

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE

CAROLINA ROOS MARIANO DA ROCHA

HIPOVITAMINOSE D EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM DOENÇA
HEPÁTICA CRÔNICA:
PREVALÊNCIA, FATORES ASSOCIADOS E RESPOSTA
TERAPÊUTICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre

2021

CAROLINA ROOS MARIANO DA ROCHA

HIPOVITAMINOSE D EM PACIENTES PEDIÁTRICOS
COM DOENÇA HEPÁTICA CRÔNICA:
PREVALÊNCIA, FATORES ASSOCIADOS E RESPOSTA
TERAPÊUTICA

A apresentação desta dissertação é requisito parcial para título de mestre do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Professora Sandra Maria Gonçalves Vieira

Coorientador: Professor Guilherme Guaragna Filho

Porto Alegre

2021

CIP - Catalogação na Publicação

Roos Mariano da Rocha, Carolina
HIPOVITAMINOSE D EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM
DOENÇA HEPÁTICA CRÔNICA: PREVALÊNCIA, FATORES
ASSOCIADOS E RESPOSTA TERAPÊUTICA / Carolina Roos
Mariano da Rocha. -- 2021.
67 f.
Orientadora: Sandra Maria Gonçalves Vieira.

Coorientador: Guilherme Guaragna Filho.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente,
Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Colestase. 2. Cirrose hepática. 3. Deficiência
de vitamina D. 4. Doenças ósseas metabólicas. I.
Gonçalves Vieira, Sandra Maria, orient. II. Guaragna
Filho, Guilherme, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

CAROLINA ROOS MARIANO DA ROCHA

HIPOVITAMINOSE D EM PACIENTES PEDIÁTRICOS
COM DOENÇA HEPÁTICA CRÔNICA:
PREVALÊNCIA, FATORES ASSOCIADOS E RESPOSTA
TERAPÊUTICA

A apresentação desta dissertação é requisito parcial para título de mestre do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Professora Sandra Maria Gonçalves Vieira

Coorientadora: Professor Guilherme Guaragna Filho

Porto Alegre, 16 de agosto de 2021

BANCA EXAMINADORA

Professora Elza Daniel de Mello
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Professora Themis Zelmanowitz
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Professor Jorge Luiz dos Santos
Universidade de Beira Interior (Portugal)

Dedico este trabalho à minha família, minha principal fonte de estímulo para trilhar meu caminho até este momento.

AGRADECIMENTOS

À minha família: meus pais, Gaspar F. M. da Rocha e Marina B. Roos, pelas oportunidades e apoio que me foram dadas para chegar até aqui, e minhas irmãs, Camila R. M. da Rocha e Catarina R. M. da Rocha, grandes exemplos e grandes incentivadoras de todos os meus projetos. Ao Felipe M. Borges, meu companheiro de todos os dias e de todos os momentos, que me traz confiança para enfrentar todas as etapas para alcançar os meus objetivos.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Sandra Maria Goncalves Vieira, que me apresentou ao mundo científico no início da minha jornada como estudante de Medicina e me trouxe acolhimento, inúmeros ensinamentos e constante incentivo ao longo de toda a minha trajetória profissional e pessoal. Ao meu coorientador, Prof Dr Guilherme Guaragna Filho, que aceitou fazer parte deste trabalho desde o início, colaborando com conhecimentos enriquecedores. Aos colaboradores fundamentais deste trabalho: Dr Carlos O. Kieling, que não mediu esforços para me auxiliar com a organização dos dados e com a análise estatística de todo o trabalho; Dr^a Marina R. Adami e Dr^a Renata R. Guedes que, não só contribuíram com a realização deste trabalho desde o seu princípio, como também me fizeram aprender, junto com os demais citados neste parágrafo, através dos ensinamentos que me transmitiram no dia a dia a importância e relevância deste tema para os pacientes.

Por fim, agradeço aos nossos pacientes, que são a nossa maior fonte de estímulo para o estudo, objetivando melhoria na sua assistência médica e qualidade de vida.

RESUMO

Introdução: a doença hepática crônica na infância cursa com manifestações multissistêmicas, incluindo o déficit nutricional. A prevalência de deficiência de vitaminas lipossolúveis é elevada e é um dos distúrbios associados à nutrição mais conhecidos neste grupo de pacientes. A deficiência de vitamina D pode estar relacionada ao prejuízo na saúde óssea com consequências na qualidade de vida e no aumento da morbidade. Ainda não há consenso sobre qual o melhor esquema de tratamento para a hipovitaminose D em pacientes pediátricos com doença hepática crônica. **Objetivos:** estudar a prevalência de deficiência de vitamina D, definida como $25(\text{OH})\text{D} < 20\text{ng/mL}$, em crianças hepatopatas crônicas, os fatores clínico-laboratoriais a ela associados e a resposta ao tratamento com $6000\text{UI}/\text{dia}$ de colecalciferol oral por um período mínimo de sessenta dias. **Métodos:** estudo de coorte histórica. Incluídos pacientes menores de 18 anos de ambos os sexos em acompanhamento na Unidade de Gastroenterologia e Hepatologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre de janeiro de 2015 a novembro de 2020, que tenham tido ao menos uma dosagem de $25(\text{OH})\text{D}$ pré-transplante hepático neste período. Foi realizada comparação dos dados laboratoriais pré e pós-tratamento com dose de $6000\text{UI}/\text{dia}$ de colecalciferol e comparação entre os grupos respondedores e não respondedores. Os dados foram adquiridos através da revisão de registros em prontuários eletrônicos de todos os pacientes. **Resultados:** dos 140 pacientes incluídos, 96 foram elegíveis para o estudo. A prevalência de hipovitaminose D foi de 67,7%. O grupo com deficiência de vitamina D apresentou idade mais baixa ($p < 0,001$), escores PELD/MELD e Child-Pugh mais elevados ($p = 0,002$ e $p < 0,001$ respectivamente), valores de bilirrubina total, gama-glutamil transferase e fosfatase alcalina mais elevados ($p < 0,001$, $p < 0,001$ e $p = 0,002$ respectivamente) e concentração de fósforo sérico mais baixa ($p = 0,009$) quando comparado ao grupo sem deficiência. Trinta e um pacientes realizaram tratamento com $6000\text{UI}/\text{dia}$ de colecalciferol oral por pelo menos 60 dias. Destes, 29% responderam ao tratamento, com normalização da concentração sérica de $25(\text{OH})\text{D}$. Ao final do tratamento, a mediana de $25(\text{OH})\text{D}$ foi significativamente mais elevada ($p < 0,001$) e a de PTH significativamente mais baixa ($p = 0,023$). Os pacientes respondedores apresentavam escore de Child-Pugh mais baixo ($p = 0,001$), nível de bilirrubina total mais baixo no momento da segunda dosagem de $25(\text{OH})\text{D}$ ($p = 0,001$) e nível de fósforo mais elevado ($p = 0,003$). **Conclusão:** a prevalência de hipovitaminose D nos pacientes pediátricos com doença hepática crônica é elevada e está relacionada com a gravidade da doença de base e com o grau de colestase. A taxa de resposta ao tratamento com colecalciferol oral é baixa. A normalização do nível de $25(\text{OH})\text{D}$ está relacionada com a melhora da colestase.

Palavras-chave: Colestase. Cirrose hepática. Deficiência de vitamina D. Doenças ósseas metabólicas.

ABSTRACT

Background: chronic liver disease in children is associated with multisystemic manifestations, including nutritional deficit. The prevalence of fat-soluble vitamins deficiency is high and is known as one of the most common nutritional problems among these children. Vitamin D deficiency is related to bone disease and can induce high morbidity and impaired quality of life. There is no consensus about the best treatment for vitamin D deficiency in pediatric patients with chronic liver disease. **Objective:** to study the prevalence of vitamin D deficiency, defined as $25(\text{OH})\text{D} < 20\text{ng/mL}$, in children with chronic liver disease, to identify clinical and laboratory features associated to it and to evaluate the response of vitamin D deficiency treatment with 6000IU per day of oral cholecalciferol for at least 60 days. **Methods:** historical cohort that included patients younger than 18 years old of both sexes that were followed in Pediatric Gastroenterology and Hepatology Unit of Hospital de Clínicas de Porto Alegre from January 2015 to November 2020, who had at least one dosage of 25(OH)D before liver transplantation. Laboratorial data were evaluated before and after treatment with cholecalciferol 6000IU/day. Clinical and laboratorial features of the group that responded to treatment was compared with the ones of the group that did not respond. **Results:** ninety-six out of 140 included patients were eligible to the study. The prevalence of vitamin D deficiency was 67.7%. Patients with vitamin D deficiency were younger than patients without deficiency ($p < 0.001$), had higher PELD/MELD and Child-Pugh scores ($p = 0.002$ e $p < 0.001$ respectively), higher levels of total bilirubin ($p < 0.001$), gamma glutamyl transferase ($p < 0.001$) and alkaline phosphatase ($p = 0.002$) and lowers levels of phosphorus ($p = 0.009$). Thirty-one patients were treated with 6000IU of cholecalciferol per day for 60 days or more. Only 29% of them responded to treatment, achieving levels of 25(OH)D of 20ng/ml or higher. By the end of treatment, patients had higher concentrations of serum 25(OH)D ($p < 0.001$) and lower of parathormone ($p = 0.023$). Patients that responded to treatment had lower level of total bilirubin at the moment of the second 25(OH)D dosage ($p = 0.001$), lower Child-Pugh score ($p = 0.001$) and higher level of phosphorus ($p = 0.003$). **Conclusion:** vitamin D deficiency prevalence is high in pediatric patients with chronic liver disease and is associated with severity of the liver disease and cholestasis. The treatment response rate is low, even with high dose of oral cholecalciferol. Normalization of 25(OH)D levels is relates with cholestasis improvement.

Keywords: Cholestasis. Liver cirrhosis. Vitamin D deficiency. Metabolic bone diseases.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 1 - | Metabolismo da vitamina D | 23 |
| Figura 2 - | Study flowchart..... | 58 |
| Figura 3 - | Analysis of total bilirubin and 25(OH)D levels before and after treatment with 6,000 IU/day of cholecalciferol..... | 60 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|--|----|
| Tabela 1 - | Comparison between groups with and without vitamin D deficiency..... | 57 |
| Tabela 2 - | Comparison of clinical and laboratory features of the group that responded to treatment with cholecalciferol 6,000 IU/day and the non-responder group..... | 59 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------------------------|---|
| 1,25(OH)₂D | 1,25-dihidroxi-vitamina D |
| 25(OH)D | 25-hidroxi-vitamina D |
| AAP | Academia Americana de Pediatria |
| DBP | <i>Vitamin D Binding Protein</i> (Proteína Ligadora de Vitamina D) |
| ESPGHAN | <i>European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition</i> (Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica) |
| FA | Fosfatase Alcalina |
| GGT | Gama-glutamil Transferase |
| HCPA | Hospital de Clínicas de Porto Alegre |
| IGF-1 | <i>Insuline-like growth factor 1</i> (Fator de crescimento semelhante à insulina 1) |
| IIQ | Intervalo interquartil |
| IL-1 | Interleucina 1 |
| IL-6 | Interleucina 6 |
| IMC | Índice de Massa Corporal |
| MELD | <i>Model for End-Stage Liver Disease</i> |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PELD | <i>Pediatric End-Stage Liver Disease</i> |
| PTH | Paratormônio |
| TNF | Fator de Necrose Tumoral |
| UI | Unidades Internacionais |

UVB

Raios Ultravioletas B

VDR

Vitamin D Receptor (Receptor de Vitamina D)

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 18 |
| 2.1 A VITAMINA D E SEU METABOLISMO | 18 |
| 2.2 A DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D NA DOENÇA HEPÁTICA CRÔNICA | 23 |
| 3 JUSTIFICATIVA | 29 |
| 4 QUESTÕES DE PESQUISA | 30 |
| 5 HIPÓTESE | 31 |
| 6 OBJETIVOS | 32 |
| 6.1 OBJETIVO GERAL | 32 |
| 6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 32 |
| 7 MÉTODOS | 33 |
| 7.1 DESENHO DO ESTUDO..... | 33 |
| 7.2 PACIENTES | 33 |
| 7.3 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA | 34 |
| 7.4 AVALIAÇÃO DO <i>STATUS</i> DE 25(OH)D..... | 35 |
| 7.5 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO | 35 |
| 7.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 36 |
| 7.7 ASPECTOS ÉTICOS..... | 37 |
| 8 CONCLUSÕES | 38 |
| 9 REFERÊNCIAS | 39 |
| 10 ARTIGO ORIGINAL | 43 |
| 11 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 63 |
| APÊNDICE A - CRITÉRIOS PARA DEFINIÇÃO DE DOENÇA HEPÁTICA CRÔNICA NA INFÂNCIA | 63 |
| APÊNDICE B - ESCORE CHILD-PUGH | 64 |
| APÊNDICE C - ESCORE PELD | 65 |
| APÊNDICE D – ESCORE MELD | 66 |
| ANEXO A – EXAMES LABORATORIAIS UTILIZADOS NO ESTUDO | 67 |
| ANEXO B - TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE DADOS | 68 |

1 INTRODUÇÃO

A doença hepática crônica caracteriza-se por um processo de destruição e regeneração progressivas do parênquima hepático, o qual resulta no desenvolvimento de fibrose em diferentes estágios e cirrose (STOKES *et al.*, 2013; DELLA CORTE *et al.*, 2016). Embora rara dentro do amplo espectro de doenças pediátricas e de prevalência desconhecida no nosso meio, estima-se que a cada ano, aproximadamente 15.000 crianças americanas sejam hospitalizadas devido à hepatopatia crônica (DELLA CORTE *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2017). A doença hepática crônica na criança é complexa e multifatorial, sendo muitas vezes subdiagnosticada ou diagnosticada de forma tardia, principalmente pela escassez de sintomas nas fases mais precoces da doença (SULTAN *et al.*, 2011; CORDOVA *et al.*, 2016; DELLA CORTE *et al.*, 2016) . Desta forma, muitos casos evoluem para estágios avançados, com colestase crônica e com importante repercussão nutricional, metabólica e infecciosa (SULTAN *et al.*, 2011).

A doença hepática crônica é considerada um distúrbio multissistêmico. Isso ocorre em função das diversas manifestações extra hepáticas que surgem com a sua progressão: manifestações renais, ósseas, nutricionais, imunes, infecciosas, neurológicas e cardiopulmonares (TSOUKA; MCLIN, 2012). Entre essas manifestações, uma das mais significativas por seu impacto prognóstico é o déficit nutricional. Este necessita ser identificado e manejado de forma precoce pois está relacionado com piores desfechos pré e pós transplante hepático (TSOUKA *et al.*, 2017). A etiologia da desnutrição na criança cirrótica é multifatorial: uma combinação de desequilíbrio metabólico interferindo na síntese proteica, homeostase da glicose e absorção de gorduras (CORDOVA *et al.*, 2016). A má absorção de gorduras é a deficiência nutricional mais bem reconhecida e estabelecida nestas crianças, principalmente naquelas colestáticas (CORDOVA *et al.*, 2016). A ausência de fluxo biliar ao intestino delgado prejudica a absorção adequada de gorduras, levando à deficiência de vitaminas lipossolúveis.

Como consequência, o indivíduo pode apresentar alterações visuais como cegueira noturna, xeroftalmia e enfermidades da córnea pela deficiência de vitamina A; alterações no metabolismo ósseo podendo levar ao desenvolvimento de raquitismo e fraturas patológicas pela deficiência de vitamina D; manifestações neuromusculares e hemolíticas relacionadas à deficiência de vitamina E; e coagulopatia pela deficiência de fatores de coagulação dependentes de vitamina K (TSOUKA; MCLIN, 2012; CORDOVA *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2017). A identificação precoce e o tratamento das deficiências vitamínicas são fundamentais no manejo nutricional do paciente hepatopata, especialmente na faixa etária pediátrica, período crítico de crescimento e desenvolvimento (TSOUKA; MCLIN, 2012; CORDOVA *et al.*, 2016).

No que se refere à vitamina D, além da má absorção intestinal, com a redução progressiva da função hepática, reduz-se a capacidade de hidroxilação hepática, uma das etapas de metabolização dessa vitamina, e a síntese proteica, culminando com redução da DBP (*vitamin D binding protein*) e da albumina, suas principais carreadoras séricas (TSOUKA; MCLIN, 2012; STOKES *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2017). Além disso, estes pacientes possuem menos aporte dietético de vitamina D em função da anorexia, além da pouca exposição solar e da pouca movimentação corporal, eventos relacionados à doença de base (TSOUKA; MCLIN, 2012; YANG *et al.*, 2017). A hipovitaminose D induz um aumento nas concentrações do paratormônio (PTH) na tentativa de manutenção dos valores séricos normais de cálcio e fósforo. O PTH induz a reabsorção óssea e aumento no calcitriol a fim de otimizar a absorção intestinal de cálcio (MISRA *et al.*, 2008; TSOUKA; MCLIN, 2012; ANTONUCCI *et al.*, 2018). Através deste ciclo, podem-se gerar alterações importantes do metabolismo ósseo e consequentemente da densidade mineral óssea, que, nos casos mais graves, poderá culminar com raquitismo, baixa estatura e fraturas ósseas patológicas, interferindo na qualidade de vida e no desenvolvimento pômbero-estatural das crianças e dos adolescentes (STOKES *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2017). Portanto, é fundamental otimizar as concentrações de vitamina D e a saúde óssea no período

pré transplante já que, após esse procedimento, há a necessidade do uso de corticosteroides por período de no mínimo três meses, com os seus conhecidos efeitos prejudiciais à densidade mineral óssea (COLLIER *et al.*, 2002; SULTAN *et al.*, 2011; CORDOVA *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2017).

Recentemente, a relação entre doença hepática crônica e a deficiência de vitamina D tem recebido muita atenção devido à sua alta prevalência desse quadro neste grupo de pacientes e ao seu papel nas complicações ósseas supracitadas (STOKES *et al.*, 2013; EHNERT *et al.*, 2019). Enquanto a hipovitaminose D, os seus efeitos sobre o metabolismo ósseo e o seu manejo são amplamente estudados em pacientes adultos com doença hepática crônica (COLLIER *et al.*, 2002; BJELAKOVIC *et al.*, 2017). são raros os dados publicados envolvendo a população pediátrica. Sendo assim, não há consenso sobre o melhor esquema de manejo da hipovitaminose D neste grupo de pacientes. O presente estudo propõe uma análise da deficiência de vitamina D em pacientes pediátricos com doença hepática crônica, as características clínicas e laboratoriais a ela relacionadas e à resposta ao tratamento com dose de 6.000UI por dia de colecalciferol oral por um período mínimo de sessenta dias.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A VITAMINA D E SEU METABOLISMO

A vitamina D é classificada com um pró-hormônio, com papel fundamental no metabolismo do cálcio e fósforo e na saúde óssea, principalmente durante a infância, período em que podem ocorrer deficiências nutricionais com prejuízo no ganho de massa óssea (MALHAM *et al.*, 2011; ALVES *et al.*, 2016; REID, 2016). Nos últimos anos, ela também vem sendo estudada em associação com diversas outras condições patológicas tendo em vista que os receptores de vitamina D são expressos em diversos órgãos e células do corpo e que mais de 1000 genes parecem ser regulados direta ou indiretamente pela forma ativa desta vitamina (MISRA *et al.*, 2008; ; STOKES *et al.*, 2013; ANTONUCCI *et al.*, 2018; BOUILLON *et al.*, 2019; PILZ *et al.*, 2019).

A principal fonte de vitamina D em humanos é a exposição solar. Cerca de apenas 10% é absorvida da dieta através da ingestão de peixes gordurosos, gema de ovo, alguns fungos, nozes e castanhas (MISRA *et al.*, 2008; BENTLEY, 2015; ALVES *et al.*, 2016; ANTONUCCI *et al.*, 2018; PILZ *et al.*, 2019). O ergocalciferol (vitamina D2) é proveniente das plantas e fungos e o colecalciferol (vitamina D3) é proveniente de alimentos de origem animal e sintetizada na pele pela ação fotoquímica dos raios ultravioletas B (UVB), sendo ambas equivalentes do ponto de vista biológico (BENTLEY, 2015; ALVES *et al.*, 2016; REID, 2016; ANTONUCCI *et al.*, 2018; PILZ *et al.*, 2019). Durante a exposição solar, o metabólito do colesterol na pele, 7-deidrocolesterol, absorve a radiação dos raios UVB e é convertido em pré-vitamina D3, a qual rapidamente se transforma em vitamina D3 (SAGGESE *et al.*, 2015; ANTONUCCI *et al.*, 2018; PILZ *et al.*, 2019). A absorção intestinal da vitamina D, por estoser uma vitamina lipossolúvel, depende da absorção intestinal adequada dos lipídeos. Os

triglicerídeos de cadeia longa no lúmen intestinal, através da ação de enzimas pancreáticas, são divididos em ácidos graxos e monoglicerídeos. Estes juntam-se aos ácidos biliares e fosfolípídeos para formar micelas, as quais conseguem ser absorvidas através dos enterócitos. Estes ácidos graxos absorvidos são ressintetizados e combinados com proteínas, colesterol e fosfolípídeos para formar quilomícrons, os quais são transportados de forma sistêmica pelo sistema linfático. Os triglicerídeos de cadeia média, por sua vez, podem ser absorvidos de forma direta através dos enterócitos. O ergocalciferol e o colecalciferol são transportados, na sua imensa maioria, ligados à DBP ou à albumina, até o fígado, onde são hidroxilados por enzimas do citocromo P450, as 25-hidroxilases, formando o calcidiol ou 25-hidroxi-vitamina D (25(OH)D). Esta é a forma de depósito da vitamina D, armazenada predominantemente no fígado e no tecido adiposo (GOLDEN *et al.*, 2014; IRUZUBIETA *et al.*, 2014; ALVES *et al.*, 2016; ANTONUCCI *et al.*, 2018; PILZ *et al.*, 2019). O calcidiol é, então, transportado aos rins ligado à DBP, onde ocorre uma nova hidroxilação pela ação da enzima 1-alfa-hidroxilase, formando o calcitriol ou 1,25-dihidroxi-vitamina D (1,25(OH)₂D), a forma metabolicamente ativa da vitamina D (STOKES *et al.*, 2013; GOLDEN *et al.*, 2014; ALVES *et al.*, 2016; ANTONUCCI *et al.*, 2018; PILZ *et al.*, 2019).

Os principais sítios de ação da vitamina D são o intestino delgado, aumentando a absorção intestinal de cálcio e fósforo; os ossos, promovendo a formação do osso endocondral e estimulando a proliferação e diferenciação dos condrócitos e a mineralização da matriz óssea; e os rins, aumentando a reabsorção tubular de cálcio e a excreção renal de fósforo (ALVES *et al.*, 2016). Quando a vitamina D atinge as suas células-alvo, ela liga-se ao seu receptor, o VDR (*vitamin D receptor*), e, a partir daí, induz ou impede a transcrição gênica. O VDR é expresso em diversos órgãos e tecidos do organismo humano, tendo-se descoberto diversas ações extra-esqueléticas da vitamina D, tais como: controle da asma e da dermatite atópica e associações com doenças autoimunes, infecciosas, intestinais, cardiovasculares, neurológicas e neoplásicas

(MISRA *et al.*, 2008; STOKES *et al.*, 2013; ANTONUCCI *et al.*, 2018; BOUILLON *et al.*, 2019). Além disso, ela age como um potente modulador da resposta imune, atuando sobre componentes da imunidade celular e humoral (BOUILLON *et al.*, 2019; PILZ *et al.*, 2019).

A produção da vitamina D é reduzida durante o inverno ou nos horários antes das 10h e após as 15h, pois um ângulo mais oblíquo de exposição solar resulta na absorção mais eficiente da radiação solar pela camada de ozônio. Outro fator que reduz a eficácia na produção de vitamina D pela pele é a pigmentação, pois a melanina absorve a radiação UVB. Protetores solares com fator de proteção solar maior ou igual a 30 reduzem a produção de vitamina D pela pele em 95 a 99%. Além disso, a idade influencia a quantidade de 7-dehidrocolesterol: pessoas de mais idade apresentam produção reduzida de vitamina D quando comparadas com pessoas mais jovens (MISRA *et al.*, 2008; SAGGESE *et al.*, 2015). Ademais, qualquer doença envolvendo um dos passos da produção e ativação dos metabólitos da vitamina D pode causar sua deficiência: falência renal ou hepática, má absorção intestinal ou enfermidades da pele. Outros fatores de risco para hipovitaminose D incluem períodos de crescimento acelerado (primeiro ano de vida e estirão puberal), prematuridade, dieta vegetariana, hospitalização prolongada, obesidade, sedentarismo e uso de medicações que interferem nas vias farmacológicas de ativação da vitamina D (anticonvulsivantes, antifúngicos e corticoides) (MISRA *et al.*, 2008; MALHAM *et al.*, 2011; STOKES *et al.*, 2013; SAGGESE *et al.*, 2015; ALVES *et al.*, 2016; ANTONUCCI *et al.*, 2018). Apesar de raras, existem algumas causas genéticas que levam à deficiência de vitamina D, como deficiência da enzima 25-hidroxilase, deficiência da 1-alfa-hidroxilase e resistência à ação da vitamina D (STOKES *et al.*, 2013; ALVES *et al.*, 2016; ANTONUCCI *et al.*, 2018). O complexo processo metabólico da vitamina D também contém um sistema de eliminação, em que a 25(OH)D e a 1,25(OH)₂D são convertidas em metabólitos inativos, 24,25-dihidroxitamina D3 e em 1,24,25-trihidroxitamina D3, pela CYP24A1 nos rins (STOKES *et al.*, 2013).

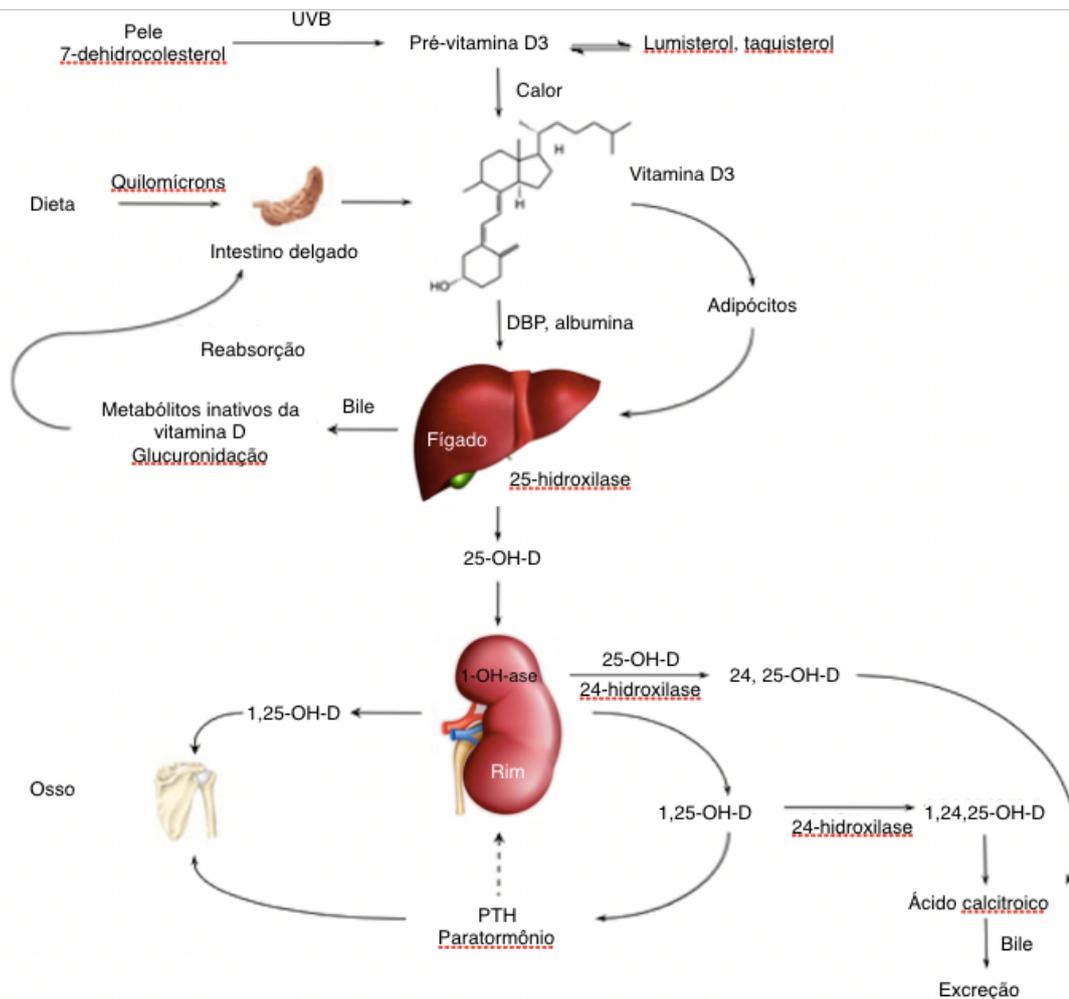
O valor sérico da 25(OH)D é o melhor parâmetro para avaliar o *status* de vitamina D, por ser a forma circulante em maior quantidade, não sofrer alterações significativas com as flutuações no PTH e ter uma meia vida mais longa que as demais formas, de 2 a 3 semanas (MISRA *et al.*, 2008; ANTONUCCI *et al.*, 2018). O calcitriol, 1,25(OH)₂D, não pode ser usado como um bom marcador para avaliar a concentração sérica de vitamina D: a sua meia vida é de cerca de algumas horas, e os seus valores não são regulados diretamente pelo aporte de vitamina D, mas sim por outros fatores como as concentrações séricas de PTH. Portanto, o 1,25(OH)₂D pode estar normal ou até mesmo elevado na deficiência de vitamina D como um resultado do hiperparatireoidismo secundário (BRAEGGER *et al.*, 2013). Ainda há controvérsias sobre os pontos de corte utilizados para definir os estados de deficiência e insuficiência de vitamina D em crianças, além dos diversos tipos de ensaios utilizados em diferentes laboratórios (GROSSMAN *et al.*, 2017). Entretanto, a grande maioria das sociedades internacionais, destacando-se a Academia Americana de Pediatria (AAP) e a Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica (ESPGHAN: *European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*), considera valores de 25(OH)D acima de 20ng/mL como suficientes (HOLICK *et al.*, 2011; JENSEN *et al.*, 2015; SAGGESE *et al.*, 2015; MUNNS *et al.*, 2016; GROSSMAN *et al.*, 2017; ANTONUCCI *et al.*, 2018). A triagem universal da hipovitaminose D na população pediátrica não é recomendada, estando indicada apenas para pacientes sintomáticos ou com os fatores de risco previamente citados (ANTONUCCI *et al.*, 2018).

Quando há deficiência de vitamina D, ocorre diminuição da absorção intestinal de cálcio e fósforo, culminando com redução das suas concentrações séricas, o que induz aumento na secreção do PTH. Com isso, gera-se um estímulo à reabsorção renal de cálcio e à excreção renal de fósforo, além da mobilização de cálcio do osso, objetivando restaurar a homeostase desse eletrólito, o que leva à redução da mineralização óssea (MISRA *et al.*, 2008; WAGNER;

GREER, 2008; ALVES *et al.*, 2016; ANTONUCCI *et al.*, 2018). Clinicamente, a deficiência de vitamina D pode apresentar-se desde um quadro leve e assintomático até manifestações clínicas graves, como atraso do crescimento e desenvolvimento, irritabilidade, dores ósseas e, nas situações mais graves, hipocalcemia, hipofosfatemia, aumento acentuado do PTH, raquitismo em crianças, osteomalácia em adolescentes e adultos e fraturas ósseas (MISRA *et al.*, 2008; ALVES *et al.*, 2016).

Consensos recentes recomendam o consumo diário de 400 UI de vitamina D no primeiro ano de vida e, após este período, 600UI, objetivando manter valores séricos acima de 20 ng/mL (MISRA *et al.*, 2008; WAGNER; GREER, 2008; GOLDEN *et al.*, 2014; SAGGESE *et al.*, 2015; ANTONUCCI *et al.*, 2018; PILZ *et al.*, 2019). A dose sugerida para o tratamento de crianças com diagnóstico de insuficiência ou deficiência de vitamina D, de um modo geral, é 1000 UI/dia para menores de um mês, de 1000 a 3000UI/dia de um a seis meses, de 1000 a 6000 UI/dia para crianças entre um e doze meses e mais que 5000 UI/dia para crianças maiores de um ano (MISRA *et al.*, 2008; VIERUCCI *et al.*, 2013; ANTONUCCI *et al.*, 2018). A suplementação de cálcio associada tem sido recomendada nos casos de raquitismo (ANTONUCCI *et al.*, 2018). A resposta ao tratamento deve ser monitorada frequentemente. Nos períodos de um e três meses após o início do tratamento, recomenda-se a dosagem das concentrações de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina, acrescentando-se no terceiro mês, a monitorização da 25(OH)D e do PTH (ANTONUCCI *et al.*, 2018).

Figura 1 - Metabolismo da vitamina D



Fonte: Adaptado de Stokes et al. Vitamin D in chronic liver disease. *Liver International* (2013)

2.2 A DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D NA DOENÇA HEPÁTICA CRÔNICA

A prevalência da deficiência de vitamina D na população portadora de doença hepática crônica é elevada, atingindo valores em torno de 90% (MALHAM *et al.*, 2011; LIM; CHALASANI, 2012; MOHAMMADI *et al.*, 2012; STOKES *et al.*, 2013; IRUZUBIETA *et al.*, 2014; FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ *et al.*, 2016). No passado, acreditava-se que a hipovitaminose D ocorresse apenas em doenças hepáticas colestáticas, devido à má absorção intestinal, mas recentemente, tem-se demonstrado que essa deficiência está relacionada com a

gravidade e progressão da doença hepática, independentemente da sua etiologia (MALHAM *et al.*, 2011; STOKES *et al.*, 2013; CHINNARATHA *et al.*, 2015; KONSTANTAKIS *et al.*, 2016; KHAN *et al.*, 2019). Grande parte das crianças com doença hepática crônica apresentam-se com desnutrição, sendo esta multifatorial, envolvendo déficits alimentares, alterações absorptivas, aumento das necessidades energéticas basais e alterações na síntese e metabolismo de substratos (TSOUKA; MCLIN, 2012; CORDOVA *et al.*, 2016). Portanto, é fundamental que todas as crianças com hepatopatia crônica sejam submetidas a uma avaliação nutricional completa e detalhada que inclua índices antropométricos, dosagem dos níveis de vitaminas e minerais e reposições conforme necessidade. O *status* nutricional é um dos fatores prognósticos mais importantes na doença hepática crônica, com impacto em desfechos pré e pós transplante hepático (TSOUKA; MCLIN, 2012; CORDOVA *et al.*, 2016).

Uma das deficiências nutricionais mais bem reconhecida e estabelecida nestas crianças, principalmente naquelas colestatias, é a má absorção de gorduras e, conseqüentemente, a má absorção de vitaminas lipossolúveis: A, D, E e K (CORDOVA *et al.*, 2016). Estudos com pacientes pediátricos hepatopatas crônicos, demonstram, de forma geral, taxas elevadas de deficiência de vitaminas lipossolúveis. Entretanto, existem discrepâncias na literatura quanto aos valores de prevalência de deficiência de vitamina D, que variam de 15% a 80% em média, dependendo do ponto de corte utilizado para definir os estados de deficiência e insuficiência e das características das amostras estudadas (BASTOS; DA SILVEIRA, 2003; MOHAMMADI *et al.*, 2012; SHEN *et al.*, 2012; SHNEIDER *et al.*, 2012; VENKAT *et al.*, 2014; HOURIGAN *et al.*, 2015; DONG *et al.*, 2017; SAMRA *et al.*, 2018; LEE *et al.*, 2019; VERALDI *et al.*, 2019; YODOSHI *et al.*, 2020).

A doença hepática crônica interfere em diversos pontos da metabolização da vitamina D: não apenas na sua absorção, mas também no seu armazenamento, transporte e transformação em metabólitos ativos (STOKES *et al.*, 2013). A etiologia da hipovitaminose D nos pacientes

com doença hepática crônica é multifatorial. Com a redução da secreção biliar para o intestino delgado, ocorre prejuízo na formação de micelas e conseqüentemente prejuízo na absorção de vitaminas lipossolúveis (SHEN *et al.*, 2012). Com frequência, estes pacientes apresentam carências nutricionais secundárias à anorexia relacionada à doença crônica. Além disso, são submetidos a internações frequentes e muitas vezes prolongadas, com pouca exposição solar, e frequentemente apresentarem icterícia, prejudicando a produção de vitamina D através da absorção de raios UVB. Com a progressão da doença e redução da síntese hepática, ocorre prejuízo na produção dos transportadores da vitamina D, DBP e albumina, e redução da hidroxilação hepática da vitamina D, dificultando a formação de seus metabólitos ativos e interferindo de forma direta na sua rota metabólica (COLLIER *et al.*, 2002; MALHAM *et al.*, 2011; MOHAMMADI *et al.*, 2012; STOKES *et al.*, 2013; IRUZUBIETA *et al.*, 2014; JENSEN *et al.*, 2015; KONSTANTAKIS *et al.*, 2016; JAMIL *et al.*, 2018; VERALDI *et al.*, 2019).

Uma das principais conseqüências da deficiência de vitamina D e que apresenta repercussões clínicas importantes é a alteração do metabolismo ósseo (MISRA *et al.*, 2008; WAGNER; GREER, 2008; ALVES *et al.*, 2016; ANTONUCCI *et al.*, 2018). No contexto da hepatopatia crônica, pode-se desenvolver como uma manifestação extra-hepática comum, mas algumas vezes subdiagnosticada, a osteodistrofia hepática: doença óssea especificamente associada à doença hepática crônica e as suas alterações metabólicas (CHINNARATHA *et al.*, 2015). A patogênese desta condição é multifatorial e é parcialmente compreendida. Ela pode ser descrita como conseqüência de um desequilíbrio entre a produção de massa óssea e a remodelação óssea, sendo o principal fator desencadeante a redução da vitamina D e as suas conseqüentes alterações no metabolismo do cálcio (COLLIER *et al.*, 2002; STOKES *et al.*, 2013). Outros fatores associados com o desenvolvimento da doença óssea no paciente hepatopata são a redução nos níveis de IGF-1 (*Insuline-like growth factor – 1*), o aumento na concentração de citocinas inflamatórias, interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6) e do fator

de necrose tumoral (TNF) e fatores do indivíduo, como consumo de álcool, baixo IMC, uso de corticoides (STOKES *et al.*, 2013). Vale ressaltar que a deficiência de vitamina K também prejudica o metabolismo ósseo, já que ela é um cofator na síntese da osteocalcina, uma proteína da matriz óssea (TSOUKA; MCLIN, 2012).

Nas crianças com hepatopatia crônica, a doença óssea afeta tanto o osso já formado, quanto a placa óssea de crescimento, induzindo não apenas redução da massa óssea com risco de fraturas, mas também raquitismo, que corresponde ao efeito da deficiência de vitamina D no osso em desenvolvimento, alterações na coluna vertebral e déficit de crescimento (HÖGLER *et al.*, 2012). Todas estas alterações resultam em elevada morbidade e redução da qualidade de vida relacionadas à baixa estatura crônica, deformidades ósseas, imobilização prolongada e dor crônica (MOHAMMADI *et al.*, 2012; STOKES *et al.*, 2013; CHINNARATHA *et al.*, 2015). O prejuízo à massa óssea em crianças colestáticas parece estar presente desde os estágios mais iniciais da doença hepática crônica (SAMRA *et al.*, 2018). Samra e colaboradores demonstraram elevada prevalência (50%) de redução da densidade mineral óssea em um grupo de cinquenta crianças colestáticas, sendo 18% delas com diagnóstico de osteoporose. Este dado ressalta a importância de avaliar de forma precoce o *status* da vitamina D e os marcadores do metabolismo ósseo nos pacientes pediátricos hepatopatas, e realizar os tratamentos necessários o mais breve possível para evitar os prejuízos a longo prazo.

As alterações ósseas descritas nestes pacientes ocorrem tanto no período pré transplante hepático quanto no período pós transplante (YANG *et al.*, 2017). Neste último, a melhora da função hepática e a redução da colestase são contrabalançadas pelo uso de drogas imunossupressoras, especialmente os corticosteroides (COLLIER *et al.*, 2002). Por isso, é fundamental otimizar o *status* de vitamina D pré transplante a fim de minimizar as consequências a curto e longo prazo, já que a perda de massa óssea no pós transplante imediato

pode agravar uma doença óssea pré existente (SULTAN *et al.*, 2011; HÖGLER *et al.*, 2012; CORDOVA *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2017).

Apesar de a doença óssea metabólica em pacientes com doença hepática crônica ser multifatorial, os desfechos positivos associados com uma concentração adequada de 25(OH)D e a importância desta para o metabolismo ósseo justificam a suplementação de rotina nestes pacientes (TAVEIRA *et al.*, 2010; MALHAM *et al.*, 2011; STOKES *et al.*, 2013). Para crianças colestáticas com valores normais de vitamina D, recomenda-se a suplementação inicial na dose de 800UI/dia, com ajustes conforme a dosagem de nível sérico, podendo chegar em até 3 a 10 vezes o valor padrão recomendado para crianças não hepatopatas (DE BRUYNE *et al.*, 2011; FELDMAN; SOKOL, 2013; JENSEN *et al.*, 2015). Apesar da orientação de suplementação rotineira para estes pacientes, na população pediátrica a eficácia desta suplementação não está bem estabelecida e os detalhes quanto à dosagem, intervalos e formulações da administração de vitaminas lipossolúveis varia entre as diferentes instituições (SHEN *et al.*, 2012). Alguns estudos mostram que, mesmo com a suplementação adequada, estes pacientes apresentam elevadas taxas de deficiência de vitamina D (SHEN *et al.*, 2012; SHNEIDER *et al.*, 2012).

Ainda não existe um consenso quanto à dose de tratamento a ser usada quando diagnosticada a deficiência de vitamina D, qual a melhor forma de administração e qual a resposta que de fato este tratamento oferece, sendo as recomendações existentes baseadas, na maioria das vezes, na experiência de especialistas. (COLLIER *et al.*, 2002; DE BRUYNE *et al.*, 2011; JENSEN *et al.*, 2015). Pela complexidade dos mecanismos relacionados à hipovitaminose D no contexto da doença hepática, talvez estes pacientes necessitem de doses mais altas ou vias alternativas de administração da vitamina D para se obter melhores resultados. *Jensen* e colaboradores descreveram quatro casos de crianças colestáticas menores de 3 meses com deficiência de vitamina D que receberam tratamento com dose elevada de colecalciferol oral (300.000UI em 2 a 3 dias) e após dose de manutenção: nenhum dos casos

apresentou normalização dos níveis de 25(OH)D dentro de quatro semanas. Um dos casos apresentou melhora significativa, o que coincidiu com a melhora dos níveis séricos de bilirrubinas. Lal e colaboradores descreveram eficácia no tratamento da hipovitaminose D em um grupo de crianças hepatopatas não colestáticas com dose semanal de 60.000UI e com dose única de 600.000UI seguida de dose diária de manutenção de 600UI, sendo o primeiro esquema o mais efetivo. Apesar de não existir consenso, recomenda-se que seja utilizada a dose que for necessária para manter as concentrações de 25(OH)D acima de 20ng/mL e valores normais de PTH. Entretanto, por receio da toxicidade, muitos pacientes recebem doses sub-terapêuticas até que se desenvolvam sintomas clinicamente significativos (HÖGLER *et al.*, 2012; SHEN *et al.*, 2012). No Hospital de Clínicas de Porto Alegre, desde 2015, para pacientes pediátricos com doença hepática crônica e deficiência de vitamina D, tem sido realizado tratamento com colecalciferol oral na dose de 6.000UI/dia (MISRA *et al.*, 2008). Para uma melhor assistência e tratamento desta complicação, é necessário um elevado grau de suspeição, a confecção de guidelines padronizados e a divulgação da importância de uma adequada suplementação de vitaminas lipossolúveis e tratamento das deficiências conforme necessidade (SHEN *et al.*, 2012).

3 JUSTIFICATIVA

A deficiência de vitamina D nos pacientes pediátricos com hepatopatia crônica é muito prevalente e pode estar associada a consequências clínicas importantes: déficit de crescimento, redução da mineralização óssea e, em casos mais graves, raquitismo e fraturas patológicas (HÖGLER *et al.*, 2012). Estas alterações trazem prejuízo à qualidade de vida do paciente pediátrico hepatopata, que se encontra em pleno período de crescimento e desenvolvimento, e pode impactar em piores desfechos a curto e longo prazo (TSOUKA, MCLIN, 2012; MOHAMMADI *et al.*, 2012; STOKES *et al.*, 2013; CHINNARATHA *et al.*, 2015).

Apesar da relevância clínica do tema, a literatura sobre ele é escassa. Não se sabe a exata prevalência de hipovitaminose D nos pacientes pediátricos com doença hepática crônica e não há consenso sobre qual o melhor esquema de tratamento desta deficiência vitamínica neste grupo de pacientes.

4 QUESTÕES DE PESQUISA

Qual a prevalência da deficiência de vitamina D (definida como níveis de 25(OH)D menores que 20ng/mL) e os fatores clínico-laboratoriais e ela associados entre os pacientes pediátricos com doença hepática crônica? Qual a resposta ao tratamento da hipovitaminose D neste grupo de pacientes com dose diária de 6000UI de colecalciferol oral?

5 HIPÓTESE

A prevalência de hipovitaminose D nos pacientes pediátricos com doença hepática crônica é elevada e a utilização de colecalciferol por via oral para tratamento tem efeito inferior à restauração da função hepática na resolução do estado de deficiência.

6 OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a prevalência de hipovitaminose D em pacientes pediátricos com doença hepática crônica, os fatores clínico-laboratoriais a ela relacionados e a resposta ao tratamento.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Caracterizar a amostra de pacientes quanto às suas características demográficas e clínicas;
- b) Determinar a prevalência de deficiência de vitamina D, definida como valor sérico de 25(OH)D menor que 20ng/mL;
- c) Avaliar quais características clínicas, demográficas e laboratoriais estão associadas com a deficiência de vitamina D;
- d) Avaliar a resposta ao tratamento da hipovitaminose D com dose de 6000UI por dia de colecalciferol por via oral por um período mínimo de 60 dias;
- e) Comparar variáveis clínicas e laboratoriais entre o grupo que respondeu e o que não respondeu ao tratamento proposto.

7 MÉTODOS

7.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo de coorte baseado na análise histórica de dados registrados em prontuários eletrônicos de pacientes com diagnóstico de doença hepática crônica e que tiveram pelo menos uma dosagem de 25(OH)D pré transplante hepático no período de janeiro de 2015 a novembro de 2020.

7.2 PACIENTES

Foram incluídos todos os pacientes com idade menor ou igual a 18 anos, de ambos os sexos, em acompanhamento ambulatorial ou hospitalar na Unidade de Gastroenterologia e Hepatologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, portadores de doença hepática crônica, definida a partir de critérios bioquímicos, ultrassonográficos, endoscópicos e/ou histológicos (apêndice A), não transplantados, e que tiveram pelo menos uma dosagem de 25(OH)D entre janeiro de 2015 e novembro de 2020.

Foram excluídos pacientes em uso de dieta vegetariana, com diagnóstico de obesidade, em uso crônico de anticonvulsivantes, antifúngicos ou corticosteroides sistêmicos, com diagnóstico de doença óssea metabólica primária, doença renal primária, doença endocrinológica primária, má absorção intestinal ou pacientes que estivessem em uso de vitamina D na dose terapêutica sugerida no momento da primeira coleta de 25(OH)D.

7.3 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Todos os pacientes elegíveis, tiveram suas características demográficas, clínicas, laboratoriais e nutricionais avaliadas no momento da coleta da primeira dosagem de 25(OH)D (antes do início do tratamento) conforme descrito abaixo:

- a) demográficas: sexo, etnia autodeclarada, procedência, idade em anos;
- b) clínicas: diagnóstico da doença hepática, gravidade da doença hepática estimada pelos escores Child-Pugh, PELD e MELD (apêndice B, C e D), uso profilático de vitamina D e de ácido ursodesoxicólico e suas respectivas doses;
- c) laboratoriais: INR, albumina, bilirrubinas, gama glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina total (FA), PTH, cálcio, fósforo e magnésio. As unidades e os valores de referência utilizados estão descritos no apêndice E. Os valores de cálcio sérico foram corrigidos para os valores de albumina. Todos os exames laboratoriais foram coletados no laboratório de patologia clínica do HCPA;
- d) nutricionais: peso, comprimento/estatura, índice de massa corporal (IMC) e seus respectivos escores Z para idade. Para definição de obesidade, foi utilizado o critério da Organização Mundial da Saúde (OMS) de escore Z de IMC para idade: escore $Z \geq +3$ para crianças de zero a cinco anos e escore $Z \geq +2$ para crianças de 5 a 18 anos. Para definição de desnutrição, foi utilizado o critério usado para cálculo do escore PELD: escore Z de estatura para idade ≤ -2 ou de peso para idade ≤ -2 conforme apropriado.

Todos os exames laboratoriais e as características clínicas avaliadas neste estudo faziam parte da rotina de seguimento dos pacientes incluídos. Os dados foram coletados dos registros em prontuário eletrônico e foram utilizados para criação de banco de dados específico para este estudo.

7.4 AVALIAÇÃO DO *STATUS* DE 25(OH)D

Todos os pacientes tiveram a dosagem de 25(OH)D realizada no Laboratório de Patologia Clínica do HCPA. A dosagem da concentração sérica de 25(OH)D neste laboratório é realizada através de um teste baseado na quimioluminescência (Abbott®, distribuição brasileira em São Paulo – SP). Este mesmo teste é utilizado desde 15 de janeiro de 2018. Antes deste período utilizava-se um teste da Diasorin®, o qual também era baseado na técnica da quimioluminescência.

Todos os valores foram expressos em ng/mL. Foram considerados deficientes os pacientes com dosagem de 25(OH)D abaixo de 20ng/mL (ANTONUCCI *et al.*, 2018; GROSSMAN *et al.*, 2017; HOLICK *et al.*, 2011; MALHAM *et al.*, 2011; MUNNS *et al.*, 2016; SAGGESE *et al.*, 2015).

7.5 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO

Naqueles pacientes com diagnóstico de hipovitaminose D na primeira dosagem de 25(OH)D, que realizaram tratamento com dose diária de 6000UI/dia de colecalciferol, foram avaliados dados laboratoriais após período mínimo de 60 dias de tratamento (valor sérico de 25(OH)D, PTH, FA, cálcio, fósforo e magnésio) e comparados com os mesmos dados obtidos pré tratamento. Os pacientes que foram a transplante, evoluíram a óbito, perderam o seguimento

ou que coletaram nova dosagem de 25(OH)D antes de 60 dias do início do tratamento com a dose proposta foram excluídos da segunda análise.

Foi realizada análise comparativa entre o grupo que apresentou resposta ao tratamento, considerada como normalização da concentração sérica de 25(OH)D ($\geq 20\text{ng/mL}$), com o grupo que não apresentou. Comparam-se as seguintes variáveis: sexo, idade, *status* nutricional, escores Child-Pugh, PELD ou MELD, duração do tratamento, valores de PTH, bilirrubina total, FA, GGT, INR, albumina, cálcio, fósforo e magnésio.

7.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram armazenados no programa Excel, da Microsoft. As tabelas também foram realizadas no programa Excel. Os cálculos estatísticos e a elaboração dos gráficos foram realizados pelo programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*), versão 20.0.

As variáveis categóricas foram descritas por frequência simples e porcentagem e analisadas através do teste qui quadrado de Pearson, corrigido pelo exato de Fisher quando apropriado. As variáveis numéricas foram descritas por média e desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) conforme apropriado. Foi aplicado teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade dos dados.

Para análise das variáveis numéricas com distribuição normal, foi utilizado o teste T de Student e para aquelas com distribuição assimétrica, foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

Valores de P menores que 0,05 (nível de significância de 95%) foram considerados estatisticamente significativos em todas as análises.

7.7 ASPECTOS ÉTICOS

A identificação dos pacientes foi protegida por meio de códigos e, para a consulta dos prontuários eletrônicos, foi utilizado o Termo de Compromisso para Utilização de Dados (TCUD) padronizado pela instituição (apêndice F). O projeto foi submetido à avaliação pela Comissão de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e aprovado sob o número 2019-0433 e aprovado pela Plataforma Brasil sob o número 20290719.7.0000.5327.

8 CONCLUSÕES

- a) A prevalência de deficiência de vitamina D nos pacientes pediátricos com doença hepática crônica é elevada e está relacionada com a gravidade da doença hepática e com valores de bilirrubina total acima de 2mg/dL;
- b) O uso terapêutico de 6.000 UI por dia de colecalciferol por via oral aumentou o valor sérico de 25(OH)D e reduziu de forma significativa o valor sérico de PTH, apesar de estar associado a uma baixa taxa de normalização da concentração sérica de 25(OH)D;
- c) A resolução da hipovitaminose D esteve relacionada com a melhora dos níveis de bilirrubina total.

9 REFERÊNCIAS

- ALVES, C. DE A. D. *et al.* Hipovitaminose D em pediatria: recomendações para o diagnóstico, tratamento e prevenção. **Sociedade Brasileira de Pediatria**, p. 1–11, 2016.
- ANTONUCCI, R. *et al.* Vitamin D deficiency in childhood: Old lessons and current challenges. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v. 31, n. 3, p. 247–260, 2018.
- BASTOS, M. D.; DA SILVEIRA, T. R. Blood levels of vitamin D in children and adolescents with chronic cholestasis. **Jornal de Pediatria**, v. 79, n. 3, p. 245–252, 2003.
- BENTLEY, J. The role of vitamin D in infants, children and young people. **Nursing children and young people**, v. 27, n. 1, p. 28–36, 2015.
- BJELAKOVIC, G. *et al.* Vitamin D supplementation for chronic liver diseases in adults. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2017, n. 11, 2017.
- BOUILLON, R. *et al.* **Skeletal and Extraskkeletal Actions of Vitamin D: Current Evidence and Outstanding Questions**. [s.l: s.n.]. v. 40.
- BRAEGGER, C. *et al.* Vitamin d in the healthy European paediatric population. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 56, n. 6, p. 692–701, 2013.
- CHINNARATHA, M. A. *et al.* Prevalence of hepatic osteodystrophy and vitamin D deficiency in cirrhosis. **Internal Medicine Journal**, v. 45, n. 12, p. 1230–1235, 2015.
- COLLIER, J. D.; NINKOVIC, M.; COMPSTON, J. E. Guidelines on the management of osteoporosis associated with chronic liver disease. **Gut**, v. 50, n. SUPPL. 1, p. 1–9, 2002.
- CORDOVA, J.; JERICHO, H.; AZZAM, R. K. An overview of cirrhosis in children. **Pediatric Annals**, v. 45, n. 12, p. e427–e432, 2016.
- DE BRUYNE, R. *et al.* Clinical practice: Neonatal cholestasis. **European Journal of Pediatrics**, v. 170, n. 3, p. 279–284, 2011.
- DELLA CORTE, C. *et al.* Pediatric liver diseases: Current challenges and future perspectives. **Expert Review of Gastroenterology and Hepatology**, v. 10, n. 2, p. 255–265, 2016.
- DONG, R. *et al.* Fat-Soluble Vitamin Deficiency in Pediatric Patients with Biliary Atresia. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2017, 2017.
- EHNERT, S. *et al.* Hepatic Osteodystrophy-Molecular Mechanisms Proposed to Favor Its Development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 10, 2019.
- FELDMAN, A. G.; SOKOL, R. J. Neonatal cholestasis. **NeoReviews**, v. 14, n. 2, 2013.

FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ, N. *et al.* Vitamin D deficiency in chronic liver disease, clinical-epidemiological analysis and report after vitamin d supplementation. **Gastroenterología y Hepatología (English Edition)**, v. 39, n. 5, p. 305–310, 2016.

GOLDEN, N. H. *et al.* Optimizing bone health in children and adolescents. **Pediatrics**, v. 134, n. 4, p. e1229–e1243, 2014.

GROSSMAN, Z. *et al.* Vitamin D in European children—statement from the European Academy of Paediatrics (EAP). **European Journal of Pediatrics**, v. 176, n. 6, p. 829–831, 2017.

HÖGLER, W.; BAUMANN, U.; KELLY, D. Endocrine and bone metabolic complications in chronic liver disease and after liver transplantation in children. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 54, n. 3, p. 313–321, 2012.

HOLICK, M. F. *et al.* Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 96, n. 7, p. 1911–1930, 2011.

HOURIGAN, S. K. *et al.* Relation between vitamin D status and nonalcoholic fatty liver disease in children. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 60, n. 3, p. 396–404, 2015.

IRUZUBIETA, P. *et al.* Vitamin D deficiency in chronic liver disease. **World Journal of Hepatology**, v. 6, n. 12, p. 901–915, 2014.

JAMIL, Z. *et al.* Vitamin D Deficiency and Its Relationship with Child-Pugh Class in Patients with Chronic Liver Disease. **Journal of Clinical and Translational Hepatology**, v. 6, n. 2, p. 1–6, 2018.

JENSEN, M. *et al.* Difficulty achieving Vitamin D sufficiency with high-dose oral repletion therapy in infants with cholestasis. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 61, n. 2, p. 187–189, 2015.

KHAN, M. A. *et al.* Impact of Vitamin D Status in Chronic Liver Disease. **Journal of Clinical and Experimental Hepatology**, v. 9, n. 5, p. 574–580, 2019.

KONSTANTAKIS, C. *et al.* Vitamin D deficiency in patients with liver cirrhosis. **Annals of Gastroenterology**, v. 29, n. 3, p. 297–306, 2016.

LAL, B. B. *et al.* Weekly regimen of vitamin D supplementation is more efficacious than stoss regimen for treatment of vitamin D deficiency in children with chronic liver diseases. **European Journal of Pediatrics**, v. 177, n. 6, p. 827–834, 2018.

LEE, W. S. *et al.* Vitamin D non-sufficiency is prevalent in children with chronic liver disease in a tropical country. **Pediatrics and Neonatology**, v. 60, n. 1, p. 12–18, 2019.

LIM, L. Y.; CHALASANI, N. Vitamin D deficiency in patients with chronic liver disease and cirrhosis. **Current Gastroenterology Reports**, v. 14, n. 1, p. 67–73, 2012.

MALHAM, M. *et al.* Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than aetiology. **World Journal of Gastroenterology**, v. 17, n. 7, p. 922–925, 2011.

- MISRA, M. *et al.* Vitamin D deficiency in children and its management: Review of current knowledge and recommendations. **Pediatrics**, v. 122, n. 2, p. 398–417, 2008.
- MOHAMMADI, B. *et al.* Prevalence of Vitamin D deficiency and rickets in children with cholestasis in Iran. **Acta Medica Iranica**, v. 50, n. 7, p. 482–485, 2012.
- MUNNS, C. F. *et al.* **Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets**. v. 101, n. February, p. 394–415, 2016.
- PILZ, S. *et al.* Vitamin D testing and treatment: A narrative review of current evidence. **Endocrine Connections**, v. 8, n. 2, p. R27–R43, 2019.
- REID, I. R. What diseases are causally linked to Vitamin D deficiency? **Archives of Disease in Childhood**, v. 101, n. 2, p. 185–189, 2016.
- SAGGESE, G. *et al.* Vitamin D in childhood and adolescence: an expert position statement. **European Journal of Pediatrics**, 2015.
- SAMRA, N. M. *et al.* Evaluation of vitamin D status bone mineral density and dental health in children with cholestasis. **Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology**, v. 42, n. 4, p. 368–377, 2018.
- SHEN, Y. M. *et al.* Oral absorbable fat-soluble vitamin formulation in pediatric patients with cholestasis. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 55, n. 5, p. 587–591, 2012.
- SHNEIDER, B. L. *et al.* Efficacy of fat-soluble vitamin supplementation in infants with biliary atresia. **Pediatrics**, v. 130, n. 3, 2012.
- STOKES, C. S. *et al.* Vitamin D in chronic liver disease. **Liver International**, v. 33, n. 3, p. 338–352, 2013.
- SULTAN, M. I.; LEON, C. D. G.; BIANK, V. F. Role of nutrition in pediatric chronic liver disease. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 26, n. 4, p. 401–408, 2011.
- TAVEIRA, A. T. A. *et al.* Longitudinal evaluation of hepatic osteodystrophy in children and adolescents with chronic cholestatic liver disease. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 43, n. 11, p. 1127–1134, 2010.
- TSOUKA, A.; MCLIN, V. A. Complications of chronic liver disease. **Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology**, v. 36, n. 3, p. 262–267, 2012.
- VENKAT, V. L. *et al.* Total serum bilirubin predicts fat-soluble vitamin deficiency better than serum bile acids in infants with biliary atresia. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 59, n. 6, p. 702–707, 2014.
- VERALDI, S. *et al.* Fat soluble vitamins deficiency in pediatric chronic liver disease: The impact of liver transplantation. **Digestive and Liver Disease**, 2019.
- VIERUCCI, F. *et al.* Vitamin D status and predictors of hypovitaminosis D in Italian children and adolescents: A cross-sectional study. **European Journal of Pediatrics**, v. 172, n. 12, p. 1607–1617, 2013.

WAGNER, C. L.; GREER, F. R. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. **Pediatrics**, v. 122, n. 5, p. 1142–1152, 2008.

YANG, C. H. *et al.* Nutritional needs and support for children with chronic liver disease. **Nutrients**, v. 9, n. 10, p. 1–16, 2017.

YODOSHI, T. *et al.* Vitamin D deficiency: prevalence and association with liver disease severity in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, n. 3, p. 427–435, 2020.

10 ARTIGO ORIGINAL**Does treatment with 6,000 IU of cholecalciferol restore vitamin D deficiency in children with chronic liver disease?**

Carolina Roos Mariano da Rocha, MD¹; Guilherme Guaragna Filho, MD, PhD^{2,3}; Carlos Oscar Kieling, MD, PhD⁴; Marina Rossato Adami, MD, MsC⁴; Renata Rostirola Guedes, MD, MsC⁴; Sandra Maria Gonçalves Vieira, MD, PhD^{1,3,4}.

1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Post Graduate Program in Children and Adolescent Health.

2 Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Pediatric Endocrinology Unit.

3 Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Medical School. Pediatrics Department.

4 Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Pediatric Gastroenterology and Hepatology Unit. Pediatric Liver Transplantation Program.

Abstract

Objective: To evaluate the response to treatment with 6,000 IU of oral cholecalciferol (OC) in children with chronic liver disease (CLD) and 25(OH)D deficiency. **Methods:** This historical cohort included non-transplanted CLD patients aged younger than 18 years old, which were analyzed for serum 25(OH)D, liver function and bone metabolism tests, Child-Pugh classification and anthropometry Z scores/age. Vitamin D deficiency was defined as 25(OH)D < 20 ng/mL. Patients with 25(OH)D deficiency who received 6,000 IU/day of OC were analyzed pre- and post-intervention. Responders were patients with 25(OH)D \geq 20 ng/mL after at least 60 days of intervention. We compared clinical and laboratory data from patients with and without 25(OH)D deficiency, responders and non-responders. **Results:** We studied 96 patients, of which 57.2% had biliary atresia, and 64.6% were eutrophic. The prevalence of 25(OH)D deficiency was 67.7% (65/96). These patients were younger ($p < 0.001$), had higher Child-Pugh scores ($p < 0.001$), and higher levels of total bilirubin ($p < 0.001$), gamma-glutamyl transferase ($p < 0.001$) and alkaline phosphatase ($p = 0.002$), as well as lower levels of phosphorus ($p = 0.009$) compared with patients without 25(OH)D deficiency. The median treatment length was 126 days (70-307 days). At the end of treatment, we observed a higher median of 25(OH)D ($p < 0.001$), and lower median of parathyroid hormone (PTH) ($p = 0.023$). Levels of calcium, phosphorus and magnesium were unaltered. Nine patients (29%) restored the 25(OH)D to normal range. These patients had lower Child-Pugh score ($p = 0.001$), lower level of total bilirubin ($p = 0.001$) and higher level of phosphorus ($p = 0.003$) after treatment. **Conclusion:** Despite an increase of 25(OH)D and decrease of PTH, 6,000 IU/day of oral cholecalciferol was not sufficient to restore 25(OH)D deficiency in most of the patients studied.

What is known:

- Vitamin D deficiency is prevalent in patients with chronic liver disease and is linked to the development of metabolic bone disease.
- Vitamin D deficiency is associated with the severity of liver disease.
- Total bilirubin levels higher than 2 mg/dL are associated with fat-soluble deficiency in pediatric patients with chronic liver disease.

What is new:

- Treatment of vitamin D deficiency in children with chronic liver disease with 6,000 IU of oral cholecalciferol reduces levels of parathyroid hormone and enhances serum vitamin D levels, but response rate to treatment is low.

Introduction

Pediatric chronic liver diseases (CLD) are complex and multifactorial, mainly associated with cholestatic disorders and metabolic liver disease¹⁻³. For patients with end-stage liver disease, nutritional and metabolic complications, including fat-soluble vitamins deficiency are reported^{1,2,4}. Malnutrition, malabsorption, impairment of vitamin activation or inadequate carrier synthesis are mechanisms implicated in the pathogenesis of these vitamin deficiencies¹.

Vitamin D has a role in bone homeostasis and is associated with several clinical conditions^{5,6}. The deficiency is mostly linked to bone metabolism imbalance, clinically expressed as pathological fractures, rickets, and growth failure, resulting in high morbidity and impaired quality of life⁵⁻⁹. In order to maintain normal bone homeostasis, hypovitaminosis D induces an increase in parathyroid hormone levels^{5,6,10}.

The studies addressing vitamin D status in children with CLD are scarce and heterogeneous in terms of the population enrolled and the values used as definition of normal vitamin D levels^{4,11-18}. Regardless, a high prevalence of deficiency has been reported for these patients. For supplementation, vitamin D can be administered as monotherapy or in combination with calcium, by enteral or parenteral routes, and as vitamin D₂, D₃ or vitamin D active forms¹⁹. How to supplement vitamin D in children with CLD is still an open question.

The goal of this study was to evaluate the response to 6,000 IU per day of oral cholecalciferol (vitamin D₃), for at least 60 days, in children with CLD and vitamin D deficiency. Data about the prevalence of low vitamin D concentrations and clinical features of patients with and without vitamin D deficiency are reported and discussed.

Methods

This was a cohort study with historical analysis of electronic medical records of non-transplanted patients with CLD, younger than 18 years old, both sexes, followed at Pediatric Gastroenterology and Hepatology Unit of Hospital de Clínicas de Porto Alegre between January 2015 and November 2020. All patients had at least one dosage of 25(OH)D before receiving 6,000 IU of oral cholecalciferol.

The diagnosis of liver disease was based on either biochemical, ultrasonographic, endoscopic or histologic criteria.

A specific database pertaining to this research has been created as a subset of the cohort described above, excluding from analyses: missing data; patients on vegetarian diet; chronic use of systemic corticosteroids, anticonvulsants, and antifungals; previous use of the proposed therapeutic dose; and the concomitant diseases obesity, chronic renal failure, non-hepatic osteodystrophy, endocrinopathies, and primary malabsorption syndromes.

Demographic, clinical and nutritional evaluation

Demographic and clinical data such as age, race, gender and cause of liver disease were reviewed to characterize the study population. The severity of liver disease was estimated by Child-Pugh classification.

Nutritional evaluation was based on anthropometry and age-specific Z scores. Obesity was defined based on the World Health Organization (WHO) criteria: body mass index (BMI) Z score $\geq +3$ (for children younger than 5 years old) or $\geq +2$ (for children from 5 to 18 years old). Malnutrition was defined based on a Z score < -2 of height-for-age or weight-for-age as appropriate.

Liver function and bone metabolism evaluation

The following laboratory data were analyzed: total bilirubin (TB) and fractions, gamma-glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), International Normalized Ratio (INR), albumin, and bone metabolism markers (PTH, calcium, phosphorus and magnesium). Calcium levels were corrected based on albumin levels.

25(OH)D assessment

Serum 25(OH)D concentrations were assessed using a 25(OH)D chemiluminescent immunoassay (Diasorin®; Abbott®) and expressed in ng/mL. We used a cut-off equal to 20 ng/mL to define the 25(OH)D sufficiency status. Thus, patients with 25(OH)D < 20 ng/mL were classified as 25(OH)D deficient^{5,20-23}. Toxicity was defined as 25(OH)D concentrations > 100 ng/mL. Baseline clinical and laboratory features of patients with vitamin D deficiency were compared with the ones of the 25(OH)D sufficient patients.

We consider as responders all patients who reached 25(OH)D concentration > 20 ng/mL post-intervention. Responder and non-responder patients were compared regarding gender, age, nutritional status, Child-Pugh classification, treatment length, values of PTH, TB, ALP, GGT, INR, albumin, calcium, phosphorus, and magnesium.

All laboratory tests were performed at the Clinical Pathology Laboratory of our institution. For subsequent analyses, we compared the laboratory data pre-intervention [at the first 25(OH)D assessment] and post-intervention (treatment length > 60 days).

Statistical analysis

Data was stored and tables were generated using Microsoft Excel. Statistical calculations and graphs were made using the software SPSS (Statistical Package for Social Sciences), version 20.0. A significance level of 95% ($p < 0.05$) was used in all analyses.

Categorical variables were described by frequency and percentage, and analyzed by Pearson's chi-squared test, corrected by Fisher's exact test when necessary. For numeric variables, normality of data distribution was verified by Kolmogorov-Smirnov test. Variables with normal distribution were described as mean and standard deviation and analyzed by Student's t-test. When the distribution was asymmetric, the median and interquartile range (IQR) were used, and analysis was performed by Mann-Whitney U test

Ethics

The Ethics and Research Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre evaluated the protocol and approved it under number 2019-0433. The protocol followed the recommendations of the Declaration of Helsinki. Codes protected the identity of the patients. The authors signed a term of commitment, standardized by the institution, to access the medical records.

Results

One hundred and forty patients fulfilled the initial inclusion criteria. Forty-four were subsequently excluded from analysis. The main cause of exclusion was chronic kidney disease associated with congenital diseases (Figure 1). Ninety-six patients were eligible for the study.

Patient's age ranged from 29 days to 16 years old, median of 3.15 years old (IQR 0.4 – 8.67). Fifty-four patients (56%) were male and 85 (88.5%) were Caucasian. Biliary atresia (BA) was the most prevalent diagnosis (55/96), followed by Alagille Syndrome (8/96), cryptogenic cirrhosis (7/96), autoimmune hepatitis (5/96), alpha 1 antitrypsin deficiency (4/96), primary sclerosing cholangitis (4/96) and others. Eighteen out of the 55 patients with BA had not been submitted to Kasai procedure at baseline 25(OH)D dosage. Most of the patients were classified

as Child-Pugh A (39.6%) and B (36.5%). Regarding nutritional evaluation, 35.4% (34/96) of the patients were classified as undernourished.

The medians of baseline laboratory tests were TB 4.3 mg/dL (IQR 0.85 – 12.05), direct bilirubin (DB) 3.6 mg/dL (IQR 0.4 – 9.8), GGT 173 IU/L (IQR 55 – 493.5), ALP 489 IU/L (IQR 278.5 – 688.5), INR 1.19 (IQR 1.04 – 1.45), albumin 3.8 g/dL (IQR 3.2 – 4.4), PTH 40.6 pg/dL (IQR 30.4 – 59.9), calcium 9.6 mg/dL (IQR 9.3 – 9.9), phosphorus 4.5 mg/dL (IQR 3.8 – 5.0) and magnesium 2.05 mg/dL (IQR 1.9 – 2.2).

25(OH)D assessment and response to treatment

The baseline 25(OH)D levels ranged from 0.5 ng/mL to 59.9 ng/mL, with a median of 12 ng/mL (IQR 7.1 – 25.3). Sixty-five patients (67.7%) were classified as 25(OH)D deficient. The serum concentration of 25(OH)D in this group ranged from 0.5 ng/mL to 19.8 ng/mL [median 8.4 (IQR 5.9 – 12.4)]. For 55 patients with 25(OH)D deficiency, 6,000 IU of oral cholecalciferol per day was prescribed. Of the remaining ten patients that did not receive this treatment, three had no record in the chart to determine what dose was prescribed, six were given a dose between 1,000 and 2,000 IU per day which was kept the same, and one patient did not adhere to treatment.

Thirty-one patients completed a minimum of 60 days of treatment. Twenty patients withdrew from the study before 60 days: 16 were submitted to liver transplantation and four died. One patient lost follow up and three patients repeated the 25(OH)D dosage before 60 days. A complete flowchart of the study is presented in Figure 1. The total treatment length ranged from 70 to 307 days, with a median of 126 days.

Patients diagnosed with vitamin D deficiency were significantly younger than patients with 25(OH)D sufficiency ($p < 0.001$), had higher Child-Pugh scores ($p < 0.001$), higher median levels of TB, GGT and ALP ($p < 0.001$, $p < 0.001$ and $p = 0.002$, respectively). Total bilirubin

levels higher than 2 mg/dL were associated with vitamin D deficiency ($p=0.001$). The comparison between groups with and without deficiency is presented in Table 1.

Nine patients restored levels of 25(OH)D to 20 ng/mL or higher, resulting in a response to treatment rate of 29%. Two patients had post-treatment 25(OH)D serum concentration considered as toxic (107 ng/mL and 147.2 ng/mL), but none of them presented hypercalcemia or impaired kidney function.

The median serum concentration of 25(OH)D before and after treatment were 7.10 ng/mL and 14.80 ng/mL, respectively ($p<0.001$). Median levels of PTH were also significantly different before and after intervention: 50.8 pg/dL versus 35 pg/dL, respectively ($p=0.023$). There were no statistically significant differences between levels of calcium, phosphorus, magnesium and alkaline phosphatase before and after treatment.

The group that responded to treatment had significantly lower Child-Pugh scores ($p=0.001$), lower levels of TB post treatment ($p=0.001$) and higher levels of phosphorus ($p=0.003$). The group that did not respond to treatment had significantly more patients with TB values higher than 2 mg/mL by the time of the second 25(OH)D dosage ($p=0.001$) (Figure 2). The other analyzed variables showed no statistically significant difference between groups (Table 2).

Discussion

Analyzing a sample of pediatric patients diagnosed with chronic liver disease, cholestatic and no cholestatic, we found a high prevalence of vitamin D deficiency. It was associated with younger age, more severe liver disease and higher levels of total bilirubin, gamma-glutamyl transferase and alkaline phosphatase. Patients submitted to treatment with 6,000 IU per day of cholecalciferol had low response rate but achieved higher median levels of

25(OH)D and lower levels of PTH at the end of the treatment. Those who responded to treatment had less severe liver disease and lower levels of bilirubin.

Data about vitamin D deficiency prevalence in pediatric patients with chronic liver disease is scarce and the results are not uniform, varying from values around 15% of prevalence until values around 90%^{4,12,15,17,24,25}. Variability among prevalence rates may occur because of the differences in the cutoff points used to define vitamin D deficiency and the diversified studied populations^{12,24-27}. Most part of the studies evaluate hypovitaminosis D only in cholestatic patients or in patients with an unique etiology for liver disease, as biliary atresia, for example^{4,12,13,24,25}. In our study, we observed a prevalence of approximately 68%, higher than most part of the literature. *Lee et al* studied patients with chronic liver disease of diversified etiologies and described a prevalence of 14% of vitamin D deficiency, defined as 25(OH)D lower than 12 ng/mL¹⁵. The cutoff point used in our study to define vitamin D deficiency, 20 ng/mL, may be associated with the high prevalence of vitamin D deficiency found. Nowadays, this is the minimum recommended level to maintain a normal bone metabolism^{5,6,21,22}. The sample used in this study was heterogenous, including cholestatic and no cholestatic patients, but also representative of the daily practice of pediatric hepatology services.

Previously, it was thought that only patients with chronic cholestasis presented with vitamin D deficiency¹⁷. Nowadays, it is known that vitamin D deficiency is more related with the severity of liver disease instead of its etiology^{17,18}. Vitamin D deficiency in chronic liver disease occurs because of fat malabsorption secondary to reduced bile flow, impaired hepatic hydroxylation, reduced protein synthesis, including vitamin D carriers: albumin and vitamin D binding protein^{17,21-24,28-30}. Also, these patients evolve with anorexia, jaundice, reduced sun exposure and hospital admissions, impairing even more vitamin D production and metabolism^{8,28,29}. Thus, the more advanced liver disease, more exacerbated are the mechanisms for vitamin D deficiency in these patients. In our study, total bilirubin levels higher than 2

mg/dL, higher levels of GGT and alkaline phosphatase and higher PELD/MELD and Child-Pugh scores were associated with vitamin D deficiency. These results show the role of the liver in maintaining the serum levels of 25(OH)D, as previously demonstrated^{17,18,27}. The total bilirubin level, in addition to reflecting liver function, is an indirect measure of the estimated degree of bile flow obstruction^{31,32}.

Not all of the patients were receiving prophylactic vitamin D in the moment of the first 25(OH)D dosage. However, when compared the median dose of those patients receiving the prophylaxis, there was no difference between groups with and without vitamin D deficiency. We observed that alkaline phosphatase levels were significantly higher in patients diagnosed with vitamin D deficiency. Meanwhile, there was significant difference in ages between groups, what can affect alkaline phosphatase levels. Besides, most part of the included patients did not have the alkaline phosphatase bone and liver fractions dosed separately, which difficult its interpretation as a marker of bone versus liver disease.

Vitamin D deficiency is associated with impaired bone health, especially among pediatric patients who are in full growth phase^{5,6,33}. In liver disease context, it can develop a complication known as hepatic osteodystrophy: metabolic bone disease specifically associated with liver disease, that can induce bone mass loss, pathologic fractures, rickets and growth failure^{7,24,29}. Thus, it is extremely important to optimize vitamin D status in chronic liver disease before liver transplantation in order to minimize short and long term consequences, as long as the bone mass lost in immediate post-transplant period can worsen a previous bone disease^{1,3,7,8}. Despite the importance of this comorbidity, there is still no consensus about the best treatment for pediatric patients. *Jensen et al* described four cases of cholestatic infants younger than 3 months old with vitamin D deficiency who were submitted to treatment with oral cholecalciferol 300,000 IU in 2 to 3 days followed by maintenance dose: none of the patients reestablished vitamin D normal status²⁰. *Lal et al* described the efficacy of treatment of vitamin

D deficiency in pediatric patients with non-cholestatic liver diseases with weekly dose of 60,000 IU of oral cholecalciferol and with an only dose of 600,000 IU followed by maintenance dose of 600 IU, being the first alternative more effective³⁴.

In the present study, with a therapeutic dose of 6,000 IU of cholecalciferol for a minimum of 60 days, median values of 25(OH)D were significantly higher by the end of the treatment, but only 29% of the patients achieved normal serum levels of vitamin D. Interestingly, the median value of PTH by the end of the treatment was significantly lower. It suggests that this treatment may have an impact on the maintenance of a normal bone metabolism^{5,6}.

When compared the group that responded to treatment with the non-responder group, the most important difference between groups was the total bilirubin level in the moment of the second 25(OH)D dosage (figure 2). This result shows that, besides the optimized treatment of vitamin D deficiency in these patients, the most important factor related to the normalization of 25(OH)D is the restored bile flow or liver function, evidenced by reduction in bilirubin levels. This data is in accordance with that previously described in studies that compared 25(OH)D levels before and after Kasai surgery^{26,27}. There was no significant difference of the duration of treatment and age of the patients that responded to treatment when compared to the ones that did not respond, not being these factors related to the response to the treatment. The fat-soluble vitamins malabsorption seems to be a key point in the management of these children. Perhaps, pediatric patients with chronic liver disease, especially those with total bilirubin levels higher than 2 mg/dL, need an alternative formulation, as calcitriol, or a different route of administration, as parenteral, for the treatment of vitamin D deficiency.

Despite the difficulty achieving normal concentrations of 25(OH)D in patients that maintain cholestasis overtime, we need to be aware of those that restore normal bile flow and liver function. These tend to rapidly normalize vitamin D serum levels. In our study, two

patients presented 25(OH)D levels higher than 100 ng/mL after treatment: both were diagnosed with biliary atresia and had total bilirubin level higher than 6 mg/dL in the beginning of treatment and lower than 0.5 mg/dL at the end. They were submitted to Kasai procedure during treatment. None of them presented signs of toxicity of vitamin D overload. As soon as the bilirubin level normalizes, it should be reevaluated 25(OH)D levels to avoid adverse reactions relates to toxic levels of vitamin D, as hypercalcemia and loss of kidney function.

We can cite some limitations of the study: retrospective analysis limiting same data collection, not evaluation of the season of 25(OH)D dosage which could influence its levels and the small sample size, inherent to a single center study about rare diseases. We used rigorous exclusion criteria, which resulted in a considered number of excluded patients, but also, controlled possible confusion factors related to 25(OH)D serum levels.

This study is one of the rare that evaluate the response to the treatment of vitamin D deficiency in a group of pediatric patients with chronic liver disease. For a better assistance of this comorbidity in this group of patients, standardized guidelines are needed based in more studies and in more propagation of the importance of vitamin D deficiency diagnosis, its complications and its treatment²⁵.

Table 1 – Comparison between groups with and without vitamin D deficiency.

| | | 25(OH)D < 20ng/mL | 25(OH)D ≥ 20ng/mL | |
|--|--------|--------------------|--------------------|--------------|
| | | N = 65 | N = 31 | p |
| Sex ¹ | Male | 36 (66.7) | 18 (33.3) | 0.830 |
| | Female | 29 (69) | 13 (31) | |
| Age (years)² | | 0.89 (0.31-6.81) | 6.58 (3.21-11.43) | 0.001 |
| Z Score W/A³ | | -0.94 ±1.39 | -0.99±1.51 | 0.908 |
| Z Score H/A³ | | -1.25±1.79 | -1.28±1.57 | 0.630 |
| Prophylactic vitamin D¹ | Yes | 39 (70.9) | 16 (29.1) | 0.510 |
| | No | 26 (63.4) | 15 (36.6) | |
| Vitamin D dose (IU/day)² | | 1000 (1000-1200) | 1000 (800-1237) | 0.313 |
| Ursodeoxycholic acid¹ | Yes | 30 (61.2) | 19 (38.8) | 0.194 |
| | No | 35 (74.5) | 12 (25.5) | |
| PELD/MELD² | | 0 (0-4) | 0 (-3-0) | 0.002 |
| Child-Pugh Class¹ | A | 11 (28.8) | 27 (72.1) | 0.001 |
| | B | 32 (91.4) | 3 (8.6) | |
| | C | 22 (95.7) | 1 (3.3) | |
| TB (mg/dL)² | | 9.30 (4.20-14.30) | 0.50 (0.35-1.25) | 0.001 |
| Albumin (g/dl)³ | | 3.54±0.75 | 4.19±0.57 | 0.001 |
| INR² | | 1.23 (1.06 – 1.56) | 1.12 (1.02 – 1.33) | 0.057 |
| GGT (U/L)² | | 222 (135-744) | 58 (29-161) | 0.001 |
| Alk Phos (U/L)² | | 537 (397-771) | 291 (200.5-552) | 0.002 |
| PTH (pg/dL) ² | | 41 (30.15-71.4) | 39.5 (33.1-47.9) | 0.315 |
| Calcium (mg/dL)³ | | 9.63±0.53 | 9.55±0.37 | 0.428 |
| Phosphorus (mg/dL)³ | | 4.21±1.13 | 4.69±0.58 | 0.009 |
| Magnesium (mg/dL)³ | | 2.05±0.27 | 2.03±0.13 | 0.648 |

¹Frequency (%); ²Median (interquartile range); ³Mean ±standard deviation

Legend: 25(OH)D: 25-hydroxy-vitamin D; W/A: weight for age; H/A: height for age; PELD (Pediatric End Stage Liver Disease); MELD (Model for End Stage Liver Disease); TB: total bilirubin; INR: International Normalized Ratio; GGT: gamma glutamyl transferase; Alk Phos: alkaline phosphatase; PTH: parathyroid hormone.

Figure 1 – Study flowchart.

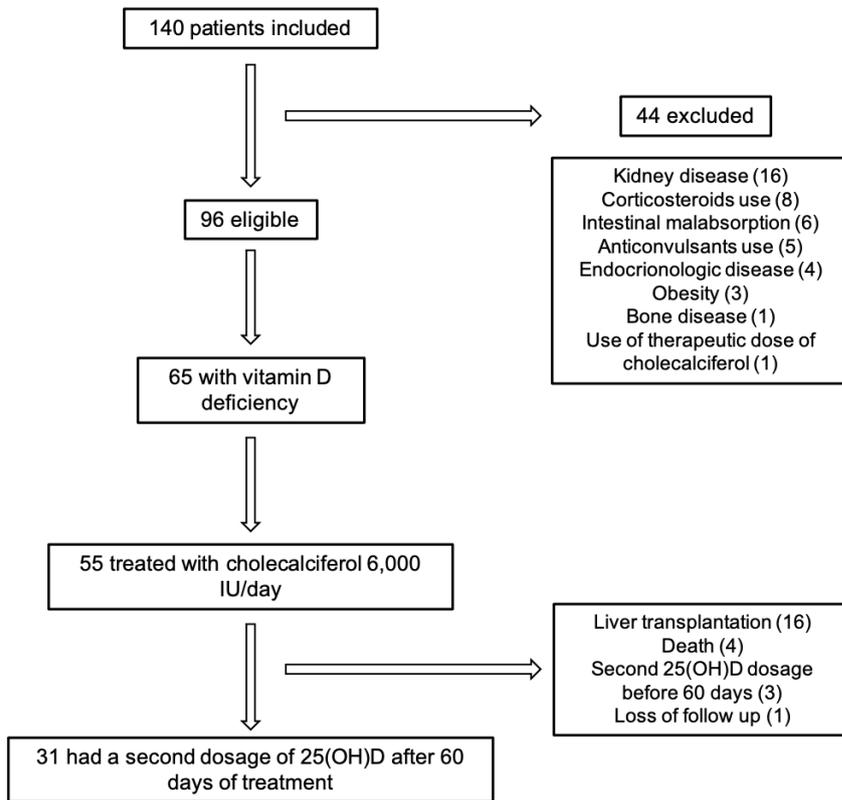


Table 2 – Comparison of clinical and laboratory features of the group that responded to treatment with cholecalciferol 6,000 IU/day and the non-responder group.

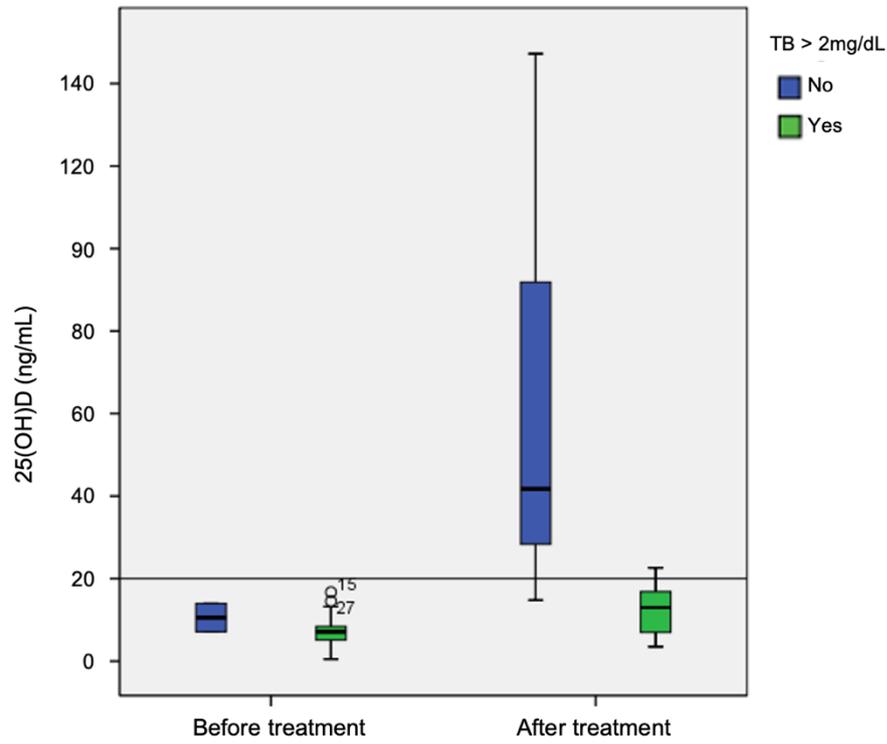
| | | Response to treatment | | p |
|-------------------------------------|--------|-----------------------|-------------------|--------------|
| | | Negative = 22 | Positive = 9 | |
| Sex ¹ | Female | 7 (58.3) | 5 (41.6) | 0.253 |
| | Male | 15 (78.9) | 4 (21) | |
| Age (years) ² | | 0.86 (0.24-3.8) | 0.34 (0.21-0.89) | 0.396 |
| Malnutrition ¹ | Yes | 9 (64.3) | 5 (35.7) | 0.693 |
| | No | 13 (76.5) | 4 (23.5) | |
| TB-1 >2mg/dL ¹ | No | 1 (0.5) | 1 (0.5) | 0.503 |
| | Yes | 21 (72.4) | 8 (27.6) | |
| TB-2 >2mg/dL ¹ | No | 1 (12.5) | 7 (87.5) | 0.001 |
| | Yes | 21 (91.3) | 2 (8.7) | |
| Duration of treatment ^{*2} | | 148 (101-210) | 123 (89-129) | 0.215 |
| Child-Pugh Class ¹ | A | 1 (14.3) | 6 (85.7) | 0.001 |
| | B | 14 (82.4) | 3 (17.6) | |
| | C | 7 (1) | 0 (0) | |
| PELD/MELD ² | | 5 (1.5-11.0) | -5 (-10.5-2.5) | 0.202 |
| PTH (pg/dL)** ² | | 31.8 (20.2-52.8) | 40.3 (20.5-42.4) | 0.956 |
| Alk Phos (U/L)** ² | | 631.5 (542.2-857) | 373 (314.5-802.5) | 0.103 |
| GGT (U/L)** ² | | 357.5 (136-697) | 303 (168-465) | 0.761 |
| TB-2 (mg/dL)** ² | | 9.15 (3.77-17.02) | 0.9 (0.40-2.15) | 0.001 |
| INR** ² | | 1.24 (1.12-1.46) | 1.10 (1.06-1.17) | 0.061 |
| Albumin (g/dl)** ² | | 3.05 (2.70-4.10) | 4.10 (3.60-4.30) | 0.097 |
| Calcium (mg/dL)** ³ | | 9.7 ± 0.46 | 9.92 ± 0.56 | 0.323 |
| Phosphorus (mg/dL)** ³ | | 4.1 ± 0.99 | 5.48 ± 0.97 | 0.003 |
| Magnesium (mg/dL)** ³ | | 2.02 ± 0.24 | 2.14 ± 0.23 | 0.245 |

TB-1: total bilirubin in the moment of the first 25(OH)D dosage; TB-2: total bilirubin in the moment of the second 25(OH)D dosage; PTH: parathyroid hormone; Alk Phos: alkaline phosphatase; GGT: gamma-glutamyl transferase; INR: international normalized ratio.

* Time between the beginning of treatment with 6,000 IU/day of cholecalciferol and the second 25(OH)D dosage; ** laboratory variables at the time of the second 25(OH)D dosage.

¹Frequency (%); ²Median (interquartile range); ³Mean ± standard deviation

Figure 2 – Analysis of total bilirubin and 25(OH)D levels before and after treatment with 6,000 IU/day of cholecalciferol.



Legend: 25(OH)D: 25-hydroxy-vitamin D; TB: total bilirubin.

References

1. Cordova J, Jericho H, Azzam RK. An overview of cirrhosis in children. *Pediatr Ann.* 2016;45(12):e427–32.
2. Della Corte C, Mosca A, Vania A, Alterio A, Alisi A, Nobili V. Pediatric liver diseases: Current challenges and future perspectives. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;10(2):255–65.
3. Sultan MI, Leon CDG, Biank VF. Role of nutrition in pediatric chronic liver disease. *Nutr Clin Pract.* 2011;26(4):401–8.
4. Veraldi S, Pietrobattista A, Liccardo D, Basso MS, Mosca A, Alterio T, et al. Fat soluble vitamins deficiency in pediatric chronic liver disease: The impact of liver transplantation. *Dig Liver Dis* [Internet]. 2019; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.dld.2019.10.005>
5. Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M. Vitamin D deficiency in children and its management: Review of current knowledge and recommendations. *Pediatrics.* 2008;122(2):398–417.
6. Antonucci R, Locci C, Clemente MG, Chicconi E, Antonucci L. Vitamin D deficiency in childhood: Old lessons and current challenges. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2018;31(3):247–60.
7. Wagner CL, Greer FR. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics.* 2008;122(5):1142–52.
8. Yang CH, Perumpail BJ, Yoo ER, Ahmed A, Kerner JA. Nutritional needs and support for children with chronic liver disease. *Nutrients.* 2017;9(10):1–16.
9. Högler W, Baumann U, Kelly D. Endocrine and bone metabolic complications in chronic liver disease and after liver transplantation in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54(3):313–21.
10. Tsouka A, McLin VA. Complications of chronic liver disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* [Internet]. 2012;36(3):262–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinre.2012.03.015>
11. Mohammadi B, Najafi M, Farahmand F, Motamed F, Ghajarzadeh M, Mohammadi J, et al. Prevalence of Vitamin D deficiency and rickets in children with cholestasis in Iran. *Acta Med Iran.* 2012;50(7):482–5.
12. Bastos MD, Da Silveira TR. Blood levels of vitamin D in children and adolescents with chronic cholestasis. *J Pediatr (Rio J).* 2003;79(3):245–52.

13. Dong R, Sun S, Liu XZ, Shen Z, Chen G, Zheng S. Fat-Soluble Vitamin Deficiency in Pediatric Patients with Biliary Atresia. *Gastroenterol Res Pract*. 2017;2017.
14. Hourigan SK, Abrams S, Yates K, Pfeifer K, Torbenson M, Murray K, et al. Relation between vitamin D status and nonalcoholic fatty liver disease in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015;60(3):396–404.
15. Lee WS, Jalaludin MY, Wong SY, Ong SY, Foo HW, Ng RT. Vitamin D non-sufficiency is prevalent in children with chronic liver disease in a tropical country. *Pediatr Neonatol* [Internet]. 2019;60(1):12–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2018.03.011>
16. Samra NM, Emad El Abrak S, El Dash HH, El Said El Raziky M, El Sheikh MA. Evaluation of vitamin D status bone mineral density and dental health in children with cholestasis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* [Internet]. 2018;42(4):368–77. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2017.11.010>
17. Venkat VL, Shneider BL, Magee JC, Turmelle Y, Arnon R, Bezerra JA, et al. Total serum bilirubin predicts fat-soluble vitamin deficiency better than serum bile acids in infants with biliary atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;59(6):702–7.
18. Yodoshi T, Orkin S, Arce-Clachar AC, Bramlage K, Liu C, Fei L, et al. Vitamin D deficiency: prevalence and association with liver disease severity in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. 2020;74(3):427–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41430-019-0493-y>
19. Bjelakovic G, Nikolova D, Bjelakovic M, Gluud C. Vitamin D supplementation for chronic liver diseases in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;2017(11).
20. Jensen M, Abu-El-Haija M, Bishop W, Rahhal RM. Difficulty achieving Vitamin D sufficiency with high-dose oral repletion therapy in infants with cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015;61(2):187–9.
21. Grossman Z, Hadjipanayis A, Stiris T, del Torso S, Mercier JC, Valiulis A, et al. Vitamin D in European children—statement from the European Academy of Paediatrics (EAP). *Eur J Pediatr*. 2017;176(6):829–31.
22. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911–30.
23. Munns CF, Shaw N, Kiely M, Specker BL, Thacher TD, Ozono K, et al. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. 2016;101(February):394–415.

24. Chinnaratha MA, Chaudhary S, Doogue M, McCormick RJ, Woodman RJ, Wigg AJ. Prevalence of hepatic osteodystrophy and vitamin D deficiency in cirrhosis. *Intern Med J.* 2015;45(12):1230–5.
25. Shen YM, Wu JF, Hsu HY, Ni YH, Chang MH, Liu YW, et al. Oral absorbable fat-soluble vitamin formulation in pediatric patients with cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;55(5):587–91.
26. Dong Y, Pollock N, Stallmann-Jorgensen IS, Gutin B, Lan L, Chen TC, et al. Low 25-hydroxyvitamin D levels in adolescents: Race, season, adiposity, physical activity, and fitness. *Pediatrics.* 2010;125(6):1104–11.
27. Shneider BL, Magee JC, Bezerra JA, Haber B, Karpen SJ, Raghunathan T, et al. Efficacy of fat-soluble vitamin supplementation in infants with biliary atresia. *Pediatrics.* 2012;130(3).
28. Konstantakis C, Tselekouni P, Kalafateli M, Triantos C. Vitamin D deficiency in patients with liver cirrhosis. *Ann Gastroenterol.* 2016;29(3):297–306.
29. Stokes CS, Grünhage F, Baus C, Volmer DA, Wagenpfeil S, Riemenschneider M, et al. Vitamin D supplementation reduces depressive symptoms in patients with chronic liver disease. *Clin Nutr [Internet].* 2016;35(4):950–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2015.07.004>
30. Saggese G, Vierucci F, Boot AM, Czech-Kowalska J, Weber G, Camargo CA, et al. Vitamin D in childhood and adolescence: an expert position statement. 2015 p. 565–76.
31. Superina R, Magee JC, Brandt ML, Healey PJ, Tiao G, Ryckman F, et al. The anatomic pattern of biliary atresia identified at time of kasai hepatportoenterostomy and early postoperative clearance of jaundice are significant predictors of transplant-free survival. *Ann Surg.* 2011;254(4):577–85.
32. Shneider BL, Brown MB, Haber B, Whittington PF, Schwarz K, Squires R, et al. A multicenter study of the outcome of biliary atresia in the United States, 1997 to 2000. *J Pediatr.* 2006;148(4).
33. Alves C de AD, Cargnin KRN, Paula LCP de, Garcia LS, Collet-Solberg PF, Liberatore Jr RDR, et al. Hipovitaminose D em pediatria: recomendações para o diagnóstico, tratamento e prevenção. *Soc Bras Pediatr.* 2016;1–11.
34. Lal BB, Alam S, Khanna R, Rawat D. Weekly regimen of vitamin D supplementation is more efficacious than stoss regimen for treatment of vitamin D deficiency in children with chronic liver diseases. *Eur J Pediatr.* 2018;177(6):827–34.

11 CONSIDERAÇÕES FINAIS

APÊNDICE A - CRITÉRIOS PARA DEFINIÇÃO DE DOENÇA HEPÁTICA CRÔNICA NA INFÂNCIA

- | |
|--|
| 1. Critérios clínicos e ultrassonográficos: fígado endurecido com lobo esquerdo aumentado, esplenomegalia, ascite <i>shunt</i> cutâneos portossistêmicos, retardo do desenvolvimento; |
| 2. Critérios laboratoriais: aspartato aminotransferase persistentemente elevada, albumina sérica $\leq 3,5$ g/dl, tempo de protrombina maior que 15 segundos após vitamina K parenteral; |
| 3. Critérios histológicos: presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário confinado à tríade portal ou estendendo-se desta ao parênquima hepático subjacente e causando necrose celular; |
| 4. Critérios endoscópicos: presença de varizes e/ou gastropatia hipertensiva. |

Fonte: Mowat AP. Hepatitis and cholestasis in infancy: intrahepatic disorders. *In*: Mowat AP. Liver disorders in childhood. London: Butterworth; 1994. p. 43-78.

APÊNDICE B - Escore Child-Pugh

Utilizado para quantificar a gravidade e estimar o prognóstico da doença hepática crônica.

| Critérios clínicos e laboratoriais | Pontos | | |
|------------------------------------|---------|-----------------|-------------|
| | 1 | 2 | 3 |
| Encefalopatia | Ausente | Graus 1 e 2 | Graus 3 e 4 |
| Ascite | Ausente | Leve a moderada | Tensa |
| Bilirrubinas (mg/dL) | < 2 | 2 - 3 | > 3 |
| Albumina (g/dL) | > 3,5 | 2,8 - 3,5 | < 2,8 |
| Tempo de protrombina (INR) | < 1,7 | 1,7 - 2,0 | > 2,0 |

Classes de Child-Pugh conforme os escores (soma dos pontos de cada item):

| Pontos | Classe | Sobrevida em 1 ano | Sobrevida em 2 anos |
|--------|--------|--------------------|---------------------|
| 5 - 6 | A | 100% | 85% |
| 7 - 9 | B | 81% | 57% |
| 10-15 | C | 45% | 35% |

Fonte: SILVA, Luciana Rodrigues; FERREIRA, Cristina Targa; CARVALHO, Elisa de. Hepatologia em pediatria Barueri, SP: Manole, 2012.

APÊNDICE C - Escore PELD

Pediatric End-Stage Liver Disease: valor numérico usado para quantificar a urgência de transplante hepático em candidatos com idade menor que 12 anos. Estima o risco de óbito se o transplante não for realizado dentro dos próximos três meses.

É calculado através da fórmula abaixo:

PELD score = $0,480 \times \log_e(\text{bilir mg/dL}) + 1,857 \times \log_e(\text{INR}) - 0,687 \times \log_e(\text{album g/dL}) + 0,436$ se o paciente tiver < 24 meses de idade ou $+ 0,667$, se o paciente tiver déficit de crescimento (< 2 DP).

Bilir: bilirrubina; Album: albumina; DP: desvio padrão; INR: international normalized ratio

Multiplicar valor por 10 e arredondar para número mais próximo.

Valores laboratoriais menores que 1 são arredondados para 1

Fonte: SILVA, Luciana Rodrigues; FERREIRA, Cristina Targa; CARVALHO, Elisa de. Hepatologia em pediatria Barueri, SP: Manole, 2012.

APÊNDICE D – Escore MELD

Model for End-stage Liver Disease: valor numérico usado para quantificar a urgência de transplante de fígado em candidatos com idade igual a 12 anos ou mais. Estima o risco de óbito se o transplante não for realizado dentro dos próximos três meses.

É calculado através da fórmula abaixo:

$$\text{MELD escore} = 0,957 \times \log_e(\text{creat mg/dL}) + 0,378 \times \log_e(\text{INR}) - 0,687 \times \log_e(\text{bilir g/dL}) + 1,120 \times \log_e(\text{INR}) + 0,643.$$

Creat: creatinina; bilir: bilirrubina; INR: international normalized ratio

Multiplicar valor por 10 e arredondar para número mais próximo.

Valores laboratoriais menores que 1 são arredondados para 1.

Valor máximo de creatinina é 4. Se o paciente faz diálise peritoneal, deve-se usar creatinina igual a 4.

Fonte: Hepatologia em pediatria / editoras: Luciana Rodrigues Silva, Cristina Targa Ferreira, Elisa de Carvalho.
- Barueri, SP: Manole, 2012.

ANEXO A – Exames laboratoriais utilizados no estudo

| Exame | Método | Valor de referência | Unidade |
|--------------------------|--|---|---------|
| 25(OH)D | Imunoensaio quimioluminescente de micropartículas (CMIA) | Deficiência grave <10 Deficiência < 20 Insuficiência 20 – 29 Suficiência 30 – 100 Risco de toxicidade > 100 | ng/mL |
| Cálcio total | NM BAPTA | 8,4 - 10,2 | mg/dL |
| Magnésio | Azul cildil colorimétrico | 1,7 - 2,2 | mg/dL |
| Fósforo | Colorimétrico | 2,5 - 4,8 | mg/dL |
| PTH | Imunoensaio quimioluminescente de micropartículas (CMIA) | 15 - 68,3 | pg/mL |
| FA total | Colorimétrico | 1 dia: < 250 2-5 dias: < 231 6 dias a 6 meses: < 449 7 meses a 1 ano: < 462 1-3 anos: < 281 4-6 anos: < 269 7-12 anos: < 300 13-18 anos: homens < 390 e mulheres < 187 | U/L |
| Albumina | Colorimétrico | RN: 2,8 – 4,4 4 dias a 14 anos: 3,8 – 5,4 14 a 18 anos: 3,2 – 4,5 20 a 60 anos: 3,5 – 5,2 60 a 90 anos: 3,2 – 4,6 > 90 anos: 2,9 – 4,5 | g/dL |
| Bilirrubina total | Colorimétrico | RN < 24h: < 8 RN < 48h: < 13 RN < 84h: < 17 > 1 mês: ≤ 1 > 18 anos: ≤ 1,2 | mg/dL |
| GGT | Colorimétrico | Homens: 11 – 59 Mulheres: 8 – 33 | U/L |
| INR | Coagulométrico com detecção mecânica | Indivíduos saudáveis sem uso de anticoagulantes orais: até 1,2 | |

Abreviações: 25(OH)D: 25-hidróxi-vitamina D; PTH: paratormônio; FA: fosfatase alcalina; RN: recém-nascido; GGT: gama glutamil transferase; INR: International Normalized Ratio

Fonte: Laboratório de Patologia Clínica do HCPA.

ANEXO B - Termo de Compromisso para Utilização de Dados



HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação

TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE DADOS

Status da vitamina D no paciente pediátrico com doença hepática crônica

O pesquisador do presente projeto se compromete a preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados em prontuários e bases de dados do HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE. Concordam, igualmente, que estas informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do presente projeto. As informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima.

Porto Alegre, 8 de Junho de 2019