

Curva de distribución de vitamina A sérica para niños de 2 a 6 años con estado adecuado de vitamina A: una población de referencia *

Hernando Flores, Mariachristina N A Azevedo, Florisbela AC S Campos, Mariahelena C Barreto-Lins, Anaclaudia A Cavalcanti, Aureni C Salcano, Ramanita M Varela y Barbara A Underwood.

RESUMEN. Se determinó la vitamina A sérica antes y 30-45 días después de la administración de 60.6 mg. (212 μmol) de vitamina A a 544 niños brasileños residentes en las barriadas de Recife. Se compararon las curvas de distribución de frecuencias en un sub-grupo de niños cuyo estado nutricional de vitamina A fue evaluado inicialmente por medio de la prueba de respuesta relativa a la dosis (RRD). Las curvas de los niños con prueba de RRD negativa (estado adecuado) y positiva (estado inadecuado) fueron diferentes. La diferencia desapareció después de la suplementación. La forma de la curva de distribución después de la suplementación fue bastante cercana a la normal, con un promedio \pm desv. estándar, mediana e intervalo de confianza 95% de 1.78 ± 0.49 , 1.68 y 1.02-2.90 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente. La curva post-suplementación derivada de esta población de niños en desventaja podría servir como referencia para propósitos de diagnóstico, seguimiento y evaluación de programas. Am J Clin Nutr 1991; 54:707-11.

INTRODUCCION

En 1986 la Organización Mundial de la Salud identificó 36 países en donde, con base en la frecuencia de xeroftalmía, la deficiencia de vitamina A se reconocía como un problema de salud pública (1) dando como resultado un estimado de 700.000 nuevos casos anuales de enfermedad corneal que comprometía la visión(2). Se estima que de 20 a 40 millones de niños en algún momento sufren por lo menos deficiencia leve (no siempre detectable clínicamente) debido a una ingesta dietética inadecuada (2). Existen estudios que indican que la deficiencia subclínica de vitamina A tiene consecuencias negativas sobre salud y sobrevivencia del niño (3-6). Es importante, por ello, poder identificar las poblaciones a riesgo que tienen necesidad de programas profilácticos.

Las concentraciones séricas de vitamina A no se consideran indicadores confiables del estado subclínico de vitamina A en individuos (7), pero se ha sugerido su uso para evaluar el riesgo de estado nutricional inadecuado en

poblaciones (8,9). La falta de curvas apropiadas de referencia derivadas de poblaciones de niños que viven en situaciones de alto riesgo, pero con conocido estado adecuado de vitamina A ha limitado la interpretación de los resultados de encuesta de población (10). Los puntos de corte para una concentración sérica adecuada han sido arbitrariamente seleccionados con base en encuestas realizadas en países donde rara vez se encuentra deficiencia de vitamina A, comparados con aquellos en donde la deficiencia es común (8-10). Hay una urgente necesidad de una población de referencia confiable de niños de quienes se sabe que se encuentran en un estado nutricional adecuado de vitamina A, de los cuales se puede derivar una curva de distribución de valores séricos para la identificación de grupos de población subclínicamente deficientes, y por ende, con posibilidad de obtener beneficios para su salud al ser objeto de programas de intervención.

Presentamos aquí las curvas de distribución de valores séricos de vitamina A de una encuesta en niños brasileños que vivían en sus ambientes habituales, caracterizados por prominente deprivación social, económica y ambiental: ingreso familiar menor de 700 dólares estadounidenses por año, habitación y saneamiento pobre, deficiente nutrición y

* Traducción autorizada del artículo original en inglés publicado en American Journal of Clinical Nutrition 54:707-711,1991.

alta prevalencia (69%) de pesos corporales por debajo de los estándares aceptables. Inicialmente se evaluó su estado nutricional de vitamina A usando la prueba relativa a la dosis, RRD (11), y las curvas de distribución de los valores séricos iniciales de los que tuvieron prueba RRD positiva y los que la tuvieron negativa se compararon con las curvas obtenidas 30 a 45 días después de haberles administrado un suplemento (212 μmol) de vitamina A y con las curvas de distribución post-suplementación de una población mucho mayor de niños que residían en la misma área.

SUJETOS Y METODOS

Selección de la población.

De una lista municipal actual (1985) de 169 favelas (áreas marginadas) de Recife, se seleccionaron tres usando una tabla de números aleatorios. Se visitaron las tres favelas y, con la ayuda de un líder comunitario se obtuvo una lista de los residentes de 2 a 6 años de edad. Todos los niños de dos de las favelas más pequeñas fueron incluidos en la muestra (~600). En la tercera favela había más de 1000 niños. Se usó la tabla de números aleatorios para seleccionar ~250 niños de esta área. El tamaño de la muestra total fue de 835 niños. El fracaso en la obtención de una muestra sanguínea al primer intento explica por qué son diferentes el número de pruebas de RRD ($n=471$), las concentraciones séricas de vitamina A basales y post-suplementación ($n=835$ y 544 , respectivamente), y observaciones pareadas (todos los tres valores)($n=243$). El trabajador de campo pudo haber fracasado en la obtención de la muestra sanguínea principalmente por una vena dificultosa, un niño inquieto o excitado, o una técnica inapropiada. Por lo tanto, aquellos niños de quienes no se obtuvo una segunda (a las cinco horas) o tercera muestra (a los 30 días) no pueden ser considerados como desertores o diferentes en algún sentido de la muestra total de niños.

Procedimientos.

Se obtuvo el consentimiento informado de la madre o de la persona legalmente responsable del niño para su participación en el estudio; los procedimientos recibieron la aprobación del Comité de Ética del Centro de Ciencias de la Salud, Universidad Federal de Pernambuco y del Comité de Revisión de Estudios en Humanos, de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos. Después de ayunar durante la noche anterior, los niños y sus acompañantes fueron transportados a un lugar central de operaciones para la obtención de la muestra de sangre. Se extrajeron aproximadamente cinco mL de sangre de una vena antecubital. Se procedió a dar a los niños un desayuno estandarizado consiste en un emparedado de queso y café con leche (11). Se recogieron datos clínicos antropométricos de acuerdo con procedimientos estandarizados (12), debido a que nuestro protocolo de estudios incluye un informe para la madre respecto a la

situación clínica, antropométrica, de laboratorio y dietética del niño. Aunque se permitió a los niños jugar bajo supervisión, las madres fueron entrevistadas respecto a sus conocimientos de nutrición y la ingesta dietética de sus niños.

La concentración de vitamina A sérica total se determinó mediante la modificación (13) del procedimiento espectrofotométrico de Bessey et al (14), tomando las precauciones necesarias para asegurar la calidad de las muestras antes de su análisis (15). El blanqueo ultravioleta completo, la linealidad, la extracción y la composición de los extractos blanqueados y no blanqueados verifican rutinariamente en nuestro laboratorio por medio de cromatografía líquida de alto rendimiento, HPLC (16).

Después de la obtención de la muestra de ayunas, aquellos niños que consintieron en participar en la prueba de RRD recibieron 450 μg de retinol (1.57 μmol) en forma de palmitato de retinilo en suspensión acuosa (Arovit, Roche Chemicals and Pharmaceuticals, Río de Janeiro) por vía oral, junto con su desayuno. Todas las muestras sanguíneas se llevaron inmediatamente al laboratorio y se analizaron para determinar las concentraciones basales de retinol. Después de cinco horas y antes del almuerzo, se obtuvo una segunda muestra de sangre y, que también se transportó inmediatamente al laboratorio para análisis. La RRD fue calculada usando el procedimiento estandarizado (11):

$$\text{RRD} = 100 \times (A_5 - A_0)/A_5$$

donde A_5 y A_0 son las concentraciones de vitamina A cinco horas después de la administración de la dosis de 450 μg y el valor basal en ayunas, respectivamente.

Para aquellos niños en quienes se obtuvo una muestra sanguínea 30 a 45 días después de la administración de la dosis grande suplementaria, el procedimiento fue el mismo arriba descrito, para la obtención de la muestra basal en ayunas. Se definió como prueba positiva de RRD la que tenía un valor $\geq 20\%$, el cual se interpretó como indicador de reservas corporales agotadas por debajo de una concentración crítica de $\approx 0.07 \mu\text{mol}/\text{gramo}$ de tejido hepático(17).

Procedimientos Estadísticos.

Se utilizaron procedimientos estadísticos estándar con la ayuda de un programa computarizado adecuado (STATGRAPHICS, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA) para calcular estadísticas sumarias y para generar las curvas de distribución de frecuencias. El tamaño de la muestra no fue calculado previamente. Los datos, que siguen siendo recolectados para varios propósitos, son analizados periódicamente y en el caso del retinol sérico se alcanzó un tamaño de muestra que no cambiaría significativamente sus parámetros críticos (promedio, moda, mediana, desviación estándar, curtosis y escatosis) con la inclusión de más niños.

RESULTADOS

Se analizaron muestras sanguíneas de 544 niños con edades comprendidas entre dos y seis años, quienes 30 a 45 días antes habían recibido una dosis grande (212 μmol) de vitamina A. La curva de distribución se muestra en la Figura 1. El promedio (desviación estándar) y mediana de las concentraciones de vitamina A fueron 1.78 ± 0.49 y 1.68 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente; el intervalo de confianza de 95% (percentiles 2.5 y 97.5) fue 1.02-2.90 $\mu\text{mol/L}$.

De los 544 niños, 243 participaron en la prueba de RRD en línea basal y tuvieron determinadas concentraciones de vitamina A antes y después de suplementación. La Figura 2A muestra las curvas de distribución de los valores séricos iniciales y a los 30-45 días después de la suplementación para aquellos niños que tuvieron una prueba positiva de RRD en la línea basal ($n=98$, o 40%). La suplementación con vitamina A produjo un notable desplazamiento hacia la derecha en la curva de distribución de frecuencias. El promedio (desviación estándar), mediana e intervalo de valores se desplazó de 0.82 ± 0.24 , 0.86 y 0.26-1.91 a 1.54 ± 0.34 , 1.48 y 0.82-2.81 $\mu\text{mol/L}$. La Figura 2B se da la misma información para los niños que tuvieron una prueba negativa de RRD en la línea basal ($n=145$, o 60%). En éstos, la curva de distribución de valores cambió en respuesta a la suplementación: Los valores promedios \pm (desviación estándar), mediana e intervalo de valores antes y después de suplementación fueron 1.55 ± 0.39 , 1.47, 0.94

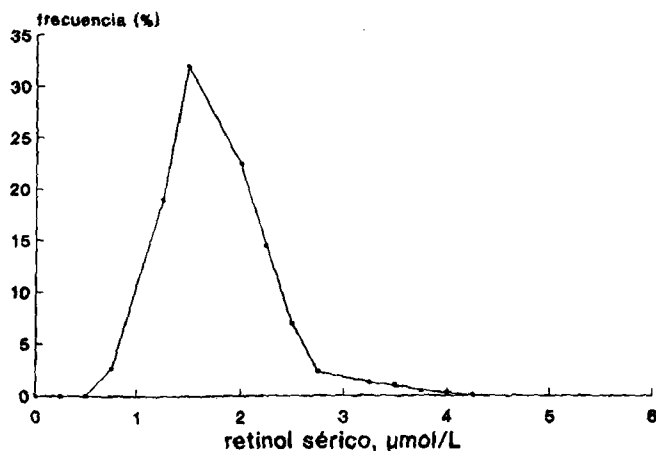


FIGURA 1

Distribución de frecuencias de las concentraciones séricas de vitamina A en 544 niños de dos a seis años de edad, 30-35 días después de que recibieron una dosis masiva (212 μmol) de vitamina A.

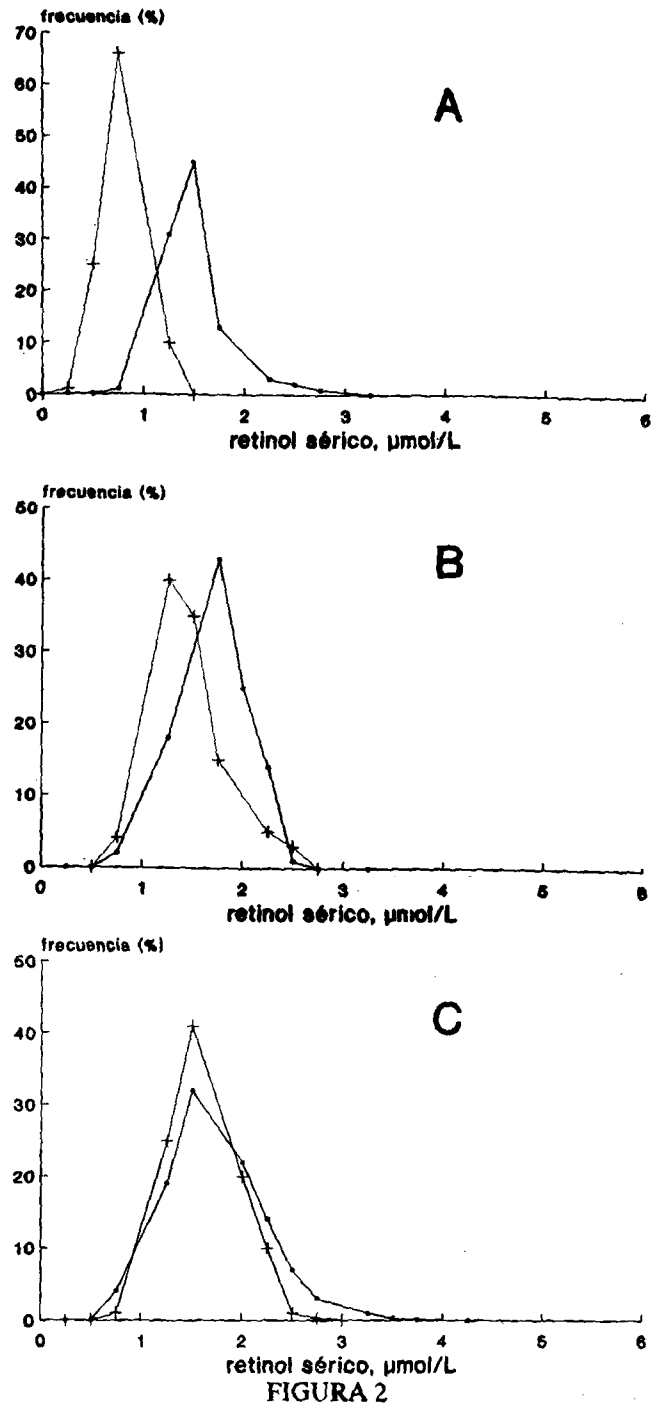


FIGURA 2

Distribución de frecuencias de las concentraciones séricas de vitamina A antes (.....) y después (—) de suplementación con 212 μmol de vitamina A.

- A, valores pareados de niños con una prueba positiva de RRD (reservas inadecuadas) en la línea basal ($n=98$);
 B, valores pareados de niños con una prueba negativa de RRD (reserva adecuadas) en la línea basal ($n=145$);
 C, comparación de la curva post-suplementación de todos los niños ($-$, $n=544$) con la de los niños con observaciones pareadas ($+$, $n=243$).

- 2.80 y 1.68 ± 0.32 , 1.65, 0.76-2.56 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente. La Figura 2C muestra las curvas de distribución de frecuencias de vitamina A sérica a los 30-45 días post-suplementación, tanto para los niños de la población total estudiada (n=544) como para subpoblación con pruebas RRD y valores de vitamina A sérica pareados (n=243). La forma de las curvas y el promedio, la mediana y el intervalo de valores no fueron diferentes en los dos grupos. Estos datos confirman que la dosis oral de vitamina A corrigió las reservas corporales previamente agotadas y que la distribución de las concentraciones de retinol sérico después de suplementación no fue diferente de la distribución de valores de los niños que no tenían agotamiento de reservas (RRD negativa) en la línea basal.

DISCUSION

La prueba de RRD se desarrolló en un modelo animal(18) con base en el conocimiento de los factores que gobiernan la captación y la liberación de la vitamina A de las reservas hepáticas, según lo resumido por Underwood(10,19,20). La prueba ha sido validada en humanos, tanto adultos(21) como en niños(17) mediante la correlación de respuestas cuantitativas a concentraciones hepáticas de vitamina A. Un valor de >20% siempre correspondió a concentraciones <0.7 $\mu\text{mol/gramo}$ de tejido hepático húmedo. La prueba RRD también ha sido validada mediante la realización de la prueba antes y después de la administración de una dosis alta de suplemento (11,17,21,25). Un estudio en niños brasileños mostró que todos aquellos que habían tenido una prueba positiva antes de la suplementación tuvieron una prueba negativa 30 días después y ninguno de los que inicialmente habían tenido una prueba negativa habían cambiado su estado después de un período de 30 días(11). Tenemos datos adicionales no publicados que muestran que la suplementación da como resultado una inversión de las pruebas RRD positivas, sin excepción (H Flores, MCNA Azevedo, FACS Campos, et al, observaciones no publicadas, 1991). Recientemente, Tanumihardjo et al(26) encontraron, de manera similar, que su prueba de RRD modificada (RRDM) también mostraba esta inversión de manera consistente. Han sido estas experiencias las que nos han llevado a comparar las curvas de distribución de retinol sérico de individuos con respuesta positiva e individuos con respuesta negativa antes y después de la suplementación, con el objeto de establecer que la curva generada 30 días después de la suplementación representa la de una población con nutrición adecuada de vitamina A. la sensibilidad de la prueba de RRD ha sido cuestionada(27) sobre la base de una pobre reproducibilidad de valores específicos en los mismos individuos adultos, pero no como una prueba de tamizaje para diferenciar poblaciones de adultos normales(28). Aunque los valores porcentuales reales sirven para establecer si están por arriba o por debajo del punto de corte de 20% (seleccionado sobre

la base de consideraciones estadísticas, analíticas y empíricas), la prueba de RRD es un atributo no-paramétrico. La naturaleza de la prueba no permite reproducibilidad en muestras seriadas, ni en individuos normales ni en sujetos deficientes. El uso de los valores de RRD como un indicador paramétrico es completamente inapropiado.

La distribución de las concentraciones de vitamina A sérica en poblaciones de referencia de las cuales se sabe que tienen un adecuado estado nutricional de vitamina A es necesaria para derivar guías interpretativas para determinar el riesgo de agotamiento de vitamina A en lugares donde rara vez se encuentra o se informa la deficiencia clínicamente evidente. Tal curva de referencia es también necesaria para el monitoreo de los cambios en el estado nutricional de poblaciones con y sin intervenciones específicas. Encontrar una población adecuada de referencia ha sido difícil debido a que otros factores, aparte del estado nutricional de vitamina A, influyen sobre las concentraciones séricas en el intervalo previamente considerado adecuado (es decir, 0.7 $\mu\text{mol/L}$ ó 20 $\mu\text{g/dL}$).

Las curvas de distribución de valores de niños de poblaciones social y económicamente deprivadas generalmente tienen una prevalencia mayor de valores bajos dentro del intervalo adecuado, y ha sido difícil saber cuál sería la curva de distribución de valores si estos niños

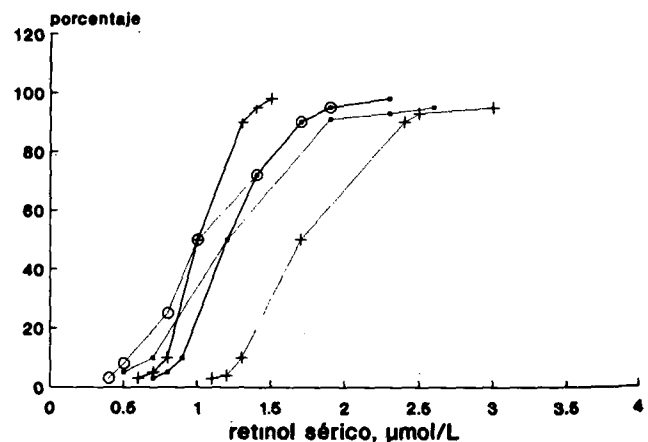


FIGURA 3

Distribución acumulativa (percentiles) de concentraciones séricas de vitamina A derivadas de poblaciones de referencia (—) del NHANES I (-) y NHANES II (+), y de los niños de Recife (.....) antes (-) y después (+) de suplementación con vitamina A.

tuvieran un estado nutricional adecuado sin un cambio en su ambiente social y económico. La Figura 1 muestra la distribución para tal grupo de niños brasileños y la Figura 3 la relaciona con los valores de referencia propuestos de una muestra aleatoria de niños de la Encuestas Nacionales de Salud y Examen Nutricional (NHANES I y II) llevadas a cabo en Estados Unidos(29). las concentraciones sanguíneas promedio de niños franceses de 1 a 16 años de edad, recientemente publicadas, se encuentran entre $1.48 \pm 0.004 \mu\text{mol/L}$ 30. al contrario a nuestras encuestas, sin embargo, no se hizo ninguna medición directa del estado nutricional de vitamina A, tal como la prueba RRD o una reencuesta 30 días después de suplementación, para la población general de los Estados Unidos, como tampoco de niños franceses. Por esta razón, y porque se utilizaron metodologías diferentes para el procesamiento, almacenaje y análisis de las muestras, no sería apropiado efectuar una comparación directa de estas curvas. En el Brasil, el dar un suplemento de vitamina A a la población bajo estudio eliminó esencialmente la presencia de valores $<1.05 \mu\text{mol/L}$, con poco efecto sobre valores promedio y virtualmente ningún efecto sobre los valores en el extremo superior o inferior de la distribución de frecuencias. Los datos sugieren que la distribución de los valores de la vitamina A sérica mostrados en las Figuras 1 y 3 pueden servir como guías en la evaluación del estado de poblaciones de niños de dos a seis años de edad y como una meta a alcanzar cuando se evalúa la efectividad de programas de intervención con miras a mejorar el estado nutricional de Vitamina A. Estos datos concuerdan con los hallazgos de los estudios NHANES, que sugieren que los individuos con concentraciones séricas de vitamina A $<1.05 \mu\text{mol/L}$ ($<30 \mu\text{g/dL}$) tienen mucha posibilidad de beneficiarse con un aumento en la ingesta de vitamina A.

AGRADECIMIENTOS

Joel A Castro, Gilzine A Souza, Avany B Silva y Luiz C Lima proporcionaron excelente asistencia técnica. El kerosene usado en los ensayos espectrofotométricos de vitamina A fue amablemente donado por aerolíneas VARIG. Agradecemos profundamente el entusiasmo y colaboración Skylab, Santa Luzia, y Cardoso.

REFERENCIAS

- De Maeyer EM. Xerophthalmia and blindness of nutritional origin. Children in the tropics. Paris: International Children's Center, 1986.
- Administrative Committee on Coordination-Subcommittee on Nutrition. Firts report on the world nutrition situation. Geneva: World Health Organization. November 1987.
- Rahmathullah L, Underwood BA, Thulasiraj RD, et al. Reduced mortality among children in Southern India receiving a small weekly dose of vitamin A. N Engl J Med 1990; 323:929-35.
- Sommer A, Tarwotjo I, Hussaini GL, Susanto D. Increased mortality in mild vitamin A deficiency, Lancet 1983;2:585-8.
- Sommer A, Tarwotjo I, Djunaedi E, et al. Impact of vitamin A supplementation on childhood mortality. Lancet 1986; 1:1169-73.
- Muhilal, Permeisih D, Idjradinata YR, Muherdiyantiningsih, Karyadi D. Vitamin A-fortified monosodium glutamate and health, growth, and survival of children: a controlled field trial. Am J Clin Nutr 1988;48:1271-6.
- Olson J. Serum levels of vitamin A and carotenoids as reflectors of nutritional status. J Natl Cancer Inst. 1984; 73:1439-44.
- Arroyave G, Chichester CO, Flores H. et al. Biochemical methodology for the assessment of vitamin A status. International vitamin A Consultive Group (IVACG). Washington. DC: The Nutrition Foundation, 1982.
- Pilch SM. Analisis of vitamin A data from the health and nutrition examination surveys. J. Nutr. 1987;117:636-40.
- Underwood B. Methods for assessment of vitamin A status. J Nutr. 1990;120:1459-63
- Flores H, Campos F, Araújo CRC, Underwood BA. Assessment of marginal vitamin A deficiency in Brazilian children using the relative dose response procedure. Am J Clin Nutr 1984;;40:1281-9.
- Bengoia JM, Jeliffe DB, Pérez C. Some indices for the general evaluation, in population groups, of the magnitude of protein-calorie malnutrition in small children. Guatemala: Pan American Health Organization/World Health Organization, 1966(in Spanish).
- Araújo CRC, Flores H. Improved spectrophotometric vitamin A assay. Clin Chem 1978;24:386.
- Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ, Lopez JA. The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. J Biol Chem 1846; 166:177-8
- Barreto-Lins MHC, Campos FACS, Azevedo MCNA, Flores H. A re-examination of the stability of retinol in blood and serum, and effects of standardizad meal. Clin Chem 1988;34:2808-10.
- DeRuyter MGM, De Leenheer AP. Determination of serum retinol (vitamin A) by high-speed liquid chromatography. Clin Chem 1976;22:1593-5.
- Amédée-Manesme O, Mourey MS, Hanck A, Therasse J. Vitamin A relative dose response test: validation by intravenous injection in children with liver disease. Am J Clin Nutr 1987;46:286-9.
- Loerch JD, Underwood BA, Lewis KC. Response of plasma levels of vitamin A to a dose of vitamin A as indicator of hepatic reserves in rats. J Nutr 1979;109:778-86.
- Underwood BA. Vitamin A in animal and human nutrition. In: Sporn M, Roberts A, Goodman DS. The retinoids. Vol 1. New York: Academic Press 1984;281-392.
- Underwood BA. Dose response tests in field surveys. J Nutr 1990;120:1455-8.
- Amédée-Manesme O, Anderson D, Olson JA. Relation of the relative dose response to liver concentrations of vitamin A in generally well-nourished surgical patients. Am J Clin Nutr 1984;39:898-902.

22. Campos FACS, Flores H, Underwood BA. Effect of an infection on vitamin A status of children as measured by relative dose response (RDR). *Am J Clin Nutr* 1987;46:91-4.
23. Mobarhan S, Russel RM, Underwood BA, Wallingford J, Methieson RD, Al-Midani H. Evaluation of the relative dose response test for vitamin A nutriture in cirrhotics, *Am J Clin Nutr* 1981;34:2264-70.
24. Fulton AB, Hansen RM, Underwood BA, Shwachman H, Barg DC. Scotopic thresholds and plasma retinol in cystic fibrosis. *Invest ophthalmol Vis Sci* 1982;23:364-70.
25. Amatayakul K, Underwood BA, Ruckphaopunt S. et al. Oral contraceptives: effect of long-term use on liver vitamin A storage assessed by the relative dose response test. *Am J Clin Nutr* 1989;49:845-8.
26. Tanumihardjo SA, Koellner PG, Olson JA. The modified relative-dose-response assay as an indicator of vitamin A status in a population of well-nourished American Children. *Am J Clin Nutr* 1990;52:1064-7.
27. Solomons NW, Morrow PD, Vasquez A, Bulux J, Guerrero AM, Russel RM. Test-retest reproducibility of the relative dose response for vitamin A status in Guatemala adults-issues of diagnostic sensitivity. *J Nutr* 1990;120:738-44.
28. Morrow FD, Guerrero AM, Russell RM, Dallal G, Solomons NW. Test-retest reproducibility of the relative dose response for vitamin A status in Guatemala adults-issues of diagnostic specificity. *J Nutr* 1990;120:745-70.
29. Pilch SM. Assessment of the vitamin A nutritional status of the US population based on data collected in the health and nutrition examination surveys. Bethesda, MD: Federation of American Societies for Experimental Biology, 1985.
30. Malvy JMD, Mourey MS, Carlier C, et al, Retinol, β -carotene and α -tocopherol status in a French population of healthy children. *Int J Vitam Nutr Res* 1989;59:29-34.

Nota: La referencia formal que se haga en un documento a los trabajos que aparecen en esta sección, los cuales han sido previamente publicados en otras revistas y traducidos para ALAN, debe hacerse con la cita original después de consultar la fuente primaria.