30 (100)		19 (100)	42 (100)			

[§] Qui-quadrado de Pearson

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo constatamos que lactentes com APLV, residindo numa região ensolarada do Nordeste, apresentaram níveis inferiores de vitamina D quando comparados aos lactentes saudáveis. Desta forma, podemos supor que, possa existir uma correlação entre hipovitaminose D nos lactentes e APLV. Embora não seja possível estabelecer uma relação de causalidade, pode-se advogar que, a deficiência de vitamina D possa colaborar para a ocorrência de diferentes formas de APLV em lactentes. Embora seja mais destacada na literatura a hipovitaminose nas formas imediatas, IgE mediadas, normalmente com manifestações sistêmicas e cutâneas, podemos observar que nesta pesquisa que as crianças com formas tardias, gastrointestinais, não mediadas por IgE, também podem cursar com esta deficiência. Além da correlação dos baixos níveis de vitamina D com o favorecimento à alergia, as crianças com APLV também podem estar mais susceptíveis a outras consequências dessa carência vitamínica, como as clássicas consequências sobre o metabolismo ósseo.

Consideramos ainda a indicação de suplementação de vitamina D para os lactentes em AM exclusivo, para aqueles em AM que não estejam consumindo um volume ideal de fórmula, e para as gestantes e nutrizes. Sugerimos que uma investigação na rotina ambulatorial durante o acompanhamento de lactentes com APLV poderá auxiliar de forma preventiva e permitir intervenções precoces.

Seria interessante a realização de estudos mais controlados e com um maior número de participantes, tendo em vista os vários fatores envolvidos nesse contexto. Consequentemente, novas estratégias poderão ser implementadas na condução do tratamento dessas crianças.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, N. et al. Vitamin D status of term exclusively breastfeed infants and their mothers from India. **Acta Paediatrica**, v. 99, n. 11, p. 1671-74, nov. 2010.

ALLEN, K.J. et al. Vitamin D insufficiency is associated with challenge-proven food allergy in infants. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 131, n. 4, p. 1109-1116, abr. 2013.

ALLEN, K.J.; MARTIN, P.S. Clinical aspects of pediatric food allergy and failed oral immune tolerance. **Journal of Clinical Gastroenterology**. v. 44, n. 6, p. 391-401, jul. 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOPATOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. Guia Prático de Diagnóstico e Tratamento de Alergia às Proteínas do Leite de Vaca Mediada pela Imunoglobulina E: 2012. **Revista brasileira de Alergia e Imunopatologia**. v. 31, n.2, p. 64-89, 2008.

BAEKE, F. et al. Vitamin D3 and the immune system: maintaining the balance in health and disease. **Nutrition Research Reviews**, v. 20, n. 1, p. 106-118, jun. 2007.

BAGNOLI, F. et al. Is vitamin D supplementation necessary in the healthy full term breastfeed infants? A follow-up study of bone mineralization in healthy full-term infants with and without supplemental vitamin D. **Minerva Pediatrica**, v. 65, n. 3, p. 253-60, jun. 2013.

BALLARD, O.; MORROW, A.L. Human milk composition and bioactive factors. **Pediatric Clinics North America**, v. 60, n. 1, p. 49-74, fev. 2013.

BARRAL, D.; BARROS, A.C.; ARAÚJO, R.P.C. Vitamina D: uma abordagem molecular. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria Clínica Integrada**, v.7, n.3, p. 309-315, set/dez. 2007.

BENER, A.; AL-ALI, M.; HOFFMANN, G.F. High prevalence of vitamin d deficiency in young children in a highly sunny humid country: a global health problem. **Minerva Pediatrica**, v. 61, n. 1 2009, p. 15-22. 2009.

BERTOLINI, D.L; TZZANO-MARTINS, C. Efeitos imunomoduladores da vitamina D. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 22, n. 3, p. 157-161, jul/ago/set. 2000.

BEYER, K. Human milk-specific mucosal lymphocytes of the gastrointestinal tract display a Th2 cytokine profile. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 109, n. 4, p.707-713, abr. 2002.

BJÖRKSTÉN, B. Genetic and environmental risk factors for the development of food allergy. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 5, n. 3, p.249-53, jun. 2005.

BRASIL, M. DA S. **Saúde da Criança: nutrição infantil: aleitamento materno e alimentação complementar, 2009**. 1^a. ed. Brasília: [n. 23]. p. 12.

CASTRO, L.C.G. O sistema endocrinológico vitamin D. **Arquivos Brasileiros de**

Endocrinologia & Metabolismo, v. 55, n. 8, p. 566-575. 2011.

CRITTENDEN, R. G.; BENNETT, L. E. Cow's milk allergy: a complex disorder, **Journal of the American College of Nutrition**, v. 24, n. 6, p. 582S-91S, dez. 2005.

DAWODU, A. et al. Hypovitaminosis D and vitamin D deficiency exclusivelybreast-feeding infants and their mothers in summer: a justification for vitamin D supplementation of breast-feeding infants. **The journal of Pediatrics**, v. 142, n. 2, p.169-173. fev. 2003.

DAWODU, A. et al. Sun exposure and vitamin D supplantation in relation to vitamin D status of breastfeeding mothers and infants in the global exploration of human milk study? **Nutrients**, v. 2, n. 2, p. 1081-1093, fev. 2015.

DAWODU, A.; TSANG, R.C. Maternal vitamin D status: effect on milk vitamin D content and vitamin D status. **Advances in Nutrition**, v.3, p.353-61, mai. 2012.

FERREIRA, C.; SEIDMAN, E. Food allergy: a practical update from the gastroenterological viewpoint. **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 1, p.7-20, 2007.

FIOCCHI, A. et al. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines, **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 21, p. 1-125, jul. 2010.

GASHUT, R.A. et al. The effect of the systemic inflammatory response on plasma vitamin 25 (OH)D concentrations adjusted for albumin. **Plos One**, v. 9, n. 3, p. 1-7. mar. 2014.

GREEF, E. et al. Diagnosis and management of cow's milk protein allergy in infants. **World Journal of Pediatrics**, v. 8, n.1, p.19-24. fev, 2012.

HEWISON, M. Vitamin D and immune function: an overview. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.71, n. 1 p.50-61, fev. 2012.

HOLICK, M.F. The vitamin D epidemic and its health consequences. **The Journal of Nutrition**, v. 35, n. 11, p. 2739S-48S, nov. 2005.

HOLICK, M.F. Viatmin D: a millenumperspective, **Journal of Cellular Biochemistry**. v.88, p. 296-307, 2003.

HOLICK, M. F. Vitamin D status: Measurement, interpretation, and clinical application. **Annals of Epidemiology**, v. 19, n. 2, p. 73-8, fev. 2009.

HOLICK, M.F; CHEN T.C. Vitamin D deficiency: a world problem with health consequences. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.87. n. 4 , p. 1080S- 6S, abr. 2008.

HOLICK, M.F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an endocrine Society Clinical Pratice Guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. .v.96. n.7, p.1911-30, 2011.

HONG, X. et al. Gene polymorphisms breast-feeding, and development of sensitization in early childhood. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 128, n. 2, p. 374-81, ago. 2011.

IYENGAR, S.R; WALKER, W.A. Immunne factors in breast milk and the development of atopic disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, n. 55, n. 6, p. 641–647, dez. 2012.

JO, J.; GARSSEN, J.; KNIPPELS, L.; SANDALOVA, E. Role of cellular immunity in cow's milk allergy: pathogenesis, tolerance induction, and beyond. **Mediators of Inflammation**, v.2014 , p. 1-10, 2014.

JONES, A.P. et al. Vitamin D and allergic disease: sunlight at the end of the tunnel. **Nutrients**, v. 4, n. 1, p.13-28. 2012.

JÚNIOR, E.P.S. et al. Epidemiologia da deficiência da vitamina D. **Revista Científica do ITAPAC**, v. 4, n. 3, 2011.

KARLSSON, M. R.; RUGTVEIT, J.; BRANDTZAEG, P. Allergen-responsive CD4⁺CD25⁺ Regulatory T Cells in Children who Have Outgrown Cow's Milk Allergy. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 199, n. 12, p. 1679–88, jun. 2004.

KOLETZKO, S. et al. Diagnostic Approach and Management of Cow's-Milk Protein Allergy in Infants and Children: ESPGHAN GI Committee Practical Guidelines. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 55, n.2, p. 221–9, ago. 2012.

KOVACS, C.S. Vitamin D in pregnancy and lactation: maternal, fetal, and neonatal outcomes from human and animal studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 88, n. 2, p. 520S-8S, ago. 2008.

LAND, M.H.; KIM, E.H.; BURKS, A.W. Oral desensitization for food hypersensitivity. **Immunology and Allergy Clinics of North America**. v.31, n. 2, p.367-76, mai. 2011.

LIANG, L. et al. Prevalence and risk factors for vitamin D deficiency among health infants and Young children in Sacramento, California. **European Journal of Pediatrics**, v. 169, n.11, p. 1337-44, nov. 2010.

LIPS, P.; SCHOOR, N.M.; JONGH, R.T. Diet, sun, and lifestyle as determinants of vitamin D status. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1317, p. 92-98, mai. 2014.

MARWAHA, R.K. et al. Vitamin D status in pregnant indian women across trimesters and different seasons and its correlation with neonatal serum 25-hydroxivitamin D levels. **British Journal of Nutrition**. v.106, n.9, p.1383-9, nov. 2011.

MULLINS, R.J; CAMARGO, C.A. Latitude, sunlight, vitamin D, and childhood food allergy/anaphylaxis. **Current and Allergy Asthma Report**, v. 12, n.1, p.64-71, fev. 2012.

NORMAN, A.W. From vitamin D to hormone: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.88, .2, p.491S-9S, ago. 2008.

NORMAN, A.W.; BOUILLOU, R. Vitamin D nutritional policy needs a vision for the future. **Experimental Biology and Medicine**. v.235, n.9, p.1034-45, set. 2010.

PEARSON, D. et al. Vitamin D deficient rickets in a child with cow's milk allergy. *Nutrition Clinical Practice*, v.25, n.4, p.394-8, ago. 2010.

PABST, O.; MOWAT, A.M. Oral tolerance to food protein. *Mucosal Immunology*. v.5, n. 3, p.232-9, mai. 2012.

PEDROSA, M.A.C; CASTRO, M.L. Papel da vitamina D na função neuromuscular. *Arquivos Brasileiro de Endocrinologia & Metabolismo*, v.49, n. 4, p. 495-502, ago. 2005.

PENA, H.R. **Níveis maternos e neonatais de vitamina D: interferência da pré-eclâmpsia e da obesidade gestacional.** Recife: UFPE, 2014. 94 f. Dissertação (Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente) – Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

PENNA, G.; ADORINI, L. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *Journal of Immunology*, v. 164, p. 2405–2411. 2000.

PERONI, D.G; BONER, A.L. Food Allergy: the perspectives of prevention using vitamin D. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, v. 13, n. 3, p. 287-292, jun. 2013.

PINOTTI, R. **Guia do bebê e da criança com alergia ao leite de vaca.** Rio de Janeiro: AC Farmacêutica, 2013.

RAJAKUMAR, K. et al. Impact of season and diet on vitamin D status of African American and Caucasian children. *Clinical Pediatrics*, v. 50, n.6, p.493-502, jun. 2011.

ROWICKA, G.; STRUCIŃSKA, M.; AMBROSZKIEWICZ, J. Vitamin D status in children with cow's milk allergy. *Medycyna Wiekupi Rozwojowego*, v. 16, n. 4, p. 307-12, out/dez. 2012.

SAADI, H. et al. Effect of combined maternal and infant vitamin D supplementation on vitamin D status of exclusively breastfed infants. *Maternal & Child Nutrition*, v. 5, n. 1, p. 25-32, jan. 2009.

SABRA, A. et al. IgE and non-IgE food allergy. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, v. 90, n. 6, p.71-6, jun. 2003.

SCHADE, R.P. et al. The cow's milk protein-specific T cell response in infancy and childhood. *Clinical & Experimental Allergy*, v. 33, n. 6, p. 725-730, jun. 2003.

SHARIEF, S. et al. Vitamin D levels and food and environmental allergies in the United States: results from NHANES 2005-2006. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 127, n. 5, p. 1195–1202, mai. 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Avaliação nutricional da criança e do adolescente** – Manual de Orientação / Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento de Nutrologia. – São Paulo: Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento de Nutrologia, 2009. p.112.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Manual de orientação: alimentação do lactente ao adolescente, alimentação na escola, do pré-escolar, alimentação saudável e vínculo mãe-filho, alimentação saudável e prevenção de doenças, segurança alimentar, 2012.** Rio de Janeiro: [3]. p.148.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOPATOLOGIA. **Consenso Brasileiro sobre alergia alimentar:** 2007.

STROBEL, S.; MOWAT, A.M. Oral tolerance and allergic responses to food proteins. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology.** v. 6, n. 3, p. 207-13. jun. 2006.

SUAIINI, N.H.A. et al. Immune modulation by vitamin D and its relevance to food allergy. **Nutrients.** v.8, n.7, p.6088-6108. jul. 2015.

SZCZAWIŃSKA-POPŁONYK, A.; BRĘBOROWICZ, A. Vitamin D impact on immune functions: implications for preventive strategy of allergic disease? **Postepy Dermatologii i Alergologii,** v. 3, p. 176–181, 2012.

TAYLOR, J.A; GEYER, L.J.; FELDMAN, K.W. Use of supplemental vitamin D among infants breastfed for prolonged periods. **Pediatrics,** v. 125, n.1, p. 105-111, nov. 2010.

TIEMESSEN et al., 2002. CD4+ CD25+ regulatory T cells are not functionally impaired in adult patients with IgE-mediated cow's milkallergy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology.** v.110, n. 6, p. 934-36, dez. 2002.

VALENTA, R. et al. Food allergies: the basics. **Gastroenterology,** v. 148, n. 6, p. 1120-1131, mai. 2015.

VASSALLO, M.F.; CAMARGO, C.A. Potential mechanisms for the hypothesized link between sunshine, vitamin D, and food allergy in children .**Journal of Allergy and Clinical Immunology,** v. 126, n. 2, p.217-22, 2010.

WALL, C.R.; GRANT, C.C.; JONES, I. Vitamin D status of exclusively breastfed infants aged 2-3 months. **Archives Disease in Childhood.** v. 98, n. 3, p. 176–179, mar. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Multicentre growth reference study group. WHO Child growth standards based on length/height and age. **Acta Paediatrica,** 450S, p. 76-85, 2006.

ZEIGER, R. Food allergen avoidance in the prevention of food allergy in infants and children. **Pediatrics,** v.111, n. 6, p.1662-71, jun. 2003.

ZITTERMANN, A; GUMMERT, J.F. Nonclassical vitamin D actions. **Nutrients,** v. 2, p.408-425, mar. 2010.

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIENCIAS DA SAUDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o(a) seu/sua filho (a) que está sob sua responsabilidade para participar, como voluntário (a), da pesquisa intitulada ***INTERAÇÃO ENTRE POLIMORFISMO GENÉTICO, ALEITAMENTO MATERNO E VITAMINA D NA TRANSITORIEDADE OU PERSISTÊNCIA DA ALERGIA À PROTEÍNA DO LEITE DE VACA EM CRIANÇAS***. Esta pesquisa é orientada pelo pela Profª Dra. Maria Eugênia Farias Almeida Motta e está sob a responsabilidade das pesquisadoras Sílvia Alves da Silva, residente na Rua Joaquim Elídio Maia e Silva, 215, Bairro Novo, Olinda, CEP: 53.130-140. E-mail: silviaalvessilva@hotmail.com e Cristiane Marrocos Silva, residente na Rua Copacabana, 580, Boa Viagem, Recife, CEP: 51030-590. E-mail: cris.marrocos@yahoo.com.br . Seguem contatos dos pesquisadores responsáveis (inclusive ligações a cobrar): Sílvia (81) 9297-1269 / Cristiane (81) 9601-8061.

Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar a fazer parte do estudo, rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa o (a) Sr.(a) não será penalizado (a) de forma alguma.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Esta pesquisa pretende avaliar a interação entre os polimorfismos dos genes relacionados com os tipos de sintomas da alergia ao leite de vaca e posterior tolerância. Além disso, serão avaliados outros fatores relacionados à doença, bem como verificados os níveis de vitamina D dessas crianças.

Os dados serão coletados a partir da aplicação de um questionário durante a consulta médica e nutricional e mediante a coleta de 5mL de sangue para a realização da dosagem dos níveis da vitamina D e identificação de polimorfismos genéticos, além da realização de testes de desencadeamento alimentar com leite de vaca, necessário para o diagnóstico da alergia à proteína do leite de vaca e posteriormente para a identificação do desenvolvimento da tolerância ao leite.

As informações aqui obtidas serão utilizadas para avaliar e, posteriormente, melhorar o nível de conhecimento sobre o impacto de polimorfismos genéticos sobre os sintomas apresentados e o tempo que se leva até a tolerância ao leite.

Com relação aos riscos da pesquisa, durante a coleta de amostra de sangue, a criança pode sentir um pequeno desconforto durante a punção venosa, podendo apresentar vermelhidão e dor local. No entanto, esse risco será minimizado em vista que a coleta de sangue será realizada por um profissional de enfermagem com treinamento e experiência em pediatria. Da mesma forma, durante a realização do teste de desencadeamento alimentar oral aberto com leite de vaca, realizado com a finalidade de confirmar o diagnóstico de APLV e, posteriormente, identificar o desenvolvimento de tolerância ao leite, a criança pode vir a apresentar os sintomas alérgicos durante o decorrer do teste. Se esse fato ocorrer, o teste será interrompido imediatamente e a criança será medicada com antialérgicos para minimizar os sintomas, em virtude que o teste será realizado em ambiente hospitalar e a criança será monitorada por enfermeiro, médico pediatra e nutricionista, durante as 24 horas de duração do teste. Em relação à aplicação do questionário da pesquisa, o familiar ou responsável pela criança pode se sentir constrangido durante os questionamentos acerca do perfil socioeconômico. Visando minimizar essa situação, a aplicação do questionário será realizada em sala reservada e será garantida a confidencialidade das informações prestadas.

Este estudo não acarretará nenhum custo financeiro ao responsável das crianças, como também não possui fins lucrativos. Os pais ou responsáveis das crianças poderão desistir da participação da pesquisa em qualquer momento, sem que isso acarrete em prejuízo ao seu acompanhamento clínico e nutricional.

Os questionários contendo as informações coletadas serão armazenados por um prazo de 5 anos no Departamento da Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Pernambuco, sob a responsabilidade da orientadora da pesquisa Profª Dra. Maria Eugênia Farias Almeida Motta e após esse prazo serão incinerados.

Será garantido sigilo e privacidade em relação ao seu nome, obedecendo dessa maneira as normas estabelecidas pela Resolução nº 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, que trata sobre a condução das pesquisas envolvendo seres humanos (BRASIL, Conselho Nacional de Saúde, 1996).

Informamos ainda que os dados coletados poderão ser apresentados em eventos científicos de âmbito nacional e internacional e divulgados em revistas científicas.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, Sala 4 – Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).

Cristiane Marrocos Silva

Sílvia Alves da Silva

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____, RG/CPF _____,
abaixo assinado, responsável pelo(a) menor _____, autorizo a sua participação na presente
pesquisa como voluntário(a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo (a)
pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis
riscos e benefícios decorrentes da participação dele (a). Foi-me garantido que posso retirar o
meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou
interrupção de seu acompanhamento/
assistência/tratamento.

Local e data _____

Nome e Assinatura do (da) responsável: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

02 testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

ANEXO B – Formulário da Pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIENCIAS DA SAUDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE



**FORMULÁRIO DA PESQUISA: STATUS DE VITAMINA D EM LACTENTES
 COM ALERGIA À PROTEÍNA DO LEITE DE VACA**

Número do questionário: _____ Ambulatório: _____
 Data da entrevista: ____ / ____ / ____ Prontuário: _____
 Nome da criança: _____
 Nome da mãe/responsável: _____
 Sexo: 1. Masculino 2. Feminino
 Data de nascimento: ____ / ____ / ____ Idade (anos e meses): _____
 Endereço: _____
 _____ Telefone para contato: () _____

DADOS SOCIOECONÔMICOS DA FAMÍLIA

Grau de escolaridade da mãe:

1. Não estudou
2. Ensino fundamental I incompleto
3. Ensino fundamental I completo
4. Ensino fundamental II incompleto
5. Ensino fundamental II completo
6. Ensino médio incompleto
7. Ensino médio completo
8. Ensino superior incompleto
9. Ensino superior completo

Grau de escolaridade do pai:

1. Não estudou
2. Ensino fundamental I incompleto
3. Ensino fundamental I completo
4. Ensino fundamental II incompleto
5. Ensino fundamental II completo
6. Ensino médio incompleto
7. Ensino médio completo
8. Ensino superior incompleto
9. Ensino superior completo

Profissão do pai: _____ Trabalha atualmente: 1. Sim 2. Não

Profissão da mãe: _____ Trabalha atualmente: 1. Sim 2. Não

Qual a renda da família? _____

Quantas pessoas moram na casa? _____



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIENCIAS DA SAUDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE



DADOS PERINATAIS

A mãe fez acompanhamento médico pré-natal? 1. Sim 2. Não

Usou suplemento polivitamínico durante a gestação? 1. Sim 2. Não

Usou suplemento de vitamina D durante a gestação? 1. Sim 2. Não

Se sim, qual a dose tomada? _____ Por quanto tempo? _____

Tempo de gestação: _____

Gestação: 1. a termo 2. Pré-maturo 3. pós-termo

Tipo de parto: 1. Normal 2. Cesáreo

A mãe da criança tem algum tipo de alergia? 1. Sim 2. Não

Se sim, qual o tipo? 1. Rinite alérgica 2. Asma 3. Medicamento

4. Urticária 5. Dermatite atópica 6. Alimento 7. Outro _____

O pai da criança tem algum tipo de alergia? 1. Sim 2. Não

Se sim, qual o tipo? 1. Rinite alérgica 2. Asma 3. Medicamento

4. Urticária 5. Dermatite atópica 6. Alimento 7. Outro _____

DADOS DA CRIANÇA

Peso ao nascimento: _____ g Comprimento ao nascimento: _____ cm

A criança toma algum polivitamínico? 1. Sim 2. Não

A criança foi alimentada com leite materno? 1. Sim 2. Não

Se sim, por quanto tempo foi alimentada apenas com leite materno? _____

Com que idade começou a introduzir outros líquidos como sucos, chás e água? _____

Com que idade começou a introduzir alimentos sólidos (frutas/verduras/sopa)? _____

Se sim, com que idade começou a introduzir outro tipo de leite? _____

Qual o tipo de leite oferecido à criança inicialmente? _____

Qual o tipo de leite oferecido à criança atualmente? _____

A criança é exposta ao sol? 1. Sim 2. Não

Se sim, quantas vezes na semana? _____ Quanto tempo? _____

AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA DA CRIANÇA

Peso atual: _____ g Comprimento atual: _____

P/I: _____ Classificação: _____



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIENCIAS DA SAUDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE



DADOS DA MANIFESTAÇÃO CLÍNICA DA APLV

Quais os sintomas da criança associados com o consumo de leite de vaca/leite materno?

1. Vômitos
2. Diarreia
3. Distensão abdominal
4. Constipação intestinal
5. Refluxo
6. Dermatite atópica
7. Edema nos lábios
8. Urticária
9. Tosse
10. Sangramento nas fezes
10. Cansaço/falta de ar
11. Crise anafilática
12. Outro _____

Qual a idade da criança no início dos sintomas?

Tempo de manifestação: 1. Imediata 2. Tardia

CONDUTA NUTRICIONAL

DADOS LABORATÓRIAIS

Dosagem sérica da 25 hidroxivitamina D₃: _____

Classificação: 1. Deficiência 2. Insuficiente 3. Adequado

ANEXO C – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Titulo da Pesquisa: Interação entre polimorfismo genético, aleitamento materno e vitamina D na transitoriedade ou persistência da alergia à proteína do leite de vaca

Pesquisador: Silvia Alves da Silva

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 12878313.4.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Patrocinador Principal: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico ((CNPq))

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 237.609

Data da Relatoria: 03/04/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente do CCS da UFPE. O projeto tem como título: Interação entre polimorfismo genético, aleitamento materno e vitamina D na transitoriedade ou persistência da alergia à proteína do leite de vaca.

O estudo será desenvolvido nos Serviços de Gastroenterologia e Alergologia Pediátrica do Ambulatório de Pediatria do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE). A população de estudo será constituída por lactentes menores de um ano de idade com APLV nos fenótipos gastrintestinal e cutâneo/respiratório/anafilaxia e lactentes da mesma faixa etária sem APLV. Na coleta de dados será utilizado um formulário específico contendo informações acerca da identificação da criança quanto ao gênero, idade, cor da pele, do período perinatal (suplementação de vitamina D pela mãe, tipo de parto, tempo de gestação, peso e comprimento de nascimento) e de lactente (duração do aleitamento materno exclusivo, predominante e total, exposição solar, suplementação de vitamina D, uso de antibiótico e história de reações alérgicas). Além de avaliação antropométrica (peso atual e comprimento), também serão coletadas informações acerca do grau de escolaridade dos pais, renda familiar, condições de moradia da família e história de atopia familiar. Os lactentes menores de um ano de idade com suspeita de apresentarem sintomas gastrintestinais, cutâneos, respiratórios ou anafilaxia pelo consumo de leite de vaca serão convidados a participar da pesquisa, após esclarecimentos do protocolo de estudo, e assinarão o termo de consentimento livre e esclarecido para sua inclusão. Esses

Endereço:	Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro:	Cidade Universitária
UF: PE	Município: RECIFE
Telefone:	(81)2126-8588
	CEP: 50.740-600
	Fax: (81)2126-8588
	E-mail: cepccs@ufpe.br

pacientes serão submetidos ao teste de desencadeamento oral aberto com leite de vaca, em ambiente hospitalar, após duas semanas de exclusão completa do leite de vaca da alimentação e usando fórmula infantil para tratamento de APLV, conforme protocolo estabelecido por Niggemann & Beyer, modificado no tempo de observação para definição diagnóstica: a) para lactentes com reação tardia, doses progressivas até 100 ml (1,0 3,0 10,0 30,0 100,0 ml a cada 30 minutos); b) para lactentes com reação imediata, doses menores progressivas até 100 ml (0,1 0,3 1,0 3,0 10,0 30,0 100,0 ml) a cada 30 minutos. Se os sintomas não aparecerem durante a observação médica, o paciente continuará o consumo de leite em casa, com um mínimo de 200 ml por dia, com visita semanal de retorno até quatro semanas. Lactentes confirmados com APLV serão acompanhados mensalmente, de forma regular, com atendimento por gastroenterologista e alergistas pediátricos e nutricionista, mantidos em dieta de exclusão de leite de vaca e derivados e usando fórmula infantil para tratamento de APLV. A fim de determinar o desenvolvimento de tolerância ao leite de vaca, será realizado novo teste de desencadeamento oral aberto com leite de vaca a cada dois meses para lactentes com sintomas iniciais do trato digestório e a cada seis meses para lactentes com sintomas iniciais de outros órgãos e sistemas. O acompanhamento inicial será de até 12 meses. Será considerada transitoriedade da APLV quando o teste de desencadeamento oral aberto com leite de vaca for negativo até o final dos 12 meses de acompanhamento, assumindo-se como amadurecimento do sistema imune e obtenção da tolerância oral. Persistência da APLV será admitida quando o teste continuar positivo até o final dos 12 meses de acompanhamento, assumindo-se como ausência de tolerância oral. A conclusão de transitoriedade ou persistência será definida para cada fenótipo clínico, relacionando-os com o polimorfismo genético para resposta imune Th1, Th2 e tolerância oral. Os pacientes atendidos no Ambulatório de Pediatria e Puericultura do HC-UFPE que irão coletar sangue e não tenham sintomas gastrintestinais, respiratórios ou eczema também serão convidados a participar da pesquisa, após esclarecimentos do protocolo de estudo e assinatura do termo de consentimento para sua inclusão no grupo controle.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a interação entre os polimorfismos dos genes que codificam as respostas imunes Th1 (IFN- γ) e Th2 (IL-4) com a presença de polimorfismos nos genes que codificam a resposta imune tolerogênica (IL-10 e receptor para a vitamina D) e o aleitamento materno no desenvolvimento e persistência de alergia às proteínas do leite de vaca (APLV) em lactentes menores de um ano de idade, considerando o fenótipo dos sintomas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: O presente projeto apresenta risco mínimo (dor local), em vista que a coleta de sangue será

Endereço:	Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS				
Bairro:	Cidade Universitária	CEP:	50.740-600		
UF:	PE	Município:	RECIFE		
Telefone:	(81)2126-8588	Fax:	(81)2126-8588	E-mail:	cepccs@ufpe.br

realizada por um profissional de enfermagem com treinamento e experiência em pediatria e o volume de 5 mL de sangue punctionado para a dosagem da vitamina D e determinação dos polimorfismos genéticos é considerado baixo e não acarretará em prejuízos ao volume sanguíneo total da criança. Além disso, os demais procedimentos como acompanhamento de peso, comprimento e aplicação de questionário serão realizados durante a consulta com a equipe médica/nutricionista em sala reservada garantindo a confidencialidade das informações prestadas. O teste de desencadeamento alimentar oral aberto será realizado em ambiente hospitalar, e a criança sendo monitorada por enfermeiro, médico pediatra e nutricionista, durante as 24 horas de duração do teste e o mesmo será suspenso caso a criança apresente os sintomas referidos pela família. O teste segue o protocolo recomendado atualmente pela Sociedade Europeia de Gastroenterologia Pediátrica, Hepatologia e Nutrição (ESPGHAN).

Benefícios: As informações obtidas na pesquisa trarão benefícios para as crianças com APLV, pois ajudará a conhecer melhor o impacto dos polimorfismos genéticos e sua interação com o aleitamento materno no desenvolvimento de tolerância ao leite de vaca. Também ajudará a criar estratégias terapêuticas mais específicas, de acordo com o polimorfismo genético apresentado e o fenótipo dos sintomas, o que pode contribuir para um menor custo no tratamento e melhorar a qualidade de vida da criança. Para a comunidade científica, esses dados serão publicados na forma de artigos científicos de circulação internacional.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto bem escrito, com clareza em todos os seus itens. Está aprovado financeiramente pelo CNPq. De acordo com o projeto, atualmente, as dietas de exclusão de leite de vaca na APLV são realizadas por períodos padronizados e prolongados, superiores a seis meses, indiscriminadamente, independente do fenótipo clínico. Muitos pacientes acabam apresentando repercussões nutricionais, desde desnutrição energético-protéica, até hipocalcemia. Será útil para traçar medidas preventivas e terapêuticas dirigidas a cada fenótipo clínico, assim como ensaios clínicos que contemplem a duração ótima da dieta de exclusão e suas repercussões nutricionais. Faz-se necessário o entendimento da contribuição genética para o surgimento das doenças seja corroborado por estudos realizados em populações/etnias variadas, visto que os perfis genéticos podem diferir entre elas. As propriedades imunológicas do leite materno são indubitáveis, mas nas sociedades modernas, essa prática ocorre por períodos cada vez mais curtos. Assim a resposta tolerogênica precisa ser esclarecida para permitir orientações nutricionais personalizadas quanto à prática ideal do aleitamento materno visando reduzir o risco de APLV e outras alergias futuras na criança. Parece um projeto de relevância na área da saúde infantil porque visa reduzir o surgimento de

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



doenças graves advindas da desnutrição infantil devido à alimentação inadequada juntamente com a ausência desnecessária do leite de vaca nesta alimentação.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O requerente apresentou toda a documentação exigida pelo programa. Inclusive a folha de rosto devidamente assinada, a carta de anuência e a carta do CNPq de aprovação do projeto no valor de R\$ 29.999,66.

Recomendações:

Recomendo aprovação do projeto sem nenhuma restrição.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado sem restrições.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado aprova o parecer do protocolo em questão e o pesquisador está autorizado para iniciar a coleta de dados.

Projeto foi avaliado e sua APROVAÇÃO definitiva será dada, após a entrega do relatório final, através da PLATAFORMA BRASIL ou por meio de ofício impresso emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa/UFPE.

RECIFE, 04 de Abril de 2013

Assinador por:
GERALDO BOSCO LINDOSO COUTO
(Coordenador)

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS	CEP: 50.740-600
Bairro: Cidade Universitária	
UF: PE	Município: RECIFE
Telefone: (81)2126-8588	Fax: (81)2126-8588
E-mail: cepccs@ufpe.br	