

**Cláudia Melchior**

**“Interações entre ingestão de vitamina K, vitamina K sérica, tempo de protrombina e a dose de varfarina e polimorfismo do gene CYP2C9 em pacientes cardiopatas usuários de anticoagulantes orais de um Instituto de Cardiologia de São Paulo”**

**Tese apresentada à Universidade  
Federal de São Paulo – Escola  
Paulista de Medicina para obtenção  
do Título de Mestre em Ciências**

**São Paulo  
2010**

**Cláudia Melchior**

**“Interações entre ingestão de vitamina K, vitamina K sérica, tempo de protrombina e a dose de varfarina e polimorfismo do gene CYP2C9 em pacientes cardiopatas usuários de anticoagulantes orais de um Instituto de Cardiologia de São Paulo”**

**Tese apresentada à Universidade  
Federal de São Paulo – Escola  
Paulista de Medicina para obtenção  
do Título de Mestre em Ciências**

**Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maysa Seabra Cendoroglo  
Co-orientadora: Dra. Zilda Meneghelo  
Co-orientador: Dr. Roberto D. Miranda**

**São Paulo  
2010**

Melchior, Cláudia

***Interações entre ingestão de vitamina K, vitamina K sérica, tempo de protrombina, dose de varfarina e polimorfismo do gene CYP2C9 em pacientes cardiopatas usuários de anticoagulantes orais de um Instituto de Cardiologia de São Paulo.***

/ Cláudia Melchior. -- São Paulo, 2010.

xvii, 160 f. : il.39; "31 cm".

Orientador: Profª Drª Maysa Seabra Cendoroglo

Tese (mestrado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em Nutrição. 2010.

Informar pgs referentes a referencia bibliográficas: ex\; III

1 . 2. area de concentração – Tese. I. Cendoroglo, Maysa Seabra. II. Universidade Federal de São Paulo, Disciplina de Geriatria, Programa de pós-graduação em nutrição. III. Título.

Título em Inglês:. Interactions between vitamin K, vitamin K serum prothrombin time and warfarin dose and CYP2C9 gene polymorphisms in cardiac patients users of oral anticoagulants for a Cardiology Institute in São Paulo.

1. Vitamina K filoquinona. 2. Vitamina K sérica 3. varfarina. 4. Gene CYP2C9. 5. Nutrição.

## **DADOS DO ALUNO**

Nome: **Cláudia Melchior**

Nome para publicação: Cláudia Melchior

Endereço: Rua Pompeia, 88 – Vila Pirajussara

Cidade : São Paulo- SP

CEP : 05579-050

Telefones: (11) 2989-3012 / (11) 9955-1883

E-mail: [nutmel@uol.com.br](mailto:nutmel@uol.com.br)

## **FORMAÇÃO**

### **Graduação**

Instituição: UNIBAN – Universidade Bandeirantes de São Paulo – São Paulo

Curso: Nutrição

Período: 1997-2002

### **Pós-Graduação**

Universidade São Paulo – Faculdade de Medicina – São Paulo

Curso: Fisiologia do Exercício

Período: 2003 - 2004

## **ATUAÇÃO PROFISSIONAL**

### **Nutricionista Clínica**

Instituição: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia de São Paulo - IDPC – SP

Período: 2003 – Atual

### **Nutricionista Clínica**

Instituição: Consultório - São Paulo – SP

Período: 2003 - Atual

**Universidade Federal de São Paulo  
Escola Paulista de Medicina**

**Programa Pós-graduação em Nutrição de Nutrição**

**Coordenadora do Curso de Pós-graduação em Nutrição: Prof. Dr. Mauro  
Batista de Moraes**

# Cláudia Melchior

“Interações entre ingestão de vitamina K, vitamina K sérica, tempo de protrombina e a dose de varfarina e polimorfismo do gene CYP2C9 em pacientes cardiopatas usuários de anticoagulantes orais de um Instituto de Cardiologia de São Paulo”

## **BANCA EXAMINADORA**

### **TITULARES:**

Prof. Dr. Marcelo Bertolami  
Prof.Dr. Dalmo Antonio Ribeiro Moreira  
Prof<sup>a</sup>. Ms. Myrian Najas

### **SUPLENTES:**

Prof<sup>a</sup>. Ms. Patricia Ferreira do Prado Moreira

Aprovada em : 26 / 06 / 2010.  
Homologada em: 27 /10 / 2010.

## ***Dedicações:***

*Dedico ao meu pai Vittorino, que me ensinou a ser forte e a lutar pelos meus sonhos, sem os quais eu não poderia jamais ter chegado até aqui;*

*À minha mãe Vera, sempre esteve presente nesta caminhada.*

*Aos meus queridos filhos Vitorya e Gabriel, essência da minha vida, que apesar de tão pequenos puderam compartilhar com carinho os momentos desta jornada.*

*Ao meu esposo, Adriano, pelo seu companheirismo e apoio na realização deste trabalho, todos esses anos de convivência e que me encorajou para conclusão deste trabalho principalmente nos momentos mais difíceis desta caminhada.*

*Aos meus irmãos e toda a minha família pelo incentivo, apoio, confiança e muito carinho.*

*“Algo só é impossível até que alguém duvide e acabe provando o contrário.”*

*Albert Einstein*

## *Agradecimentos:*

*À Deus, pelo amparo e luz, permitindo que eu pudesse ultrapassar todos os obstáculos, pela vida e por esta conquista.*

*À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maysa Seabra Cendoroglo, pela oportunidade, pelo brilhantismo ao conduzir o meu programa de mestrado, orientação, confiança, oportunidade, paciência, ensinamentos e dedicação constante.*

*À minha co-orientadora Dr<sup>a</sup>. Zilda Meneghello, obrigada pela orientação e paciência.*

*A Dra. Cecília Barroso, que com muita sabedoria e conhecimento me incentivou a realizar este trabalho.*

*A toda a equipe do setor de anticoagulação do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia de São Paulo pelo incentivo e auxílio durante o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada pela confiança e colaboração. O apoio de vocês foi fundamental para a realização deste trabalho.*

*A Enfa. Cristiane, A Técnica Geni, no auxílio da coleta dos dados.*

*Aos queridos e sempre atuantes: Diacuí, Sueli e Cristiano na disciplina de Geriatria e Fabíola na pós-graduação em Nutrição, pela amizade e disposição para comigo;*

*As minhas companheiras, Patrícia e Lara. Obrigada pelo incentivo, apoio, ensinamentos constantes e por fazerem parte do meu crescimento profissional.*

*À Patrícia e Regiane pela atenção, profissionalismo e auxílio na análise estatística.*

*Aos Pós-Graduandos da Unifesp com os quais tive o privilégio e a oportunidade de conviver nestes últimos anos, pela amizade e companheirismo construtivo, cada qual com suas ocupações e dificuldades, buscando sempre alcançar um melhor preparo para ser útil.*



*E finalmente à todos os pacientes pela compreensão e participação neste estudo.*

### ***Agradecimento especial***

*A FAPESP por acreditar, avaliar e investir no nosso projeto de estudo, liberando os recursos financeiros para equipamento e materiais necessários a realização da pesquisa, como também disponibilizar verbas para podermos ir aos congressos e fórum para apresentar os resultados do nosso trabalho.*

#### ***Pensamentos:***

*“Assim é a vida. Quando paramos demais para avaliar os problemas e as dificuldades, perdemos tempo e nos distanciamos das nossas metas”.*

*“Encontrar defeitos é muito fácil, qualquer um pode fazê-lo, entretanto encontrar qualidades é tarefa para quem tem espírito nobre, capaz de inspirar êxito nas pessoas”.*

*“Todos temos tendência a sonhar com sucesso, prosperidade e bem estar, confundindo realização com objetivo. Objetivo é o alvo a ser alcançado, conquistando terreno passo a passo. A Realização é o resultado dessa conquista”.*

*“Bons professores são caros; maus professores mais caros ainda”.*

## SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	VII
AGRADECIMENTOS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	XII
LISTA DE TABELAS.....	XII
LISTA DE GRÁFICOS.....	XIV
LISTA DE QUADROS.....	XIV
RESUMO.....	XVI
ABSTRACT.....	XVII
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	07
2.1 – Nomenclatura química da vitamina K .....	07
2.2 – Nutrição e vitamina K .....	11
2.2.1 – Absorção e biodisponibilidade da vitamina K .....	11
2.2.2 – Deficiência de vitamina K .....	14
2.2.3 – Níveis séricos de vitamina K .....	15
2.3 – Função da vitamina K .....	16
2.4 – Anticoagulantes orais e vitamina K .....	22
2.5 – Avaliação nutricional e dietética .....	27
2.6 – Recomendações nutricionais.....	32
2.7 – Avaliação antropométrica.....	34
2.8 – Avaliação bioquímica.....	35
2.9 - Estudo do polimorfismo de gene envolvidos com a vitamina K.....	36
2.10 – Vários estudos envolvendo a vitamina K .....	41
2.11 – Possíveis estudos sobre a vitamina K .....	50
3. OBJETIVO.....	51
3.1 – Objetivo geral .....	51
3.2 – Objetivos específicos .....	51
4. CASUÍSTICA E MÉTODO.....	52
4.1 - Local e Aspectos éticos .....	52
4.2 – População estudada.....	52
4.3 - Critérios de inclusão .....	53
4.4 - Critérios de exclusão .....	53

4.5 - Metodologia .....	55
4.5.1 – Avaliação do consumo alimentar.....	55
4.5.2 – Orientação Nutricional .....	57
4.5.3 – Parâmetros antropométricos .....	57
4.5.4 – Tempo de protrombina – INR .....	61
4.5.5 – Coleta de sangue .....	62
4.6 – Análise estatística .....	64
5. RESULTADOS .....	66
6. DISCUSSÃO .....	96
7. CONCLUSÃO.....	116
8. ANEXOS.....	117
8.1 - Anexo 1: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa - Unifesp.....	117
8.1.1 - Anexo 1.1: Aprovação do CEP da UNIFESP - Emenda 1.....	118
8.2 - Anexo 2: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa - IDPC.....	120
8.2.1 - Anexo 2.1: Aprovação do CEP do IDPC - Emenda 1.....	124
8.3 - Anexo 3: Termo de Consentimento de Livre Esclarecimento / TCLE .....	125
8.4 - Anexo 4: Anamnese alimentar .....	127
8.5 - Anexo 5: Registro Alimentar de 7 dias.....	130
8.6 – Anexo 6: Folheto de orientação.....	138
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	139

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Vitamina K<sub>1</sub> (filoquinona), ambas as formas da vitamina contêm um anel funcional naftoquinona e uma cadeia lateral alifática. Filoquinona tem uma cadeia lateral phytyl.

Figura 2: Vitamina K<sub>2</sub> (menaquinona), em menaquinone a cadeia lateral é composta por um número variável de resíduos isoprenóides.

Figura 3: Estrutura de  $\gamma$ -carboxiglutamato (Gla)

Figura 4: O ciclo de reação da vitamina K que produz resíduos Gla no fígado. Acredita-se que as reações 3 e 4, que são ambas inibidas por dicumarol e warfarina, sejam catalisadas pela mesma enzima.

Figura 5: As fórmulas moleculares da vitamina K e dois de seus inibidores competitivos, dicumarol e warfarina. A vitamina K ocorre nas folhas verdes como vitamina K<sub>1</sub> (filoquinona) e é sintetizada pelas bactérias intestinais como vitamina K<sub>2</sub> (menaquinona). Essas formas da vitamina atuam como aceptores de elétrons no cloroplasto e na fotossíntese bacteriana. O corpo converte o composto-mãe, vitamina K<sub>3</sub> (menadiona), em uma forma ativa da vitamina.

Figura 6: A cascata da coagulação do sangue em seres humanos.

Figura 7: Interconversões metabólicas da vitamina K associadas com a modificação de proteínas dependentes da vitamina K.

Figura 8: Fluxograma do estudo.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Correlacionando as variações alélicas de CYP2C9 com a metabolização da warfarina e as suas respectivas sugestões de doses a serem utilizadas.

Tabela 2: Conteúdo de filoquinona em certos alimentos vegetais (g/100 g).

Tabela 3: Classificação Nutricional de adultos de acordo com o IMC.

Tabela 4: Classificação Nutricional de idosos de acordo com o IMC.

Tabela 5: Características dos 66 pacientes.

Tabela 6: Características da ingestão dos macronutrientes segundo o registro alimentar de 7 dias.

Tabela 7: Consumo médio de vitamina K  $\mu\text{g}/\text{dia}$  obtido pela avaliação habitual e pelo registro alimentar de 7 dias antes e depois da orientação nutricional.

Tabela 8: Comparação das médias dos 10 valores obtidos dos INRs antes e depois da orientação.

Tabela 9: Correlação do consumo de vitamina K  $\mu\text{g}/\text{dia}$  e valores do INR antes e depois da orientação nutricional.

Tabela 10: Valores dos INRs antes e depois da orientação nutricional em relação aos grupos que aumentaram e os que diminuíram o consumo relatado no registro alimentar de 7 dias em comparação ao consumo habitual.

Tabela 11: Comparação de consumo de vitamina K  $\mu\text{g}/\text{dia}$  habitual antes e registro alimentar de 7 dias depois da orientação nutricional em relação à idade.

Tabela 12: Correlações entre as variáveis: idade (20 a 59 anos), consumo antes e depois da orientação de vitamina K, a média dos 10 valores dos INRs antes e depois da orientação e o IMC.

Tabela 13: Correlações entre as variáveis: idade (60 a 85 anos), consumo antes e depois da orientação de vitamina K, a média dos 10 valores dos INRs antes e depois da orientação e o IMC.

Tabela 14: Comparação da vitamina K plasmática com a idade e sexo.

Tabela 15: Comparação dos valores médios de consumo  $\mu\text{g}/\text{dia}$  do inquérito habitual antes e o registro alimentar de 7 dias depois da orientação nutricional e níveis plasmáticos de vitamina K em relação aos genótipos do CYP2C9.

Tabela 16: Comparação dos valores médios de dosagem de anticoagulante (dose antes e após a orientação) em relação aos genótipos do polimorfismo do CYP2C9.

Tabela 17: Comparação dos valores médios de consumo  $\mu\text{g}/\text{dia}$  antes e depois da orientação nutricional e níveis séricos de vitamina K em relação aos diferentes tipos de óleo.

Tabela 18: Comparação dos valores médios das doses de anticoagulante entre pacientes que aumentaram ou diminuíram o consumo de vitamina K.

Tabela 19: Consumo de vitamina K antes e depois da orientação nutricional com as doses anterior e atual de anticoagulantes.

Tabela 20: Comparação dos valores médios das doses de anticoagulante entre os grupos de pacientes nas diferentes faixas etária.

Tabela 21: Comparação entre a média dos INRs antes e depois da orientação nutricional com relação as diferentes faixas etária.

Tabela 22: Correlação das variáveis, em relação aos que diminuíram e os que aumentaram o consumo de vitamina K do registro alimentar de 7 dias em relação ao consumo habitual.

### **LISTA DE GRÁFICO**

Gráfico 1: Consumo médio de vit K  $\mu\text{g}/\text{dia}$  habitual antes da orientação x idade.

Gráfico 2: Consumo médio de vit K  $\mu\text{g}/\text{dia}$  habitual depois da orientação x por idade.

Gráfico 3: Média dos níveis séricos de vitamina K x idade.

Gráfico 4: Dose diária de anticoagulante x polimorfismo no gene CYP2C9.

Gráfico 5: Níveis séricos de vitamina K por tipo de óleo (média e EP).

Gráfico 6: Dose média antes da orientação x idade.

Gráfico 7: Dose média depois da orientação x idade.

### **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1: Apresentação do número de pacientes (%) que consomem alimentos ricos em vitamina K, baseado no questionário de frequência alimentar qualitativo (QFA).

## Lista de Abreviaturas e Símbolos

ACO	anticoagulantes orais
AI	Adequate Intake
AVK	drogas anti-vitamina K
Ca <sub>2</sub>	Cálcio
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
CO <sub>2</sub>	dióxido de carbono
EAR	Estimated Average Requirement
GLA	ácido γ-carboxiglutâmico
GLU	ácido glutâmico
cm	centímetro
dp	desvio padrão
DMO	densidade mineral óssea
DRI	Dietary Reference Intakes
DRV	Dietary Reference Value
et al	colaboradores
FDA	Foods and Drugs Administration
g	grama
HPLC	cromatografia líquida de alta pressão
IDPC	Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia
IMC	índice de massa corpórea
INR	Razão Normalizada Internacional
IOM	Instituto de Medicina dos Estados Unidos
Kg	quilograma
kg/m <sup>2</sup>	Peso em kilogramas (Kg) pela altura em metros elevada ao quadrado (quadrado de sua altura)
L	litros
µg	micrograma
µMol	micromol
M	mol
mg	miligrama
ml	mililitro
MK	menaquinona
ng	nanograma
N	número
O <sub>2</sub>	oxigênio
PIVKAs	proteína induzida pela ausência de vitamina K
PL	fosfolípidos de membrana
QFCA/QFA/FFQ	questionário de frequência de consumo alimentar
SNPs	single nucleotide polymorphisms
TP	Tempo de Protrombina
RDA	Recommended Dietary Allowance
UI	unidade internacional
UL	Tolerable Upper Intake Level
Unifesp	Universidade federal de São Paulo
ucOc	under carboxylated osteocalcin
Vit. K	Vitamina K
VKOR	enzima epóxido redutase da vitamina K
KO	epóxido vitamina K
x	vezes

## RESUMO

**Introdução:** Varfarina é o principal suporte no tratamento da anticoagulação oral (ACO) e na profilaxia de doenças tromboembólicas. Ela tem um índice terapêutico estreito, e é necessário regular sua monitorização para evitar efeitos adversos sérios. Existe uma ampla variabilidade interindividual na dosagem, o que torna-se imprevisível a resposta anticoagulante. Os fatores ambientais mais discutidos na literatura que afetam a resposta a anticoagulação são: a idade, o peso e altura, a dieta e interações medicamentosas. Mais recentemente, alguns polimorfismos foram estudados por contribuírem significativamente na variabilidade da dosagem de cumarina. As diferenças raciais e culturais influenciam os requisitos da dosagem, que pode ser explicado, pelo menos em parte, por fatores genéticos e alimentares. Incorporação de fatores genéticos e ambientais podem ajudar na previsão de carga mais individualizado e doses de manutenção para a terapia de anticoagulação mais segura.

**Materiais e método:** Foram estudados 66 pacientes cardiopatas usuários de anticoagulantes orais, aplicamos um questionário induzido de frequência alimentar com 10 alimentos fonte de vit K, um recordatório de 24 hs / habitual, orientamos o paciente para uma ingestão de vit K regular ou até 500 µg/dia e um registro Alimentar de 7 dias. Observamos a dose diária do ACO; acompanhamos 10 valores de INR antes e após a orientação nutricional; análise da Vitamina K sérica e polimorfismo do CYP2C9.

**Resultados:** O consumo habitual de vitamina K<sub>1</sub> antes da orientação nutricional foi em média de 80,95 ± 82,37 µg/dia e após a orientação nutricional o resultado foi de 64,03 ± 39,77 µg/dia. Analisando o QFA do nosso estudo, o consumo da vitamina K<sub>1</sub> estava abaixo do recomendado. Na avaliação sobre o tipo de óleo, o consumo do óleo de soja foi maior. Os valores achados de vitamina K<sub>1</sub> plasmática na nossa população foram em média de 0,55 ± 0,52 ng/mL. No nosso estudo, não foi observada uma correlação entre o aumento ou diminuição da ingestão da vitamina K<sub>1</sub> e o INR que sustentasse essa relação. Na análise da genotipagem para o polimorfismo no CYP2C9, foi observado 46 (69%) pacientes com o tipo selvagem \*1/\*1, com dose média de 3,16 ± 1,69 mg/dia; 13 (20%) dos pacientes com genótipo \*1/\*2, dose média de 3,28 ± 2,23 mg/dia; 5 (7%) dos pacientes com genótipo \*1/\*3, com dose média de 2,24 ± 0,65 mg/dia e 2 (3%) dos pacientes com genótipo \*2/\*2, com dose média de 3,03 ± 1,26 mg/dia.

**Conclusão:** A variabilidade das necessidades da dose de warfarina é multifatorial. A abordagem dietoterápica para pacientes em uso de anticoagulante oral deve ser individualizada, o papel da equipe multidisciplinar poderá interferir positivamente no controle da atividade anticoagulante para um tratamento mais seguro, assim como melhores condições de alimentação e nutrição. A incorporação de fatores genéticos e ambientais pode ajudar na previsão e manutenção da dose individualizada.



## ABSTRACT

**Introduction:** Warfarin is a mainstay in the treatment of oral anticoagulation and prophylaxis of thromboembolic illness. It has a narrow therapeutic index, and it's important to regulate it's monitoring to avoid serious adverse effects. There is a wide variety of dose applications, which makes the anticoagulant responses unpredictable. The environmental factors discussed in the literature that most affect the response to anticoagulation are: age, height and weight, diet and drug interactions. Recently, several polymorphisms were studied for contributing significantly in the dosage variability of coumarin. The racial and cultural differences have influence in the dosage requirements, which can be explained, at least in part, by genetic factors and eating habits. The study of genetic and environmental factors may help in predicting a more personal applying and maintenance of the doses for a safer anticoagulation therapy.

**Methods and Materials:** We studied 66 heart patients users of oral anticoagulants, and applied a food frequency questionnaire with 10 food sources of vitamin K, a period of 24 hours / usual, we guide the patient to a regular intake of vitamin K or even 500 µg / day and a seven day food record. We observed the daily dose of OAC; followed 10 RNI values before and after nutritional counseling, analysis of serum vitamin K and polymorphism of CYP2C9.

**Results:** The regular consume of vitamin K<sub>1</sub> prior to nutritional counseling averaged  $80.95 \pm 82.37$  µg / day and after nutritional counseling, the result was  $64.03 \pm 39.77$  µg / day. Analyzing the FFQ (food frequency questionnaire) in our study, consumption of vitamin K<sub>1</sub> was lower than recommended. In evaluating the type of oil, the consumption of soybean oil was higher. The values of vitamin K<sub>1</sub> plasmatic found in our population averaged  $0.55 \pm 0.52$  ng/mL. In our study, there was no correlation between increased or decreased consume of vitamin K<sub>1</sub> and the RNI in support of this relationship. In the analysis of genotyping for polymorphism in CYP2C9 was observed 46 (69%) patients with wild type \* 1 / \* 1, with an average dose of  $3.16 \pm 1.69$  mg / day; 13 (20%) patients with genotype \* 1 / \* 2, with an average dose of  $3.28 \pm 2.23$  mg / day, 5 (7%) patients with genotype \* 1 / \* 3, with an average dose of  $2.24 \pm 0.65$  mg / and day 2 (3%) patients with genotype \* 2 / \* 2, with an average dose of  $3.03 \pm 1.26$  mg / day.

**Conclusion:** The variability in dose requirements of warfarin is multifactorial. The dietary approach to patients using oral anticoagulants should be individualized, the role of the multidisciplinary team can positively affect the control of anticoagulant activity for a safer treatment, as well as improving eating habits and nutrition. The incorporation of genetic factors can help to predict and maintain the individualized dose.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1- A descoberta da vitamina K

Em 1929, o cientista dinamarquês Henrik Dam investigou o papel do colesterol através da alimentação de frangos com uma dieta de baixo colesterol (Dam et al., 1935). Depois de várias semanas, os animais desenvolveram hemorragias e começaram a sangrar. Os efeitos não puderam ser restaurados após adição de colesterol à dieta purificada, parecia que, junto com o composto de colesterol um segundo composto havia sido extraído do alimento. Nos anos de 1935 e 1936, Dam et al verificaram uma substância não identificada lipossolúvel, presente na ração que poderia estar causando distúrbios hemorrágicos nos animais.

Em 1935, Almquist e Stokstad descreveram a mesma doença em aves (Olson, 1994; Marcus, 1996). Na época, os pesquisadores buscavam a etiologia dos distúrbios hemorrágicos em pacientes com icterícia obstrutiva e doenças hepáticas. Quick et al (1935) observaram que o defeito da coagulação em indivíduos ictericos resultava de uma redução na concentração sanguínea de protrombina. A vitamina recebeu a letra K, porque as primeiras descobertas foram publicadas em um jornal alemão, no qual foi designada como Koagulations vitamin. Edward Adelbert Doisy da Universidade de Saint Louis que fez grande parte da investigação que levou à descoberta da estrutura e da natureza química da vitamina K (MacCorquodale et al., 1939).

Em 1939, Dam et al isolaram a 2-metil-3-fitol-1,4-naftoquinona na alfafa, denominando-a como fitoquinona ou vitamina K<sub>1</sub>. No mesmo ano, Doisy et al. isolaram a 2-metil-3-difarmesil-1,4-naftoquinona na carne de peixe putreficado, denominando-a de menaquinona ou vitamina K<sub>2</sub>. Na década de 50, foram descobertos outros fatores na

coagulação dependente de vitamina K como a proconvertina (fator VII), o fator Stuart (fator X) e o fator anti-hemofílico Beta (fator IX), além de proteínas que participam desse processo, como a proteína C, a proteína S e a proteína Z (Olson, 1994). Existe uma vitamina sintética, a menadiona ou vitamina K<sub>3</sub>, que é hidrossolúvel e ativa, embora pouco usada (Roncada, 1998).

Dam e Doisy dividiram o Prêmio Nobel de medicina em 1943 por seus trabalhos com vitamina K (K<sub>1</sub> e K<sub>2</sub>) publicado em 1939. Vários laboratórios sintetizaram os compostos em 1939 (Fieser, 1939).

Durante várias décadas o modelo de dependente de vitamina K dos pintinhos era o único método de quantificação de vitamina K em diversos alimentos: os pintinhos eram induzidos a uma deficiência de vitamina K e, posteriormente, alimentados com uma quantidade conhecida de vitamina K, conforme a coagulação do sangue se restaurava pela dieta, era tomada como medida o teor de vitamina K. Três grupos de médicos independentes estudaram este tipo de controle: Biochemical Institute, da Universidade de Copenhagen (Dam e Johannes Glavind), University of Iowa Department of Pathology (Emory Warner, Kenneth Brinkhous, Pratt e Harry Smith), e da Clínica Mayo (Hugh Butt, Albert Snell e Osterberg Arnold).

Poucos anos mais tarde, foi demonstrado que a doença hemorrágica foi devido à ausência de atividade da protrombina no plasma. A alfafa e a farinha de peixe em putrefação foram observadas por ser uma boa fonte dessa vitamina. A vitamina K foi isolada simultaneamente em ambas as fontes de vitamina K<sub>1</sub> e K<sub>2</sub>, respectivamente. Após a identificação das suas estruturas, elas receberam menos atenção do que as outras vitaminas lipossolúveis, onde a principal razão para isso foi a ampla distribuição

nos alimentos e a exigência de uma quantidade pequena da vitamina em seres humanos.

Em 1974, colaboradores independentes relataram a ausência do ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico na protrombina de animais em uso de anticoagulantes orais ou alimentação deficiente em vitamina K (Olson, 1994). Desde a descoberta de um novo ácido aminado, o ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla) e do papel da vitamina K<sub>1</sub> como cofator na síntese pós-translacionais da vitamina K durante a década de 1970, ela tem sido assunto de muitas pesquisas (Parrish, 1980; Olson, 1994).

A vitamina K tem um efeito sobre a eficácia dos medicamentos anticoagulantes, como a varfarina. Sua função é baseada em antagonizar o metabolismo da vitamina K, o que resulta em uma falha na hora de sintetizar o ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla), e como é impossível prever qual a dose de varfarina que ocorrerá a supressão da coagulação, a anticoagulação deve ser cuidadosamente monitorada para evitar superdosagens. Varfarina e outros medicamentos derivados da cumarina bloqueiam a ação da vitamina K epóxido redutase (Whitlon *et al.*, 1978). Isso resulta em uma menor concentração de vitamina K<sub>1</sub> e hidroquinona da vitamina K nos tecidos, onde a reação catalisada pela carboxilação da carboxilase glutamyl passa a ser ineficiente, resultando na produção de fatores inadequados de coagulação. Sem o ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla) sobre os amino-terminais, formas estáveis não se ligam a eles no endotélio dos vasos sanguíneos e não permitem a ativação na coagulação da formação do coágulo durante a lesão tecidual.

Vários estudos conduziram ao isolamento de proteínas dependentes da vitamina K<sub>1</sub> em vários tecidos, e as funções da vitamina K<sub>1</sub> foram ampliadas a partir do seu papel na coagulação do sangue, e mais tarde, no metabolismo ósseo (Shearer,

1995). As funções exatas das proteínas recém-descobertas da vitamina K<sub>1</sub> são desconhecidas, exceto pela função de osteocalcina na regulação do crescimento ósseo, também não está clara quais são os melhores marcadores para a avaliação do status da vitamina K<sub>1</sub>. Embora geralmente se aceite que a deficiência de vitamina K<sub>1</sub> é provavelmente mais comum do que se acreditava anteriormente, mais estudos são necessários para que as atuais recomendações dietéticas possam ser reavaliadas (Vermeer *et al.*, 1998).

Também é aceito no meio científico, que a dieta em relação à vitamina K pode causar uma interação com a varfarina, pois existe uma dose resposta da vitamina K<sub>1</sub> sobre o efeito do anticoagulante varfarina, o que ainda não foi muito estabelecida. Entretanto, pelos estudos que já foram relatados, pacientes em uso da varfarina devem ter uma dieta constante de vitamina K<sub>1</sub> (Booth e Centurelli, 1999a).

As formas naturais de vitamina K são filoquinona (vitamina K<sub>1</sub>) e menaquinones (vitamina K<sub>2</sub>). As melhores fontes de filoquinona, que são sintetizadas pelas plantas, os vegetais verde-escuros e os óleos vegetais (Booth *et al.*, 1996<sub>a</sub>; Booth e Suttie, 1998). Menaquinonas são de origem bacteriana e podem ser encontradas tanto em produtos animais e quanto no intestino. A biodisponibilidade de menaquinonas intestinal de vitamina K na alimentação, no entanto, não é clara (Vermeer *et al.*, 1995).

As formas da vitamina K são:

- Filoquinona (vitamina K<sub>1</sub>) que é a forma predominante, presente nos vegetais, sendo os óleos vegetais e as hortaliças suas fontes mais significativas.
- Dihidrofiloquinona (dK), formada durante a hidrogenação comercial de óleos vegetais.

- Menaquinona (vitamina K<sub>2</sub>), sintetizada por bactérias, podendo variar de MK<sub>4</sub> a MK<sub>13</sub> (série de vitaminas designadas MK<sub>-n</sub>, sendo n o número de resíduos isoprenóides).

Presente em produtos animais e alimentos fermentados.

- Menadiona (vitamina K<sub>3</sub>) que é um composto sintético a ser convertido em K<sub>2</sub> no intestino.

Segundo Booth *et al* (2008), para entender o papel da vitamina K na saúde humana, é importante identificar quais são os principais determinantes do estado da vitamina K durante todo o ciclo de vida. A compreensão atual da fisiologia do metabolismo da vitamina K ainda é parcial e explica porque há uma grande variação interindividual no estado de vitamina K, observadas em diferentes medidas bioquímicas.

Atualmente a ingestão dietética da vitamina K ainda é um dos principais determinantes do estado de vitamina K, porém os consumos variam muito entre as faixas etárias e os subgrupos da população. Existem muitas variações na absorção e transporte da vitamina K dependendo da sua forma e do alimento fonte de vitamina K. O papel dos lípides como determinante do status da vitamina K também varia de acordo com a forma em que a vitamina K é ingerida. Há também algumas evidências de que outras vitaminas lipossolúveis antagonizam a vitamina K, sob certas condições fisiológicas. Durante a idade adulta, não são sutis as mudanças relacionadas à idade no estado de vitamina K, mas estas podem estar relacionadas principalmente com a ingestão alimentar e a diferença de estilo de vida entre as diferentes faixas etárias.

Considerando que, a qualidade dos dados sobre o conteúdo de filoquinona nos alimentos vegetais aumentou na década de 1990, as informações sobre as menaquinonas ainda é muito limitada. A maioria das tabelas de composição dos alimentos não incluem os valores de vitamina K. Embora a introdução do desempenho

de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ter facilitado a análise da vitamina K, a determinação das várias formas de vitaminas K ainda é um grande desafio. Eletroquímica e detectores de fluorescência após a redução pós-coluna fornecem uma sensibilidade suficiente para analisar a seletividade da filoquinona em produtos vegetais (Fauler *et al.*, 2000). Devido à baixa concentração de vitamina K em produtos de origem animal, melhorias nos sistemas de detecção são necessários. Além disso, os métodos de extração e purificação devem ser desenvolvidos para que eles possam ser mais úteis antes que os dados confiáveis de vitamina K possam ser produzidos.

Para uma melhor compreensão do papel nutricional da vitamina K, informações sobre os compostos da vitamina K ativa, incluindo a filoquinona e as menaquinonas, nos alimentos são de grande importância.

Assim, quando este estudo começou, houve uma clara necessidade de traduzir os métodos validados e cuidadosamente documentados para análise de filoquinona e menaquinonas, bem como para novos dados sobre sua ocorrência em alimentos Para que se pudesse ter uma maior precisão na hora do cálculo das dietas relatadas.

## 2 - REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 - Nomenclatura química da vitamina K

A vitamina K é um termo genérico para a família de compostos que agem como um cofator na síntese pós-translacionais de ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla). A vitamina K existe naturalmente em duas formas, como filoquinona (vitamina K<sub>1</sub>) e menaquinones (vitamina K<sub>2</sub>). A estrutura química de filoquinona é 2-metil-3-phytyl-1,4-naftoquinona e tem um grupo com uma dupla ligação como uma corrente lateral. Ela é sintetizada pelas plantas, enquanto que as menaquinonas, 2-metil-3(prenil)<sup>n-1</sup> 4-naftoquinona, de origem microbiana. Elas são nomeadas de acordo com o número de grupos prenil (até 13) na cadeia lateral insaturada (Lambert e De Leenher, 1992). A filoquinona existe naturalmente apenas na forma trans, e a configuração trans também é a mais comum para as menaquinonas. Isômeros cis-trans, que são formados durante a exposição à luz ultravioleta (UV) ou durante sua produção sintética, são considerados como tendo baixa bioatividade (Parrish, 1980; Indyk, 1988<sub>a</sub>). Menadiona, conhecida anteriormente como vitamina K<sub>3</sub>, é uma forma sintética, a sua estrutura é 2-metil-1,4-naftoquinona e não tem nenhuma atividade, mas pode ser alquilados enzimaticamente para MK-4, em tecidos animais (Dialameh *et al.*, 1971). Uma série de outros compostos foi relacionada com diferentes atividades onde foi sintetizada, por exemplo, 2', 3'- dihidrovitamina K<sub>1</sub> e K<sub>1</sub> (25). O primeiro é formado a partir de filoquinona durante a hidrogenação de óleos (Davidson *et al.*, 1996), enquanto que a K<sub>1</sub> (25) é produzida pela substituição de uma cadeia lateral de 25 do carbono para menadiona. Ambas as formas são comumente usados como padrões internos de análise de vitamina K (Booth e Sadowski, 1997).



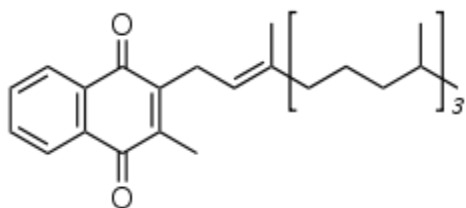


Figura 1: Vitamina K<sub>1</sub> (filoquinona), ambas as formas da vitamina contêm um anel funcional naftoquinona e uma cadeia lateral alifática. Filoquinona tem uma cadeia lateral phytyl.

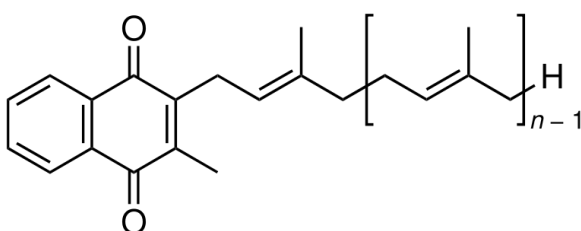


Figura 2: Vitamina K<sub>2</sub> (menaquinona), em menaquinone a cadeia lateral é composta por um número variável de resíduos isoprenóides.

Sua função na célula é a de fazer a conversão de glutamato em proteínas  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla). Até 1974 a função precisa da vitamina K não havia sido descoberta, quando três laboratórios (Stenflo *et al.*, 1974, Nelsestuen *et al.*, 1974, e Magnusson *et al.*, 1974), isolaram o fator protrombina dependente de vitamina K na coagulação (Fator II) de vacas que receberam uma dose elevada do antagonista da vitamina K, a varfarina. Foi mostrado que, enquanto as vacas tratadas com varfarina

tinham uma forma de protrombina que continha 10 aminoácidos glutamato perto do amino-terminal desta proteína, o grupo das 10 vacas normais, ou seja, sem tratamento, continham resíduos químicos incomuns que foram identificados como  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla). O grupo carboxila extra de  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla) deixou claro que a vitamina K tem um papel em uma reação de carboxilação de ácido glutâmico (Glu) durante o qual é convertido em  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla).

A bioquímica da forma como a vitamina K é usada para converter ácido glutâmico (Glu) para  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla) foi esclarecido ao longo dos últimos trinta anos em laboratórios acadêmicos de todo o mundo. Dentro da célula, a redução de elétrons da vitamina K sofre de uma forma reduzida da vitamina K (chamado hidroquinona da vitamina K) pela enzima epóxido redutase da vitamina K (ou VKOR) (Oldenburg *et al.*, 2006). Outra enzima, em seguida, oxida a vitamina K hidroquinona para permitir a carboxilação do ácido glutâmico (Glu) para  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla), esta enzima é chamada de gama-glutamil-carboxilase (Suttie, 1985; Presnell *et al.*, 2002) ou a carboxilase vitamina K-dependente. A reação de carboxilação só vai continuar se a enzima carboxilase for capaz de oxidar a hidroquinona da vitamina K em vitamina K epóxido e, ao mesmo tempo, a carboxilação e a reação de epoxidases fossem reações acopladas. A vitamina K epóxi é então reconvertida em vitamina K pela vitamina K epóxido redutase. Estas duas enzimas compõem o chamado ciclo da vitamina K (Stafford, 2005). Um dos motivos pelo qual os humanos raramente são deficientes em vitamina K é que a vitamina K é continuamente reciclada em nossas células.

Devido ao estreito relacionamento estrutural das diferentes formas da vitamina K, a maioria das suas propriedades físicas e químicas são semelhantes. A filoquinona é líquida à temperatura ambiente, enquanto que menadiona e menaquinonas são sólidas (Parrish, 1980). A vitamina K é insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool e facilmente solúvel em não solventes orgânicos polares, por exemplo, n - hexano, éter e clorofórmio. Elas são sensíveis à luz e às condições alcalinas, mas meio estável em condições ligeiramente ácidas e oxidantes.

## 2.2 – Nutrição e vitamina K.

### 2.2.1 - Absorção e biodisponibilidade.

A vitamina K é absorvida principalmente no intestino delgado para o sistema linfático; para uma absorção ótima precisa da presença do ácido biliar e do suco pancreático (Olson, 1984). Tem sido demonstrado que em condições normais ela é moderadamente (40 a 70%) absorvida pelo jejuno do intestino delgado, mas muito pouco no cólon (Olson, 1984). A fonte de vitamina K parece influenciar a eficiência da absorção, Gijsbers *et al* (1996) e Garber *et al* (1999) observaram que os níveis circulantes de filoquinona foi significativamente maior após a ingestão de um suplemento farmacêutico do que após ingerir o espinafre. Garber *et al* (1999) não encontraram diferenças entre os muitos produtos hortícolas (espinafres, brócolis e alface romana) ou entre o brócolis cru e cozido. O teor de gordura de uma refeição tem sido demonstrado que pode influenciar a absorção de ambas as filoquinona, dos vegetais e a MK-4 produzida a partir de um suplemento farmacêutico (Gijsbers *et al.*, 1996; Uematsu *et al.*, 1996; Garber *et al.*, 1999). Por outro lado, Booth *et al* (1999<sub>a</sub>) não encontraram diferenças na biodisponibilidade de filoquinona do óleo ou do brócolis quando consumidos juntamente com uma dieta mista. Muito pouco se conhece sobre a absorção de menaquinona alimentar, embora um efeito de menaquinona quando esta é ingerida e medida no tempo de protrombina tem sido demonstrada em alguns estudos (Conly e Stein, 1993).

O papel da menaquinona produzida pela microflora intestinal na manutenção do status da vitamina K ainda é desconhecido, existem argumentos a favor e contra sobre

a sua absorção (Conly e Stein, 1992; Shearer, 1992; Lipsky, 1994; Suttie, 1995; Vermeer *et al.*, 1995). Suttie (1995) e Vermeer *et al.* (1995) sugeriram que as menaquinonas do intestino podem ter pouca importância, porque a maioria delas estão localizadas nas membranas das bactérias e, portanto, provavelmente não estão disponíveis para a absorção. Além disso, estudos de Ichihashi *et al* (1992) e Groenen-Van Dooren *et al* (1995) demonstraram que a absorção de menaquinonas do cólon na ausência de ácidos biliares é extremamente pobre em ratos. Lipsky (1994), também sugeriu em sua revisão, que a produção bacteriana de menaquinonas é importante porque os seres humanos e os ratos podem ter deficiências nutricionais de vitamina K. Por outro lado, as concentrações altas de menaquinone encontradas no fígado indicam que a absorção de menaquinonas existe (Shearer, 1992). Supõe-se que a absorção das menaquinonas bacteriana é após a válvula ileocecal no íleo, onde estão presentes os ácidos biliares (Conly e Stein, 1992) ou por um processo de difusão passiva do cólon (Shearer, 1992). Embora Conly *et al* (1994) demonstrem que o efeito positivo das menaquinonas ingeridas no colon-retal no tempo de protrombina, mas muita pouca evidência para a absorção direta de menaquinonas intestinal em seres humanos estão disponíveis.

A vitamina K absorvida é transportada principalmente através da linfa nos quilomícrons para o fígado, que é considerado o maior órgão de armazenamento da vitamina K (Shearer, 1995). Filoquinona e MK-4 são recuperadas na maioria dos tecidos humanos, embora o menaquinonas de cadeia longa, provavelmente, terá mais armazenamento no fígado (Usui *et al.*, 1990; Shearer, 1995; Thijssen e Driittij-Reijnders, 1996). Em ratos, altas concentrações de MK-4 são encontradas a partir de órgãos não hepáticos após alta ingestão de filoquinona, isto é provavelmente devido à conversão de

filoquinona dietética para MK-4 onde sabemos que essa conversão não é dependente das bactérias do intestino, embora sua rota exata ainda seja obscura (Thijssen e Drittij-Reijnders, 1994; Thijssen *et al.*, 1996; Davidson *et al.*, 1998; Ronden *et al.*, 1998). Por outro lado, a MK-4 pode ser convertida em MK-8 através de um caminho metabólico desconhecido (Koivu-Tikkanen *et al.*, 2000). Estudos citados acima, bem como resultados de Huber *et al* (1999) sugerem funções metabólicas específicas, tanto para a MK-4 e para a MK-6. No entanto, a principal forma circulante da vitamina K é a filoquinona considerando que a forma comum hepática MK-9 e MK-13 não são detectáveis no plasma (Shearer *et al.*, 1996). Ao contrário de outras vitaminas lipossolúveis, os estoques no organismo de vitamina K são esgotados rapidamente (Suttie *et al.*, 1988) 60 a 70% de filoquinona absorvida se perde, por excreção urinária (20%) e nas fezes (40-50%) (Shearer *et al.*, 1974; Usui *et al.*, 1990).

A atividade de várias formas de vitamina K é a soma da absorção relativa, o transporte, o metabolismo e a eficácia deste composto em funções normais de vitamina K-dependente. Em alguns estudos foram verificadas diferenças na sua atividade, e na maioria deles (Will e Suttie, 1992; Groenen-van Dooren *et al.*, 1993; Reedstrom e Suttie, 1995) a filoquinona têm se mostrado ser mais eficaz do que a MK-4 ou a MK-9 para a manutenção normal da vitamina K. No entanto, Groenen-van Dooren *et al* (1995) observaram que mais tarde a MK-9 tem um efeito mais longo do que a filoquinona ou a MK-4 na síntese da protrombina.

### 2.2.2 – Deficiência de vitamina K

Embora estudos falem que a deficiência da vitamina K é rara em seres humanos saudáveis por causa da ampla distribuição de filoquinona nos vegetais verdes e a síntese de menaquinonas pela microflora intestinal. Novas descobertas sobre a função da vitamina K no metabolismo ósseo, no entanto, levantou a questão da deficiência de vitamina K que é mais comum do que se pensa (Vermeer *et al.*, 1998). Atualmente não estão definidos, quais são os melhores marcadores para se avaliar o estado da vitamina K no organismo. Os tempos de protrombina utilizados anteriormente não reagem antes de a deficiência ser muito grave, ou, por exemplo, a proteína induzida pela ausência de vitamina K (PIVKAs) aumenta o soro muito cedo (Suttie, 1992, Booth e Suttie, 1998). Além disso, Suttie *et al* (1988) observaram que 50 a 100 mg de filoquinona é necessária por dia para manter a relação da protrombina descarboxilada e ativa próxima do valor normal, no entanto, uma maior ingestão alimentar é necessária antes da concentração sérica de filoquinona ser restaurada após a depleção da vitamina K.

A deficiência de vitamina K foi relatada somente em casos especiais, por exemplo, em pacientes com baixa ingestão dietética que também estão recebendo antibióticos (Suttie, 1992). O risco de grave deficiência de vitamina K é maior entre os recém-nascidos, porque seus estoques de vitamina K são baixos, e sua flora bacteriana estéril não produz menaquinonas, e o conteúdo de vitamina K no leite humano é muito baixo. Esta deficiência é chamada de doença hemorrágica do recém-nascido, e é impedida em muitos países pela profilaxia aplicar filoquinona no nascimento (Suttie, 1992; Shearer, 1995).

### 2.2.3 - Níveis séricos da vitamina K

Nas pessoas saudáveis em jejum, a concentração de vitamina K plasmática (filoquinona) é menor que 1 ng/ml, não existindo proteína carregadora específica. Medidas como a dosagem da vitamina K plasmática podem ser utilizadas, porém, os métodos disponíveis não são práticos para uma avaliação rotineira (Dutra-de-Oliveira *et al.*, 1998). A concentração da filoquinona plasmática não se correlaciona adequadamente com o estado nutricional da vitamina K, pois é dependente da ingestão recente da vitamina em 24 horas (Booth e Suttie, 1998).

Segundo Olson (1994) e Lehninger (2002) em pessoas saudáveis, a concentração de vitamina K no plasma varia de 0,2 a 1,0 ng/mL, com média de 0,55 ng/mL, que representa principalmente a vitamina K<sub>1</sub>, cuja dosagem requer cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), que não se correlaciona bem com status corporal da vitamina K.

A excreção urinária de Gla, proteína induzida pela deficiência ou antagonismo de vitamina K, e a osteocalcina pouco carboxilada – *under carboxylated osteocalcin* (ucOc) - são indicadores do estado nutricional, a ucOc é o marcador, mais sensível, no antagonismo à vitamina K resultante da inibição da enzima epóxi-redutase (pelo tratamento com a varfarina), que produz efeito diverso na produção de proteínas por diferentes tecidos, juntamente com o déficit na ingestão de vitamina K, em que a osteocalcina circulante parece ser a primeira proteína Gla a aparecer no plasma, na forma descarboxilada (Dores *et al.*, 2001).

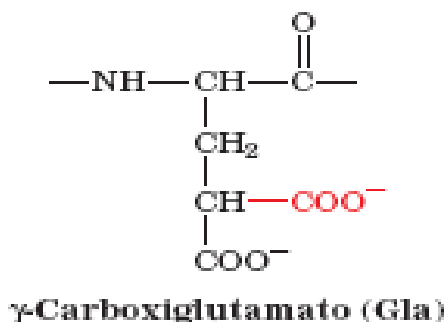


### 2.3 – Função da vitamina K.

Até meados de 1970, acreditava-se que o papel fisiológico da vitamina K era limitado na síntese de fatores de coagulação (protrombina e fatores VII, IX e X). Após a descoberta do ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla) (Nelsestuen e Zytковicz, 1974; Stenflo *et al.*, 1974), foi demonstrado que a vitamina K atua como cofator na síntese pós-traducional nos resíduos de ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla) do ácido glutâmico (Glu). Isso levou à identificação de proteínas dependentes de vitamina K adicional, incluindo também proteínas extra-hepáticas sem conexão com a coagulação do sangue. O isolamento dessas proteínas dos ossos (osteocalcina, proteína Gla da matriz e proteína S) expandiu o papel fisiológico da vitamina K de forma significativa e muito importante (Suttie, 1992; Ferland, 1998; Vermeer *et al.*, 1998).

Esta  $\gamma$ -carboxilação é catalisada pela carboxilase vitamina K-dependente, que exige a forma reduzida da vitamina K, a hidroquinona, e a energia fornecida pela oxidação simultânea de hidroquinona da vitamina K 2,3-epóxido. Esta forma quinona é então reciclada e após a sua forma hidroquinona em reações catalisadas por vitamina K redutases.

A protrombina anormal, em contraste, contém ácido glutâmico (Glu) em lugar desses resíduos de ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla). A vitamina K é um cofator essencial para a conversão do glutamato em  $\gamma$ -carboxiglutamato (Booth *et al.*, 1999a; Geleijnse, 2004). Assim, os resíduos de ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla) na protrombina não foram detectados inicialmente porque eles se convertem em ácido glutâmico (Glu) por descarboxilação sob as condições de hidrólise ácida normalmente usada nas determinações de composição de aminoácidos.



**Figura 3: Estrutura de  $\gamma$ -carboxiglutamato (Gla)**

O ciclo da reação hepática que sintetiza o ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla) a partir do ácido glutâmico (Glu) e regenera o cofator da vitamina K ocorre em quatro etapas, catalisadas por três enzimas (Fig. 4):

1 - Em uma reação que consome  $O_2$ , a carboxilase dependente de vitamina K converte a forma ativa da hidroquinona de vitamina K para um intermediário oxigenado, que remove um próton de Glu para produzir um  $\gamma$ -carbânion de Glu e vitamina K 2,3-epóxido. Assim, a carboxilase dependente de vitamina K também é uma epoxidase. O intermediário oxigenado, cuja identidade ainda não foi estabelecida de forma definitiva, aparentemente tem a alta basicidade requerida para remover o próton Glu, como indicado na Fig. 4.

2 - O carbânion Glu reage com  $CO_2$ , produzindo Gla em uma reação que também é catalisada pela carboxilase dependente da vitamina K.

3 - A vitamina K-epóxido redutase reduz a vitamina K 2,3- epóxido à vitamina K em sua forma quinona, com a oxidação concomitante de tióis como o ácido lipóico.

4 - A vitamina K redutase completa o ciclo de reação, reduzindo a vitamina K à sua forma hidroquinona, em uma reação que também ocorre com a oxidação concomitante de tióis.

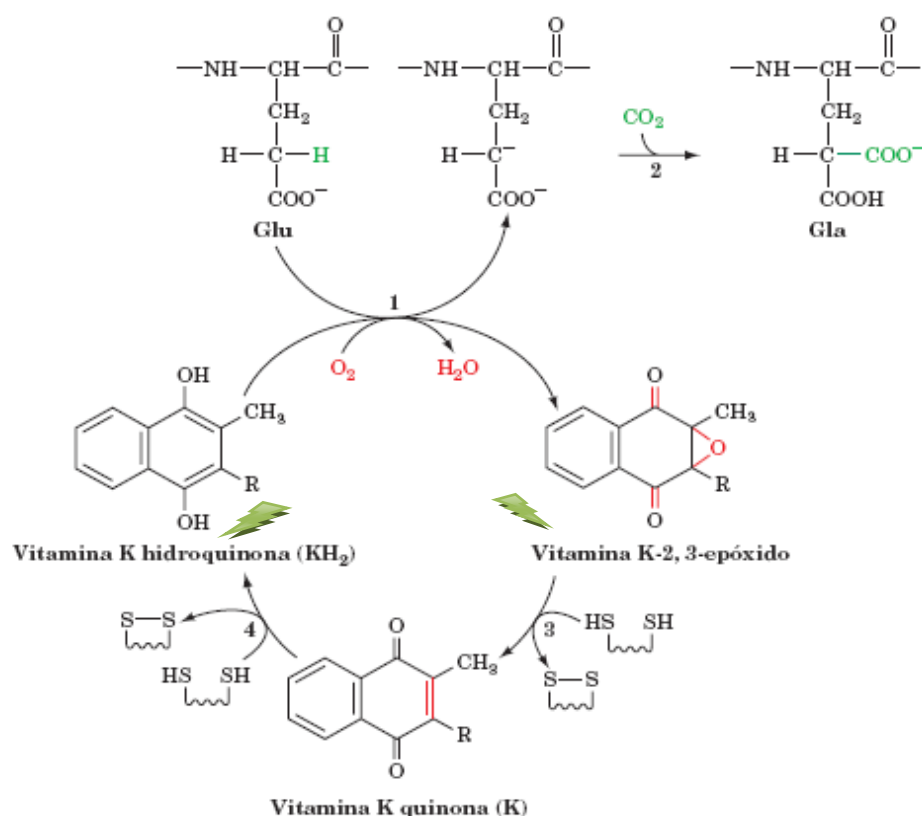


Figura 4: O ciclo de reação da vitamina K que produz resíduos Gla no fígado. Acredita-se que as reações 3 e 4, que são ambas inibidas por dicumarol e warfarina, sejam catalisadas pela mesma enzima. O grupo R está indicado na Fig. 5. (De Suttie, J. W., Annu. Rev. Biochem. 54, 472 [1985].)

Através da reação de carboxilação, que requer oxigênio molecular e dióxido de carbono, ocorre a conversão do ácido glutâmico (Glu) de cada precursor para formar resíduos de ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico (Gla) da proteína completa. A formação deste novo aminoácido, ácido  $\gamma$ -carboxiglutâmico (2,3-epóxi), permite a quelação da proteína com o íon cálcio e a ligação com a superfície lipídica e a formação do coágulo (Mayes, 1994; Olson, 1994; Sadowsky *et al.*, 1996; Booth, 1999a).

A deficiência de vitamina K leva à síntese de proteínas de baixa carboxilação, que são secretadas no plasma. Estas proteínas chamadas PIVKAs (proteína induzida pela ausência de vitamina K) têm baixa afinidade com o cálcio e têm sido utilizada como marcadora da nutrição subótima da vitamina K (Ferland, 1998; Vermeer *et al.*, 1998).

Após a constatação de proteínas dependentes de vitamina K no osso, o papel da vitamina K na homeostase do cálcio está sob investigação ativa. Apesar da exata função destas proteínas no metabolismo ósseo serem desconhecidas, no entanto, assumi-se que, pelo menos, a osteocalcina e a proteína Gla da matriz têm uma função reguladora na formação da matriz óssea mineral e na manutenção do osso maduro saudável (Shearer, 1995; Vermeer *et al.*, 1998).

O dicumarol e a varfarina atuam inibindo a vitamina K-epóxido redutase e a vitamina K redutase. A descoberta dos resíduos Gla nos fatores da coagulação levou a sua descoberta em outros tecidos, que, portanto, também devem conter carboxilases dependentes de vitamina K.

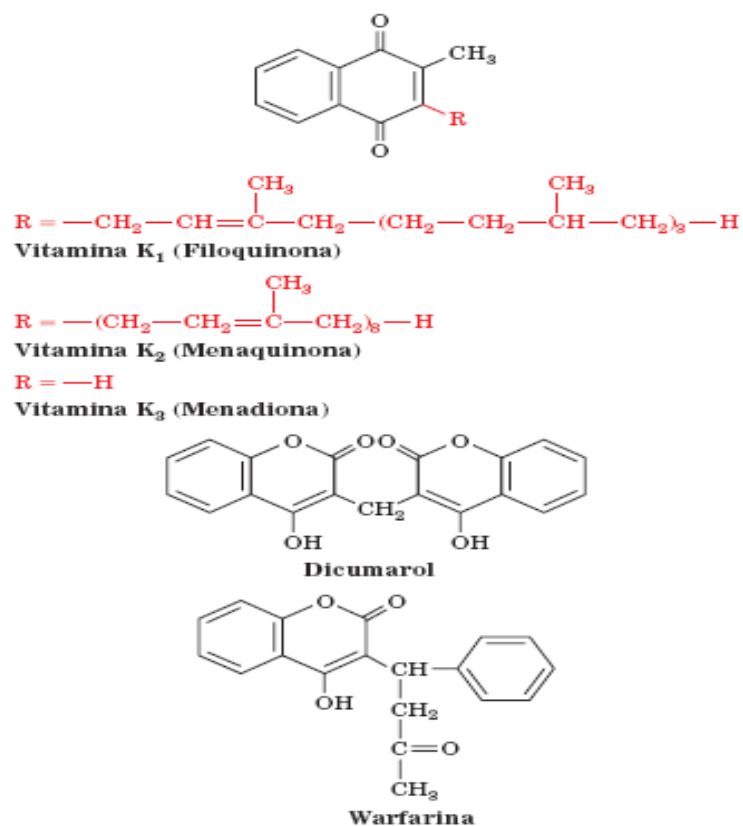
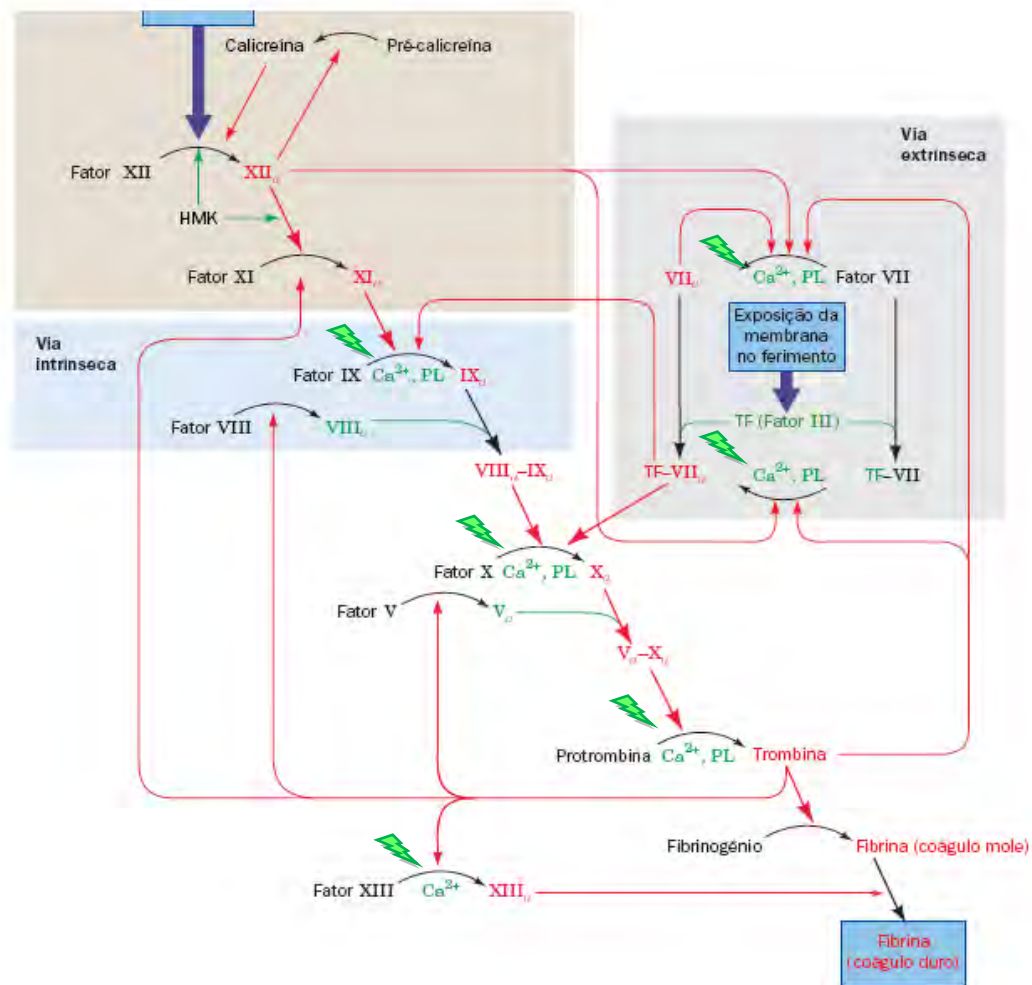


Figura 5: As fórmulas moleculares da vitamina K e dois de seus inibidores competitivos, dicumarol e warfarina. A vitamina K ocorre nas folhas verdes como vitamina K1 (filoquinona) e é sintetizada pelas bactérias intestinais como vitamina K2 (menaquinona). Essas formas da vitamina atuam como aceptores de elétrons no cloroplasto e na fotossíntese bacteriana. O corpo converte o composto-mãe, vitamina K3 (menadiona), em uma forma ativa da vitamina. Fonte: Bioquímica / Donald Voet, Judith G. Voet

Na figura 6, os fatores ativos da coagulação, os quais, com exceção da fibrina, são serino-proteases, são indicados em vermelho, enquanto as setas vermelhas representam a ativação proteolítica pelas serino-proteases dos demais fatores na cascata. De modo similar, os fatores ativos acessórios, incluindo o  $\text{Ca}^{2+}$  e os fosfolípidos de membrana (PL), são indicados em verde. Note as numerosas reações de retroalimentação, que aceleram o processo de coagulação e/ou acoplam as vias intrínsecas e extrínsecas.



**Figura 6: A cascata da coagulação do sangue em seres humanos.**

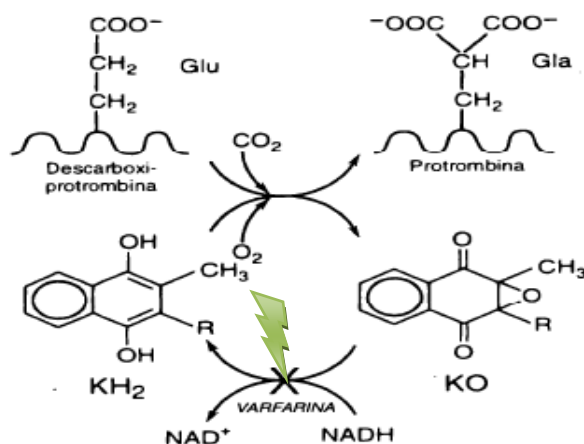
Fonte: Bioquímica / Donald Voet, Judith G. Voet

## 2.4 – Anticoagulante e vitamina K

A varfarina inibe a síntese de vitamina K-dependente nas formas biologicamente ativa do cálcio dependente dos fatores de coagulação II, VII, IX e X, bem como fatores regulatórios da proteína C, proteína S e proteína Z. (Ansell *et al.*, 2004; Freedman, 1992). Outras proteínas que não estão envolvidas na coagulação do sangue, tais como a osteocalcina ou a proteína Gla da matriz, também podem ser afetadas. Os precursores destes fatores exigem carboxilação de resíduos do ácido glutâmico para permitir que os fatores de coagulação se liguem a superfícies dos fosfolípidios no interior dos vasos sanguíneos e no endotélio vascular. A enzima que realiza a carboxilação do ácido glutâmico é a carboxilase gama-glutamil. A reação de carboxilação prosseguirá apenas se a enzima carboxilase for capaz de converter a forma reduzida da vitamina K (vitamina K hidroquinona), e a vitamina K epóxido, ao mesmo tempo. A vitamina K epóxido por sua vez é reciclada de volta em vitamina K e a hidroquinona da vitamina K por outra enzima, a vitamina K epóxido redutase (VKOR). A varfarina inibe a epóxido redutase (Whitlon *et al.*, 1978) especificamente na subunidade VKORC1 (Li *et al.*, 2004; Rost *et al.*, 2004), diminuindo assim a disposição de vitamina K e vitamina K hidroquinona nos tecidos, o que inibe a atividade de carboxilação da carboxilase glutamil. Quando isso ocorre, os fatores de coagulação não são carboxilados em certos resíduos de ácido glutâmico, e são incapazes de se ligar à superfície endotelial dos vasos sanguíneos, e biologicamente inativos. Como os estoques no corpo anteriormente produzidos degradam os fatores ativos (durante vários dias) e é substituído por fatores inativos, o efeito anticoagulante se torna aparente. Os fatores de coagulação são produzidos, mas devido à diminuição da funcionalidade descarboxilada, são referidos

coletivamente, como PIVKAs (proteínas induzidas pela ausência de vitamina K /antagonismo) e fatores de coagulação individual como PIVKA (por exemplo, PIVKA-II). O resultado final do uso de varfarina, portanto, é diminuir a coagulação do sangue no paciente.

Na vitamina K<sub>1</sub>, o R da molécula representa uma cadeia lateral fitil de 20 carbonos; na vitamina K<sub>2</sub>, a cadeia lateral prenil contém de 5 a 65 carbonos. A oxidação em epóxido vitamina K (KO) é acoplada à carboxilação do glutamato (Glu) em resíduos de  $\gamma$ -carboxiglutamato (Gla) das proteínas precursoras do retículo endoplasmático (Mayes, 1994). A reação enzimática do epóxido para gerar vitamina KH<sub>2</sub> que é a etapa sensível à varfarina (Figura 7). Assim, determinou-se que as varfarinas, também denominada drogas anti-vitamina K (AVK), atuam por competição com a vitamina K impedindo a carboxilação dos fatores da coagulação cuja síntese depende da vitamina K como os fatores II, VII, IX e X.



**Figura 7 - Interconversões metabólicas da vitamina K associadas com a modificação de proteínas dependentes da vitamina K.**



As referências originais relativas à interação de anticoagulantes orais com vitamina K consistem em dois estudos experimentais (Karlson *et al.*, 1986). Karlson *et al* (1986) e Pedersen *et al* (1991) determinaram o estado de coagulação antes e depois da adição de vitamina K em uma "dieta normal" de pacientes que foram estabilizados com uma determinada dosagem de anticoagulante oral. Com base nos resultados, se a ingestão diária de vitamina K fosse aumentada para 250 µg, a dose de anticoagulante oral também precisaria ser aumentada (Karlson *et al.*, 1986). O primeiro dia de aumento na ingestão de vitamina K resultou em estado de coagulação fora do limite terapêutico para a maioria dos pacientes onde as ingestões eram maiores que 250 µg (Karlson *et al.*, 1986), esse estudo não achou nenhum efeito na anticoagulação leve depois de uma simples dose de 250 µg de menadione (um composto sintético usado como fonte de vitamina K) ou um dia de ingestão de 250 g de brócolis ou espinafre com um conteúdo de vitamina K calculado em cerca de 200-800 µg.

Porém, uma ingestão contínua desta quantia de vitamina K fez o Tempo de Protrombina (TP) / Razão Normalizada Internacional (INR) aumentar e exceder o limite terapêutico superior dentro de alguns dias. Pedersen *et al* (1991), sugeriu que a variação diária na ingestão de vitamina K para um paciente com uso de anticoagulantes orais não deveria exceder de 250 a 500 µg. Em outro estudo usou-se um cartão no qual se estimava uma ingestão de filoquinona dietética, o cartão K incluía uma lista de alimentos comuns selecionadas, e bebidas que contem vitamina K com conteúdo maior ou igual a 5 µg por porção, sendo que alimentos com conteúdo de vitamina K baixa consumidos em grandes quantidades também contribuíram para somar a ingestão de vitamina K total, concluindo-se então que o cartão deve ser usado por pacientes que

recebem terapia de anticoagulante para determinar as variabilidades dos padrões dietéticos na eficácia da droga anticoagulante e sua segurança (Hussar, 1970)

Existem algumas informações sobre o conteúdo da vitamina K em alimentos (Booth *et al.*, 1993; Weihrauch *et al.*, 1990) e também poucas estimativas do conteúdo de vitamina K na dieta dos pacientes. Tal estimativa seria útil nos seguintes momentos: quando a terapia anticoagulante oral é iniciada; quando se precisa de uma mudança no padrão dietético habitual que alteraria a ingestão de vitamina K; quando uma mudança no TP acontece e isso não pode ser explicada por uma interação da droga ou uma mudança nas condições da doença.

Teoricamente, os pacientes que fazem uso da terapia anticoagulante oral são orientados a manter a ingestão de vegetais em quantidades diárias relativamente constantes, de modo a evitar oscilações importantes dos níveis de anticoagulação. Entretanto, a quantidade ideal de consumo de alimentos vegetais ricos em vitamina K permanece não esclarecida, dificultando tanto a abordagem nutricional como o controle da atividade anticoagulante em pacientes com uso crônico da terapêutica anticoagulante oral.

Quando a dose do anticoagulante oral é estabelecida, a ingestão de vitamina K permitida deve coincidir com a ingestão habitual do paciente sendo que, uma meta razoável seria impedir a flutuação da ingestão diária de vitamina K acima ou abaixo de 250 µg de vitamina K. Pedersen *et al* (1991) no seu estudo sugere que doses diárias de 250 até 500 µg de vitamina K para pacientes que fazem uso de anticoagulante seriam uma ingesta segura sem haver modificações no TP/INR.

As instruções para o paciente que está fazendo uso de anticoagulantes orais são mais relativas à ingestão de alimentos com alto índice de vitamina K, que poderiam

ajudar nas flutuações do limite terapêutico do Tempo de Protrombina (TP) / Razão Normalizada Internacional (INR). Os pacientes que fazem uso de anticoagulantes orais são orientados a evitar ingestão de alimentos ricos em vitamina K, especialmente os vegetais folhosos. Por outro lado, o controle de doenças comuns nesses pacientes, como o Diabetes mellitus, a hipercolesterolemia e o sobrepeso/obesidade, baseiam-se na orientação do consumo de alimentos de origem vegetal. Também poderia se instruir aos pacientes, que consumissem uma grande quantidade de legumes e verduras para aumentar a probabilidade de que serão consumidos certos minerais e vitaminas em quantidades comparáveis aos níveis da RDA (*Recommended Dietary Allowance*), contudo esse consumo deve ser constante para não se alterar o TP. Os vegetais folhosos e as frutas em geral, constituem-se nas principais fontes de vitaminas e minerais essenciais a saúde, assim como importantes fornecedores de fibras alimentares.

## 2.5 – Avaliação nutricional e dietética

Uma avaliação completa do estado nutricional inclui:

1. Histórias médica, social e dietética;
2. Dados antropométricos;
3. Dados bioquímicos;
4. Avaliação clínica; e
5. Revisão do uso de drogas.

As informações colhidas sobre os indivíduos e as populações são usadas como parte da avaliação do estado nutricional. Frequentemente, as histórias dão dicas de quais são os tipos de problemas nutricionais.

O termo história da dieta se refere a uma revisão dos padrões usuais de ingestão de alimentos e às variáveis de seleção de alimentos que ditam a ingestão alimentar. A história nutricional incorpora informações sobre dados de laboratório e dados clínicos assim como da história da dieta, enquanto uma avaliação nutricional normalmente enfoca a ingestão de nutrientes. A ingestão dietética é avaliada ou pela coleta de dados de ingestão retrospectivos ou pelo resumo dos dados de ingestão retrospectivos. Cada método tem seus propósitos, forças e fraquezas. O objetivo é determinar o conteúdo de nutrientes do alimento e a adequabilidade da ingestão para um indivíduo em particular. O método prospectivo registra dados na hora em que o alimento é consumido ou logo após.

A história clínica na avaliação nutricional é direcionada para a identificação de uma possível nutrição inadequada. O paciente deve ser interrogado sobre fatores que interfiram diretamente ou indiretamente no estado nutricional perda ou ganho de peso

ponderal recente, sinais de doenças gastrintestinais, como náuseas, vômitos, diarreia; uso de medicamentos; presença de doenças crônicas ou intervenções cirúrgicas; etilismo e tabagismo (Vannucchi & Marchini, 2007).

Na avaliação das dietas em grupo de indivíduos, com frequência, é de interesse conhecer a proporção de indivíduos que apresenta ingestão acima ou abaixo dos valores recomendados (Slater *et al.*, 2004a). Essa informação pode ser obtida por meio de inquéritos dietéticos que são métodos utilizados para avaliação do consumo alimentar de indivíduos e populações em determinado período de tempo (Duarte & Castellani, 2002).

Em estudos epidemiológicos, os inquéritos dietéticos podem fornecer informações da ingestão alimentar, tanto qualitativas quanto quantitativas, possibilitando dessa forma, relacionar a dieta ao estado nutricional dos indivíduos e ao aparecimento de doenças crônicas (Duarte & Castellani, 2002; Monteiro *et al.*, 2000, Kroke *et al.*, 1999).

Cada método apresenta vantagens, desvantagens e objetivos específicos. Os métodos quantitativos de avaliação do consumo alimentar, como recordatório 24 horas e registro alimentar, são usados quando se deseja conhecer a quantidade de calorias, macro e micronutrientes ingerida. Já pelo método qualitativo, em que se usa questionário de frequência de consumo alimentar (QFCA), se prevê a coleta das informações, sem adição do tamanho das porções. O objetivo é conhecer o hábito alimentar do paciente (Duarte & Castellani, 2002). Podemos classificar também como métodos prospectivos que registram a informação presente, entre eles podemos citar o registro alimentar de 7 dias e métodos retrospectivos que colhem a informação do

passado imediato ou de longo prazo: questionário de frequência alimentar e questionário habitual.

Obter de maneira acurada a ingestão alimentar habitual de um indivíduo é um grande desafio devido a questões como ocorrência frequente de subestimativas e grande variabilidade no dia-a-dia (variação intrapessoal). Por causa da variação intrapessoal, o número de dias de avaliação e o tipo de instrumento utilizado podem influenciar de maneira significativa na obtenção do consumo habitual (Cupari, 2001).

O recordatório 24 horas é utilizado para verificar a ingestão alimentar assim como para monitorar a adesão à prescrição dietoterápica. Deve ser realizado em um período de 24 horas, geralmente avaliando o dia anterior ao inquérito. É um método simples, fácil e necessita de pouco tempo e material para ser aplicado. Sua principal limitação é que um único dia de inquérito pode não caracterizar o consumo habitual, devido às 24 horas avaliadas terem sido atípicas. Para tentar minimizar esse erro, aconselha-se a realização de pelo menos três recordatórios, incluindo um dia referente ao final de semana. Outras limitações desse método seriam as dificuldades de caracterizar o tamanho das porções e a capacidade de memória do entrevistado (Duarte & Castellani, 2002).

O registro alimentar consiste na anotação simultânea de todos os alimentos e bebidas consumidas em um período de tempo. O paciente, ou seu representante, faz as anotações em casa e o número de dias incluídos no registro pode variar, sendo comum a realização de três dias apresenta a vantagem de ser mais rápido e menos cansativo para o paciente. Deve-se registrar pelo menos um dia no final de semana, por esse ser um dia geralmente atípico (Duarte & Castellani, 2002).

Esse método tem como vantagem a facilidade de realização do registro em casa, não necessitando da memória do paciente. A omissão das refeições parece ser mínima. Porém, o paciente deve ser bem instruído da forma exata de registrar o alimento de preferência logo após a sua ingestão. Para isso é necessário que o paciente seja alfabetizado, sendo que o consumo de refeições fora de casa pode dificultar o registro (Duarte & Castellani, 2002).

O questionário de frequência de consumo alimentar (QFCA) é uma revisão retrospectiva da frequência de ingestão de alimentos consumidos por dia, semana ou mês. Para facilitar a avaliação, o quadro de frequência alimentar organiza os alimentos em grupos que têm nutrientes em comum (Mahan & Escot-stump, 2002). O QFCA tem sido o método de avaliação dietética mais frequentemente utilizada em grandes estudos: primeiro, porque é fácil de ser aplicado, é menos dispendioso do que outros métodos e proporciona uma rápida estimativa da ingestão habitual (Mckeown *et al.*, 2000; Kroke *et al.*, 1999). Este pode ser qualitativo ou semiquantitativo e consiste numa lista definida de itens alimentares para os quais os entrevistados devem indicar a frequência do consumo em um período de tempo determinado. A determinação das categorias de frequência (vezes/dia, vezes/semana, mensal e raramente ou nunca) minimiza os erros da aferição (Duarte & Castellani, 2002; Pereira & Koifman, 1999).

A aplicação do questionário pode ser feita por entrevistador treinado minimizando a chance de erros, e suas limitações incluem dependência de memória de hábitos do passado e o tempo gasto em sua realização (Duarte & Castellani, 2002).

A confiabilidade e a validade destes métodos de registros dietéticos são preocupações importantes. A validade é o grau em que o método avalia realmente a ingestão usual. Todas as vezes que a atenção é dirigida para a dieta de um indivíduo, a

pessoa pode consciente ou inconscientemente alterar sua ingestão para simplificar os registros ou impressionar o entrevistador, conseqüentemente diminuindo a validade das informações. A confiabilidade desses métodos refere-se à consistência dos dados obtidos. Para ter significado, os dados de ingestão da dieta devem refletir os padrões alimentares típicos do indivíduo. Os lapsos de memória, conhecimento impreciso dos tamanhos das porções e quantidades consumidas super ou subestimadas comprometem a confiabilidade de qualquer método de ingestão alimentar (Mahan & Escot-stump, 2002).

O registro alimentar de 7 dias documenta a ingestão dietética conforme ela ocorre e é com frequência usado em pacientes fora da clínica. Um registro alimentar é normalmente mais preciso se o alimento consumido for registrado no mesmo dia. A ingestão de nutriente é calculada e feita a média no final de um período de 7 dias, e então comparada à RDA.

O uso simultâneo de ambos, questionários de frequência de consumo alimentar e registro alimentar, chamado de informações cruzadas, melhora a precisão das estimativas de ingestão (Mahan & Escot-stump, 2002).



## 2.6 – Recomendações nutricionais

Para estimar a prevalência de inadequação da ingestão de determinado nutriente, é necessário calcular seu consumo pelo grupo populacional de interesse, comparando-o com padrões de referência. As Ingestões Dietéticas de Referência (*Dietary Reference Intakes – DRI*) desenvolvidas inicialmente para americanos e canadenses são estimativas quantitativas para o planejamento e avaliação de dietas de populações saudáveis. Incluem as RDA (*Recommended Dietary Allowance*) como metas de consumo para indivíduos, e mais três valores adicionais: AI (*Adequate Intake*), EAR (*Estimated Average Requirement*) e UL (*Tolerable Upper Intake Level*) (Slater *et al.*, 2004).

- Ingestão Dietética Recomendada (*Recommended Dietary Allowance / RDA*): é o nível de ingestão dietética diária que é suficiente para atender às necessidades de um nutriente de praticamente todos os indivíduos saudáveis (97% a 98%) de um determinado grupo do mesmo gênero e estágio de vida (ILSI Brasil, 2006).

- Necessidade média estimada (*Estimated Average Requirement / EAR*) é um valor de ingestão diária de um nutriente que se estima que supra a necessidade de metade (50%) dos indivíduos saudáveis de um determinado grupo do mesmo gênero e estágio de vida. Conseqüentemente, metade da população teria, a esse nível, ingestão abaixo de suas necessidades (ILSI Brasil, 2006).

- Ingestão Adequada (*Adequate Intake / AI*): utilizada quando não há dados suficientes para a determinação da RDA. Baseia-se em níveis de ingestão ajustados experimentalmente ou em aproximações da ingestão observada de nutrientes de um grupo aparentemente saudável de indivíduos (ILSI Brasil, 2006).

- Limite Superior Tolerável de Ingestão (*Tolerable Upper Intake Level / UL*): é o valor mais alto de ingestão diária continuada de um nutriente que aparentemente não oferece nenhum efeito adverso à saúde em quase todos os indivíduos de um estágio da vida ou gênero. À medida que a ingestão aumenta além do UL, o risco potencial de efeitos adversos também aumenta (ILSI Brasil, 2006).

## 2.7 – Avaliação antropométrica

A antropometria é o conjunto de técnicas que tem como objetivo o estudo das características mensuráveis da morfologia humana: é caracterizada por ser universalmente aplicada, prática, barata e não-invasiva. É empregada na avaliação das proporções do tamanho e da composição corporal do ser humano, e para selecionar indivíduos e populações que necessitam de intervenção de saúde e nutrição (Manuila *et al.*, 1997; Onis & Habicht, 1996).

A finalidade das medidas antropométricas é identificar a qualidade e distribuição dos principais determinantes composicionais do peso corporal (Shils *et al.*, 2003). Dentre as técnicas, encontramos medidas de peso e altura, composição massas gorda e magra e alguns índices que avaliam o risco de desenvolver doenças (Waitzberg, 2000).

O peso corporal é a soma de todos os componentes (massa gorda, massa magra, tecido ósseo e vísceras) em cada nível da composição corporal. É uma medida grosseira das reservas corporais totais de energia e proteínas (Shils *et al.*, 2003).

O índice de massa corpórea (IMC) apresenta limitações por não separar a massa gorda da massa magra (Kyle *et al.*, 2004) e não determinar a forma de distribuição da gordura, que tem importante implicação na saúde (Aronne & Segal, 2002). Contudo, é um índice recomendado para definir obesidade baseada na sua correlação com alta concentração de gordura corporal (Onis & Habicht, 1996).

Contudo, a antropometria isoladamente não pode definir o estado nutricional. A interpretação dos resultados antropométricos depende, portanto, da compreensão das relações entre as avaliações clínicas, antropométricas, dietéticas e bioquímicas. (Trowbridge, 1979).

## **2.8 - Avaliação bioquímica**

Para complementar o exame físico, a análise da composição corporal e a anamnese alimentar, pode-se realizar exames laboratoriais gerais ou específicos (Vannucchi & Marchini, 2007; Duarte & Castellani, 2002). Os exames laboratoriais constituem um método direto de avaliação do estado nutricional porque possibilita a identificação e a interpretação das alterações bioquímicas que ocorrem no organismo em função da insuficiência e/ou excesso de consumo alimentar, podendo ser utilizados para auxiliar na análise do estado nutricional do indivíduo (Vannucchi & Marchini, 2007; Vasconcelos, 2000).

## 2.9 - Estudos do polimorfismo de genes envolvidos com a vitamina K

Particularmente promissora, parece ser a aplicação da farmacogenética dos inibidores da vitamina K, como a varfarina, na previsão da resposta aos fármacos, pela análise do patrimônio genético do indivíduo. As investigações de farmacogenética têm incidido em polimorfismo (*single nucleotide polymorphisms-SNPs*) funcional em um gene associado a uma resposta diferencial à varfarina: o gene CYP2C9 (Shurin *et al.*, 2008; Flockhart *et al.*, 2008; Gage *et al.*, 2004; Anderson *et al.*, 2007; Schwarz *et al.*, 2008). Por sua vez, o gene CYP2C9 influencia a farmacocinética da varfarina. Este gene codifica a enzima CYP2C9 do citocromo P450-2C9, responsável pela metabolização hepática do fármaco (inativação do S-enantômero da varfarina). Comparativamente ao alelo CYP2C9\*1, os polimorfismos c.430T (alelo CYP2C9\*2) (Rettie *et al.*, 1994) e c.1075C (alelo CYP2C9\*3) (Sullivan-Klose *et al.*, 1996) causam redução da atividade enzimática em 30% e 80%, respectivamente (Aithal *et al.*, 1999; Yin T e Miyata T, 2007), permitindo que o fármaco permaneça ativo por mais tempo.

Conseqüentemente, os portadores destes alelos requerem uma menor posologia para atingir a dose estável e estão em maior risco de sobredosagem ou de eventos hemorrágicos. Ao invés, a ausência desses alelos predispõe a rápida inativação da varfarina (D'Andrea *et al.*, 2008). A presença de variantes deste gene nas diferentes populações explica a conhecida variabilidade étnica de resposta à varfarina necessidades posológicas mais elevadas na raça negra do que nos caucasianos, e menor necessidade posológica nos asiáticos (Johnson JA, 2008 e Takahashi *et al.*, 2006). Além disso, diversos estudos têm demonstrado alterações da farmacocinética e farmacodinâmica da varfarina associadas às variantes do gene CYP2C9 em até 1/3 dos

doentes (Flockhart *et al.*, 2008). Os polimorfismos destes genes conjugados com a idade, sexo e índice de massa corporal são responsáveis por 50% da variabilidade na resposta à varfarina. Contudo, os restantes 50% serão justificados por outros genes ainda não identificados ou sob investigação, e por fatores não genéticos – hábitos tabágicos, co-morbididades, interações medicamentosas e hábitos alimentares.

O polimorfismo genético do citocromo P-450 CYP2C9 catalisa a conversão do enantiômetro mais potente S-varfarina em seus metabólitos inativos, com 100% de atividade para o alelo CYP2C9\*1. Respectivamente, os alelos CYP2C9\*2 e CYP2C9\*3 têm 12 e 5% da atividade enzimática.

Já o gene controlador de uma enzima conhecida como CYP2C9 é responsável por cerca de 10% da diferença entre pacientes na resposta à warfarina. Segundo Sconce *et al* (2005a), a dosagem da varfarina tem sido descrito com base na idade, altura, Genótipos CYP2C9 e VKORC1. Esta dosagem foi avaliada em uma população de pacientes em terapia da varfarina e houve uma estreita relação entre as doses calculadas e doses reais utilizando essas bases.

Vecsler *et al* (2006) analisou a influência de polimorfismos em vários genes com a dose requerida de varfarina. Os genes estudados foram o CYP2C9, VKORC1, calumenin (CALU), gammaglutamyl carboxilase (GGCX), e microsomal epóxido hidroxilase (EPHX1). A dose da varfarina foi predominantemente determinada pelo polimorfismo dos genes VKORC1 e CYP2C9 que, em conjunto, explicou 63% da variação na dose. Polimorfismos em dois genes (VKORC1 e CYP2C9) são particularmente importantes no uso da varfarina, e podem explicar pelo menos 10% da variação da dose entre os pacientes (Wadelius *et al.*, 2005), principalmente entre pacientes caucasianos, mais essas variantes são raras em populações de africano-

americanos e asiáticos (Sanderson *et al.*, 2005). O polimorfismo CYP2C9 não influenciou no tempo do INR eficaz ao contrario do VKORC1, que faz encurtar o tempo de INR > 4 (Schwarz *et al.*, 2008).

Segundo o estudo de Aquilante *et al* (2006), fatores genéticos e não genéticos que influenciam a dose da varfarina foram investigadas. Trezentos e cinquenta pacientes usuários de doses estáveis de varfarina, principalmente os caucasianos, foram investigados por polimorfismos no fator II, fator VII, fator X, genes VKORC1 e CYP2C9. Os determinantes mais importantes da dose foram os polimorfismos VKORC1, CYP2C9 e fatores não genéticos. Os fatores incluídos que contribuíam para aumentar a dose de varfarina são: aumento de peso, fumante, indutores concomitante da CYP2C9, alcançar o objetivo do INR, inserção do fator X / exclusão genótipo, inserção do fator X/ inserção genótipo, exclusão do fator VII / exclusão do genótipo, e da ingestão de vitamina K.

O polimorfismo CYP2C9 foi relacionado à predisposição de complicações hemorrágicas em pacientes em uso de ACO (Schwarz *et al.*, 2008 e Lima *et al.*, 2008).

A warfarina-S é clivada principalmente pelo citocromo P450 (CYP) 2C9. As duas variações alélicas mais comuns, CYP2C9\*2 e CYP2C9\*3 codificam versões defeituosas do CYP2C9, que catabolizam a warfarina mais lentamente, requerendo doses menores para a resposta terapêutica e levando a um maior risco de sangramento com as dosagens usuais (Tabela 1).

**Tabela 1: Correlacionando as variações alélicas de CYP2C9 com a metabolização da varfarina e as suas respectivas sugestões de doses a serem utilizadas.**

Alelo CYP2C9	Frequência	Metabolização	Dose diária (mg)
<b>*1*1 (tipo selvagem)</b>	<b>56 %</b>	<b>Extensivo 100%</b>	<b>5 mg</b>
<b>*1*2 (variante)</b>	<b>22 %</b>	<b>Intermediária</b>	<b>2,50 a 2,70 mg</b>
<b>*1*3 (variante)</b>	<b>14 %</b>	<b>50 % a 70 %</b>	
<b>*2*2 (variante)</b>	<b>3 %</b>	<b>Inferior</b>	
<b>*2*3 (variante)</b>	<b>4 %</b>	<b>10 % a 15 %</b>	<b>1,50 a 1,70 mg</b>
<b>*3*3 (variante)</b>	<b>1 %</b>		

*Fonte: Herman et al, Pharmacogenomics J 2005.*

O limite entre a dose terapêutica e a dose tóxica da varfarina é tênue e, com frequência, a quantidade necessária para o controle da anticoagulação em cada pessoa varia muito. Com a análise do polimorfismo do gene CYP2C9, a definição desse limite ficaria mais fácil, uma vez que o teste permite estimar a dose inicial de varfarina de que um paciente realmente necessita, minimizando o risco de sangramentos.

Atualmente, estão em curso ensaios clínicos em larga escala que permitirão estabelecer a correspondência entre o genótipo e a posologia mais adequada para a terapêutica anticoagulante, tendo em vista aperfeiçoar o ajuste terapêutico, reduzindo o



período de tempo até à obtenção da anticoagulação eficaz e diminuindo o risco de eventos hemorrágicos associado a este tratamento.

Recentemente, a Foods and Drugs Administration (FDA) aprovou a utilização dos testes genéticos da metabolização da varfarina na prática clínica. Contudo, até que existam fortes evidências que substanciem a utilização da farmacogenética para guiar a terapêutica anticoagulante, os autores acreditam que os testes genéticos devem ser preferencialmente utilizados para avaliar doentes com resposta inesperada à varfarina, como sucedia com estes pacientes. Estudos preliminares sugerem que nestes pacientes portadores de múltiplas variantes alélicas, a informação quanto ao perfil genético pode contribuir com os regimes posológicos dirigidos e reduzir a ocorrência de INR supram ou infraterapêutico.

## 2.10 - Vários estudos envolvendo a vitamina K

Hodges *et al* (1991, 1993) relataram que baixos níveis circulantes de filoquinona e menaquinona podem ser associados com fraturas osteoporóticas de quadril. Como comentado por Vermeer *et al* (1998), isso levou a outros estudos em que a osteocalcina descarboxilada (ucOC) foi utilizada para ser um marcador sensível do risco de fratura de quadril (Szulc *et al.*, 1993, 1994; Sokoll *et al.*, 1997). Além disso, Feskanich *et al* (1999) e Booth *et al* (2000<sub>a</sub>) observaram que a baixa ingestão dietética de vitamina K aumenta significativamente o risco de fratura da anca. Por outro lado, resultados contraditórios também são relatados, onde não foi encontrada associação entre a ingestão de vitamina K e a densidade mineral óssea (Rosen *et al.*, 1993; Booth *et al.* 2000<sub>a</sub>). Embora os dados atuais sugiram uma associação entre a deficiência de vitamina K no desenvolvimento da osteoporose, a evidência dos efeitos benéficos da vitamina K não é tão atraente como no caso da vitamina D (Binkley e Suttie, 1995; Shearer, 1997), merecendo maiores estudos.

Dorês *et al* (2001), afirma em seu estudo, que o feijão é um importante alimento na dieta dos brasileiros, no seu estudo foi identificado como o alimento que contribui significativamente para suprir as necessidades de vitamina K em 115 pacientes ambulatoriais de Hospital do interior do Estado de São Paulo, por meio de estudo longitudinal empregando o questionário de frequência alimentar (Dôres *et al.*, 2001).

Uma análise recente de mais de 260 alimentos frequentemente consumidos nos EUA revelou que existem muitas fontes alimentares de vitamina K<sub>1</sub> que têm sido negligenciadas. Alimentos que são pobres em vitamina K<sub>1</sub> em sua forma crua podem ter papel importante se forem processados, utilizando-se óleos ricos em vitamina K<sub>1</sub> (Booth,

1996<sub>a</sub>). As maiores concentrações da vitamina são encontradas nas folhas externas quando comparadas às folhas mais internas. A casca das frutas e dos vegetais parece ter maiores concentrações da vitamina do que a polpa. Fatores como a estação do ano, o clima, local geográfico e a fertilização do solo afetam as concentrações de vitamina K<sub>1</sub> nos alimentos (Dôres *et al.*, 2001). Um dos maiores problemas quanto à obtenção dos teores de vitamina K<sub>1</sub> da dieta é aquele relacionado com as próprias tabelas de composição dos alimentos.

Uma síntese considerável de vitamina K<sub>2</sub> é feita pelas bactérias gram-positivas presentes no trato intestinal, determinando quantidades de vitaminas K<sub>2</sub> nas fezes humanas e de animais (Bentley, 1982). Não se conhece a quantidade total de vitamina K<sub>2</sub> sintetizada pelas bactérias intestinais, mas parece ser insuficiente para preencher sozinhas as necessidades orgânicas de vitamina K (Paiva *et al.*, 1998; Roncada, 1998). A maioria dos trabalhos não confirma que a vitamina K<sub>2</sub> sintetizada pela microflora intestinal seja diretamente absorvida no cólon (Conly, 1993; Conly, 1994; Mourão *et al.*, 2005).

Alguns fatores como interação com outros nutrientes ou componentes da dieta e as condições fisiológicas dos organismos submetidos ao estudo podem interferir na absorção e utilização da vitamina K. (Mourão, 2005). A absorção da vitamina K<sub>1</sub> ocorre por um processo ativo, nas porções proximais do intestino delgado; as vitaminas K<sub>2</sub> e K<sub>3</sub> são absorvidas por difusão na porção distal do intestino delgado e no cólon. As vitaminas K<sub>1</sub> e K<sub>2</sub> ligam-se aos quilomícrons e são transportadas ao fígado por via linfática e requerem bile e suco pancreático para máximo aproveitamento. A vitamina K<sub>3</sub> e seus derivados hidrossolúveis são absorvidos diretamente para a corrente sanguínea.

Um dos primeiros estudos sobre o metabolismo da vitamina K em humanos demonstrou que cerca de 20% de uma dose oral de K<sub>1</sub> marcada, foram excretados nas fezes, sugerindo uma absorção de 80%. A eficiência de absorção da K<sub>1</sub> pode ser muito variada, sendo menos eficiente em folhas verdes, nas quais a vitamina está intimamente ligada às membranas dos tilacóides nos cloroplastos. Nos alimentos processados, como no caso dos óleos, margarina e produtos lácteos, a absorção da vitamina K<sub>1</sub> é mais eficiente (Mourão, 2005).

A vitamina K é armazenada no fígado como K<sub>1</sub> e/ou K<sub>2</sub>, além de estarem presentes em baixas concentrações nos nódulos linfáticos, glândulas supra-renais, pulmões, rins e medula óssea. O armazenamento de vitamina K no fígado é limitado. A vitamina K é transportada aos diversos tecidos por via sanguínea, associada às lipoproteínas, não existindo proteína carregadora específica. A excreção da vitamina K<sub>1</sub> é feita pela bile e urina; a vitamina K<sub>3</sub> é reduzida para a forma diol (hidroquinona) e excretada na bile (Marcus, 1996).

A administração do óleo mineral reduz a absorção de vitamina K, assim como a disfunção biliar e pancreática, doença celíaca e esteatorréia idiopática, podendo determinar hipoprotrombinemia e tendência à hemorragia. Hipoprotrombinemia pode também ser precipitada pela esterilização do intestino com sulfas e antibióticos, que determinam perda da microflora intestinal. A deficiência de vitamina K pode ocorrer nos pacientes debilitados em pós-operatório, especialmente naqueles com nutrição parenteral prolongada, além daqueles recebendo doses farmacológicas das vitaminas A e E (Marcus, 1996; Roncada, 1998).

As recomendações dietéticas (Recommended Dietary Allowances - RDA) para a vitamina K foram estabelecidas pela Food and Nutrition Board para crianças, homens,

mulheres, gestantes e lactantes, pela primeira vez na sua décima edição (1989), e sua recomendação é de 1 µg/kg de peso/dia (Marcus, 1996). A RDA é o nível diário de entrada dietética média suficiente (97 a 98 %) com a exigência nutricional de quase todos os indivíduos saudáveis. Já a referência de ingestão dietética (Dietary Reference Intakes (DRIs - 2001) mais atualizadas recomenda a ingestão diária de vitamina K para homens de 120 µg e mulheres de 90 µg). Entretanto, tal recomendação pode não ser suficiente para prevenção da deficiência subclínica de vitamina K, além de não resultar em um valor máximo de carboxilação da osteocalcina.

A atual ingestão recomendada de vitamina K dietética: Recommended Dietary Allowance (RDA) dos E.U.A. e Dietary Reference Value (DRV) do Reino Unido são baseadas apenas sobre o papel da vitamina K na coagulação do sangue. De acordo com eles uma adequada ingestão alimentar é de 1 mg/kg (peso corporal) por dia (Olson, 1987; Food and Nutrition Board, 1989). Antes que novas recomendações possam ser dadas, mais pesquisas sobre a importância da vitamina K no metabolismo ósseo é necessária. Também a biodisponibilidade das formas de vitamina K em diferentes fontes alimentares, bem como de menaquinonas sintetizadas pela microflora intestinal, onde deve se ter uma melhor clareza. Por esta razão, tem-se um interesse em aumentar a ingestão de vitamina K para manutenção da saúde óssea (Garber *et al.*, 1999).

Até o momento, os meios de se medir os requerimentos humanos de vitamina K são baseados somente através da coagulação. A ingestão usual de vitamina K em países ocidentais é estimada em 150-500 µg diariamente (Olson, 1988), quantidade essa bem acima do requerimento dietético estabelecido.

Ao contrário das outras vitaminas lipossolúveis, os estoques de vitamina K diminuem rapidamente de 2 a 3 dias se a ingestão é deficiente (Olson, 1988; Suttie,

1990; Udall, 1965). Esta informação se torna útil para uma avaliação do estado de vitamina K de um paciente que tem uma baixa ingestão de alimentos ricos por uma semana ou por mais tempo. Um método analítico bom para medir o conteúdo de vitamina K<sub>1</sub> de alimentos e tecidos não estava disponível até meados dos anos 80, quando um método de cromatografia líquida de alto-desempenho foi desenvolvido (Haroon *et al.*, 1986).

A vitamina K avaliada em alimentos determinados por este método foi compilada, avaliada, e publicada através de duas tabelas nos Estados Unidos (Booth *et al.*, 1993; Weihrauch, 1990), atualmente podemos contar com uma tabela publicada pela USDA (USDA – National Nutrient Database for Standard Reference. Release 19) que é a tabela mais completa atualmente e com um maior número de alimentos, ainda assim existem controvérsias em relação aos valores da vitamina K em alimentos. Um estudo de Koivu-Tikkanen (2000) avaliou algumas tabelas (tabela 2) e verificou que há uma grande variação nos valores reportados nas verduras e legumes, portanto não se sabe se a variação é biológica ou analítica de acordo com a origem de cada tabela (Booth *et al.*, 1997).

**Tabela 2. Conteúdo de filoquinona em certos alimentos vegetais (g/100 g).**

Alimentos	Estudo 1	Estudo 2	Estudo 3	Estudo 4	Estudo 5	Estudo 6
Brócolis	205	178	147-230	113	179	91-136
Cenoura	11	-	4-11	-	6	16-23
Couve flor	25	-	5	20	31	20
Folha de alface	123	519-1180	210	-	129	160
Ervilha	33	-	33-39	-	34	28
Espinafre	385	1001-1439	240-1220	360	380	270
Tomate	6	-	6-7	3	6	4,4-5,7
Repolho branco	55	72-228	46-584	-	618	54-73

1) Langenberg et al., 1986, 2) Ferland and Sadowski, 1992a, 3) Weihrach and Chatra, 1993, 4) Booth et al., 1995<sub>a</sub>, 5) Shearer et al., 1996, 6) Koivu-Tikkanen, 2000. Adaptada de Koivu-Tikkanen, 2000.

A maioria dos estudos publicados envolvendo a vitamina K têm se concentrado nos alimentos vegetais, que naturalmente contêm apenas filoquinona. Por outro lado, durante o processamento de alimentos também compostos de vitamina K outros podem ser formadas, incluindo dihidrofiloquinona em óleos hidrogenados (Davidson *et al.*, 1996) e menaquinonas em produtos de soja fermentados (Shino, 1988). Níveis de Filoquinona entre vários vegetais diferem o que é muito considerável, é geralmente aceito que conteúdos de filoquinona se correlacionam com a intensidade da cor verde nestes itens. Os montantes mais elevados (mais de 300 µg/100 g) foram encontrados em verdes escuros, legumes, por exemplo, como espinafre e couve (Langenberg *et al.*,

1986; Shino, 1988; Ferland e Sadowski, 1992<sub>a</sub>; Weihrauch e Chatra, 1993; Booth *et al.*, 1994, 1995<sub>a</sub>; Careri *et al.*, 1996; Shearer *et al.*, 1996).

Níveis de filoquinona também são elevados, entre outros vegetais verdes; conteúdos relatados em alfaces e couves variam entre 50-200µg/100g, enquanto os vegetais amarelos e vermelhos, assim como nas culturas de raiz contém filoquinona apenas em pequenas quantidades (1-25 µg/100 g) (Langenberg *et al.*, 1986; Ferland e Sadowski, 1992<sub>a</sub>; Weihrauch e Chatra, 1993, Booth *et al.*, 1994; Careri *et al.*, 1996; Jakob e Elmadfa, 1996; Shearer *et al.*, 1996).

A situação é a mesma para as frutas, em que é relatada a quantidade de filoquinona em menos de 5 µg/100 g, apenas os frutos verdes, como o abacate, contêm mais filoquinona (40 µg/100 g) (Weihrauch e chatra, 1993 ; Booth *et al.*, 1995<sub>a</sub>; Shearer *et al.*, 1996).

A maioria dos produtos à base de cereais contém menos de 5 µg por 100 g de filoquinona, exceto produtos de panificação com alto teor de gordura, por exemplo, biscoitos e bolos (13-25 µg/100 g) (Weihrauch e chatra, 1993, Booth *et al.* 1994, 1995<sub>a</sub>; Shearer *et al.*, 1996).

Ferland e Sadowski (1992<sub>a</sub>) compararam o conteúdo de filoquinona em cinco hortaliças diferentes e cultivadas em dois locais distintos e observaram diferenças significativas. Por exemplo, no caso da couve variou de 621 µg/100g a 1657 µg/100g. Eles sugeriram que as possíveis variações podem ser em razão das diferenças de clima, solo e condições no crescimento.

Além das verduras, os óleos vegetais são importantes fontes alimentares de filoquinona. Óleo de soja em vários relatos contém mais de 100 mg/100 g de filoquinona (Zonta e Stancher, 1985; Ferland e Sadowski, 1992<sub>b</sub>; Weihrauch e Chatra, 1993;



Moussa *et al.*, 1994; Gao e Ackman, 1995; Shearer *et al.*, 1996; Cook *et al.*, 1999). Níveis de filoquinona também são moderados no azeite de oliva (49-82  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ), enquanto que outros óleos, como os óleos de girassol e milho, que contém menos de 10  $\mu\text{g}/100\text{g}$  (Ferland e Sadowski, 1992<sub>b</sub>; Weihrauch e Chatra., 1993 ; Jakob e Elmadfa, 1996; Shearer *et al.*, 1996; Cook *et al.*, 1999). A grande variação parece ocorrer também no conteúdo de filoquinona nos óleos, provavelmente como consequência das diferenças nos métodos industriais e matérias-primas utilizadas na hora da produção (Zonta e Stancher, 1985, Gao e Ackman, 1995).

No caso das margarinas o teor de gordura e as matérias-primas nos produtos afetam muito o teor de filoquinona, geralmente os valores moderados têm sido relatados em diversas margarinas consumida no Estados Unidos (15 a 161  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) (Weihrauch e Chatra, 1993; Booth *et al.*, 1995<sub>a</sub>; Cook *et al.*, 1999).

No Brasil não existe uma tabela com o conteúdo desta vitamina, dificultando mais ainda o conhecimento destes valores em nossos alimentos, onde não podemos afirmar a quantidade correta dessa ingestão em pacientes que requerem um controle maior de ingestão desta vitamina, um exemplo é a tradução da única tabela confiável existente em inglês para o português onde a verdura couve pode ser dois alimentos na tabela chamados de kale ou collards.

As fibras alimentares estão presentes nos tecidos de origem vegetal, são compostos por resíduos que resistem à hidrólise através das enzimas digestivas e que desempenham funções importantes no organismo como: intervenção no metabolismo dos lipídeos e carboidratos e na fisiologia do trato gastrointestinal (Campos, 1998). Os vegetais verdes escuros, principal fonte da Vitamina K, são também fonte abundante de vitaminas C, ácido fólico e precursores do beta-caroteno, que juntamente com a

vitamina A e E possuem função antioxidante importante no sistema imune e prevenção de doenças cardiovasculares (Bendich, 1993; Marcus, 1996). Estes alimentos dificultam a abordagem dietoterápica principalmente dos pacientes com sobrepeso /obesidade, hipercolesterolemia, entre outras, que fazem uso de anticoagulante oral, uma vez que a ingestão de fibras seria uma das orientações recomendadas.

## 2.11 – Futuros estudos sobre a vitamina K.

Booth *et al* (2007), observou no seu estudo que a primeira meta-análise de avaliação dos dados sobre o papel da vitamina K e da saúde óssea concluiu que um aumento da ingestão de vitamina K é necessário para reduzir a perda óssea e o risco de fraturas entre os idosos. Esta meta-análise também destacou os pontos fracos dos dados disponíveis sobre a nutrição da vitamina K no idoso.

Estudos bem controlados com medidas adequadas do status da vitamina K são poucos, e pouco se sabe sobre os subgrupos da população, se haveria algum grupo que pudesse se beneficiar com a suplementação da vitamina K, além do que pode ser obtido na dieta.

Houve um número desproporcional de estudos realizados exclusivamente em mulheres pós-menopáusicas, com poucos conhecimentos sobre o status da vitamina K em homens idosos.

Estudos recentes sugerem que os determinantes não dietéticos do status de vitamina K precisam ser retomados em qualquer discussão sobre a adequação do estado nutricional do idoso.

Uma área promissora de pesquisa, entre muitos neste campo, é a inter-relação entre estrogênio e vitamina K.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 – Objetivo geral:**

O objetivo deste estudo é avaliar a relação da prescrição dietética balanceada em vitamina K com o tempo de protrombina, níveis séricos de vitamina K, dose de anticoagulantes orais e polimorfismo genético CYP2C9.

#### **3.2 – Objetivos específicos:**

Avaliar o efeito de uma orientação sobre a ingestão de vitamina K em relação ao INR dos pacientes usuários de anticoagulantes orais (ACO).

Analisar a concentração da vitamina K sérica e sua relação com a dose dos anticoagulantes orais e o INR.

Investigar a frequência das variantes do polimorfismo no gene CYP2C9 em relação à dose dos anticoagulantes e o INR.

## **4. CASUÍSTICA E MÉTODO**

### **4.1 – Local e Aspectos éticos:**

O estudo foi conduzido no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia de São Paulo (IDPC) no setor de valvopatias / seção de anticoagulação. Esta pesquisa foi aprovada pelos Comitês de Ética da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP / Escola Paulista de Medicina (processo nº 1944/07) (anexo 1) e do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia de São Paulo (processo nº 3660) (anexo 2).

### **4.2 – População estudada:**

Foram selecionados 90 pacientes do IDPC, aleatoriamente, para avaliação nutricional, no período de 2005 a 2007 (Figura 8). Destes, 66 pacientes cardiopatas, usuários de anticoagulantes orais há mais de 4 anos, concordaram em participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido / TCLE (anexo 3).

Dados de identificação dos pacientes foram registrados num banco de dados eletrônico em planilhas usando o programa Excell da microsoft.

Para a determinação da dose diária de anticoagulante oral (mg/dia) foram consideradas a apresentação do medicamento (Marevan®, 5 mg/comprimido ou Macomar® 3mg/comprimido) e a posologia prescrita.

### **4.3 - Critérios de inclusão**

Os critérios de inclusão foram: concordância voluntária na participação da pesquisa; ter capacidade cognitiva e ser alfabetizado para responder ao questionário; não usar suplementos vitamínicos ou minerais; ser maior de 18 anos; usar anticoagulantes orais há mais de 4 anos e estar em acompanhamento no setor de anticoagulação do IDPC por pelo menos 4 anos.

### **4.4 - Critérios de exclusão**

Não foram incluídos no estudo pacientes que faziam uso de suplementos vitamínicos ou minerais, que entregaram o registro alimentar de 7 dias incompletos, pacientes desligados do setor de anticoagulação (alta do uso da varfarina ou falta de aderência ao uso da varfarina).