

EFEITOS DE IMUNOMODULADORES NA DOENÇA DE CROHN

Alessandro Carvalho Alves dos Santos¹
Maria do Carmo de Carvalho e Martins²

RESUMO

A doença de Crohn é caracterizada por processo inflamatório crônico, persistente ou recidivante, de intensidade variável e transmural que pode acometer de forma descontínua qualquer parte do trato gastrointestinal. Trata-se de doença de etiologia ainda desconhecida que acomete pessoas de ambos os sexos em qualquer idade. Este trabalho teve como objetivo apresentar revisão da literatura sobre potenciais efeitos benéficos no processo inflamatório e tempo de remissão da doença de Chron relacionados ao uso de nutrientes imunomoduladores como glutamina, arginina, ômega-3, prebióticos e probióticos. A pesquisa bibliográfica foi realizada nas bases de dados Scielo, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Google Acadêmico, Os artigos pesquisados compreenderam 23 publicações entre os anos de 2002 e 2012. Os descritores utilizados foram: Doença de Crohn, Fatores Imunológicos e Terapia Nutricional . Os imunonutrientes mais utilizados nos estudos incluídos neste trabalho foram glutamina, arginina, ômega-3, prebióticos e probióticos, e a maioria dos estudos apontou efeitos positivos de imunomoduladores na recuperação de processos inflamatórios e na reabilitação de pacientes com doença de Crohn. Os imunomoduladores mais eficazes no prolongamento da remissão da doença foram arginina e probióticos. No entanto, existem poucas evidências na literatura relacionando a recomendação de imunonutrientes na reabilitação em pacientes com doença de Crohn com resultados consistentes quanto ao tipo e quantidade definidas dos imunomoduladores.

Palavras-chave: Doença de crohn. Fatores imunológicos. Terapia nutricional.

1 INTRODUÇÃO

A doença de Crohn (DC) é caracterizada por processo inflamatório crônico transmural, persistente ou recidivante, de intensidade variável, não curável por tratamento clínico ou cirúrgico e que acomete o trato gastrointestinal de forma uni ou multifocal, que compromete não só a mucosa como também a parede intestinal, o mesentério e os gânglios linfáticos, podendo ocorrer de forma descontínua, em qualquer região do trato gastrointestinal, desde a boca até o ânus (DANI, 2006).

¹ Graduando em Bacharelado em Nutrição pelo Centro Universitário de Saúde, Ciências Humanas e Tecnológicas do Piauí (UNINOVAFAPI). Sua linha de pesquisa consiste em: Nutrição Esportiva, Bioquímica da Nutrição, Fisiologia e Fisiopatologia, Suplementos Alimentares e Antioxidantes.

² Graduada em Nutrição. Possui mestrado em Ciências Biológicas (Fisiologia) pela Universidade Federal de Pernambuco e doutorado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco. Professora adjunta do Departamento de Biofísica e Fisiologia da Universidade Federal do Piauí. Professora e orientadora do Programa de Mestrado em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Piauí, Professora da Faculdade de Ensino Superior de Floriano e da Faculdade de Saúde, Ciências Humanas e Tecnológicas do Piauí. Tem experiência nas áreas de Fisiologia, Farmacologia de Produtos Naturais e Saúde Pública, atuando principalmente nos seguintes temas: diabetes, obesidade, hipertensão arterial, atividade farmacológica de plantas medicinais, toxicologia, condições de saúde de grupos populacionais e efeitos do treinamento físico.

Nessa doença, 75% dos pacientes afetados têm envolvimento do intestino delgado, sendo o íleo terminal acometido em 90% dos casos. Em 30 a 40% dos pacientes com DC a doença limita-se ao intestino delgado, em 40 a 50% acomete tanto o intestino delgado quanto o intestino grosso, e em 15 a 25% a doença está limitada ao cólon (RAPOSO, 2008). Geralmente, o íleo terminal é considerado o epicentro da doença, enquanto que o reto é poupado e o duodeno raramente está envolvido.

Apresenta manifestações clínicas comuns a doenças infecciosas, e pode relacionar-se a desordens bacterianas, resposta imunológica exacerbada a um agente infeccioso presente no trato gastrointestinal, com desenvolvimento de obstruções intestinais, abscessos e fístulas, e provocando diarreia, dor abdominal e perda de peso (COLLI, 2011).

Os sintomas clínicos das doenças inflamatórias intestinais incluem diarreia crônica com presença de muco ou sangue, dor abdominal, perda de peso, febre, má absorção, disfunção da barreira mucosa e fatores que causam deficiências nutricionais e funcionais, e dessa forma tornam fundamental a terapia nutricional (FLORA, DICHI, 2006).

Morfologicamente a DC apresenta lesões segmentares, demarcadas e intercaladas com segmentos normais; úlceras aftosas, edema mucoso e submucoso e aumento de linfócitos, plasmócitos e macrófagos (RODRIGUES, PASSONI, PAGANOTTO, 2008). Embora a doença de Chron tenha etiologia desconhecida, vários estudos relacionam sua patogenia com a ação de fatores exógenos, fatores relacionados com o hospedeiro e/ou fatores ambientais específicos em um indivíduo geneticamente predisposto para a doença, o que pode gerar um estado de disfunção imunológica da mucosa (SARTOR et al, 2006).

Trata-se de doença de ocorrência mundial, apesar de existirem variações da incidência e prevalência entre o plano geográfico. Ocorre frequentemente em países desenvolvidos, principalmente da Europa e América do Norte. Acomete na mesma proporção pessoas de ambos os sexos e em qualquer idade, tendo maior incidência na segunda e terceira década de vida (SILVA, 2007).

A nutrição tem papel importante na perspectiva de melhora do estado nutricional e clínico de pacientes com DC, atuando na modulação das respostas inflamatórias e imunológicas, além fornecer o suporte energético para manutenção da vida. Estudos mostram a possibilidade de intervenção nutricional que visem diminuir a atividade inflamatória da DC com o uso de nutrientes imunomoduladores, entre os quais destacam-se nutrientes específicos com arginina, glutamina, ácidos graxos, nucleotídeos, além de probióticos e prebióticos (FLORA, DICHI, 2006).

Em relação às propriedades terapêuticas de tais agentes imunomoduladores, tem sido demonstrados efeitos na resposta inflamatória quando eles são inseridos em uma dieta convencional, os quais consistem em atenuação nos agravos intercorrentes em pacientes com doença de Crohn. Dessa forma, o objetivo do presente artigo é descrever o papel dos principais imunotrientes usados na terapia nutricional na Doença de Crohn na regulação dos processos inflamatórios e no prolongamento dos períodos de remissão da doença.

2 METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado a partir de pesquisa bibliográfica em fontes secundárias nas bases de dados da biblioteca virtual Scielo, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Google Acadêmico. Os artigos pesquisados compreendem publicações entre 2002 e 2012, com idioma em língua portuguesa. Foram incluídos também artigos obtidos em referências bibliográficas dos artigos com maior relevância. Buscou-se realizar a pesquisa bibliográfica sobre os dois temas centrais deste trabalho: Imunomoduladores e Doença de Crohn. Os descritores utilizados para a busca de artigos foram: Doença de Crohn, fatores imunológicos e terapia nutricional. Os artigos selecionados foram considerados válidos de acordo com o grau de relevância do assunto estudado. Os artigos incluídos no estudo foram distribuídos em duas categorias, os que tratavam sobre o uso de nutrientes imunomoduladores na Doença de Crohn e aqueles que abordavam a terapia nutricional e fisiopatologia da Doença de Crohn.

3 RESULTADOS

Waitzberg (2006) verificou que sintomas inflamatórios específicos podem ser suavizados pelo uso de ácido graxo ômega-3 (AG n-3) em condições como artrite reumatóide, psoríase, asma, esclerose múltipla, doença de Crohn e colite ulcerativa.

Martins (2009) estudando o uso de AG n-3, verificou que o mesmo, é praticamente isento de efeitos colaterais e possui efeitos antiinflamatórios, inibindo a ação do leucotrieno B4. Existem evidências que mostram que os AG n-3 podem diminuir a recorrência pós-cirúrgica no paciente com DC. Na DC recomenda-se o uso de óleo de peixe ômega-3 por via oral, por inibir a síntese de prostaglandinas e leucotrienos (derivado do ácido graxo araquidônico), reduzindo assim a inflamação (ALZOGHAIBI et al, 2003)

A ligação de bactérias probióticas aos receptores da superfície celular dos enterócitos também dá início as reações em cascata que resultam na síntese de citocinas (KAUR et al, 2002). Dados experimentais indicam que diversos probióticos são capazes de modular algumas características da fisiologia digestiva, como a imunidade da mucosa e a permeabilidade intestinal (FIORAMONTI et al, 2003).

Cabre e Gassull (2007) relatam que, em contraste com a colite ulcerativa e a inflamação aguda da mucosa intestinal, os benefícios da terapia com probióticos na prevenção da reincidência/reaparição da doença de Crohn estão longe de serem provados.

Karkow et al (2007), em estudo envolvendo 20 pacientes com Doença de Crohn, observaram que o grupo que recebeu probiótico obteve uma redução nas quantidades de evacuações, dos movimentos intestinais e diminuição na atividade da doença.

Os pré e probióticos atuam como coadjuvantes na terapia de manutenção. Os probióticos produzem efeitos benéficos na imunidade intestinal, produzindo ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), amenizando a intolerância à lactose, controlam a diarreia aguda, melhoram a atividade clínica da doença e previnem as recidivas (FLORA; DICHI, 2006)

A eficiência da glutamina no nutrimento da mucosa intestinal e nas células do sistema imunológico atenua a apoptose, conservando o trofismo e inutilizando o acesso de bactéria através da mucosa, agregada aos frutooligossacarídeos responsáveis pela manutenção da flora intestinal, dificultando à entrada de bactérias patogênicas ao organismo e trazendo benefícios para o paciente. Deste modo, esse grupo de ações pode teoricamente abrandar a incidência de infecções, a ocorrência de translocação bacteriana e ainda manter a integridade da barreira intestinal (AGUILAR-NASCIMENTO et al, 2003; ARRUDA et al, 2004).

Zalogaetal (2004) em estudos com pacientes críticos submetidos à suplementação de arginina, obtiveram resultados que apontaram para a melhora do balanço nitrogenado, cicatrização, diminuição das taxas de infecção e do período de internação, aumentando a eficiência do sistema imunológico.

Martins (2009) observaram que a administração de arginina em 1.400 ratos com mais ou menos 174mg/dia elevou o numero de vilosidades intestinais e atenuou a intensidade de lesões na mucosa intestinal, de obstruções intestinais, como as encontradas em fistulas em pacientes com DC.

GLUTAMINA	Fonte de energia (células intestinais, linfócitos e fibroblastos). Mantém a estrutura intestinal, o metabolismo e funções intestinais durante estados em que pode haver comprometimento da barreira mucosa (30g/dia).
ARGININA E GLUTAMINA	Ativadoras de células polimorfonucleares e células T (melhora a resposta imunológica).
ÁCIDO GRAXO ÔMEGA-3	Diminui a resposta inflamatória (3 a 5g/dia).

Quadro 1 - Terapia nutricional em doenças inflamatórias intestinais - nutrientes específicos.

Fonte: Cuppari, 2006.

3 DISCUSSÃO

A glutamina (FLORA, 2005; CAMPOS et al, 2002; EIDEN, 2003; JEEJEEBHOY, 2002; GOH, 2003), os ácidos gordos de cadeia curta (AGCC) (FLORA, 2005; CAMPOS, 2002; GALVEZ, et al, 2005), os ácidos gordos ômega 3 (AG n-3) (FLORA, 2005; CAMPOS, 2002; EIDEN, 2003; GALVEZ et al, 2005), os pré e os probióticos, (FLORA, 2005; CAMPOS, 2002; MACH, 2006; AKOBENG, 2008) são alguns imunomoduladores a serem estudados. A glutamina parece ser o menos promissor pelo menos até que se encontre a sua possível “dose ótima” de utilização. Os AGCC, sobretudo o butirato que é o mais extensamente estudado, parecem demonstrar-se benéficos na gestão da Colite Ulcerativa. Os AG n-3 têm demonstrado um efeito positivo sobre a Doença Inflamatória Intestinal (DII), sendo este atribuído a alterações do perfil dos mediadores inflamatórios. Mesmo assim e embora existam já alguns estudos sobre o tema, ainda não existem evidências concretas do efeito destes “nutrientes imunomoduladores” na doença inflamatória (FLORA 2005).

Na DC, as respostas imunitárias inata e adaptativa são inadequadas, com incapacidade de reconhecimento e eliminação dos antígenos bacterianos, ativação exagerada e diminuição da apoptose das células Th1 e inativação de células Tr. Como resultado ocorre uma perda da tolerância à flora comensal e o desenvolvimento de mecanismos inflamatórios exagerados. Alterações nas junções comunicantes (*tight junctions*), na produção de muco, de IgA e defensinas e o aumento da permeabilidade contribuem para uma inflamação persistente característica.

Um dos fatores que contribui para o desenvolvimento da DC é uma alteração da microflora intestinal, com diminuição da biodiversidade e aumento dos microorganismos patogênicos, então a utilização de probióticos pode ser eficaz. São suplementos orais de microorganismos vivos que modificam a flora intestinal e são benéficos ao hospedeiro. A lista

de microorganismos inclui: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, espécies não patogênicas de *E.coli*, *Clostridium Butyricum*, *Streptococcus salivariuse*, *Saccharomyces boulardii* (RIBEIRO, 2009).

Os probióticos inibem a proliferação de bactérias patogênicas – diminuem o pH luminal, aumentam a secreção de bacteriocinas, bloqueiam a adesão das bactérias ao epitélio intestinal. Melhoram a função da barreira epitelial – aumentam a produção de ácidos gordos de cadeia curta e de muco (GIONCHETTI, 2006). Estimulam a imunidade inata, a produção de defensinas e modulam a inflamação induzida pelos agentes patogênicos em receptores do tipo Toll (TLRs) em linfócitos T (VANDERPOOL, 2008). Induzem a produção de IL-10 e TGF- β e diminuem a de TNF- α , citocinas pró-inflamatórias. Limitam a migração de células Th1 para locais de inflamação; modulam a percepção da dor (SARTOR, 2006).

Outros imunutrientes também são utilizados no tratamento de pacientes com DC, como aglutamina (GLT) que parece ser indispensável na manutenção da integridade intestinal por meio de suas diferentes funções metabólicas, embora os mecanismos envolvidos não tenham sido completamente explicados, provavelmente por prevenir o aumento da permeabilidade intestinal. A arginina é metabolizada no enterócito e atua como precursora carbônica de metabólitos formados no enterócito, tais como ornitina, citrulina, que tem a glutamina como precursor nitrogenado (BURGOS et al, 2008).

Alguns artigos comprovaram que o uso da glutamina isolada não tem efeito eficaz no aumento das medidas das vilosidades, somente proporciona um resultado positivo, quando associada a hormônios do crescimento ou a outras substâncias estimulantes (SPADONI; AGUILAR NASCIMENTO; SILVA, 2005). Este mecanismo de recuperação celular pode ser explicado pela síntese de poliaminas envolvidas na proliferação, diferenciação e função celular e na cicatrização e regeneração dos tecidos (ZALOGA et al, 2004) .

4 CONCLUSÕES

O ácido graxo ômega-3 mostrou-se positivo na diminuição da recorrência pós-cirúrgica na DC. Os probióticos aumentam a imunidade da mucosa intestinal, além de diminuir a inflamação intestinal. A glutamina associada a frutooligosacarídeos pode abrandar a incidência de infecções e a ocorrência de translocação bacteriana e ainda manter a integridade intestinal. A arginina ajuda no processo de cicatrização, diminuição das taxas de infecção e do período de internação além de aumentar a eficiência do sistema imune.

Estes nutrientes têm apresentado propriedades terapêuticas importantes, com efeitos na resposta inflamatória e, quando inseridos em uma dieta convencional, podem amenizar os agravos intercorrentes em pacientes com Doença de Crohn. O uso de imunomoduladores na DC mostrou-se positivo na recuperação dos processos inflamatórios e na reabilitação dos pacientes, sendo que, a arginina e probióticos demonstraram-se eficazes no prolongamento da remissão da doença.

De acordo com literatura analisada ainda não há um consenso em relação à recomendação do uso de imunonutrientes em seres humanos. Dessa maneira faz-se necessário à formulação de estudos, que visem estudar a eficiência e a segurança da imunonutrição nesses pacientes utilizando imunonutrientes isolados e com quantidades definidas.

EFFECTS OF IMMUNOMODULATORS IN CROHN'S DISEASE

ABSTRACT

Crohn's disease is characterized by chronic inflammation, persistent or relapsing, transmural and variable intensity that can affect discontinuously any part of the gastrointestinal tract. It is disease of unknown etiology that affects people of both sexes at any age. This work aims to present a review of the literature on potential beneficial effects on the inflammatory process and time of remission of Crohn's related to the use of immunomodulatory nutrients such as glutamine, arginine, omega-3, probiotics and prebiotics. A literature search was conducted in the databases SciELO, Virtual Health Library (VHL) and Google Scholar, The respondents comprised 23 articles published between the years 2002 and 2012. The keywords used were: Crohn's Disease, Immunologic Factors and Nutritional Therapy. The immunonutrients most used in the studies included were glutamine, arginine, omega-3, probiotics and prebiotics, and most studies showed positive effects of immunomodulators in inflammatory processes of recovery and rehabilitation of patients with Crohn's disease. Immunomodulators more effective in prolonging remission were arginine and probiotics. However, there is little evidence in the literature relating the recommendation immunonutrients rehabilitation in patients with Crohn's disease with consistent results regarding the type and quantity of defined immunomodulators.

Keywords: Crohn's disease. Immunologic factors. Nutritional therapy.

REFERÊNCIAS

AGUILAR-NASCIMENTO, J. E. et al. Benefits of intraluminal injection of glutamine for intestinal mucosa during ischemia-reperfusion. *European Surgical Research*, v. 35, n. 4, p. 352-356, 2003.

Rev. Saúde Públ. Santa Cat., Florianópolis, v. 6, n. 3, p. 71-79, jul./set. 2013.

ARRUDA L, Y. et al. Tratamento sistêmico da psoríase: imunomoduladores biológicos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 79, p. 379-393, 2004.

AKOBENG, A. K. Review article: the evidence base for interventions used to maintain remission in Crohn's disease. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 27, n. 1, p. 11-18, 2008.

ALZOGHAIBI, M. A. et al. Linoleic acid, but not oleic acid, upregulates the production of interleukin-8 by human intestinal smooth muscle cells isolated from patients with Crohn's disease. **Clinical Nutrition**, v. 22, n. 6, p. 529-535, 2003.

BURGOS, M. G. P. A. et al. Doenças inflamatórias intestinais: o que há de novo em terapia nutricional. Artigo de Revisão. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 184-189, 2008.

CABRE, E.; GASSULL, M. A. Probiotics for preventing relapse or recurrence in Crohn's disease involving the ileum: Are there reasons for failure? **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 1, p. 47-52, 2007.

CAMPOS, F. G. et al. Inflammatory bowel diseases: principles of nutritional therapy. **Revista do Hospital das Clínicas**, São Paulo, v. 57, n. 4, p. 187-98, 2002.

COLLI, M. V. **Toxicidade da azatioprina no tratamento da doença de crohn: frequência, abordagem e evolução**. 2007. 80 f. Dissertação. (Mestrado em Saúde Brasileira)-Programa de Pós-graduação em Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, 2007. Disponível em: <<http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/cp043075.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

CUPPARI, L. **Nutrição clínica no adulto**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2006.

DANI, R. **Gastroenterologia essencial**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

EIDEN, K. A. Nutritional Considerations in Inflammatory Bowel Disease. **Practical Gastroenterology**, p33-54, 2003.

FLORA, A. P. L.; DICHI, I. Aspectos atuais na terapia nutricional da doença inflamatória intestinal. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, Campinas, SP, v. 21, n. 2, p. 131-137, 2005.

FIORAMONTI, J. et al. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? **Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology**, v. 17, n. 5, p. 711-724, 2003.

GALVEZ, J.; RODRIGUEZ-CABEZAS, M. E.; ZARZUELO, A. Effects of dietary fiber on inflammatory bowel disease. **Molecular Nutrition & Food Research's**, v. 49, n. 6, p. 601-608, 2005.

GIONCHETTI, P. et al. Review article: nutrition and adult inflammatory bowel disease. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics's**, v. 17, n. 3, p. 307-320, 2003.

GOH, S. C. Improving organizational learning capability: lessons from two case studies. **Learning Organization**, v. 10, n. 4, p. 216-227, 2003

JEEJEEBHOY, K. N. Clinical nutrition: 6. Management of nutritional problems of patients with Crohn's disease. **CMAJ**, v. 166, n. 7, p. 913-918, 2002.

KARKOW, F. J. A.; FAINTUCH, J.; KARKOW, A. G. M. Probióticos: perspectivas médicas. **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, v. 51, n. 1, p. 38-48, jan./mar. 2007.

Rev. Saúde Públ. Santa Cat., Florianópolis, v. 6, n. 3, p. 71-79, jul./set. 2013.

KAUR, L. et al. Physico-chemical, rheological and structural properties of fractionated potato starches. **Journal of Food Engineering**, n.82, p. 383-394, 2007.

MACH, T. Clinical usefulness of probiotics in inflammatory bowel diseases. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 57, n. 9:23-33, 2006.

MARTINS, I. S. B. **Doença de Crohn: implicações nutricionais**. 2009. 47 f. Monografia (Graduação em Nutrição)-Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Universidade do Porto. Porto, 2009.

RAPOSO, F. A. Q. **Doença inflamatória intestinal**. 2008. 122 f. Dissertação. (Mestrado em Medicina)-Faculdade de Ciência e Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2008.

RIBEIRO, I. C. T. **Doença de Crohn: etiologia, patogénese e suas implicações na terapêutica**. 2009. 99 f. Dissertação (Mestrado em Medicina)-Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2009.

RODRIGUES, S. C.; PASSONI, C. M. S.; PAGANOTTO, M. Aspectos nutricionais na Doença de Crohn. **Cadernos da Escola de Saúde Nutrição**, Curitiba, n. 1. p. 1-8, 2008.

SARTOR, B. R. Mechanisms of disease: pathogenesis of crohn's disease and ulcerative colitis. **Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology**, v. 3, n. 7, p. 390-407, 2006.

SILVA, F. R. **Doença de Crohn fisiopatogenia e terapêutica**. 2007. 76 f. Monografia (Graduação em Nutrição)-Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2007.

SPADONI, J. M.; AGUILAR-NASCIMENTO, J. E.; SILVA, M. H. G.G. Efeitos do uso combinado da glutamina oral e hormônios do crescimento na adaptação intestinal após ressecção extensa do intestino delgado em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 20, n. 5, p. 382-389, set./out. 2005.

VANDERPOOL, C.; YAN, F.; POLK, D. B. Mechanisms of probiotic action: implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases. **Inflammatory Bowel Disease**, v. 14, p. 1585–1596, 2008.

WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2006.

ZALOGA, G. P. et al. Arginine: mediator of sepsis? **Nutrition in Clinical Practice**, v. 19, p. 201-215, 2004.

Submetido em: 19/07/2013

Aceito para publicação em: 30/09/2013