



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA**

RAQUEL MARIA DA SILVA LOURENÇO

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE RETINOL PALMITATO
SOBRE OS NÍVEIS DE VITAMINA A DO LEITE DE PUÉRPERAS
SAUDÁVEIS.**

**NATAL
2005**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

RAQUEL MARIA DA SILVA LOURENÇO

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE RETINOL PALMITATO
SOBRE OS NÍVEIS DE VITAMINA A DO LEITE DE PUÉRPERAS
SAUDÁVEIS.**

Dissertação apresentada ao Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioquímica.

Orientador: Roberto Dimenstein.

NATAL

2005

Dedico esta obra

Às mães e filhos que participaram deste estudo.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, prof. Roberto Dimenstein, pela confiança prestada ao aceitar-me como orientanda e por todo ensinamento a mim dedicado durante esta etapa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e à agência financiadora CAPES.

À Maternidade Escola Januário Cicco.

Às técnicas de enfermagem da maternidade, Rosângela e Raimunda, pela atenção e apoio transmitidos.

Aos auxiliares de enfermagem do Hospital Onofre Lopes, Cristina e Ricardo, pela ajuda e paciência na coleta de amostras.

À minha mãe Ione Áurea, pelo apoio imprescindível na realização dessa pesquisa.

Às iniciantes científicas, Érika Natália e Lidiane Fernandes, pelo companheirismo, amizade e por realizarem o trabalho com tanta dedicação e perseverança.

Às iniciantes científicas, hoje mestrandas, Illana Louise e Karla Danielly pela paciência e carinho demonstrados nos ensinamentos.

Aos iniciantes Vanessa Patrícia e Norberto Monteiro por terem sido tão prestativos

À amiga mestranda Olívia Maria por ter me ajudado sempre que solicitei.

Aos companheiros de mestrado Ciro, Fernando, Ivan, Olívia, Patrícia e Rose (turma *see below*), por tornarem esse percurso mais especial.

Aos amigos Rose, Andréa e Augusto, pelo amparo na etapa final do trabalho.

Aos professores Edda Lisboa, Elizeu Antunes e Selma Jerônimo, por cederem aparelhos indispensáveis à continuidade do trabalho.

Aos amigos e familiares, pela compreensão na minha ausência.

*Nunca se deve desprezar uma
oportunidade, já que a vida é curta, e a
morte, inevitável.
Freud, em A interpretação dos sonhos.*

RESUMO

Fatores como a tendência à diminuição dos níveis de retinol sérico das gestantes, barreira placentária e aumento da demanda de retinol, fazem com que puérperas e lactentes representem grupos de risco de deficiência em vitamina A, nutriente que participa de processos vitais, como a diferenciação, proliferação celular e apoptose. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de retinol palmitato (200.000 UI) sobre os níveis de retinol no leite de puérperas da Maternidade Escola Januário Cicco (MEJC), intervenção que vem sendo adotada pelo Ministério da Saúde desde 2002. O experimento do tipo longitudinal teve como participantes 106 puérperas (68 do grupo suplementado e 38 do grupo controle). A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foi o método utilizado para dosar retinol das amostras de leite e soro; e o crematócrito para determinar os níveis de gordura no leite. A quantificação do retinol apresentou médias de $99,0 \pm 64,4$ $\mu\text{g/dL}$ para o colostro; $160,1 \pm 94,4$ $\mu\text{g/dL}$ para o colostro 6 horas após suplementação; $68,9 \pm 33,5$ $\mu\text{g/dL}$ para o leite de transição e $30,6 \pm 15,2$ $\mu\text{g/dL}$ para o leite maduro do grupo suplementado. As diferenças foram significativas entre todas as médias. O grupo controle também demonstrou médias de retinol significativamente diferentes, sendo estas superiores no colostro $88,6 \pm 62,1$ $\mu\text{g/dL}$, reduzindo para $61,9 \pm 30,1$ $\mu\text{g/dL}$ no leite de transição e $32,9 \pm 17,6$ $\mu\text{g/dL}$ no leite maduro. Nenhuma diferença significativa foi observada quando as médias do retinol referentes aos três tipos de leite do grupo suplementado foram comparadas com as respectivas médias do grupo controle. A prevalência encontrada no soro (35,1% e 81,1% para o ponto de corte 20 $\mu\text{g/dL}$ e 30 $\mu\text{g/dL}$, respectivamente) e no leite (51,4%) revelou a deficiência de vitamina A como problema de saúde pública. A gordura do leite colostro, transição e maduro variou de forma semelhante no grupo suplementado ($1,92 \pm$

0,96; $3,25 \pm 1,27$ e $3,31 \pm 1,36$ gramas) e controle ($1,87 \pm 1,14$; $3,25 \pm 1,31$ e $3,36 \pm 1,67$ gramas), ocorrendo diferença entre colostro/transição e colostro/maduro. Não houve diferença entre os grupos. O seguinte trabalho demonstrou que a suplementação utilizando 200.000 UI não foi capaz de elevar os níveis de retinol no leite até o momento esperado e, provavelmente, não foi fornecida em quantidade suficiente para satisfazer as demandas das mães com reservas hepáticas mais espoliadas. É viável sugerir que uma outra dose de igual valor seja ofertada, num intervalo de 30 dias a 60 dias pós-parto, verificando sempre a possibilidade de gravidez.

Palavras-chaves: Puérperas. Retinol. Soro. Leite materno. Suplementação.

ABSTRACT

The tendency towards reduction of serum retinol levels, an existing placental barrier and the increase of retinol demand, are factors that place puerperal and lactating women at risk for Vitamin A deficiency. This micronutrient is an essential component of vital processes such as differentiation, cellular proliferation, and apoptosis. The objective of this study is to evaluate the effect of palmitate retinol supplementation (100.000UI) upon the milk retinol levels in puerperal women at the Januário Cicco University Maternity Hospital. This intervention has been adopted by the Ministry of Health since 2002. The longitudinal experiment was conducted with 106 puerperal women (68 comprised the supplemented group and 38 the control group). The High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method was used to dose the retinol of the milk and serum samples, and the creamtocrit method to determine the milk fat levels. The retinol means for the colostrums were 99.0 ± 64.4 $\mu\text{g/dL}$ and $160.1 \pm 94,4$ $\mu\text{g/d}$ 6 hours after supplementation; 68.9 ± 33.5 $\mu\text{g/dL}$ for the transitional milk, and 30.6 ± 15.2 $\mu\text{g/dL}$ for the mature milk of the supplemented group. All the differences between means were statistically significant. The difference between retinol means in the control group were also significant, with these being greater in the colostrum, 88.6 ± 62.1 $\mu\text{g/dL}$ with 61.9 ± 30.1 $\mu\text{g/dL}$ in the transition milk and $32.9 \pm 32.9 \pm 17.6$ $\mu\text{g/dL}$ in the mature milk. No significant difference was observed in the retinol means of the three types of milk in the supplemented group when compared to their respective means in the control group. The prevalence in serum (35.1% and 81.1% for the cutting point 20 $\mu\text{g/dL}$, respectively) and in milk (51.4%) revealed vitamin A deficiency as a public health problem. Colostrum, transition, and mature milk fats varied similarly in the supplemented group ($1,92 \pm$

0,96; $3,25 \pm 1,27$ and $3,31 \pm 1,36$ grams) and in the control group ($1,87 \pm 1,14$; $3,25 \pm 1,31$ and $3,36 \pm 1,67$ grams), with an observed difference between the colostrum/transition milk and the colostrum/mature milk fats. No difference was observed between the groups. The study showed that the 200.000UI supplementation was not sufficient to increase the milk retinol to the desired levels nor to meet the demands of the mothers with deprived hepatic reserves. It is suggested that another similar dose be offered within 30 days or less, and within 2 months post-partum, while continually monitoring for possible pregnancy.

Key terms: Puerperal women. Retinol. Serum. Milk. Supplementation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química das principais formas de vitamina A (arbl.cvmb.colostate.edu/.../vitamina.html).....	16
Figura 2 - Funções da vitamina A (NAPOLI, 1996).....	17
Figura 3 - Metabolismo do retinol (BLOMHOFF, 2001).....	22
Figura 4 - Caminhos que realizam a passagem de substâncias da célula alveolar para produção do leite.....	31
Figura 5 – Extração de retinol das amostras de leite.....	42
Figura 6 – Extração de retinol das amostras de soro.....	43
Figura 7 – Diluições do padrão de retinol para leitura no espectrofotômetro....	45
Figura 8 – Diluição do padrão de retinol para sua aplicação no aparelho de CLAE.....	47
Figura 9 – Efeito da suplementação nos níveis de retinol do colostro de puérperas atendidas na MEJC.....	53
Figura 10 – Efeito da suplementação nos níveis de retinol do leite (μg de retinol / dL de leite) de puérperas atendidas na MEJC.....	54
Figura 11 – Efeito da suplementação nos níveis de retinol do leite (μg de retinol / g de gordura) de puérperas atendidas na MEJC.....	56
Figura 12 – Percentual de aumento de retinol no colostro após suplementação em lactantes atendidas na MEJC.....	59
Figura 13 – Níveis basais de retinol sérico de puérperas atendidas na MEJC que tiveram diferentes respostas à suplementação com retinol palmitato.....	61
Figura 14 – Níveis de gordura no leite de puérperas atendidas na MEJC.....	63
Figura 15 – Comparação dos níveis de retinol sérico de lactantes.....	67
Figura 16 – Consumo diário de retinol por lactantes de puérperas atendidas na MEJC.....	69
Figura 17 – Comparação dos níveis de retinol no colostro.....	72
Figura 18 – Comparação dos níveis de retinol no leite de transição.....	73
Figura 19 - Comparação dos níveis de retinol no leite maduro.....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ensaio com suplementação de vitamina A.....	37
Tabela 2 – Comparação entre as médias de retinol do leite ($\mu\text{g}/\text{dL}$ de leite e $\mu\text{g}/\text{g}$ de gordura) nos diversos estágios da lactação de puérperas com e sem suplementação.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS / SIGLAS

AI	Adequate Intake (Ingestão adequada)
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CRABP	Cellular retinoic acid-binding protein (Proteína ligante de ácido retinóico celular)
CRBP	Cellular retinol-binding protein (Proteína ligante de retinol celular)
DNA	Desoxiribonucleic Nucleic Acid (Ácido desoxirribonucléico)
DVA	Deficiência de vitamina A
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
IVACG	International Vitamin A Consultative Group (Grupo Consultivo Internacional sobre Vitamina A)
LRAT	Lecitina-retinol aciltransferase
MEJC	Maternidade Escola Januário Cicco
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
RAR	Retinoic acid receptor (Receptor de ácido retinóico)
RBP	Retinol binding protein (Proteína ligante de retinol)
RDA	Recommended Dietary Allowance (Ingestão Dietética Recomendada)
RE	Retinol equivalente
RXR	Retinoid X receptor (retinóide X receptor)
TTR	Transthyretin (transtirretina)
UL	Tolerable Upper Intake Level (Limite Superior Tolerável de Ingestão)
UNICEF	United Nations Children's Fund (Fundo das Nações Unidas para a Infância)
WHO	World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)

SUMÁRIO

3.7	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GORDURA DO LEITE	48
1	INTRODUÇÃO	48
3.8	VALORES DE REFERÊNCIA.....	48
4.0.1	Funções, estrutura química e fontes	56
5.1.2	Metabolismo do retinol	59
6.1.3	Requerimentos e recomendações	64
7.1.4	Condição teratogênica	64
1.1.5	DEFICIÊNCIAS	25
1.2	PRÁTICAS E A LACTAÇÃO	28
1.3	INDICADORES DO ESTADO NUTRICIONAL EM VITAMINA A.....	32
1.4	COMBATE À DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A.....	32
1.5	ENSAIOS COM SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA A.....	34
2	OBJETIVOS	38
2.1	GERAL.....	38
2.2	ESPECÍFICOS.....	38
3	MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1	CASUÍSTICA.....	39
3.2	COLETA DE AMOSTRAS	39
3.2.1	Amostras de sangue	39
3.2.2	Amostras de colostro	40
3.2.3	Amostras de leite de transição e maduro	40
3.3	SAPONIFICAÇÃO E EXTRAÇÃO DE RETINOL DAS AMOSTRAS	40
3.4	PREPARO DO PADRÃO DE RETINOL.....	44
3.5	CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS.....	48
3.6	CONFIRMAÇÃO DOS TEMPOS DE RETENÇÃO DO RETINOL NAS AMOSTRAS DE LEITE E SORO MATERNO.....	48

1 INTRODUÇÃO

1.1 VITAMINA A

1.1.1 Funções, estrutura química e fontes.

Em 1913, dois grupos de pesquisadores, Mendel na Universidade de Yale, e Mc Collum e Davis na Universidade de Wiscosin e Osborne, descobriram quase simultaneamente a primeira vitamina lipossolúvel denominada de vitamina A. Este termo é usado genericamente para designar todos os retinóides que têm atividade biológica de retinol todo trans (all-trans-retinol). A vitamina A é um álcool amarelo-claro cristalino, com um anel β -ionona ligado a uma estrutura terpênica, e foi

chamada de retinol (Figura 1) em alusão a sua função específica na retina do olho (MAHAN; ESCOTP-STUMP, 2002; MURADIAN; PENTEADO, 2003).

Apesar de sua função no ciclo visual ser clássica e parecer ser a única totalmente elucidada, atualmente, sabe-se que a vitamina A é de importância fundamental para muitos processos biológicos, como a diferenciação celular, proliferação e apoptose; todos envolvendo a regulação da expressão gênica (BLOMHOFF, 2001; DOLINSKY; RAMALHO, 2003). Através de seu impacto nestes processos, os retinóides participam no desenvolvimento e na manutenção das funções de numerosos sistemas biológicos, tais como: reprodução (espermatogênese, concepção, formação placentária e embriogênese), remodelação óssea, diferenciação epitelial e sistema imune (Figura 2) (NAPOLI, 1996; VLIET *et al.*, 2001). Dessa forma, a vitamina A é essencial por toda a vida, contudo sua influência é particularmente crítica durante períodos em que as células proliferam e se diferenciam rapidamente, tal como durante a gestação e infância (AZAÏS-BRAESCO; PASCAL, 2000).

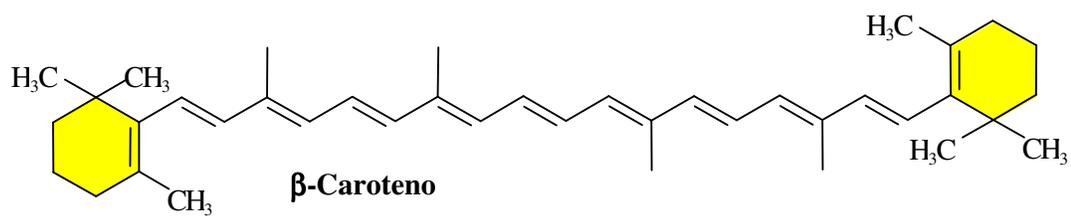
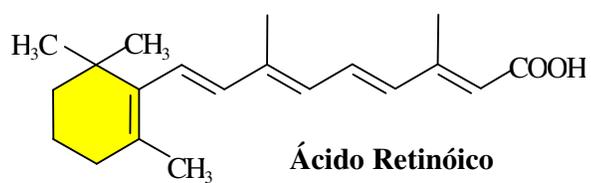
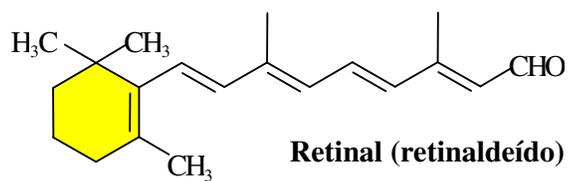
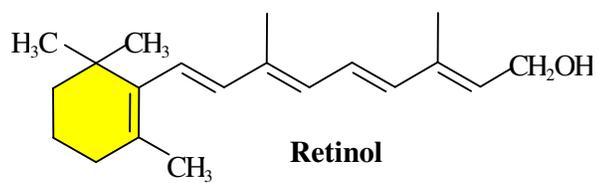


Figura 1 – Estrutura química das principais formas de vitamina A.

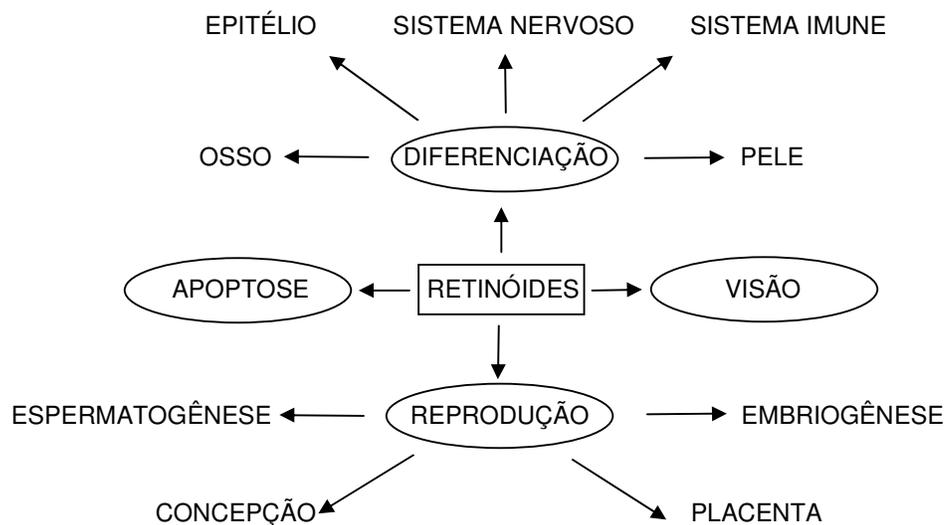


Figura 2 - Funções da vitamina A (NAPOLI, 1996)

A vitamina A é solúvel em vários graus na maioria dos solventes orgânicos, mas não em água. Sua estabilidade química e, por conseguinte a atividade biológica se vê afetada mediante a oxidação e isomerização quando expostos a luz, oxigênio, metais reativos e temperaturas elevadas. Entretanto, é suficientemente estável em solução oleosa para que seu sistema de distribuição não requiera refrigeração. Estima-se que nesse meio a vida útil de armazenamento da vitamina, convenientemente mantida em frasco opaco e fechado, seja de no mínimo dois

anos. No soro, em tecidos, ou na forma cristalina, sob condições ideais, também permanecem estáveis por longos períodos (WHO/UNICEF/IVACG, 1997; SOLOMONS, 2001).

O retinol é o principal retinóide circulante de ocorrência natural, e a partir de seu metabolismo são sintetizados os retinóides funcionais (Figura 1) (NAPOLI, 1996). O retinol é passível de oxidação reversível para a forma aldeído da vitamina, quer dizer, à retinal. Posteriormente, o retinal pode ser oxidado a ácido retinóico. Este último, e seus isômeros, medeiam quase todas as funções dependentes de vitamina A (FROLIK, 1984; AZAÏS-BRAESCO; PASCAL, 2000).

Por não ser sintetizado no organismo, o retinol deve ser obtido através da dieta. Nos alimentos de origem animal, tais como vísceras, gema de ovo e gorduras, pode ser encontrado como vitamina pré-formada, na forma livre ou esterificada (ésteres de retinil) (ROTHMAN *et al.*, 1995; OLSEN, 1999; SOUZA; VILAS BOAS, 2002; ALLEN; HASKELL, 2002; MURADIAN; PENTEADO, 2003). As fontes vegetais contêm os carotenóides pró-vitamina A, uma classe de compostos que podem ser clivados para gerar formas retinóides. Os carotenóides são obtidos principalmente em vegetais de folhas verde-escuras, e certas frutas e vegetais de cor laranja e amarelo escuro, podendo também ser armazenados em estoques de tecidos animais. Vale ressaltar que, apesar de mais de 600 carotenóides terem sido isolados de fontes naturais, aproximadamente 50 possuem atividade de vitamina A, sendo o β -caroteno (Figura 1) o mais importante e eficiente carotenóide pró-vitamina A (HASKELL; BROWN, 1999; SOLOMONS, 2001).

1.1.2 Metabolismo do retinol

Uma vez consumidos, os ésteres de retinil são hidrolisados na membrana da borda em escova da mucosa do intestino curto por uma hidrolase de retinil (RIGTRUP *et al.*, 1994). O retinol livre é então incorporado às micelas lipídicas e transportado para dentro das células epiteliais da vilosidade intestinal. Nas células da mucosa intestinal, o retinol livre é reesterificado com ácidos graxos de cadeia longa através da lecitina-retinol aciltransferase (LRAT) e incorporado à fase lipídica dos quilomicrons, os quais são liberados na linfa e, subseqüentemente, dentro da circulação sistêmica, onde são convertidos à quilomicrons remanescentes. Neste percurso, uma parte dos ésteres de retinil é hidrolisada e o retinol é liberado diretamente aos tecidos. Contudo, a maioria dos ésteres de retinil e pequenas quantidades de retinol livre permanecem nos quilomicrons e são captados principalmente pelas células parenquimais do fígado, e em menor extensão por células de outros órgãos (HASKELL; BROWN, 1999; SOLOMONS, 2001; SENOO, 2004).

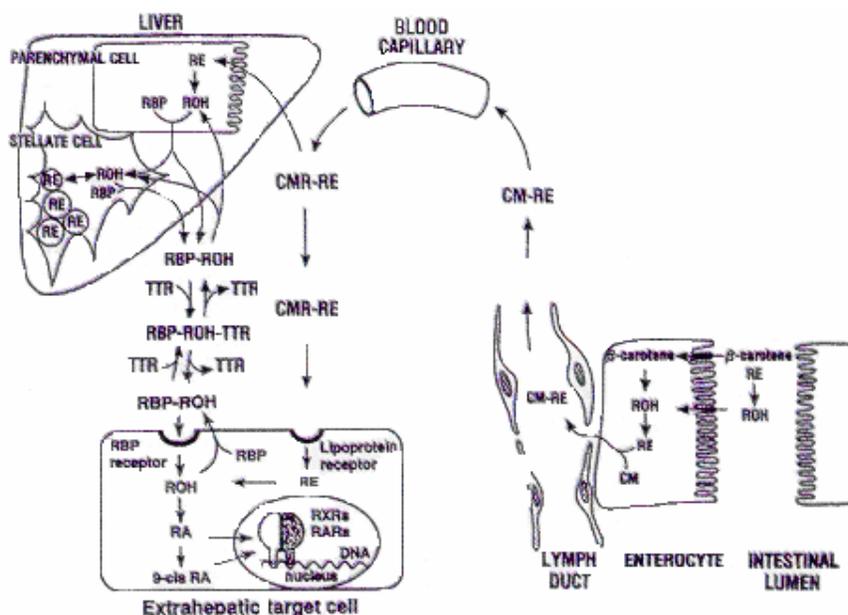
Nas células parenquimais os ésteres de retinil são rapidamente hidrolisados a retinol, o qual se une à proteína ligante de retinol (RBP), podendo então seguir o transporte local ou distante (ALLEN; HASKELL, 2002). O transporte local envolve a passagem do complexo retinol-RBP para as células estreladas hepáticas, onde cerca de 80% do retinol corporal será estocado na forma de ésteres de retinil, essencialmente como retinil palmitato, em gotículas lipídicas no citoplasma. O transporte distante diz respeito ao trajeto do complexo retinol-RBP pela corrente sanguínea para tecidos periféricos de utilização de vitamina A, associada a uma outra proteína chamada transtirretina (TTR). O complexo retinol-RBP é presumivelmente captado por uma variedade de células que possuem receptores específicos para RBP em sua superfície. Recentemente, células estreladas foram

encontradas em órgãos extra-hepáticos tal como o pâncreas, rins, pulmões e intestino. Vale ressaltar que as células estreladas regulam tanto o transporte quanto a estocagem de retinóides e, portanto, a homeostase dos retinóides (SOLOMONS, 2001; SENOO, 2004).

Todo o processo a partir da ingestão da vitamina até a liberação pelas células estreladas leva em torno de 5 horas (AZAÏS-BRAESCO; PASCAL, 2000). Dentro da célula-alvo, o retinol livre tem vários destinos, um deles é a formação do complexo com RBP e o retorno a corrente sanguínea. Outro caminho é a reesterificação com ácido palmítico e sua estocagem em gotículas lipídicas e o terceiro e último destino diz respeito a sua atuação gênica (SENOO, 2004). O retinol internalizado liga-se a RBP celular (CRBP) e é oxidado sequencialmente a retinal e a ácido retinóico. Enzimas como álcool desidrogenase e desidrogenase de cadeia curta podem catalisar o primeiro passo, o qual é reversível, enquanto a aldeído desidrogenase e citocromo P-450 catalisam a oxidação irreversível de retinaldeído a ácido retinóico. O ácido retinóico pode ainda sofrer isomerização não-enzimática e ser convertido a sua forma 9-cis (AZAÏS-BRAESCO; PASCAL, 2000).

Por sua vez, o ácido retinóico se acoplará à proteína ligante de ácido retinóico (CRABP) ou será transportado e ligado aos receptores nucleares de ácido retinóico (RAR para ácido retinóico todo trans, RXR para ácido retinóico 9-cis) (SENOO, 2004). A CRABP, assim como a CRBP, parecem estar envolvidas na regulação do metabolismo de seu ligante, protegendo-o contra oxidação não-enzimática, isomerização e metabolismo enzimático oportunístico. Estas proteínas também atuam defendendo as células contra o potencial de ruptura de membrana dos retinóides anfipáticos (NAPOLI, 1996; TAKASE; SURUGA; GODA, 2000). No núcleo, o ácido retinóico e seus metabólitos, de maneira análoga aos hormônios esteróides,

regulam a expressão gênica ligando-se, através de seus receptores, a seqüências curtas de DNA na vizinhança de genes marcados. Dessa maneira, induzem a síntese de glicoproteínas específicas e exercem as funções da vitamina A, com a única exceção da visão (BLOMHOFF, 2001; MCLAREN; FRIGG, 2002; MURADIAN; PENTEADO, 2003). A representação esquemática do metabolismo da vitamina A encontra-se na Figura 3 (BLOMHOFF, 2001).



Major pathways for retinoid transport in the body. ROH, Retinol; RE, retinyl ester; CM, chylomicron; CMR, chylomicron remnant; RBP, retinol-binding protein; TTR, transthyretin; RA, retinoic acid; RAR, retinoic acid receptor; RXR, retinoic X receptor

Figura 3 – Metabolismo, transporte e distribuição do retinol no organismo (BLOMHOFF, 2001)

1.1.3 Requerimentos e recomendações

O nível de requerimento da vitamina A é baseada na quantidade absorvida necessária para manter o estado nutricional adequado. O requerimento difere de acordo com o sexo, idade e situações fisiológicas especiais que aceleram o uso, estocagem ou destruição da vitamina, tal como a gestação, lactação e certas doenças crônicas e agudas. Os consumos recomendados de vitamina A são as

quantidades a serem consumidas diariamente para garantir que indivíduos absorvam seus níveis de requerimento, mas não experimentem os efeitos prejudiciais da toxicidade (SOLOMONS, 2001).

Levando esses aspectos em consideração, o Institute of Medicine (2001) recomenda um consumo diário de vitamina A (ou retinol equivalente [RE]) para homens a partir de 14 anos igual a 900 µg; para mulheres a partir de 14 anos, 700 µg; grávidas entre 19-50 anos, 770 µg e para lactantes (19-50 anos), 1300 µg. Trata-se da Recommended Dietary Allowance (RDA), que significa o nível de ingestão dietética diária, suficiente para atender as necessidades nutricionais de 97 a 98% dos indivíduos saudáveis de um determinado grupo de mesmo gênero e estágio de vida.

Quando não é possível determinar a RDA de um nutriente, recomenda-se a AI (Adequate Intake) que representa o valor médio de ingestão diária de um nutriente, o qual, provavelmente, excede a necessidade da maioria dos indivíduos saudáveis, em um determinado estágio da vida e gênero. No caso da vitamina A, esta recomendação ocorre para as crianças de 0-6 meses, que devem consumir 400 µg/dia da vitamina (COZZOLINO; COLLI, 2001; INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

A UL (Tolerable Upper Intake Level) estabelecida para vitamina A, ou seja, a ingestão máxima diária que não apresenta risco para saúde de um indivíduo ou grupo de indivíduos é de 3000 µg para homens e mulheres acima de 19 anos (COZZOLINO; COLLI, 2001; INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

É importante observar que os requerimentos são relativamente mais altos nas etapas iniciais da vida. Isso se deve principalmente às maiores necessidades de crescimento, que são superiores às de manutenção. Aliado a este fato, o fígado acumula gradualmente um suprimento de reserva que atinge seu pico na via adulta,

permitindo uma redução temporária na ingestão diária de vitamina A (MAHAN; ESCOTP-STUMP, 2002; MCLAREN; FRIGG, 2002).

1.1.4 Toxicidade e teratogenicidade

Entre os nutrientes essenciais, a vitamina A pré-formada quando consumida em excesso tem um dos maiores potenciais para produzir conseqüências tóxicas e possível teratogênese (ROTHMAN *et al.*, 1995). Sua natureza lipossolúvel e meia-vida biológica longa favorecem certo caráter tóxico. No que diz respeito à espécie humana no início da gravidez, existem poucos dados sobre a existência de uma ligação direta entre anomalias do desenvolvimento embrionário e o consumo por gestantes de doses elevadas de vitamina A pré-formada sob a forma de retinol ou ésteres de retinil. A teratogenicidade da vitamina A na gestação advém basicamente da experimentação animal, uma vez que menos de 20 casos em humanos foram registrados num período de 30 anos (WIEGAND; HARTMANN; HUMMLER, 1998; WHO, 2001; RAMALHO *et al.*, 2001; CHAGAS *et al.*, 2003).

Quando quantidades maciças de vitamina A pré-formada são capturadas intensamente e excedem a capacidade de ligação da RBP, ocorrem alterações nas membranas biológicas, assim como manifestações de toxicidade sistêmica. Sinais e sintomas da hipervitaminose A aguda incluem dor abdominal, náusea, vômito, dor de cabeça, fadiga, irritabilidade e descamação generalizada da pele; quando não fatais, os sintomas são resolvidos em um período de dias ou semanas (SILVERMAN apud SOLOMONS, 2001).

A hipervitaminose crônica usualmente reflete o uso inadequado de suplementos. A resposta ao excesso crônico é altamente variável entre os indivíduos, podendo envolver lesões mucocutâneas, ocular, neuromuscular,

psicológica, reumatológica e endócrinas. Os sintomas desaparecem em semanas ou meses quando a suplementação é suspensa (MAHAN; ESCOTP-STUMP, 2002).

1.1.5 Deficiência

Uma vez que o consumo de vitamina A não satisfaça as necessidades corporais, os estoques hepáticos serão depletados para manter as concentrações normais de retinol sérico. Neste momento, ocorre o que se denomina carência subclínica, ou seja, quando não há manifestações clínicas da enfermidade e a deficiência só pode ser detectada mediante exames laboratoriais. Esta forma é muito comum e generalizada, além de constituir um estado em que as funções fisiológicas começam a ser prejudicadas (FILTEAU *et al.*, 1993; MCLAREN; FRIGG, 2002; UNDERWOOD, 2004). Se o baixo consumo ocorre durante um período de tempo prolongado, as concentrações de retinol sérico irão decair. O déficit de vitamina A nas células-alvo tem como consequência a deficiência clínica de vitamina A, a qual é caracterizada por sinais e sintomas oculares (manchas de Bitot, cegueira noturna, e xeroftalmia), queratomalácia, que leva a secura corneal (xerose), ulceração e necrose corneal (BLOMHOFF, 2001; CRAFT, 2001). A queratinização das membranas mucosas que revestem o trato respiratório, o canal alimentar e o trato urinário diminuem o papel de barreira que essas membranas exercem para proteger o organismo contra infecções. Outros sinais e sintomas de deficiência de vitamina A são perda de apetite, inibição do crescimento, anormalidades ósseas, queratinização das papilas gustativas e perda do paladar (MAHAN; ESCOTP-STUMP, 2002).

Diversos aspectos geográficos e epidemiológicos estão associados à deficiência primária de vitamina A, sendo um deles a pobreza, o desemprego, baixo peso ao nascer, saneamento precário e parasitismo (WHO, 1996). Estado de má

absorção de gorduras, doença hepática, abuso de álcool e tabagismo são causas secundárias que reduzem os níveis de retinol (SOLOMONS, 2001).

A deficiência de vitamina A é reconhecida como um importante problema de saúde pública em países em desenvolvimento, estando entre as maiores causas de morbi-mortalidade infantil nestes mesmos países (RAMAKRISHNAN; MARTORELL, 1998; MAHAN; ESCOTP-STUMP, 2002). Sua prevalência é particularmente alta em regiões como a Ásia, África e, de forma menos documentada, na América Latina (DOLINSKY; RAMALHO, 2003). No Brasil, pensava-se que o problema estaria limitado às regiões Norte e Nordeste, mas os dados da região Sudeste em nada diferem dos dados dessas regiões, tornando a deficiência em vitamina A independente do mapa econômico do país (RAMALHO; FLORES; SAUNDERS, 2002). Estima-se que cerca de 100 milhões de crianças no mundo são deficientes em vitamina A de maneira subclínica e 3 milhões são clinicamente deficientes. Anualmente, mais de 1 milhão de óbitos na infância estão associados com a deficiência dessa vitamina. No mínimo 5 milhões de crianças desenvolvem xeroftalmia a cada ano, dos quais pelo menos meio milhão vão a cegueira (WHO, 1995).

A visão de que crianças em idade pré-escolar representam a principal população em risco de deficiência em vitamina A tem sido modificada, já que esta carência, subclínica ou mesmo clínica, também acomete mulheres em idade reprodutiva e em infantes menores que 6 meses de idade (RICE *et al.*, 1999). Semelhante fato ocorre devido às reservas hepáticas da vitamina no infante estarem muito limitadas ao nascimento, decorrente de uma tendência à diminuição dos níveis de retinol sérico das gestantes, especialmente no último trimestre da gestação, além da existência de uma barreira seletiva placentária, a qual impede a passagem dessa

vitamina para o feto. A imaturidade do trato gastrintestinal, responsável pela redução na absorção da vitamina A, associada à transferência precária da vitamina durante a gravidez, deixa os recém-nascidos vulneráveis a doenças como diarreia, sarampo, infecções respiratórias agudas e pneumonia (RONDO; ABBOTT; TOMKINS, 1995; DOLINSKY; RAMALHO; ACCIOLY, 1999; HASKELL; BROWN, 1999; AZAÏS-BRAESCO; PASCAL, 2000; SOLOMONS, 2001).

Em condições ideais de aleitamento, o leite materno é considerado a mais importante fonte de vitamina A para multiplicar as reservas hepáticas do recém-nascido. Normalmente, 60 vezes mais vitamina A é transferida da mãe para o filho durante os primeiros 6 meses de amamentação comparada à acumulação feita pelo feto nos 9 meses de gestação (RAMALHO; ANJOS; FLORES, 1998; MENA; MILAD, 1998; WHO, 2001; MINIM; COIMBRA; MINIM, 2002; DOLINSKY, 2003). O leite materno, por sua vez, parece ser influenciado pelo regime alimentar da mãe e constitui a principal fonte de vitamina A do lactente, se não a única (WHO, 2001; ROSS; HARVEY, 2003). Porém, as lactantes também constituem um grupo propício à deficiência de vitamina A, visto que grandes quantidades da vitamina são secretadas no leite. Os primeiros meses de vida representam, portanto, um período crítico aos infantes por deixá-los susceptíveis aos efeitos deletérios da deficiência de vitamina A, dependendo do estado nutricional materno deste nutriente (HASKELL; BROWN, 1999; RICE *et al.*, 2000).

1.2 VITAMINA A E A LACTAÇÃO

A composição química do leite humano varia significativamente nas duas primeiras semanas de lactação. O primeiro produto da secreção láctea, denominado de colostro é um fluido amarelado e espesso, produzido até 4^o-6^o dia pós-parto,

extremamente rico em vitamina A. Do 7^o ao 21^o dias pós-parto, as alterações na composição láctea continuam ocorrendo, quando o leite passa a receber a denominação de “leite de transição”. Neste leite, o conteúdo de vitamina A permanece expressivo, estabilizando-se no leite maduro, secretado em torno do 21^o dia (VITOLLO *et al.*, 1999; EUCLYDES, 2000; AZAÏS-BRAESCO; PASCAL, 2000; RIBEIRO *et al.*, 2002; ALCENCAR *et al.*, 2002; MURADIAN; PENTEADO, 2003; SCHWEIGERT *et al.*, 2004). De acordo com Ross (2003), em mulheres bem nutridas, o colostro contém em média 151 µg/dL de vitamina A, o leite de transição 88 µg/dL e o leite maduro 75 µg/dL.

Além dos estágios de lactação, várias condições tais como o conteúdo de gordura do leite, o transcorrer da mamada, a idade materna, bem como aspectos individuais de cada lactante, também parecem influenciar a concentração de vitamina A no leite (HASKELL; BROWN, 1999; RICE *et al.*, 2000; NASCIMENTO; ISSLER, 2003; RIBEIRO; DIMENSTEIN, 2004).

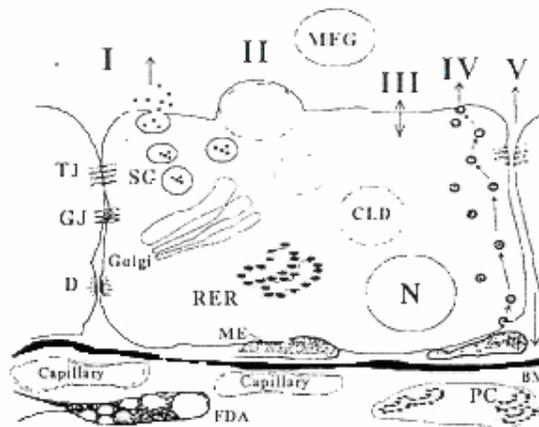
Pouco é conhecido a respeito do mecanismo que envolve a transferência das vitaminas lipossolúveis provenientes do plasma para a secreção da glândula mamária. Apesar de o conteúdo lipídico estar associado ao transporte de vitamina A, deve-se observar que à medida que o conteúdo da vitamina decresce com o progresso da lactação, os lipídios totais se elevam, assumindo que a transferência desses componentes lipofílicos não é uma mera reflexão da transferência dos lipídios no leite e um outro mecanismo específico deve participar nesse transporte (HASKELL; BROWN, 1999; MACIAS; SCHWEIGERT, 2001; SCHWEIGERT *et al.*, 2004).

A transferência da vitamina A materna para o leite tem sido estudada em modelos animais, mas o mecanismo ainda não é completamente entendido. Estudos

em vacas leiteiras, ovelhas e macacos, sugerem que sob condições dietéticas normais a vitamina A é entregue à glândula mamária na forma de retinol ligado a RBP. Em adição, a vitamina A de origem dietética pode ser transferida diretamente à glândula mamária a partir dos quilomicrons, indicando uma grande influência do consumo dietético de vitamina A durante a lactação (FLORES, 1993; UNDERWOOD, 1994; STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995; ORTEGA *et al.*, 1997; UNDERWOOD *et al.*, 1998; CANFIELD *et al.*, 1999; HASKELL; BROWN, 1999; VITOLO *et al.*, 1999; ACCIOLY; SOUZA, 2000; WHO, 2001; MILLER *et al.*, 2002; DOLINSKY; RAMALHO, 2003; NASCIMENTO; ISSLER, 2003). Outros autores, entretanto, estão em desacordo com essa última possibilidade (INSTITUTE OF MEDICINE, 1991; TANUMIHARDJO *et al.*, 1996; NEVILLE, 2001; RIBEIRO *et al.*, 2002; NASCIMENTO; ISSLER, 2003).

É válido enfatizar que Neville, Morton e Umemura (2001) citam a existência de 5 caminhos que sincronizados realizam a passagem de substâncias da célula alveolar para produção do leite e dos quais a vitamina A também pode fazer uso (Figura 4). O primeiro caminho diz respeito à exocitose de proteínas lácteas, lactose e outros componentes da fase aquosa; o segundo secreta a gordura do leite por meio de glóbulos de gordura; o terceiro, está relacionado à secreção de íons, água e glicose; o quarto realiza a transposição de componentes do espaço intersticial e o quinto, denominado de caminho paracelular, diz respeito à passagem de substâncias entre as células epiteliais. No entanto, este último caminho encontra-se fechado durante a lactação completa, até mesmo para moléculas de baixo peso molecular. Tal mecanismo pode ser melhor entendido quando Chaves (2004) explica a transferência de alguns medicamentos para o leite. Segundo ele durante os primeiros dias de lactação (colostró), as células alveolares são pequenas e o espaço

intercelular é largo, o que faz com que substâncias maternas, incluindo drogas, linfócitos, imunoglobulinas e proteínas transfiram-se mais facilmente para o leite materno. Com a redução dos níveis de progesterona, há crescimento das células alveolares e estreitamento dos espaços intercelulares, com conseqüente redução da transferência de drogas e demais substâncias.



The pathways for milk synthesis and secretion by the mammary epithelial cell. I = Exocytosis of milk protein, lactose, and other components of the aqueous phase in Golgi-derived secretory vesicles. II = Milk fat secretion by way of the milk fat globule. III = Direct movement of monovalent ions, water, and glucose across the apical membrane of the cell. IV = Transcytosis of components of the interstitial space. V = The paracellular pathway for plasma components and leukocytes. Pathway V is open only during pregnancy, involution, and in inflammatory states such as mastitis. SG = secretory granule, RER = rough endoplasmic reticulum; BM = basement membrane; MFG = milk fat globule; CLD = cytoplasmic lipid droplet; N = nucleus; PC = plasma cell; FDA = fat depleted adipocyte; TJ = tight junction; GJ = gap junction; D = desmosome; ME = myoepithelial cell. (From Neville MC, Allen JC, Watters C: The mechanisms of milk secretion. In Neville MC, Neifert MR (eds): Lactation: Physiology, Nutrition and Breast-Feeding. New York. Plenum Press. 1983. p 50; with permission.)

1.3 INDICADORES DO ESTADO NUTRICIONAL EM VITAMINA A

O retinol plasmático é o indicador mais amplamente usado para determinar o estado em vitamina A de populações (FLORES, 1993). Apesar dos níveis de retinol sérico serem fortemente regulados pelo fígado (WHO, 2002) os achados até então acumulados apontam a concentração de 20 µg/dL como o limite entre o estado de adequação e a condição marginal da deficiência de vitamina A, podendo ser

caracterizada como problema de saúde pública, por meio da prevalência acima de 10% (WHO, 1996; DOLINSKI; RAMALHO, 2003).

A concentração de vitamina A no leite tem recentemente sido proposta como um indicador do estado nutricional da vitamina para populações de lactantes e seus infantes, pois informa a respeito do fornecimento da vitamina A ao lactente (STOLTZFUS, UNDERWOOD, 1995; ORTEGA *et al.*, 1997; VITOLO *et al.*, 1999; SEMBA *et al.*, 2000). Para caracterizar a deficiência em vitamina A no leite pode-se utilizar o ponto de corte $\leq 30 \mu\text{g/dL}$. A deficiência de vitamina A é considerada como problema de saúde pública quando 10% ou mais das lactantes estão com níveis de retinol inferiores a $30 \mu\text{g/dL}$ no leite (HASKELL; BROWN, 1999).

1.4 COMBATE À DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A

Reconhecendo os papéis que a vitamina A e seus precursores podem representar em termo de saúde pública, a Organização Mundial de Saúde (OMS) propôs, em 1985, um plano de ação coordenado com duração de 10 anos para a prevenção e controle da deficiência de vitamina A (DVA) e xerofthalmia, incluindo a eliminação virtual da deficiência para o ano de 2000, segundo os compromissos das Nações Unidas. Diversos países onde a DVA é endêmica, entre eles o Brasil, ratificaram o acordo político. Esta meta ainda não foi visualizada, no entanto, tem-se assistido nos últimos anos, um contínuo aumento no número de programas em que se distribui vitamina A em elevadas doses para tratar ou prevenir sua carência (WHO/UNICEF/IVACG, 1997; MORA; GUERI; MORA, 1998).

É utilizando o argumento da melhoria do status de vitamina A materno como estratégia de sobrevivência infantil que a OMS, juntamente com a UNICEF e o Grupo Consultivo Internacional sobre Vitamina A, recomendam que nas regiões

onde a carência de vitamina A é endêmica, sejam dadas doses elevadas de vitamina A (200.000 UI), em suplementação, às mulheres lactantes durante o período de sessenta dias pós-parto (WHO, 2001).

O Brasil, país classificado pela OMS e pela Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) como sendo área de carência subclínica grave, vem desde 1983 efetuando a distribuição de doses maciças de vitamina A. Contudo, a intensificação de tal medida se deu em 1994 através da instituição do Programa Nacional de Controle da Deficiência de Vitamina A, levando a aplicação de megadoses (cápsulas de 100.000 e 200.000 UI) desta vitamina, em crianças de 6 a 59 meses de idade, nos Estados da Região Nordeste, Vale do Jequitinhonha (Minas Gerais) e em três municípios do Estado de São Paulo. Entretanto, somente em 2002, o Ministério da Saúde lançou um projeto com o objetivo de ampliar o programa para o grupo de puérperas residentes nestes estados, através da aplicação de 1 megadose de vitamina A (200.000 UI) por via oral no pós-parto imediato - momento da alta hospitalar (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

A atual dose recomendada de 200.000 UI de retinol pós-parto deve permitir a uma mulher saudável manter suas reservas hepáticas enquanto produz leite com concentrações normais de vitamina A por 60 dias. Este cálculo considera um bom estado inicial de vitamina A, boa saúde, consumo dietético adequado para suprir as necessidades basais para a vitamina e requerimento adicional de 500 RE/dia devido à lactação (RICE *et al.*, 1999). A proteção, promoção e apoio às boas práticas de lactância materna também deveriam ser um ponto importante em qualquer estratégia destinada a combater a deficiência de vitamina A (WHO/UNICEF/IVACG, 1997; ROSS; HARVEY, 2003).

Humphrey (2001) afirma que cálculos teóricos e recentes estudos apontam que a dose indicada pela OMS não é suficiente e doses superiores podem ser bem toleradas. Neste contexto, sugere que 400.000 UI devem ser administradas durante as oito primeiras semanas pós-parto, em duas doses de 200.000 UI, separadas por no mínimo 24 horas.

Quando comparada à administração de uma ou mais doses desta vitamina ao infante, suplementar as lactantes com altas doses de vitamina A logo após o parto, passa a ser considerada a alternativa mais segura para melhorar o estado nutricional em lactentes abaixo de 6 meses de idade. Além do mais, tanto a mãe quanto a criança são beneficiadas com a megadose (WHO/UNICEF/IVACG, 1997).

1.5 ENSAIOS COM SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA A

O impacto da suplementação de vitamina A no estado nutricional de retinol materno e/ou da criança tem sido examinado em poucos estudos. No Brasil as informações sobre níveis de vitamina A em leite materno ainda são escassas (VITOLLO *et al.*, 1999; SOUZA; VILAS BOAS, 2002). Entretanto, tem sido mostrado que é possível elevar a sua concentração no leite pelo aumento do consumo de vitamina A através da administração de altas doses de suplementos da vitamina durante a lactação (STOLTZFUS *et al.*, 1993).

Levando em consideração diversos ensaios com suplementação materna pós-parto, Ross *et al.* (2003) simularam um modelo para avaliar a contribuição da amamentação à nutrição de vitamina A dos infantes e a partir dele sugeriram que 20% do suplemento nestes ensaios foram transferidos aos lactentes, contribuindo com 18% do Adequate Intake (AI) para os primeiros 6 meses de vida, o que

representou um acréscimo de 35% além do consumo estimado da vitamina para os infantes do grupo placebo.

Em um estudo prospectivo realizado com mães indianas foi observado um aumento significativo na concentração de retinol do leite materno 24 horas após suplementação em dose única (200.000 UI) de retinol. Mesmo diante de um declínio gradual, o grupo teste permaneceu com níveis de retinol no leite superiores ao grupo controle durante 4 meses. Os níveis de retinol sérico dos infantes do grupo teste também se apresentaram marcadamente superiores até os 5 meses de vida (BASU; SENGUPTA; PALADHI, 2003).

Canfield (1999), suplementando em curto prazo, lactantes de Honduras consumidoras de dietas pobres em vitamina A com duas doses de 30 mg de β -caroteno, verificou um aumento significativo do nutriente no sangue materno, bem como um aumento do retinol sérico dos lactentes. Este trabalho foi a primeira demonstração direta do aumento do retinol sérico do infante em resposta à suplementação materna com β -caroteno, fornecendo bases para estudos posteriores.

Outra situação de suplementação foi realizada em mulheres de Bangladesh com palmitato de retinol (200.000 UI) ou β -caroteno (7,8 mg/dia durante 9 meses). Rice *et al.* (1999) observaram que ambas intervenções tiveram efeitos benéficos, variando apenas o tempo de atuação. No primeiro momento, a dose de palmitato de retinol teve um impacto imediato nos estoques hepáticos maternos e níveis de vitamina A no leite, o qual declinou rapidamente com a dose utilizada. Em contraste, os estoques hepáticos das mães cresceram lentamente no grupo que recebeu suplementos dietéticos de β -caroteno diariamente, evidenciando seus efeitos durante a segunda metade do estudo. Dessa forma, os autores verificaram uma

melhor eficácia no estado de vitamina A de lactantes por parte da suplementação de β -caroteno, capaz de favorecer os infantes nos 6 primeiros meses de vida. Em contrapartida, também concluíram que entre populações onde a deficiência de vitamina A é prevalente, a megadose de 200.000 UI fornecida às lactantes no pós-parto é insuficiente, pois não elevou as concentrações de vitamina A no leite, a níveis capazes de construir estoques hepáticos adequados da vitamina nos lactentes. Mediante o ocorrido, eles sugeriram uma revisão da atual recomendação para suplementação materna, considerando uma dosagem maior. Os detalhes dos ensaios podem ser visualizados resumidamente na tabela 1.

Consultores da OMS acreditam que a suplementação com vitamina A administrada a mulheres lactantes no curso das primeiras semanas pós-parto tem efeitos benéficos tanto para mãe como para o lactente, durante pelo menos, seis meses. Todavia, afirmam que convém examinar os efeitos agudos desta suplementação na mãe e infante, bem como a taxa de retinol no soro e no leite, de forma a avaliar as repercussões dessas estratégias sobre os programas, não esquecendo as vantagens em longo prazo, com a finalidade última de reduzir a mortalidade infantil.

Tabela 1 – Ensaio com suplementação de vitamina A

AUTOR	ANO	ORIGEM DOS DADOS	DOSE UTILIZADA NA	EFEITO
-------	-----	------------------	-------------------	--------

SUPLEMENTAÇÃO				
Ross; Harvey	2003	Países desenvolvidos e em desenvolvimento	—	Acréscimo de 35% no consumo de vitamina A pelos infantes nos primeiros 6 meses de vida
Basu; Sengupta; Paladhi	2003	Índia	200.000 UI de retinol	Nível sérico de retinol do infante elevado até 5 meses de vida e do leite materno até 4
Canfield <i>et al.</i>	1999	Honduras	30 mg de β - caroteno (4 dias consecutivos)	Aumento do retinol no leite e no soro dos infantes
Rice <i>et al.</i>	1999	Bangladesh	200.000 UI palmitato de retinol ou β - caroteno (7,8 mg/dia/9 meses)	Palmitato de retinol – impacto imediato nos estoques hepáticos maternos β -caroteno – aumento gradual nos estoques hepáticos maternos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Verificar a influência da suplementação de retinol palmitato sobre os níveis de vitamina A do leite de puérperas saudáveis atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco, Natal - RN.

2.2 ESPECÍFICOS

- Dosar retinol sérico das puérperas antes da suplementação e analisar os resultados através de diferentes pontos de corte;

- Verificar a prevalência da deficiência sérica de retinol no grupo estudado;

- Dosar o retinol do leite colostro, transição e maduro dos grupos suplementado e controle, verificando a adequação dos resultados obtidos através dos pontos de corte utilizados.

- Comparar entre si os valores de retinol dos três tipos de leite, ou seja, no decorrer da lactação, tanto para o grupo controle, quanto para o suplementado;

- Verificar a prevalência da deficiência de retinol do leite das participantes;

- Observar a influência da suplementação nos níveis de retinol dos leites colostro, transição e maduro.

- Dosar e comparar a gordura do leite colostro, transição e maduro referentes aos grupos suplementado e controle;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CASUÍSTICA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. O experimento foi do tipo longitudinal e teve como participantes 106 puérperas, atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco

(MEJC) – Natal (RN), entre 19-40 anos, com parto a termo (37-42 semanas de gestação), concepção única sem má-formação, ausentes de doenças (diabetes, hipertensão, cardiopatias, infecções, etc) e residentes no município.

De todas participantes, 68 compuseram o grupo teste, ou seja, que recebeu suplementação; e 38 o grupo controle. Após consentimento esclarecido (ver apêndice), foram realizadas as coletas de sangue e leite das lactantes e um pequeno questionário (ver apêndice) para obter o endereço residencial e informações a respeito de algumas condições sócio-econômicas, como tamanho da família, número de filhos e renda familiar.

3.2 COLETA DE AMOSTRAS

3.2.1 Amostras de sangue

Foram coletados 5 mL de sangue de cada participante, antes da suplementação com retinol (no caso do grupo teste), após jejum noturno e através de punção na veia antecubital. As amostras foram transportadas sob refrigeração (4°C), em tubos plásticos envoltos por papel alumínio, ao Laboratório de Bioquímica da Nutrição, pertencente à Universidade Federal do Rio Grande do Norte e logo em seguida, centrifugadas por 5 minutos (500 x g) para separação e remoção do soro. As amostras de soro foram conservadas, sob atmosfera de nitrogênio, em -20°C até o momento da análise.

3.2.2 Amostras de colostro

No período matutino, pequenas amostras de leite colostro (2 mL) foram obtidas por expressão manual de uma das mamas, com intervalo mínimo de 1 hora desde o último episódio de amamentação. Em seguida, para as participantes do grupo suplementado, foi administrada uma megadose de 200.000 UI (60.000 µg) de retinol palmitato. Todo o processo a partir da ingestão da vitamina A até a secreção pelas

células estreladas leva em torno de 5 horas (AZAÏS-BRAESCO, 2000). Além disso, Vliet *et al.* (2001) afirmaram que o pico máximo, no plasma, de uma suplementação contendo 15 mg de ésteres de retinil (palmitato e estearato de retinil) em mulheres não-grávidas entre 19 – 47 anos, é obtido após 6 horas de sua administração. Por esses motivos, optou-se coletar uma segunda amostra de colostro 6 horas após a suplementação. As mães foram orientadas a não amamentarem 1 hora antes da coleta. Todas as amostras foram transportadas em tubos de polipropileno, devidamente protegidas da luz, e armazenadas sob atmosfera de nitrogênio a -20°C até a análise.

3.2.3 Amostras de leite de transição e maduro

Para obtenção das amostras de leite de transição e leite maduro, foram realizadas duas visitas domiciliares. O procedimento de coleta e transporte foi o mesmo que o do colostro, no entanto, foram extraídos 5 mL de cada amostra.

3.3 SAPONIFICAÇÃO E EXTRAÇÃO DE RETINOL DAS AMOSTRAS

A extração do retinol dos materiais biológicos ocorreu pelo uso do método de Giuliano *et al.* (1994) adaptado de acordo com as condições laboratoriais (Figuras 5 e 6). Diferentes alíquotas (500 µL para colostro e leite de transição e 1000 µL para leite maduro e soro) foram utilizadas nesta etapa. O método consistiu previamente em uma saponificação alcalina com hidróxido de potássio (Merck) a 50%, na mesma quantidade que a amostra, no intuito de hidrolisar os ésteres de retinil, e adição de etanol a 95% (Vetec), em volume dobrado ao da amostra, para desnaturação das proteínas. A solução foi mantida em banho-maria a 45°C sob atmosfera de nitrogênio, protegida da luz, por 120 minutos.

A extração dos lipídeos da amostra foi obtida utilizando-se hexano (Merck) em 3 lavagens sucessivas para o leite e 1 para o soro (2 mL para colostro e leite de transição, 3 mL para o leite maduro e 8 mL para o soro). Após a adição do solvente, as amostras foram agitadas, centrifugadas por 10 minutos (500xg) e os sobrenadantes foram removidos e adicionados em um novo tubo. A fase hexânica foi evaporada sob atmosfera de nitrogênio, em banho-maria a 37°C e os extratos secos foram armazenados a -18°C.

O nível de retinol das amostras foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC por sua sigla em inglês). No momento da análise, os extratos foram dissolvidos em 1 mL de metanol (Merck - grau HPLC) e 20 µL foi injetado no aparelho. Para maior precisão dos resultados um padrão de retinol todo trans (Sigma) foi utilizado e tanto ele quanto a amostra foram aplicados em duplicata. Os testes de reprodutibilidade e confiabilidade demonstraram que adicionando retinol às amostras, mais de 95% dele consegue ser recuperado.

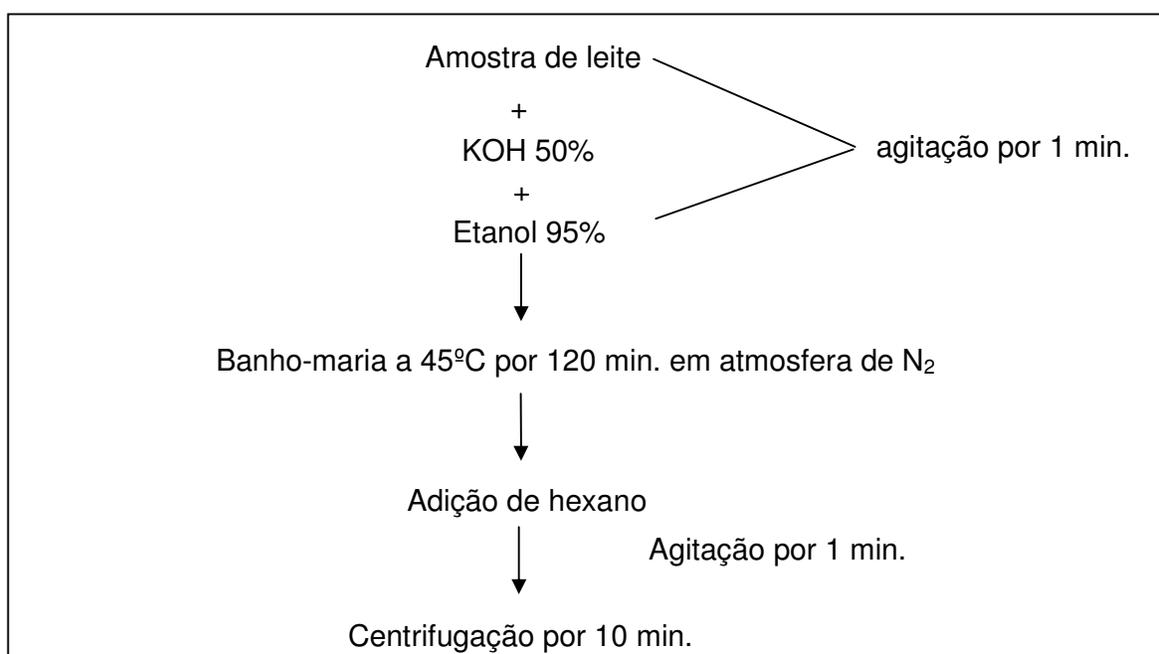
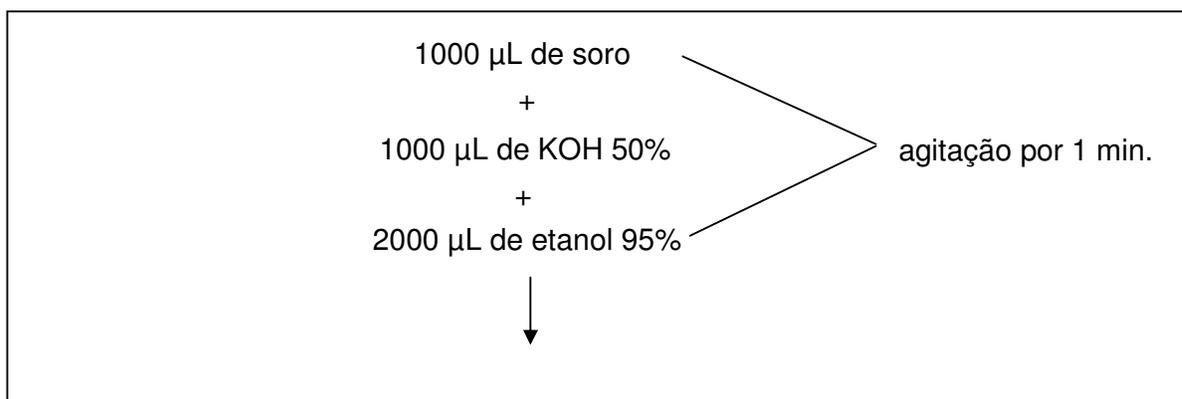


Figura 5 – Extração de retinol das amostras de leite.



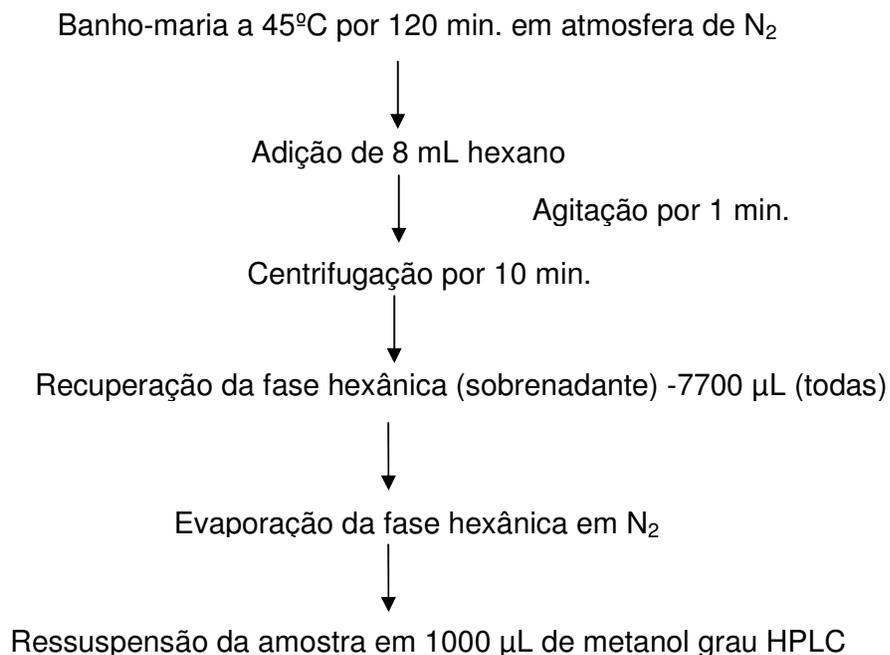


Figura 6 – Extração de retinol das amostras de soro.

3.4 PREPARO DO PADRÃO DE RETINOL

Com o objetivo de atingir as concentrações ideais para aplicação no aparelho de HPLC, o padrão de retinol sofreu algumas diluições (Figura 7). Através da diluição de 1,0 mg de retinol em 1,0 mL de etanol absoluto, obteve-se o denominado padrão estoque. Outras duas diluições foram realizadas até que o padrão atingisse a concentração aproximada de 10 µg/mL. Neste ponto foi efetuada a leitura do padrão

em espectrofotômetro (Hitachi, modelo U-2000), utilizando-se cubetas de quartzo, para confirmar a concentração real do padrão.

O comprimento de onda utilizado para a leitura foi de $\lambda=325$ nm e o coeficiente de absorção ou coeficiente específico de extinção (ϵ 1%, 1 cm em etanol) foi $\epsilon^{\%}=1780$, como descrito por Olson (1996) e Milne; Botnen (1986), respectivamente. Na figura 7 apresenta-se o esquema de diluição do padrão. Em seguida, tem-se a fórmula utilizada no cálculo da concentração real do padrão.

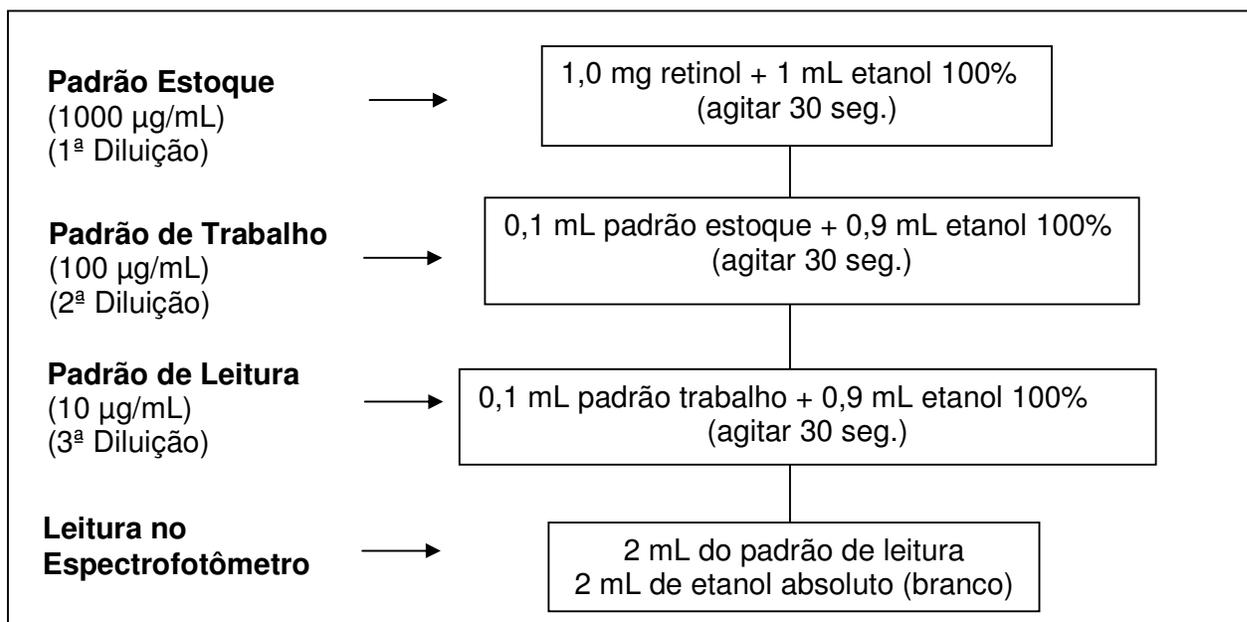


Figura 7 – Diluições do padrão de retinol para leitura no espectrofotômetro.

Fórmula usada para a determinação da concentração real do padrão:

$$[] \text{ do Padrão} = \frac{A^{\circ}}{\epsilon^{\%}}$$

Onde: [] do padrão = concentração do padrão em gramas de retinol por 100 mL da solução de leitura (g %); A° = leitura da absorbância realizada no

espectrofotômetro; $\epsilon^{\%}$ = coeficiente específico de extinção de retinol em etanol ($\epsilon^{\%}$ = 1780).

Após a confirmação da concentração real do padrão, o padrão trabalho foi diluído uma vez em metanol grau HPLC, levando sua concentração a aproximadamente 20 ng/20 μ L para aplicação no aparelho de HPLC, como demonstra o esquema apresentado na Figura 8.

O cálculo da concentração real e a preparação do padrão para aplicação no aparelho de HPLC foram realizados todos os dias de aplicação das amostras com o objetivo de evitar variações decorrentes de fatores externos.

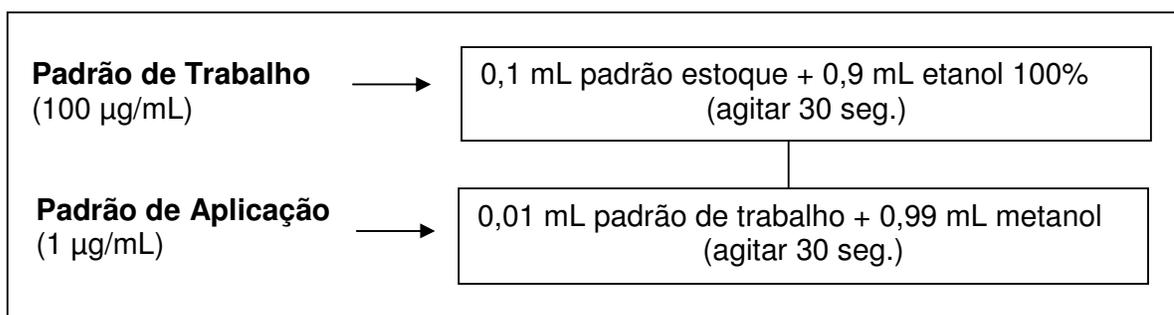


Figura 8 – Diluição do padrão de retinol para sua aplicação no aparelho de HPLC.

3.5 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

A CLAE utilizada neste estudo para dosagem de retinol nas amostras e no padrão foi composta pelo seguinte sistema cromatográfico: uma bomba de cromatografia líquida LC-10 AD Shimadzu, acoplada a um Detector SPD-10 A

Shimadzu UV-VIS e Integrador Chromatopac C-R6A Shimadzu com uma coluna e pré-coluna CG nucleosil C₁₈ (fase reversa) Shim-pack CLC-ODS (M) 4,6mm x 25cm. A fase móvel foi 100% composta por metanol grau HPLC (Merck) e o comprimento de onda utilizado para a detecção do retinol foi 325 nm. O tempo de retenção da vitamina foi de 4,0 minutos em fluxo de 1 mL/min.

A quantificação de retinol presente nas amostras foi realizada por comparação com a área do pico do padrão de retinol. Os valores de retinol encontrados no leite e soro foram expressos em µg/100 mL.

3.6 CONFIRMAÇÃO DO RETINOL E TEMPO DE RETENÇÃO DO RETINOL DAS AMOSTRAS DE LEITE E SORO MATERNO

Para confirmar a identidade do retinol nos extratos das amostras de leite e soro foram adicionados padrões de retinol em concentrações conhecidas e então observada a sobreposição dos picos (amostra + padrão) e conseqüente aumento da área do pico no cromatograma. O tempo de retenção do retinol da amostra é confirmado ao comparar-se com o do padrão.

3.7 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GORDURA DO LEITE MATERNO

A determinação do teor de gorduras foi obtida pelo método do crematócrito, descrito por Lucas *et al.* (1978).

Amostras de leite foram colocadas em tubos capilares (triplicata) e submetidas à centrifugação em 12.000g por 15 minutos. Neste intervalo ocorreu a separação entre o creme e o soro do leite. Então, foi aferido o comprimento da coluna de creme e da coluna total de produto (coluna de creme + coluna de soro, expressos em mm). O teor de gordura foi adquirido usando as seguintes fórmulas:

$$\% \text{ Teor de creme} = \frac{\text{Coluna de creme (em mm)}}{\text{Coluna total de produto (em mm)}} \times 100$$

$$\text{Teor de gordura (g/dL)} = \frac{\text{Teor de creme (\%)} - 0,59}{1,46}$$

3.8 VALORES DE REFERÊNCIA

Não existe um consenso para um ponto de corte que defina a hipovitaminose A sérica. Nesta pesquisa foram utilizados dois pontos de corte; sendo eles 20 µg/dL e 30 µg/dL (WHO, 1996). Os resultados obtidos através deles foram comparados. A carência foi determinada como problema de saúde pública no grupo em estudo, por meio da prevalência acima de 10% (WHO, 1996).

Para caracterizar a deficiência em vitamina A no leite foi utilizado o ponto de corte ≤ 30 µg/dL de leite e 8 µg/g de gordura (WHO, 1996). A deficiência de vitamina A é considerada como problema de saúde pública quando 10% ou mais das lactantes estão com níveis de retinol inferiores a esses valores (WHO, 1996; HASKELL, 1999).

4.0 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para as análises estatísticas foi utilizado o programa Statistica '99 Edition. Os dados foram expressos em média e desvio padrão. As diferenças entre as médias dos resultados normalmente distribuídos foram avaliadas através do teste t, sendo significativas para ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

O perfil socioeconômico do grupo estudado (68 mães do grupo suplementado e 38 do controle) foi caracterizado por mulheres com idade média de $26,3 \pm 4,8$ anos; com 2,0 filhos, variando de 1-10; cujas famílias possuíam em média 5,0 membros

(variação de 2-11) e renda mensal de $2,6 \pm 2,5$ salários mínimos. Das participantes, 44,6% contribuíam com a renda familiar.

Quando o retinol do soro foi analisado nos dois grupos ($27,4 \pm 11,7$ µg/dL e $23,2 \pm 8,2$ µg/dL para o grupo suplementado e controle, respectivamente), observou-se que ambos possuíam valores normais comparado ao ponto de corte 20 µg/dL, porém inferiores ao ponto de corte de 30 µg/dL. Não houve diferença significativa entre as médias ($p = 0,057$). Apesar dos níveis médios de retinol sérico se mostrarem adequados, a prevalência de deficiência subclínica de vitamina A representada por este indicador revelou um problema de saúde pública, pois afetou 29,4% das puérperas do grupo suplementado e 35,1% das do grupo controle em relação ao ponto de corte de 20 µg/dL. Através do ponto de corte 30 µg/dL, a prevalência ficou em 64,7% e 81,1% para o grupo suplementado e controle, consecutivamente.

Neste estudo, a vitamina A do leite materno foi outro indicador do estado nutricional bioquímico em vitamina A. Sua análise demonstrou níveis normais em todos os estágios da lactação, com médias de $99,0 \pm 64,4$ µg/dL para o colostro; $160,1 \pm 94,4$ µg/dL para o colostro 6 horas após suplementação; $68,9 \pm 33,5$ µg/dL para o leite de transição e $30,6 \pm 15,2$ µg/dL para o leite maduro do grupo suplementado. Foram observadas diferenças significativas entre as médias de retinol no leite dos diferentes estágios (Figura 9 e 10). Examinando-se a figura 10, pode-se observar o declínio do nível basal do retinol do colostro para valor inferior à metade no leite maduro. A mesma análise realizada com o grupo controle também demonstrou média de retinol superior no colostro $88,6 \pm 62,1$ µg/dL, reduzindo no decorrer da lactação para $61,9 \pm 30,1$ µg/dL no leite de transição e $32,9 \pm 17,6$ µg/dL no leite maduro. Houve diferença significativa entre as médias (Figura 10), no

entanto não houve diferença entre as médias do grupo controle e as respectivas médias do grupo suplementado.

Assim como no soro, a prevalência de deficiência subclínica no leite atingiu mais de 10% das lactantes, evidenciando um problema de saúde pública. Na fase de leite maduro, particularmente, a prevalência abrangeu 53,4% e 51,4% das puérperas do grupo suplementado e controle, respectivamente.

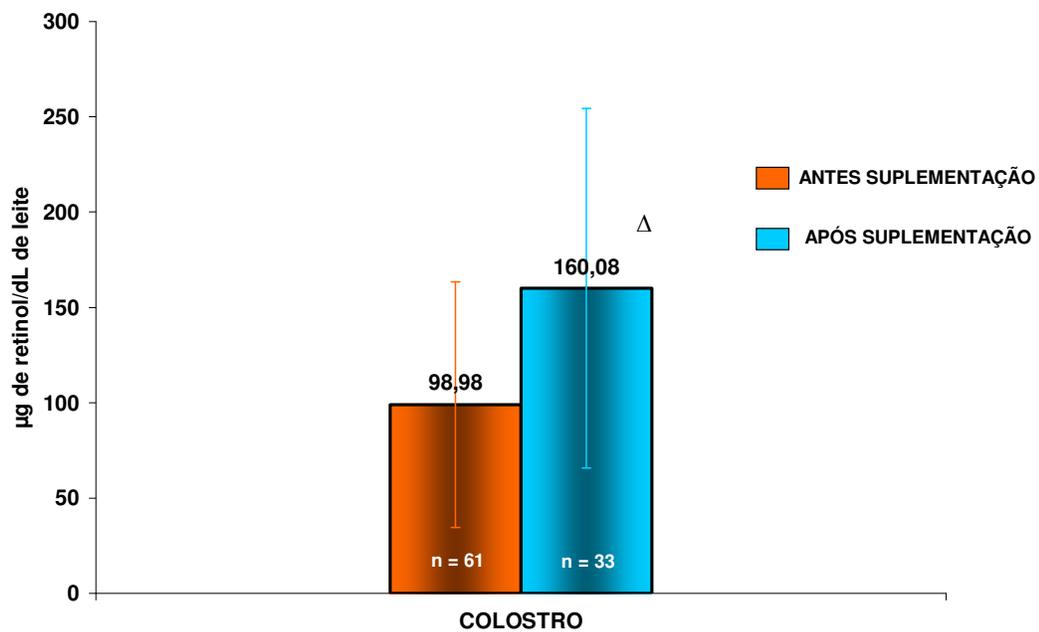


Figura 9 – Efeito da suplementação nos níveis de retinol do colostro de puérperas atendidas na MEJC.

Δ - diferença significativa em relação ao colostro antes da suplementação ($p < 0,0001$). Teste t student para amostras não pareadas

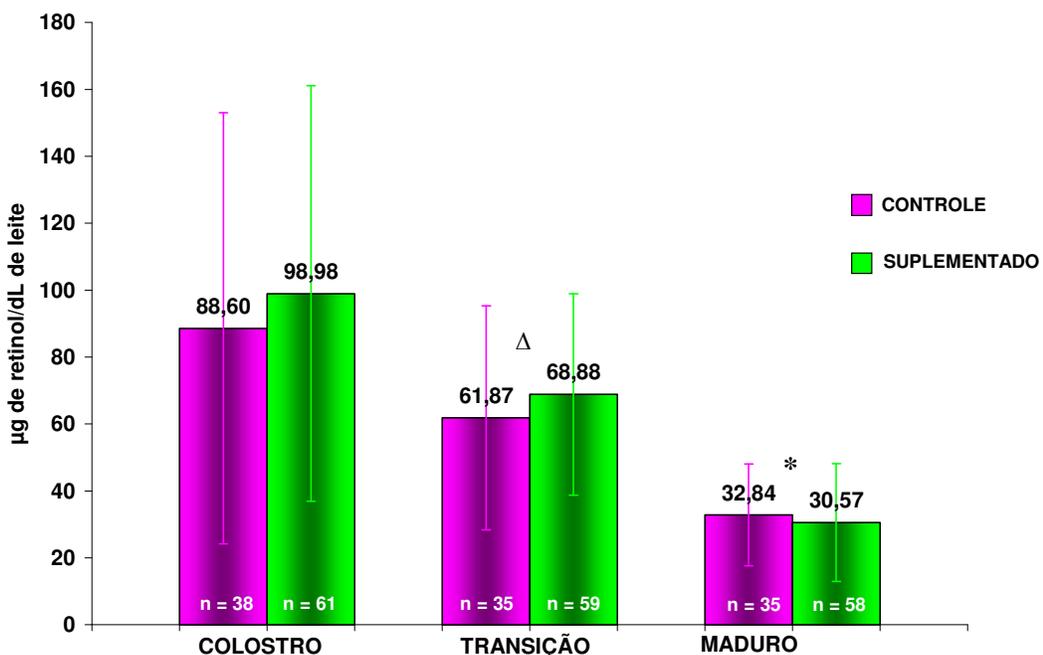


Figura 10 – Efeito da suplementação nos níveis de retinol do leite (μg de retinol / dL de leite) de puérperas atendidas na MEJC.

Δ - diferença significativa em relação ao colostro ($p < 0,01$). Teste t student para amostras não pareadas.

* - diferença significativa em relação ao colostro e transição ($p < 0,0001$). Teste t student para amostras não pareadas

Quando expresso em $\mu\text{g/g}$ de gordura, o retinol no leite de ambos os grupos se comportou de maneira semelhante aos grupos expressos em $\mu\text{g/dL}$ de leite. Apresentaram valores normais de retinol no leite, declinaram para valores inferiores no leite maduro e apresentaram diferença significativa entre as médias (Figura 11). Nesta análise, a prevalência da deficiência de vitamina A foi de 44,4% para o grupo

suplementado e 42,2% para o controle, demonstrando a magnitude do problema. Esta forma de representar o retinol no leite é utilizada no intuito de controlar a variação nas concentrações de retinol induzidas por amostragem. Ou seja, o volume de leite secretado no decorrer da lactação é mais variável que os níveis de gordura, e podem causar, portanto, alterações nos resultados (WHO, 1996). Entretanto, a similaridade demonstrada por esses dois modos de expressar o retinol no leite, fortaleceu a confiança dos resultados apresentados.

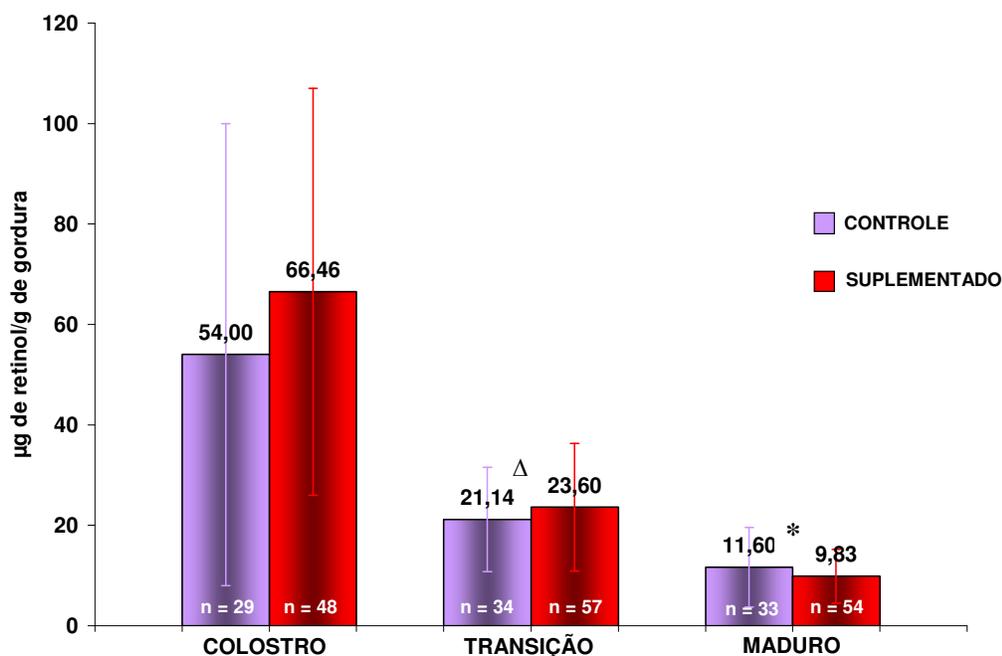


Figura 11 – Efeito da suplementação nos níveis de retinol do leite (µg de retinol / g de gordura) de puérperas atendidas na MEJC.

Δ - diferença significativa em relação ao colostro ($p < 0,0001$). Teste t student para amostras não pareadas.

* - diferença significativa em relação ao colostro e transição ($p < 0,0001$). Teste t student para amostras não pareadas.

Nenhuma diferença significativa foi observada quando as médias do retinol referentes aos três tipos de leite do grupo suplementado foram comparadas com as respectivas médias do grupo controle, tanto expresso por µg/dL de leite quanto por µg/g de gordura (Tabela 2). Além disso, algumas mães não demonstraram resposta seis horas após a suplementação, enquanto outras ultrapassaram 200% de aumento. A resposta individual à suplementação pode ser vista no Figura 12.

Tabela 2 – Comparação entre as médias de retinol do leite ($\mu\text{g}/\text{dL}$ de leite e $\mu\text{g}/\text{g}$ de gordura) nos diversos estágios da lactação de puérperas com e sem suplementação

		SUPLEMENTADO	n	CONTROLE	n	p
COLOSTRO	$\mu\text{g}/\text{dL}$	99,0 \pm 64,4	61	88,6 \pm 62,1	38	0,431
	$\mu\text{g}/\text{g}$	66,5 \pm 40,5	48	54,0 \pm 46,1	29	0,218
TRANSIÇÃO	$\mu\text{g}/\text{dL}$	68,9 \pm 33,5	59	61,9 \pm 30,1	35	0,311
	$\mu\text{g}/\text{g}$	23,6 \pm 12,7	57	21,1 \pm 10,4	34	0,343
MADURO	$\mu\text{g}/\text{dL}$	30,6 \pm 15,2	58	32,9 \pm 17,6	35	0,514
	$\mu\text{g}/\text{g}$	9,83 \pm 5,4	54	11,6 \pm 7,9	33	0,220

n = número de participantes

p = significância

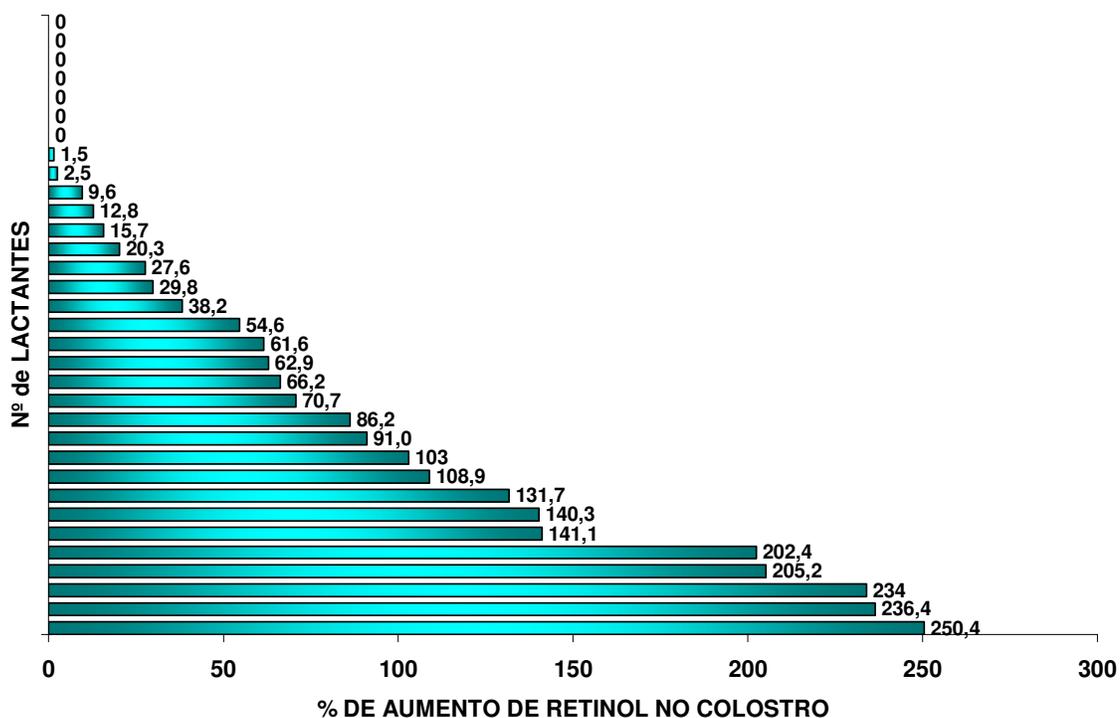


Figura 12 – Percentual de aumento de retinol no colostro após suplementação em lactantes atendidas na MEJC.

Dividindo-se em dois grupos o conjunto de mães que tiveram sua resposta à suplementação avaliada, no qual o primeiro diz respeito as puérperas ($n = 10$) que não responderam ou mantiveram os níveis de retinol no colostro (até 10% de aumento) e o segundo representando as mães ($n = 20$) que responderam, foi possível verificar uma diferença significativa entre as médias do retinol sérico destes grupos (Figura 13).

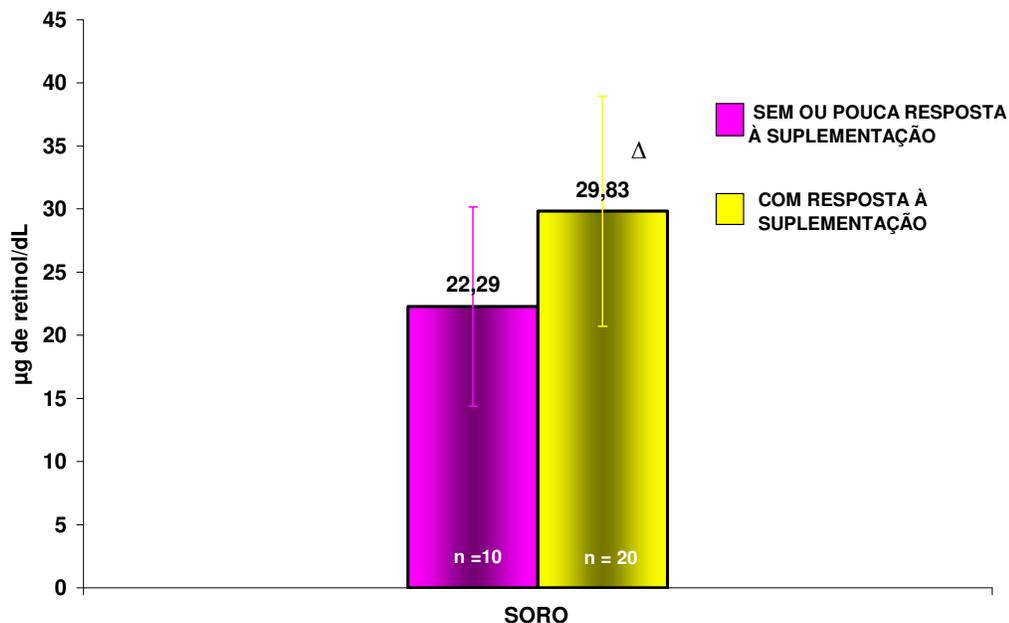


Figura 13 – Níveis basais de retinol sérico de puérperas atendidas na MEJC que tiveram diferentes respostas à suplementação com retinol palmitato.

Δ - diferença significativa em relação à puérperas sem ou pouca resposta a suplementação ($p < 0,05$). Teste t student para amostras não pareadas

No que se refere à variação da gordura do leite no transcorrer da lactação, foi observado que a mesma ocorreu de forma semelhante tanto no grupo suplementado quanto no controle. Foi verificado que na passagem do leite colostro para o leite de transição houve um aumento significativo no teor de lipídios. No entanto, o mesmo não ocorreu entre o leite de transição e o leite maduro ($p > 0,05$). Ao comparar as médias da gordura dos leites relacionadas ao grupo suplementado com as do grupo

controle, nenhuma diferença estatística foi obtida (Figura 14). Tampouco foi verificada diferença entre a gordura do colostro antes ($1,92 \pm 0,96$ g/dL) e após ($1,96 \pm 0,90$ g/dL) a suplementação ($p= 0,830$).

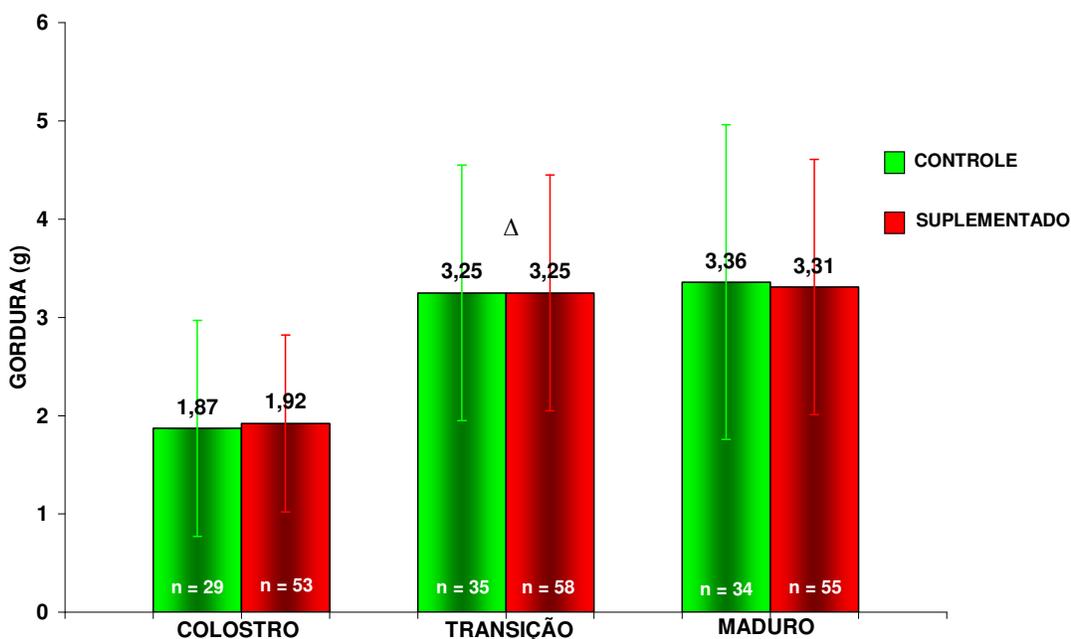


Figura 14 – Níveis de gordura no leite de puérperas atendidas na MEJC

Δ - diferença significativa em relação ao colostro ($p < 0,0001$). Teste t student para amostras não pareadas

6 DISCUSSÃO

Mães jovens, com famílias numerosas, baixo poder aquisitivo e que pouco contribuem com a renda familiar, apontam para a dificuldade dessas famílias em manterem um padrão alimentar capaz de atingir as recomendações de vitamina A. Esse perfil também foi observado previamente por Laurindo *et al.* (1992) e é similar ao verificado por Dimenstein *et al.* (2003) na mesma localidade (55% das mães com

baixa renda). No Rio de Janeiro, a renda familiar da maioria das lactantes variou entre 1 e 2 salários mínimos (RAMALHO; ANJOS; FLORES, 1998), bem como no estado do Pará e interior do Rio de Janeiro, 30% das mães com idade predominante entre 20 e 30 anos possuíam alguma atividade remunerada e o rendimento familiar não ultrapassava 3 salários (MOURA, 1997; DOLINSKY; RAMALHO; ACCIOLY, 1999). Em São Paulo, 47,6% de adultas lactantes com idade média de $22,9 \pm 3,6$ anos trabalham com remuneração (VITOLLO *et al.*, 1999).

O fornecimento de alimentos ricos em vitamina A tem sido considerado por entidades governamentais uma medida a ser executada em longo prazo (FAWZI *et al.*, 1994; WHO, 1997; MORA; GUERI; MORA, 1998). Portanto, as intervenções tecnológicas (enriquecimento alimentar) e a suplementação com altos teores desta vitamina em dose única, permanecem sendo condutas de extrema importância e urgência em comunidades onde a deficiência de vitamina A (carência de etiologia sócio – alimentar) torna-se um problema de saúde pública (DOLINSKY; RAMALHO; ACCIOLY, 1999; ESCODA, 2000; BASU; SENGUPTA; PALADHI, 2003). Por conseguinte, tais medidas contêm a mesma relevância para as mulheres do presente estudo.

A WHO (1996) recomenda 30 $\mu\text{g}/\text{dL}$ como ponto de corte do retinol sérico para caracterizar a deficiência em vitamina A. Outros achados até então acumulados apontam a concentração de 20 $\mu\text{g}/\text{dL}$ como o limite entre o estado de adequação e a condição marginal da deficiência de vitamina A, mesmo que os níveis de retinol sérico sejam fortemente regulados pelo fígado (MILLER *et al.*, 2002). Neste estudo, as participantes apresentaram-se adequadas quando comparadas ao menor ponto de corte (20 $\mu\text{g}/\text{dL}$), porém, depletadas em relação ao outro. A efetividade dos estudos bioquímicos é considerada incontestemente como método mais seguro para

avaliação nutricional de carências específicas, uma vez que estes se revestem de peculiar eficácia sobre os demais, surpreendendo as deficiências nutricionais antes de suas manifestações clínicas. Contudo, Escoda (1988) afirmou que a falta de padronização de um ponto de corte para se estabelecer a deficiência de vitamina A e índices de prevalência considerados críticos, dificulta o estabelecimento de prognósticos e a escolha de uma intervenção de saúde pública adequada. Para a autora, adotar baixos limites de reservas para diagnóstico de deficiência nutricional sugere a absurda compreensão de que a condição humana deve ter hierarquização de estágios para aguardar uma intervenção médica que pode chegar muito tarde.

Neste estudo, independente do limiar utilizado para se definir a carência, a prevalência da deficiência teve proporções elevadas, por vez equiparando-se a de puérperas africanas (86,6%) (SEMBA *et al.*, 2000) e superando as de mulheres da Índia (32,7%) (BASU; SENGUPTA; PALADHI, 2003), de Bangladesh (13%) (RICE *et al.*, 2000) e do sudeste brasileiro; cujas prevalências foram 2,5%; 4,5% e 20%, em trabalhos conduzidos por Dolinsky; Ramalho; Accioly (1999); Accioly; Souza (2000) e Ramalho *et al.* (2001), respectivamente.

A média do retinol sérico encontrada neste estudo foi superior apenas a de mulheres africanas (SEMBA *et al.*, 2000), semelhante à de puérperas indianas (BASU; SENGUPTA; PALADHI, 2003) e inferior às encontradas em Honduras (CANFIELD *et al.*, 1999), Alemanha (SCHWEIGERT *et al.*, 2004), Indonésia (STOLTZFUZ *et al.*, 1993) e Bangladesh (RICE *et al.*, 2000). Esse quadro pode ser observado melhor na Figura 15 e retrata mais uma vez a amplitude desta carência no grupo em estudo.



*

Figura 15 – Comparação dos níveis de retinol sérico de lactantes.

* - dados referentes a este trabalho

Curiosamente, as puérperas analisadas demonstraram níveis de retinol no leite adequados em todos estágios da lactação. O colostro foi o leite com a maior concentração de retinol, em contraposição ao leite maduro, como relatado na literatura (ORTEGA *et al.*, 1997; CANFIELD *et al.*, 1999; RICE *et al.*, 2000; ROSS; HARVEY, 2003; SCHWEIGERT *et al.*, 2004). No entanto, se esses valores forem analisados em uma outra perspectiva, pode-se perceber que o fornecimento de vitamina A em quantidade suficiente para atender as necessidades do recém-

nascido, permaneceu unicamente no leite colostro. Isso porque infantes até 6 meses de idade necessitam diariamente 400 μg de retinol (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001) e em geral, consomem nas primeiras semanas de vida um volume médio diário de 500 mL de leite (Ver figura 16) (ROSS; HARVEY, 2003).

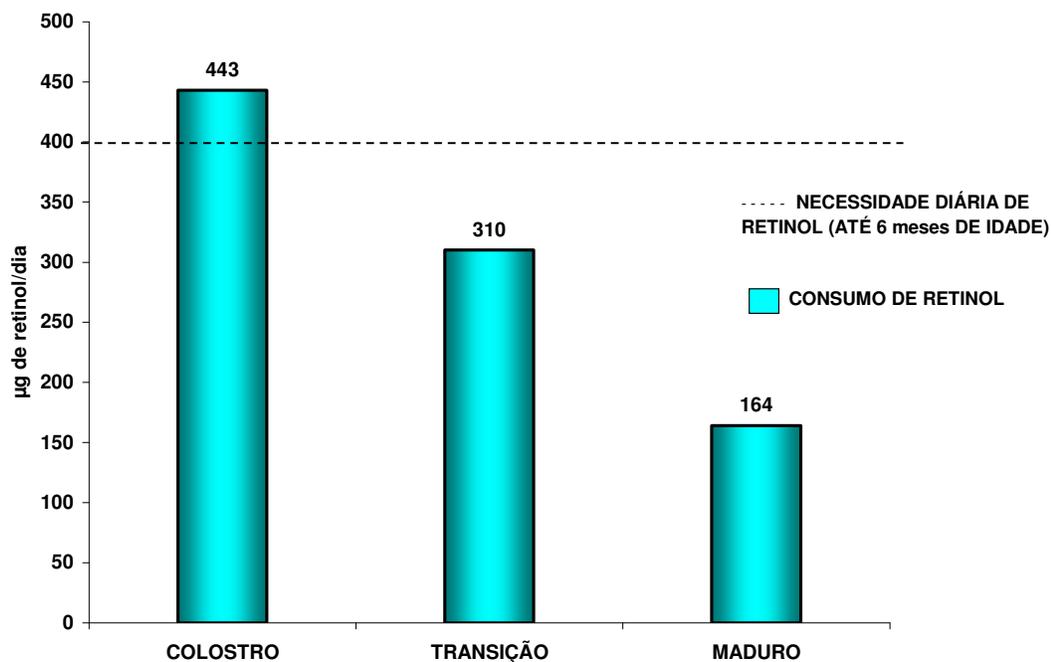


Figura 16 – Consumo diário de retinol por lactentes de puérperas atendidas na MEJC.

Os efeitos negativos desse raciocínio se agravam, quando é recordado o índice de prevalência de deficiência de retinol no leite maduro (51,4%) encontrado neste estudo. Este índice superou a prevalência indicada em estudos na África (49,7%) (SEMBA *et al.*, 2000), Peru (14,1%) (BAHL *et al.*, 2002), Indonésia (24%) (STOLTZFUS *et al.*, 1993), Índia (9,4%) (BASU; SENGUPTA; PALADHI, 2003) e inclusive no Estado de São Paulo (4,7%) (VITOLLO *et al.*, 1999), sendo inferior

apenas ao percentual observado por Bahl *et al.* (2002) em mulheres indianas (57%). A dimensão que a carência alcançou nesta fase da lactação veio se confrontar com a aparente normalidade das médias de retinol no leite. Vale enfatizar que nos primeiros meses de vida os recém-nascidos devem formar suas reservas hepáticas da vitamina, e sob níveis normais, o leite materno é considerado a mais importante fonte de vitamina A, uma vez que pode transferir 60 vezes mais este nutriente durante os primeiros 6 meses de amamentação comparada à acumulação feita pelo feto nos 9 meses de gestação (MENA; MILAD, 1998; RAMALHO; ANJOS; FLORES, 1998; WHO, 2001; MINIM; COIMBRA; MINIM, 2002; DOLINSKY; RAMALHO, 2003).

O valor basal de retinol no colostro das mães em estudo foi inferior aos de puérperas da Índia (BHASKARAM *et al.*, 2000; BASU; SENGUPTA; PALADHI, 2003), Alemanha (SCHWEIGERT *et al.*, 2004) e Cuba (MACIAS; SCHWEIGERT, 2001); porém, superior ao de lactantes do sudeste brasileiro (MENESES; TORRES; TRUGO, 2004) e semelhante ao encontrado por Dimenstein *et al.* (2003) em mães do mesmo grupo (Figura 17), no estado do Rio Grande do Norte - Brasil. Por sua vez, a concentração de retinol no leite de transição do grupo controle se revelou mais elevado que os apresentados por puérperas de Bangladesh (RICE *et al.*, 2000) e Cuba (MACIAS; SCHWEIGERT, 2001), menor que os de lactantes da Índia (BHASKARAM *et al.*, 2000) e Indonésia; (STOLTZFUS *et al.*, 1993) e aproximado ao obtido em mães espanholas que tinham baixo consumo de vitamina A (ORTEGA *et al.*, 1997) (Ver figura 18). Quando analisado em $\mu\text{g/g}$ de gordura, o retinol no leite de transição ($21,1 \pm 10,4 \mu\text{g/g}$) superou os níveis encontrados em mulheres da Índia ($11,1 \pm 7,8 \mu\text{g/g}$) e Peru ($15,9 \pm 6,6 \mu\text{g/g}$) (BAHL *et al.*, 2002).

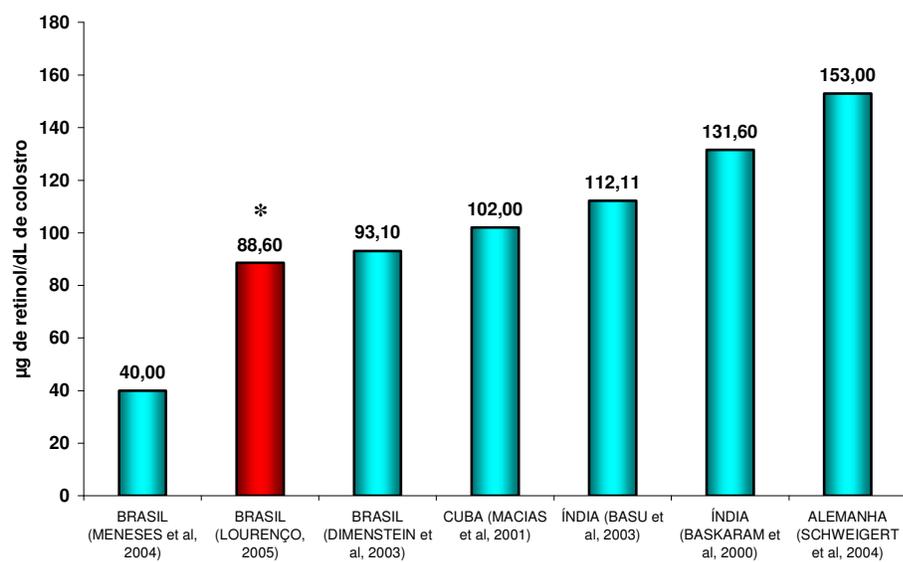


Figura 17 – Comparação dos níveis de retinol no colostro (grupo controle).

* - dados referentes a este trabalho

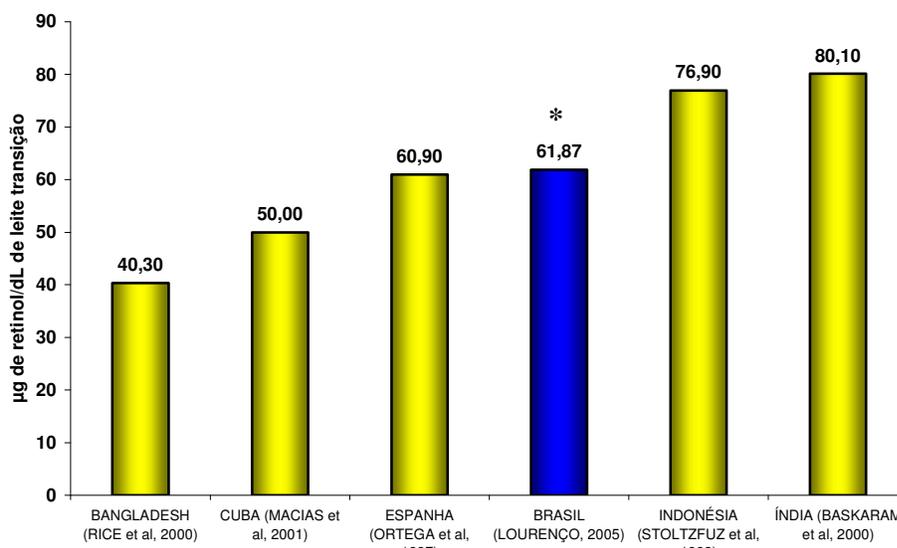


Figura 18 – Comparação dos níveis de retinol no leite de transição (grupo controle).

* - dados referentes a este trabalho

Em relação ao leite maduro, o valor de retinol obtido foi equiparado ao de puérperas de Cuba (MACIAS; SCHWEIGERT, 2001) e da Índia (BASU; SENGUPTA; PALADHI, 2003), sendo inferior ao de lactantes da Espanha (ORTEGA *et al.*, 1997), Indonésia (STOLTZFUS *et al.*, 1993) e Alemanha (SCHWEIGERT *et al.*, 2004). Apenas os níveis apresentados em pesquisas conduzidas na África (SEMBA *et al.*, 2000) e Bangladesh (RICE *et al.*, 1999; ROY *et al.*, 1997) foram menores que o do

presente estudo (Figura 19). Expresso em $\mu\text{g/g}$ de gordura, a concentração de retinol no leite maduro ($11,6 \pm 7,9 \mu\text{g/g}$) demonstrou-se menor que as de mulheres do Rio de Janeiro ($14,3 \pm 2,9 \mu\text{g/g}$) (MENESES; TORRES; TRUGO, 2004), Peru ($13,0 \pm 10,4 \mu\text{g/g}$) e Ghana ($16,8 \pm 6,9 \mu\text{g/g}$), porém mais alto que o da Índia ($8,1 \pm 4,1 \mu\text{g/g}$) (BAHL *et al.*, 2002).

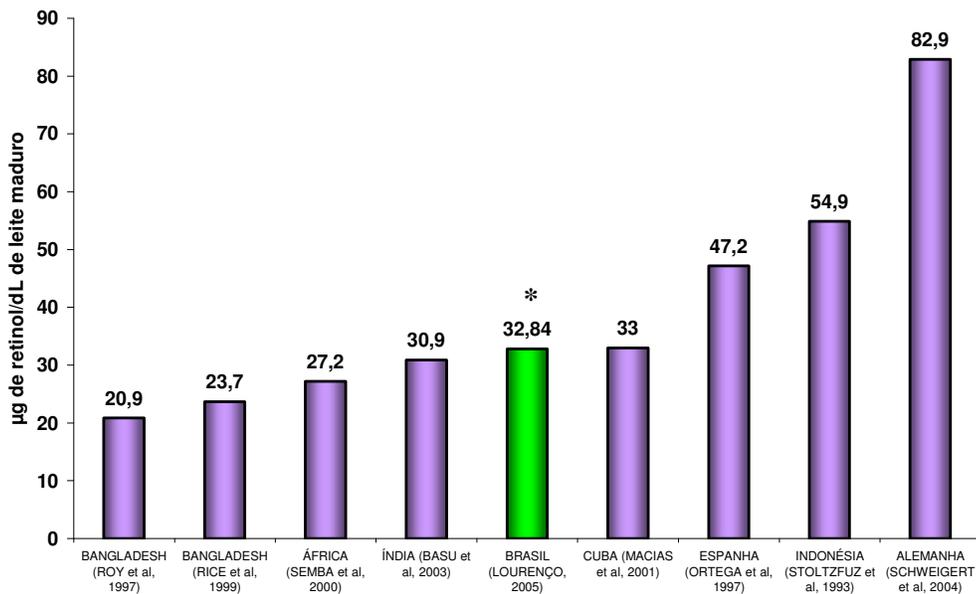


Figura 19 – Comparação dos níveis de retinol no leite maduro (grupo controle).

* - dados referentes a este trabalho

O nível de retinol no colostro conseguiu encobrir o que era explícito no soro, quer dizer, manteve-se adequado enquanto a deficiência sérica já era alarmante. Uma das explicações para tal fato seria reconhecer que durante a gravidez ocorre uma maior mobilização de vitamina A para a satisfação dos requerimentos e conseqüente diminuição dos níveis plasmáticos de retinol; além da tendência a diminuição nos constituintes do soro, tendo como conseqüência a hemodiluição da gravidez, o que dificulta valorar adequadamente o declínio da vitamina A sérica no

transcorrer da gestação. Sendo assim, como um reflexo da gestação, a prevalência de deficiência encontrada poderia estar superestimada. Contudo, em populações com baixa ingestão de vitamina A, os níveis de retinol no soro refletem mais intensamente a deficiência alimentar que a hemodiluição da gravidez (DOLINSKY; RAMALHO; ACCIOLY, 1999; ACCIOLY; SOUZA, 2000). Outra explicação está em considerar o mecanismo de transporte do retinol até a glândula mamária. É sugerido que a vitamina A de origem dietética é captada diretamente pela glândula mamária antes mesmo dos quilomícrons remanescentes chegarem ao fígado, caracterizando um seqüestro ativo durante a fase de colostro, em compensação ao transporte placentário limitado (CHAPPELL; FRANCIS; CLANDININ, 1985; HASKELL; BROWN, 1999; WHO, 2001). Ou seja, alguns autores acreditam que o conteúdo de vitamina A no leite também pode ser regulado pela dieta, não parecendo ser tão controlado como o retinol plasmático (FLORES, 1993; UNDERWOOD, 1994; STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995; ORTEGA *et al.*, 1997; UNDERWOOD *et al.*, 1998; CANFIELD *et al.*, 1999; HASKELL; BROWN, 1999; VITOLO *et al.*, 1999; ACCIOLY; SOUZA, 2000; WHO, 2001; MILLER *et al.*, 2002; DOLINSKY; RAMALHO, 2003; NASCIMENTO; ISSLER, 2003). Outros, entretanto, estão em desacordo com essa possibilidade (INSTITUTE OF MEDICINE, 1991; TANUMIHARDJO *et al.*, 1996; NEVILLE, 2001; RIBEIRO *et al.*, 2002; NASCIMENTO; ISSLER, 2003). Convém lembrar a existência do caminho paracelular citado por Neville, Morton e Umemura (2001), o qual também pode estar auxiliando na maior passagem do nutriente para o colostro.

Apesar dos valores de retinol no leite colostro se mostrarem adequados, a prevalência de deficiência no leite maduro sugeriu que de fato as mães estudadas possuíam depleção em seus estoques hepáticos e nenhum mecanismo envolvido na

manutenção dos níveis de retinol no leite sequer conseguiu mantê-los ideais por muito tempo. Dentro do contexto da lactação, considerar a concentração de retinol no leite como indicador é a melhor opção, pois além de ser menos invasivo que a coleta de sangue, informa a respeito do fornecimento da vitamina ao lactente (VITOLO *et al.*, 1999).

Perante o exposto, é incontestável a necessidade deste grupo de puérperas receber algum meio de intervenção. A suplementação tem sido a medida de rotina utilizada na maternidade para tentar amenizar a carência de vitamina A nestas mulheres e evitar, dessa forma, os possíveis efeitos deletérios que a mesma possa causar as mães e seus infantes. Seis horas após a suplementação, o colostro alcançou valores capazes de fornecer o dobro da recomendação de retinol (800 µg/dia) aos recém-nascidos. É provável que essa situação seja vantajosa, pois os estoques hepáticos da vitamina A podem ser construídos mais rapidamente, antes que os níveis de retinol declinem para menos da metade, como é habitual após um mês de lactação (UNDERWOOD, 1994; ROSS; HARVEY, 2003). Por outro lado, o efeito da suplementação não aconteceu como desejado, nem seis horas após a suplementação (pois algumas puérperas não responderam), e muito menos na evolução da lactação, visto que não houve diferença entre as médias de retinol do leite do grupo controle e suplementado. Ao recomendar a suplementação como medida preventiva e imediatista no combate à deficiência de vitamina A nas puérperas e lactentes, a OMS espera que sua ação seja prolongada, ou seja, que perdure por no mínimo 6 meses pós-parto (WHO, 2001).

Observando em detalhes o percentual de aumento de retinol no colostro seis horas após a suplementação, percebe-se uma grande variação interindividual. Na tentativa de elucidar a forma como a suplementação atuou neste grupo, deve-se

considerar o fato de que a dose recomendada é baseada nas necessidades de lactantes que possuem um bom estado nutricional inicial, boa saúde, consumo dietético adequado para atingir as necessidades basais de vitamina A e ingestão adicional de retinol relativa à fase de lactação (RICE *et al.*, 1999; CANFIELD *et al.*, 1999; BHASKARAM *et al.*, 2000). Com isso, é possível considerar que parte das mães não possuía um dos requisitos fundamentais para obtenção do êxito esperado com a suplementação. Provavelmente, não tinham estoques hepáticos suficientes para que excessos de retinol fossem extrapolados para sua utilização em outros tecidos extra-hepáticos e conseqüentemente, o leite. Esse raciocínio talvez esclareça porque as puérperas demonstraram respostas diferenciadas no leite colostro, ou seja, distintos níveis de retinol estocados no fígado fizeram com que também apresentassem diversos graus de resposta. Diante da ausência de outros dados que porventura viessem a acrescentar informações relativas a esse questionamento, o retinol sérico veio consolidar a suposição indicada. As mães que mantiveram ou reduziram seus níveis de retinol no leite, apresentaram a média de retinol no soro inferior ao das lactantes que em tese se beneficiaram com a intervenção (Figura 13).

Não se deve desprezar, entretanto, a existência de outros fatores intimamente associados à absorção, estocagem, transporte e utilização do retinol. A quantidade de RBP disponível para o carreamento do retinol, que depende de proteínas e zinco; a presença de parasitas, problemas do trato gastrointestinal, o consumo dietético, podem ter contribuído no aproveitamento da dose suplementar (STOLTZFUS *et al.*, 1993; ACCIOLY; SOUZA, 2000; RAMALHO *et al.*, 2001; WHO, 2001; SOUZA; VILAS BOAS, 2002; BASU; SENGUPTA; PALADHI, 2003).

A secreção de retinol no leite também não pareceu ser influenciada pelas concentrações de gordura. Primeiramente, não houve diferença expressiva entre os teores de lipídios no colostro antes e após suplementação. Depois, enquanto o conteúdo de gordura no leite aumentava, o de retinol diminuía. A mesma situação foi observada em cubanas quando Macias e Schweigert (2001) dosaram retinol e lipídios em todas as fases da lactação. Se comparados à variação de gordura no leite (0,4 – 4 g/dL) citada por Alencar *et al.* (2002), os valores encontrados nestas pesquisas são considerados normais. Os mesmos teores foram um pouco abaixo do mencionado (3 a 4g/dL) por Reinert e Issler (2003), ou do que foi encontrado em Bangladesh por Rice *et al.* (2000), ou seja, 5,3 g/dL no leite de transição e 4,6 g/dL no leite maduro. Também se encontram abaixo dos valores relatados por Emmett e Rogers (1997), representados por 2,6 g/dL no colostro; 3,7 g/dL no leite de transição e 4,1 g/dL no leite maduro; e ao de Cernadas; Mariani e Armadans (1999) realizado em argentinas, o qual obteve 3,8 g/dL no leite de transição.

O retinol do colostro também foi elevado em mulheres de Bangladesh quando 200.000 UI de vitamina A foram fornecidas no pós-parto imediato. 24 horas após a suplementação, os níveis da vitamina foram em média 324,4 µg/dL, enquanto a do grupo controle foi significativamente menor (84,37 µg/dL). Os valores do grupo suplementado permaneceram superiores por seis meses (ROY *et al.*, 1997). Avaliando a mesma população e administrando a mesma megadose, Rice *et al.* (1999) observaram um aumento do retinol no leite até os 3 meses de lactação, porém insuficiente para construir estoques de vitamina A adequados nos infantes amamentados durante os primeiros seis meses.

Em mulheres indianas a concentração de retinol no colostro subiu de 110 µg/dL para 345,5 µg/dL, 24 horas após a suplementação com 200.000 UI de retinol no

segundo dia pós-parto. Neste momento, o grupo controle, que teve níveis basais semelhantes ao grupo teste, apresentou 84,7 µg/dL como média de retinol no colostro. O efeito da dose única perdurou até os 4 meses seguintes (BASU; SENGUPTA; PALADHI, 2003). Com a mesma megadose de retinol palmitato, mulheres de Ghana, Peru e Índia foram suplementadas a partir do leite de transição, ou até mesmo no maduro. A segunda amostra de leite foi coletada no 2º mês pós-parto e demonstrou ter sido influenciada pela suplementação. Esta eficácia não foi observada nas amostras subseqüentes de 6 e 9 meses (BAHL *et al.*, 2002).

Schmidt *et al.* (2001) comparando mulheres da Indonésia que receberam suplementação semanal de 120 mg de ferro, associado a 4.800 UI de retinol equivalente (RE) durante o 2º e 3º trimestre de gestação, com aquelas que consumiram apenas suplemento férrico, observaram que aos 4 meses pós-parto não houve diferença entre o retinol sérico desses dois grupos. Por sua vez, o retinol sérico de puérperas da mesma população foi influenciado 4 meses após receber 8.000 UI de vitamina A por 35 dias no período pós-parto (TANUMIHARDJO *et al.*, 1996). Ainda se tratando de lactantes da Indonésia, Stoltzfus *et al.* (1993) fornecendo 300.000 UI de retinil palmitato, 2 semanas após o parto, obtiveram êxito quanto aos níveis de retinol no leite, até 8 meses de lactação. Entretanto, essa suplementação não evitou que as concentrações de retinol sérico materno viessem a cair.

Suplementando africanas com 10.000 UI/dia de RE por todo 2º e 3º trimestre gestacional, Semba *et al.* (2000) verificaram que o teor de retinol no leite, coletado 1 ½ mês após parirem, foi significativamente diferente das mães que não receberam a dose. Bhaskaram *et al.* (2000) observaram que os níveis de retinol no leite de puérperas indianas que receberam 200.000 UI de retinil palmitato ainda na

maternidade declinaram um mês posterior ao parto. Em Honduras, a suplementação com 4 doses de 30 mg de β -caroteno, administradas em dias sucessivos, não elevaram a concentração de retinol no leite a valores consideráveis (CANFIELD *et al.*, 1999).

A determinação dessa carência nutricional, assim como as demais, reside na ordem social; e o estado nutricional de uma população é, por excelência, um indicador de sua qualidade de vida (MELLO, 2002). As medidas de intervenção específicas que o setor de saúde utiliza para enfrentar esses problemas estruturais são atenuantes e não correspondem à sua reversibilidade (ESCODA, 2000). Contudo, o período do pós-parto imediato representa tanto um momento programático quanto biológico, de oportunidade para beneficiar a mulher em idade reprodutiva com altas doses de vitamina A, desde que uma grande proporção de mulheres está em contato com o sistema de saúde (HUMPHREY; ICHORD, 2001; BASU; SENGUPTA; PALADHI, 2003). Essa conduta também passa a ser considerada a alternativa mais segura para melhorar o estado nutricional em lactentes abaixo de 6 meses de idade e, além do mais, tanto a mãe quanto a criança parecem ser beneficiadas com a megadose (WHO/UNICEF/IVACG, 1997; ROSS; HARVEY, 2003). Semelhante ao estudo de Canfield *et al.* (1999), o presente trabalho demonstrou que a suplementação utilizando 200.000 UI não foi capaz de elevar os níveis de retinol no leite até o momento esperado e, provavelmente, não foi fornecida em quantidade suficiente para satisfazer as demandas das mães com reservas hepáticas mais espoliadas. Deparando-se com essa situação, é viável sugerir que uma outra dose de igual valor seja ofertada, assim como propõem Humphrey e Ichord (2001), num intervalo de 30 dias ou menos e no prazo de 2 meses pós-parto, verificando sempre a possibilidade de gravidez. Esclarecer as

mães sobre os reais motivos do problema enfocado e da necessidade dessa intervenção, bem como reforçar a periodicidade e antecipação de estudos populacionais para efeito de estabelecimento de programas de intervenção nutricional também devem ser alvos a serem alcançados (ESCODA, 1988; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

7 CONCLUSÕES

- Os níveis de retinol sérico apresentaram-se normais de acordo com o menor ponto de corte, porém deficiente em relação ao mais alto;
- A prevalência da deficiência sérica de retinol revelou um problema de saúde pública;

- Os níveis de retinol nos leites colostro, transição e maduro, dos grupos suplementados e controle, apresentaram-se adequados em relação aos pontos de corte utilizados;

- Os valores de retinol declinaram de maneira significativa com o decorrer da lactação, tanto para o grupo controle, quanto para o suplementado;

- A prevalência da deficiência de retinol do leite maduro demonstrou ser um problema de saúde pública;

- A suplementação elevou os níveis de retinol apenas do leite colostro;

- Os valores de gordura dos leites apresentaram-se normais nos grupos controle e suplementado. Porém, os menores valores de gordura foram do leite colostro em ambos os grupos.

REFERÊNCIAS

ACCIOLY, E.; SOUZA, S. Deficiência de vitamina A en embarazadas atendidas en una maternidad publica en Rio de Janeiro – Brasil. **Rev Chil Nutr**, v. 27, n. 3, p. 352-357, 2000.

ALENCAR, N. M. N. *et al.* Estudo das diferenças nutricionais do leite humano maduro no início e final da mamada. **RBAC**, v. 34, n. 2, p. 67-69, 2002.

ALLEN, L. H.; HASKELL, M. Estimating the Potencial for Vitamin A Toxicity in Women and Young Children. **J. Nutr.**, v. 132, p. 2907S-2919S, 2002.

AZAÏS-BRAESCO, V.; PASCAL, G. Vitamin A in pregnancy: requeriments and safety limits. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71, p. 1325S-1333S, 2000.

BAHL, R. *et al.* Vitamin A Supplementation of Women Postpartum and of Their Infants at Immunization Alters Breast Milk Retinol and Infant Vitamin A Status. **J. Nutr.**, v. 132, p. 3243-3248, 2002.

BASU, S.; SENGUPTA, B.; PALADHI, P. K. R. Single megadose vitamina A supplementation of Indian mothers and morbidity in breastfed young infants. **Postgrad Med J.**, v. 79, p. 397-402, 2003.

BHASKARAM, P. *et al.* Vitamin A deficiency in infants: effects of postnatal maternal vitamin A supplementation on the growth and vitamin A status. **Nutrition Research.**, USA, v. 20, n. 6, p. 769-778, 2000.

BLOMHOFF, R. Vitamin A and carotenoid toxicity. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 22, n. 3, p. 320-334, 2001.

CANFIELD, L. M. *et al.* Short-term β -carotene supplementation of lactating mothers consuming diets low in vitamina A. **J Nutr Biochem.**, New York, v. 10, p. 532-538, 1999.

CERNADAS, J. M.; MARIANI, G.; ARMADANS, M. Contenido graso de la leche humana e ictericia temprana en recién nacidos a término alimentados a pecho. **Arch. Argent. Pediatr.**, v. 97, n. 6, p. 360-364, 1999.

CHAGAS, M. H. C. *et al.* Teratogenia da vitamina A. **Rev. Bras. Saúde Mater. Infant.**, Recife, v. 3, n. 3, jul./ set./ 2003.

CHAPPELL, J. E.; FRANCIS, T.; CLANDININ, M. T. Vitamin A and E content of human milk at early stages of lactation. **Early Hum. Dev.**, v. 11, n. 2, p. 157-167, 1985.

CHAVES, R. G; LAMOUNIER, J. A. Uso de medicamentos durante a lactação. **Jornal de Pediatria**, v. 80, p. S189-198, 2004.

COZZOLINO, S. M. F.; COLLI, C. Novas recomendações de nutrientes. Interpretação e utilização. In: ILSI Brasil. **Usos e aplicações das "Dietary**

Referente Intakes” DRIs. São Paulo: 2001. p. 1-47. Disponível em:
<<http://www.sban.com.br/educacao/pesquisa/documents/LIVRO-DRI-ILSI.pdf>>.
Acesso em: 18 jul 2004.

CRAFT, N. E. Innovative Approaches to Vitamin A Assessment. **J. Nutr.**, v. 131, p. 1626S-1630S, 2001.

DIMENSTEIN, R. *et al.* Influência de variáveis socioeconômicas e de saúde materno-infantil sobre os níveis de retinol no colostro humano. **J Pediatría**, v. 79, n. 6, p. 513-518, 2003.

DOLINSKY, M.; RAMALHO, A. Deficiência de Vitamina A: Uma Revisão Atualizada. **Compacta – temas em nutrição e alimentação**, v. 4, n. 2, p. 3-18, set./ 2003.
Disponível em: <www.pnut.epm.br>. Acesso em: 05 dez 2005.

DOLINSKY, M.; RAMALHO, R. A.; ACCIOLY, E. Avaliação do Estado Nutricional de Vitamina A de Gestantes Atendidas em Maternidade Pública do Município do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev Metab Nutr**, Porto Alegre, v. 6, n. 3-4, p. 46-52, 1999.

EMMETT, P. M.; ROGERS, I. S. Properties of human milk and their relationship with maternal nutrition. **Early Human Development**., v. 49 (suppl), p. S7-S28, 1997.

ESCODA, M. S. Q. HIPOVITAMINOSE 'A': Epidemiologia. Dissertação de Mestrado em Ciências Sociais: A Determinação Social da Fome e a Intervenção do Estado, Cap. II, mimeo, UFRN, 1989. Revisão 09/2000. Disponível em:
<<http://www.ufrnet.br/~scorpius/151-Hipov%20A%20Epidem.htm>>. Acesso em: 30 mar 2005.

ESCODA, M. S. Q. HIPOVITAMINOSE 'A': Discussão dos Estudos Bioquímicos. Publicado em Cadernos de Saúde Pública da Escola Nacional de Saúde Pública Fiocruz, Rio de Janeiro, cap. 14, p. 56-58, 1988. Disponível em:
<<http://www.ufrnet.br/~scorpius/153-Hipov%20A%20Disc%20Bioq.htm>>. Acesso em 30 mar 2005.

EUCLYDES, M. P. **Nutrição do lactente. Base científica para uma alimentação adequada.** 2ª ed. Viçosa - Minas Gerais: Editora Metha, 2000

FAWZI, W. W. *et al.* Dietary vitamin A intake and the risk of mortality among children. **Am. J. Clin. Nutr.**, USA, v. 59, p. 401-408, 1994.

FILTEAU, S. M. *et al.* Influence of morbidity on serum retinol of children in a community-based study in northern Ghana. **Am. J. Clin. Nutr.**, USA, v. 58, p. 192-197, 1993.

FLORES, H. Frequency distributions of serum vitamina A levels in cross-sectional survey and in surveys before and after vitamina A supplementation In: A brief guide to current methods of assessing vitamina A status. A report of the Internacional Vitamina A Consultative Group (IVACG). Washington: The Nutrition Foundation; 1993.

FROLIK, C. A. Metabolism of retinoids. **The retinoids**, v. 2, p. 177-208, 1984.

GIULIANO, A. R. *et al.* Quantitation of and inter/intra-individual variability in major carotenoids of mature human milk. **J Nutr Biochem**, v. 5, p. 551-556, 1994.

HASKELL, M. J.; BROWN, K. H. Maternal Vitamina A Nutriture and the Vitamina A Content of Human Milk. **J Mam Gland Biol Neop**, v. 4, n. 3, p. 243-257, 1999.

HUMPHREY, J. H.; ICHORD, R. N. Safety of vitamin A supplementation of postpartum women and young children. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 22, n. 3, p. 311-319, 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. 1st ed. Washington, DC: National Academy Press, 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE. Nutrition during lactation. Washington, DC: National Academy Press, 1991.

LAURINDO, V. M. *et al.* Composição nutricional do colostro de mães de recém-nascidos de termo adequados e pequenos para a idade gestacional. III- Condições que alteram a composição nutricional do human milk. **Pediatria**, São Paulo, v. 14, p.24-29, 1992. Disponível em: <<http://pediatriasaopaulo.usp.br/upload/pdf/84.pdf>>. Acesso em: 14 dez. 2004.

LUCAS, A.; GIBBS, J. A. H.; LYSTER, R. L. J. *et al.* Crematocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. **British Medical Journal**, v. 1. p. 1018-1020, 22/ abr./ 1978.

MACIAS, C.; SCHWEIGERT, F. J. Changes in the Concentration of Carotenoids, Vitamina A, Alpha-Tocopherol and Total Lipids in Human Milk Throughout Early Lactation. **Ann Nutr Metab**, v. 45, n. 2, p. 82-85, 2001.

MAHAN, L. K.; ESCOTP-STUMP, S. In:_. **KRAUSE: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 10^a ed. São Paulo: Roca, 2002.

MCLAREN, D.S.; FRIGG, M. Guía de SIGHT AND LIFE sobre la Vitamina A en los Estados de Salud y Enfermedad. 2. ed. 2002. Disponível em: <<http://www.sightandlife.org/booksSALpdf/GBspan.pdf>>. Acesso em: 4 fev 2005.

MELLO, E. D. O que significa a avaliação do estado nutricional. **Jornal de Pediatria**, v. 78, n. 5, p. 357-358, 2002.

MENA, P. N.; MILAD, M. A. Variaciones en la composición nutricional de la leche materna. Algunos aspectos de importância clínica. **Rev. Chil. Pediatr.**, Santiago, v. 69, n. 3, p. 116-121, jun./ 1998.

MENESES, F.; TORRES, A. G; TRUGO, N. M. F. Influence of recent dietary intake on plasma and breast milk levels of carotenoids and retinol in brazilian nursing women. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. v. 554, p. 351-354, 2004.

MILLER, M. *et al.* Why do children become vitamina A deficient? **J Nutr**, v. 132, p. 2867S-2880S, 2002.

MILNE, D. B; BOTNEN, J. Retinol, α -tocoferol, lycopene and α - and β -carotene simultaneously determined in plasma by isocratic liquid chromatography. **Clin. Chem.**, v. 32, n. 5, p. 874-876, 1986.

MININ, L. A.; COIMBRA, J. S. R.; MINIM, V. P. R. Influence of Temperature and Water and Fat Contents on the Thermophysical Properties of Milk. **J. Chem. Eng.**, v. 47, p. 1488-1491, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Projeto Suplementação de Megadose de Vitamina "A" no pós-parto imediato nas maternidades/hospitais. Brasília, 2002. Disponível em: <http://portalweb01.saude.gov.br/alimentacao/documentos/projeto_vita.pdf>. Acesso em: 27 abr 2004.

MORA, J. O.; GUERI, M.; MORA, O. L. Vitamin A deficiency in Latin America and the Caribbean: An overview. **Rev. Panam. Salud Publica**, Washington, v. 4, n. 3, 1998.

MOURA, E. F. A. Duração do período de aleitamento materno de crianças atendidas em ambulatório de pediatria. **Jornal de Pediatria**, v. 73, n. 2, p. 106-110, 1997.

MURADIAN, L. B. A.; PENTEADO, M. V. C. Vitamina A. In: PENTEADO, M. V. C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. São Paulo: Manole, 2003. p. 55-67.

NAPOLI, J. L. Biochemical Pathways of Retinoid Transport, Metabolism, and Signal Transduction. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v. 80, n. 3, p. S52-S62, set./ 1996.

NASCIMENTO, M. B. R.; ISSLER, H. Breastfeeding: making the difference in the development, health and nutrition of term and preterm newborns. **Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo**, v. 58, n. 1, p. 49-60, 2003.

NEVILLE, M. C. Anatomy and physiology of lactation. In: Breastfeeding Part I: The evidence for breastfeeding. **Pediatric Clinics of North America**, v. 48, n. 1, p. 13-31, fev./ 2001.

NEVILLE, M. C.; MORTON, J.; UMEMURA, S. Lactogenesis. In: Breastfeeding Part I: The evidence for breastfeeding. **Pediatric Clinics of North America**, v. 48, n. 1, p. 35-52, fev./ 2001.

OLSEN, S.F. Effect of vitamin A and β -carotene supplementation on women's health. **BMJ**, v. 318, p. 551-552, 1999.

OLSON, J. A. In: ZIEGELER, E. E.; FILER JÚNIOR, L. J. (ed). **Present knowledge in nutrition**. 7. ed. Washington: ILSI, cap.11, p.109-119., 1996.

ORTEGA, R. M. *et al.* Vitamina A status during the third trimester of pregnancy in Spanish women: influence on concentrations of vitamina A in breast milk. **Am. J. Clin. Nutr.**, USA, v. 66, p. 564-568, 1997.

RADHIKA, M. S. *et al.* Effects of vitamina A deficiency during pregnancy on maternal and child health. **BJOG: an International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 109, p. 689-693, jun./ 2002.

RAMAKRISHNAN, U.; MARTORELL, R. The role of vitamin A in reducing child mortality and morbidity and improving growth. **Salud Publica de México**, Cuernavaca, v. 40, n. 2, mar./ abr. 1998.

RAMALHO, R. J.; ANJOS, L. A.; FLORES, H. Hipovitaminose A em recém-nascidos em duas maternidades públicas. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 4, p. 821-827, 1998.

RAMALHO A. *et al.* Estado de vitamina A de puérperas e recém-nascidos e estado antropométrico materno. **Rev Ciênc Méd.**, Campinas, v. 10, n. 1, p. 5-10, jan./abr. 2001.

RAMALHO, R. A.; FLORES, H.; SAUNDERS, C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. **Rev Panam Salud Publica**, Washington, v. 12, n. 2, p. 117-122, ago./ 2002.

REINERT, M. B.; ISSLER, H. Breastfeeding: making the difference in the development, health and nutrition of term and preterm newborns. **Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo**. v. 58, n. 1, p. 49-60, 2003.

RIBEIRO, L. C. *et al.* Nutrição e Alimentação na Lactação. **Compacta Nutrição**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 2-22, 2002. Disponível em: <www.pnut.epm.br>. Acesso em: 20 fev 2005.

RIBEIRO, K. D. S.; DIMENSTEIN, R. Níveis de retinol no leite materno ao início e final da mamada. **Rev Panam Salud Publica**, v. 16, n. 1, p. 19-22, jul / 2004.

RICE, A. L. *et al.* Maternal Vitamin A or β -carotene Supplementation in Lactating Bangladeshi Women Benefits Mothers and Infants but Does Not Prevent Subclinical Deficiency. **J. Nutr.**, v. 129, p. 356-365, 1999.

RICE, A. L. *et al.* Evaluation of serum retinol, the modified-relative-dose-response ratio, and breast-milk vitamina A as indicators of response to postpartum maternal vitamina A supplementation. **Am J Clin Nutr**, v. 71, p. 799-806, 2000.

RIGTRUP, K. M. *et al.* Retinil ester hydrolytic activity is associated with human intestinal brush border membranes. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 60, p. 111-116, 1994.

RONDÓ, P. H. C.; ABBOTT, R.; TOMKINS, A. Vitamin A, folate, and iron concentrations in cord and maternal blood of intra-uterine growth retarded and appropriate birth weight babies. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 49, p. 391-399, 1995.

ROSS, J. S.; HARVEY, P. W. J. Contribution of breastfeeding to vitamin A nutrition of infants: a simulation model. **Bulletin of the WHO**, v. 81, n. 2, p. 80-86, 2003.

ROTHMAN, K. J. *et al.* Teratogenicity of High Vitamin A Intake. **The New England Journal of Medicine**, v. 333, n. 21, p. 1369-1373, 23/ nov./ 1995.

ROY, S. K. *et al.* Impact of a single megadose of vitamin A at delivery on breastmilk of mothers and morbidity of their infants. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 51, n. 5, p. 302-307, 1997.

SCHMIDT, M. K. *et al.* Vitamin A and iron supplementation of Indonesian pregnant women benefits vitamin A status of their infants. **British Journal of Nutrition.**, v. 86 p.607-615, 2001.

SCHWEIGERT, F. J. *et al.* Effect of the stage of lactation in humans on carotenoid levels in milk, blood plasma and plasma lipoprotein fractions. **Eur. J. Nutr.**, v. 43, p. 39-44, 10/ maio/ 2004.

SEMBA, R. D. *et al.* Plasma and Breast Milk Vitamin A as Indicators of Vitamin A Status in Pregnant Women. **Int J Vitam Nutr Res.**, v. 70, n. 6, p. 271-277, 2000.

SENOO, H. Structure and function of hepatic stellate cells. **Med. Electron Microsc.**, v. 37, p. 3-15, 2004.

SOLOMONS, N. W. A. Vitamin A and carotenoids. In: BOWMAN, B. A.; RUSSEL, R. M. **Present knowledge in nutrition**. 8^a ed. Washington: ILSI press, 2001. Cap. 12.

SOUZA, W. A.; VILAS BOAS, O. M. G. A deficiência de vitamina A no Brasil: um panorama. **Rev. Panam. Salud Publica**, v. 12, n. 3, p. 173-179, 2002.

STOLTZFUS, R. J. *et al.* High Dose Vitamin A Supplementation of Breast-Feeding Indonesian Mothers: Effects on the Vitamin A Status of Mother and Infant. **J. Nutr.**, v. 123, p. 666-675, 1993.

STOLTZFUS, R. J.; UNDERWOOD, B. A. Breast-milk vitamina A as an indicator of the vitamina A status of women and infants. **Bull World Health Organ**, v. 73, n. 5, p. 703-711, 1995.

TAKASE, S.; SURUGA, K.; GODA, T. Regulation of vitamin A metabolism-related gene expression. **British Journal of Nutrition**, v. 84, n. 2, p. S217-S221, 2000.

TANUMIHARDJO, S. A. *et al.* Daily supplementations of vitamina A (8.4µmol, 8000 IU) improve the vitamina A status of lactating Indonesian women. **Am J Clin Nutr.**, USA, v. 63, p. 32-35, 1996.

UNDERWOOD, B. A. Maternal vitamina A status and its importance in infancy and early childhood. **Am J Clin Nutr**, v. 59, p. 517S-524S, 1994.

UNDERWOOD, B. A. *et al.* IVACG Statement. Safe Doses of Vitamin A During Pregnancy and Lactation. 1998. Disponível em:
<http://www.ilsa.org/file/a5_pregnancy.pdf>. Acesso em: 21 abr 2004.

UNDERWOOD, B. A. Vitamin A Deficiency Disorders: International Efforts to Control A Preventable "Pox". **J. Nutr.**, v. 134, p. 231S-236S, 2004.

Vitamin A (retinol). Disponível em:
<http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks/pathphys/misc_topics/vitamina.html>.
Acesso em: 14 mar 2005.

VITOLLO, M. R. *et al.* Níveis de vitamina A no leite maduro de nutrizas adolescentes e adultas de diferentes estratos socioeconômicos. **Rev Ciênc Méd.**, Campinas, v. 8, n. 1, p. 3-10, 1999.

VLIET, T. V. *et al.* Retinoic Acid Metabolites in Plasma Are Higher after Intake of Liver Paste Compared with a Vitamin A Supplement in Women. **J. Nutr.**, v. 131, p. 3197-3203, 2001.

WHO/UNICEF/IVACG. **Vitamin A supplements – a guide to their use in the treatment and prevention of vitamin A deficiency and xerophthalmia.** 2ª ed, Geneva, 1997.

WIEGAND, U. W.; HARTMANN, S.; HUMMLER, H. Safety of vitamin A: recent results. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, v. 68, p. 411-416, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global prevalence of vitamin A deficiency. Geneva: WHO, 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Indicators for assessing vitamina A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva: WHO; 1996. Disponível em:
<http://whqlibdoc.who.int/hq/1996/WHO_NUT_96.10.pdf>. Acesso em: 15 fev 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Centro Colaborador de Alimentação e Nutrição do Nordeste I. Vitamina A na Gestação e Lactação. Recomendações e relatório de uma consultoria. Recife, mar./ 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Nutrient adequacy of exclusive breastfeeding for the term infant during the first six months of life. Geneva: WHO, 2002. p 22-26. Disponível em:
<http://www.who.int/nut/documents/nut_adequacy_of_exc_bfeeding_eng.pdf>. Acesso em: 13 mai 2004.

APÊNDICES

	<p>MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO</p> <p>UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE</p> <p>DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA</p> <p>CENTRO DE BIOCÊNCIAS</p>
---	--

PROJETO DE PESQUISA

Objetivo: Avaliar a influência da suplementação de vitamina A sobre os níveis de retinol no leite materno de lactantes saudáveis.

Justificativa: As mães que estão amamentando podem ficar deficientes em uma vitamina chamada de vitamina A. Ela é fundamental para a saúde da mãe e também ao crescimento e desenvolvimento normal de seu bebê, que muitas vezes, adquire esta vitamina apenas do leite materno. Uma vez que a mãe esteja deficiente nesta vitamina, seu leite também poderá estar. Pensando nisso, o Ministério da Saúde criou um projeto para fornecer às mães que amamentam, altas quantidades da vitamina A: a suplementação. Além de seus benefícios, a suplementação com vitamina A pode trazer alguns incômodos à mãe como: dor de cabeça, tontura, fraqueza, enjôo, vômitos, etc. Porém, a falta de informações sobre a suplementação contribuiu para a realização deste trabalho.

Amostra: 100 lactantes atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco

Orientador: Prof Dr. Roberto Dimenstein

Autora da Pesquisa: Raquel Maria da Silva Lourenço

CONSENTIMENTO ESCLARECIDO

Este formulário que você deverá assinar foi elaborado de acordo com a Resolução CNS 196-96, que orienta procedimentos referentes às pesquisas que requer experiências com humanos. Neste estudo, a senhora e seu neném serão submetidos aos procedimentos enumerados a seguir:

1. Inquérito sócio-econômico (local de moradia, renda familiar, tamanho da família)
2. Coleta de material biológico (12 mL de leite materno (fracionado em 3 coletas) e 5 mL de sangue)
3. 2 visitas domiciliares (a primeira será feita em torno de 8 dias após o parto e a segunda por volta de um mês após o parto)

Para seu esclarecimento informamos que:

1. Este estudo pode oferecer riscos aos participantes como dor de cabeça, tontura, fraqueza, enjôo, vômitos, etc. Entretanto, trará benefícios quanto ao conhecimento de efeitos da suplementação com vitamina A nos níveis deste nutriente no leite e sangue de lactantes do grupo populacional estudado, bem como possíveis efeitos no crescimento do recém-nascido ;
2. Os resultados obtidos em análise serão arquivados e mantidos eticamente em absoluto sigilo;
3. Os colaboradores poderão desistir da pesquisa em qualquer momento, por quaisquer motivos.

Ciente do compromisso assumido na colaboração com esta pesquisa, subscrevo-me a seguir.

Natal, ____ de _____ de 20____

Assinatura da Participante

QUESTIONÁRIO (mãe não-suplementada)

Nº _____

NOME: _____ IDADE: _____

DN: ____/____/____ TAMANHO DA FAMÍLIA: _____ RENDA FAMILIAR: _____

CONTRIBUI C/ A RENDA: SIM() NÃO()

ENDEREÇO E PONTOS DE REFERÊNCIA: _____

PARIDADE: _____ HORÁRIO DA ÚLTIMA MAMADA: _____

	COLETA DO COLOSTRO	COLETA DO SANGUE
DATA		
HORÁRIO		

OBS: _____

DATA: ____/____/____ NOME DO ENTREVISTADOR: _____

QUESTIONÁRIO (mãe suplementada)

Nº _____

NOME: _____ IDADE: _____

DN: ____/____/____

TAMANHO DA FAMÍLIA: _____ RENDA FAMILIAR: _____ CONTRIBUI C/ A RENDA: SIM() NÃO()

ENDEREÇO E PONTOS DE REFERÊNCIA: _____

PARIDADE: _____

MASTIGOU A CÁPSULA? () SIM () NÃO

ENGOLIU A CÁPSULA? () SIM () NÃO

HORÁRIO DA SUPLEMENTAÇÃO: _____

	COLETA DO COLOSTRO		COLETA DE SANGUE
	1ª amostra	2ª amostra	1ª amostra
DATA			
HORÁRIO			
HORÁRIO DA ÚLTIMA MAMADA			

OBS: _____

DATA: ____/____/____ NOME DO ENTREVISTADOR: _____

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)