



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

**LÍGIA REJANE SIQUEIRA GARCIA**

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM  
MEGADOSE DE VITAMINA A SOBRE OS NÍVEIS DE RETINOL E  
ALFA-TOCOFEROL NO COLOSTRO.**

**NATAL - RN  
2009**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**LÍGIA REJANE SIQUEIRA GARCIA**

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM  
MEGADOSE DE VITAMINA A SOBRE OS NÍVEIS DE RETINOL E  
ALFA-TOCOFEROL NO COLOSTRO.**

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 - RN  
2009**

Divisão de Serviços Técnicos

Catálogo da Publicação na Fonte. UFRN / Biblioteca Central Zila Mamede

Garcia, Lúcia Rejane Siqueira.

Avaliação da suplementação materna com megadose de vitamina A sobre os níveis de retinol e alfa-tocoferol no colostro / Lúcia Rejane Siqueira Garcia. – Natal, RN, 2009.

67 f. : il.

Orientador: Roberto Dimenstein.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica.

1. Vitaminas (Bioquímica) - Dissertação. 2. Amamentação - Dissertação. 3. Retinol - Dissertação. 4. Alfa-tocoferol - Dissertação. I. Dimenstein, Roberto. II. Título.

RN/UF/BCZM

CDU 571.16:618.63

**DEDICO ESTA OBRA**

**A Deus,**

por ter me dado força para continuar seguindo em frente  
mesmo diante das dificuldades.

**Aos meus pais Ítalo e Graça,**

meus maiores incentivadores, pelo amor, apoio e orientação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me permitir viver e crer que tudo é possível;

A minha família, Ítalo, Graça, Lícia, Livia, Valéria, cunhados, tios e primos, pelo apoio e incentivo constantes;

A Eduardo Lins, pela ajuda nas diversas etapas do trabalho e pela compreensão nos momentos de ausência;

Ao professor Roberto Dimenstein, pela oportunidade, orientação, atenção, incentivo e paciência;

Ao programa de mestrado em bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, pela oportunidade de realização deste trabalho. Aos professores Luiz, Hugo, Carlos Bola, pelo apoio, sugestões e correções;

A CAPES, pelo financiamento da pesquisa;

À Maternidade Escola Januario Cicco, por permitir a coleta de dados;

As lactantes e suas famílias por terem aceitado participar da pesquisa;

À Karla Danielly, amiga e companheira de graduação e mestrado, pelo incentivo, orientações e participação direta em várias etapas da pesquisa;

Ao colega de trabalho, Marcelo Anzanello, pela colaboração nas análises estatísticas;

As alunas de iniciação científica, Katherine Feitosa, Jeane Pires, Samara, Gabrielle, Ana Paula, Juliana e Tamizy, pela contribuição inestimável nas coletas e análises;

As colegas de laboratório, Danielle Soares, Videany, Lahyanna e Ana Carolina, pelo apoio e momentos de descontração;

Aos meus amigos de mestrado Jailma Almeida, Sheila Varela, Katrine Cavalcante, Cleysivan Macedo e Leandro Costa, pela acolhida, amizade e pelos momentos de descontração e de tensão compartilhados. Em especial agradeço a Jailma, pela contribuição na formatação e “efeitos especiais” durante todo o mestrado;

A todos que me apoiaram e de alguma forma me ajudaram a vencer mais essa etapa na minha vida profissional.

"De tudo ficaram três coisas:  
A certeza de que estamos sempre a começar...  
A certeza de que é preciso continuar...  
A certeza que seremos interrompidos antes de terminar...  
Portanto, devemos fazer da interrupção um caminho novo...  
Fazer da queda um passo de dança...  
Do medo uma escada...  
Do sonho uma ponte...  
Da procura um encontro...  
E assim terá valido a pena"

(Fernando Sabino)



## RESUMO

As vitaminas A e E são reconhecidamente importantes nos estágios iniciais de vida, sendo os recém-nascidos dependentes da adequação nutricional do leite materno para suprir suas necessidades. Estas vitaminas compartilham vias de transporte para os tecidos e possíveis efeitos antagônicos têm sido observados em animais após a suplementação com vitamina A. Este trabalho teve como objetivo verificar o efeito da suplementação materna com megadose de vitamina A (200.000 UI) no pós-parto imediato sobre a concentração de alfa-tocoferol no colostro. Parturientes saudáveis atendidas em uma maternidade pública natalense foram recrutadas para o estudo e divididas em dois grupos: controle (n = 37) e suplementado (n = 36). Amostras de sangue e leite colostro foram coletadas até 12 horas pós-parto. Neste momento, nas mulheres do grupo suplementado foi administrada a cápsula de vitamina A. Decorrido 24 horas após a primeira coleta foi obtida a 2ª amostra de colostro nos dois grupos para análise de retinol e alfa-tocoferol no leite. A concentração média de retinol de  $50,7 \pm 14,4$  µg/dL (Media  $\pm$  Desvio Padrão) e de alfa-tocoferol de  $1217,4 \pm 959$  µg/dL no soro das mulheres indicaram estado nutricional adequado nas vitaminas A e E. A suplementação com retinol palmitato resultou em aumento não somente na concentração do retinol no leite colostro do grupo suplementado (p= 0,002), mas também na concentração do alfa-tocoferol (p = 0,04), alterando de  $1456,6 \pm 1095,8$  µg/dL para  $1804,3 \pm 1432,0$  µg/dL (leite 0 e 24 respectivamente) em relação aos valores no grupo controle,  $984,6 \pm 750,0$  µg/dL e  $1175,0 \pm 730,8$  µg/dL. As parturientes apresentaram diferentes respostas à suplementação, influenciadas pelos níveis basais de retinol no colostro. Aquelas com níveis prévios baixos de retinol no colostro (< 60 µg/dL) apresentaram aumento na concentração de alfa-tocoferol no leite, enquanto que, as que tinham níveis adequados (> 60 µg/dL), apresentaram redução após a suplementação. A suplementação com retinol palmitato é uma medida importante na prevenção da deficiência de vitamina A, porém somente quando considerada a real necessidade de suplementação materna, visto que o excesso de vitamina pode propiciar interações desfavoráveis entre nutrientes essenciais para o grupo materno-infantil.

**Palavras-chave:** retinol,  $\alpha$ -tocoferol, suplementação, colostro.

## ABSTRACT

The vitamins A and E are recognizably important in the initial stages of life and the newborn depends on nutritional adequacy of breast milk to meet their needs. These vitamins share routes of transport to the tissues and antagonistic effects have been observed in animals after supplementation with vitamin A. This study aimed to verify the effect of maternal supplementation with vitamin A megadose (200,000 UI) in the immediate post-partum on the concentration of alpha-tocopherol in colostrum. Healthy parturient women attended at a public maternity natalensis were recruited for the study and divided into two groups: control (n = 37) and supplemented (n = 36). Blood samples of colostrum and milk were collected until 12 hours after delivery. The women of the supplemented group was administered a retynil palmitate capsule and 24 hours after the first collection was obtained the 2<sup>nd</sup> sample of colostrum in two groups for analysis of retinol and alpha-tocopherol in milk. The mean retinol concentration of  $50,7 \pm 14,4$   $\mu\text{g/dL}$  (Mean  $\pm$  standard deviation) and alpha-tocopherol of  $1217.4 \pm 959$  mg/dL in the serum indicate the nutritional status biochemical appropriate. Supplementation with retynil palmitate resulted in increase not only retinol levels in the colostrum of the supplemented group ( $p = 0.002$ ), but also the concentration of alpha-tocopherol ( $p = 0.04$ ), changing from  $1456.6 \pm 1095.8$  mg/dL to  $1804.3 \pm 1432.0$  mg/dL (milk 0 and 24 respectively) compared to values in the control group,  $984.6 \pm 750.0$  mg/dL and  $1175.0 \pm 730.8$  mg/dL. The women had different responses to supplementation, influenced by baseline levels of retinol in colostrum. Those with previous by low levels of retinol in colostrum ( $<60$  mg/dL) had increased the concentration of alpha-tocopherol in milk, whereas those with adequate levels ( $> 60$  mg/dL), showed a reduction after supplementation. Supplementation with retinol palmitate is an important intervention in situations of high risk for vitamin A deficiency, when considering the need to maternal supplementation, since the excess vitamin can offer unfavorable interactions between nutrients essential for the mother-child group.

**Key words:** retinol, alpha-tocopherol, supplementation, colostrum.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Formas naturalmente encontradas de tocoferóis e tocotrienóis.....	14
<b>Figura 2.</b> Metabolismo da vitamina E.....	18
<b>Figura 3.</b> Estruturas químicas de alguns retinóides com ação de vitamina A.....	22
<b>Figura 4.</b> Transporte da vitamina A para a glândula mamária.....	26
<b>Figura 5.</b> Esquema ilustrativo das coletas de material biológico por grupo.....	30
<b>Figura 6.</b> Esquema ilustrativo do processo de extração de retinol nas amostras leite materno.....	32
<b>Figura 7.</b> Cromatogramas de retinol.....	34
<b>Figura 8:</b> Cromatogramas de tocoferol.....	35
<b>Figura 9.</b> Curvas de calibração dos padrões de retinol e alfa-tocoferol .....	36
<b>Figura 10.</b> Variação na concentração de alfa-tocoferol no colostro após suplementação com retinol palmitato de acordo com os níveis basais de retinol no leite .....	41
<b>Figura 11.</b> Variação na concentração de alfa-tocoferol no colostro de acordo com a adequação do estado nutricional nas vitaminas A e E no leite 0 hora.....	41
<b>Figura 12.</b> Concentração de alfa-tocoferol no colostro em relação a outros estudos.....	43

## LISTA DAS TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Concentração de alfa-tocoferol no leite materno em diferentes fases da lactação .....	21
<b>Tabela 2.</b> Características gerais das puérperas incluídas no estudo .....	38
<b>Tabela 3.</b> Efeito da suplementação com retinol palmitato sobre a concentração de retinol e alfa-tocoferol no leite materno .....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ROO•</b>	Radical peróxido de lipídio
<b>Vit E-OH</b>	Vitamina E
<b>ROOH</b>	Hidroperóxido
<b>Vit E-O•</b>	Radical tocoferoxila
<b>AH</b>	Ácido ascórbico
<b>A•</b>	Radical livre
<b>LDL</b>	Lipoproteína de baixa densidade
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucléico
<b>LPL</b>	Lípase lipoproteíca
<b>α-TTP</b>	Proteína transportadora de alfa-tocoferol
<b>VLDL</b>	Lipoproteína de muito baixa densidade
<b>IDL</b>	Lipoproteína de densidade intermediária
<b>HDL</b>	Lipoproteína de alta densidade
<b>CEHC</b>	Metabólito da vitamina E
<b>α-TOH</b>	Alfa-tocoferol
<b>RNAm</b>	Ácido ribonucléico mensageiro
<b>HPLC - CLAE</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>LRAT</b>	Lecitina retinol aciltransferase
<b>RBP</b>	Proteína transportadora de retinol
<b>RE</b>	Éster de retinol
<b>MEJC</b>	Maternidade Escola Januário Cicco
<b>UFRN</b>	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
<b>IMC</b>	Índice de Massa Corporal
<b>KOH</b>	Hidróxido de potássio
<b>N<sub>2</sub></b>	Nitrogênio

## SUMÁRIO

	Página
<b>RESUMO.....</b>	<b>5</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>6</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>7</b>
<b>LISTA DAS TABELAS.....</b>	<b>8</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....</b>	<b>9</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
1.1. Vitamina E.....	14
1.1.1. Estrutura química, funções e fontes.....	14
1.1.2. Absorção, transporte, excreção e biodisponibilidade .....	16
1.1.3. Deficiência de vitamina E.....	19
1.1.4. Vitamina E no leite materno.....	20
1.2. Vitamina A .....	22
1.2.1. Estrutura química, funções e fontes .....	22
1.2.2. Absorção, transporte, excreção e biodisponibilidade.....	23
1.2.3. Deficiência de vitamina A e estratégias de intervenção.....	24
1.2.4. Vitamina A no leite materno.....	25
1.3. Relação entre a vitamina A e vitamina E.....	26
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
2.1. Objetivo geral.....	28
2.2. Objetivos específicos.....	28
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>29</b>
3.1. Sujeitos.....	29
3.2. Coleta de dados.....	29

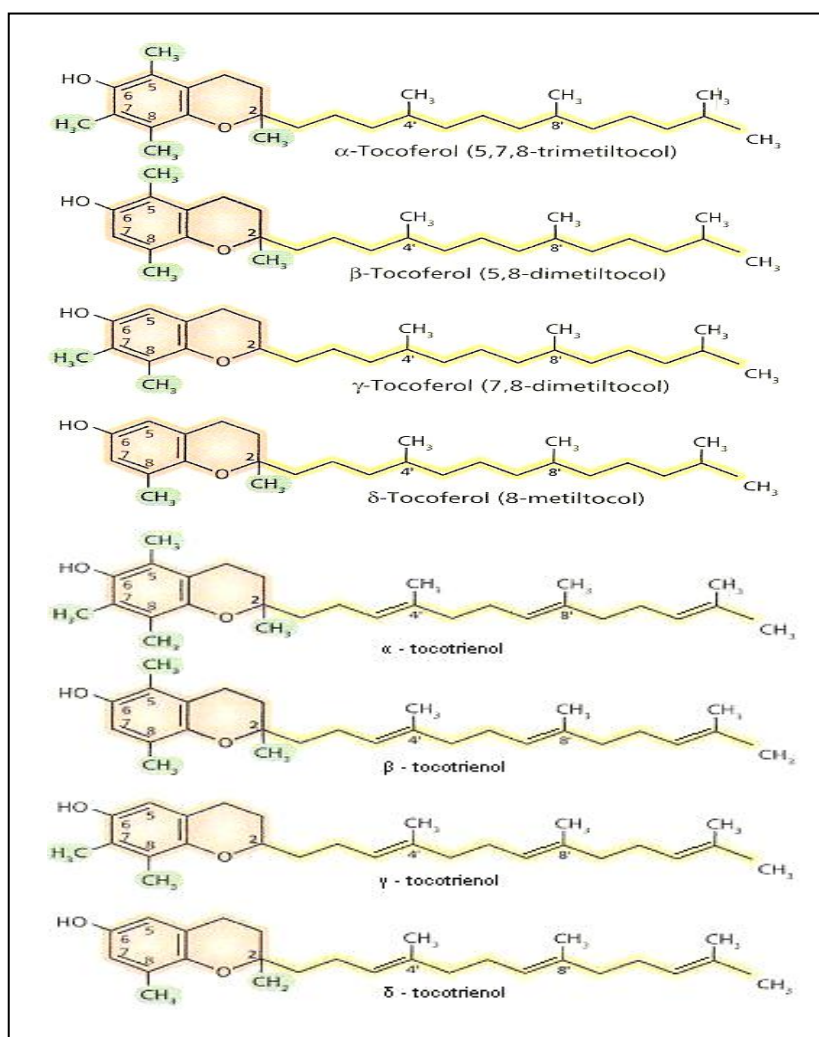
3.3. Coleta de material biológico.....	30
3.4. Procedimento de extração das vitaminas.....	31
3.4.1. Extração de retinol no leite.....	31
3.4.2. Extração de alfa-tocoferol no leite.....	32
3.4.3. Extração de retinol e alfa-tocoferol no soro.....	33
3.5. Condições cromatográficas.....	33
3.6. Linearidade, exatidão e precisão do método.....	35
3.7. Valores de referência .....	37
3.8. Análise estatística.....	37
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>38</b>
4.1. Caracterização das puérperas.....	38
4.2. Estado nutricional em vitamina A.....	38
4.3. Estado nutricional em vitamina E.....	39
4.4. Avaliação da suplementação com retinol palmitato.....	39
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>47</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>48</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>61</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Vitamina E

#### 1.1.1. Estrutura química, funções e fontes alimentares

A vitamina E é um termo utilizado para designar oito diferentes compostos lipossolúveis denominados tocoferóis e tocotrienóis encontrados nos alimentos (Figura 1). Derivam do 6-cromanol, possuem uma cadeia isoprenóide na sua constituição, o que confere característica lipossolúvel, diferindo entre si pela presença de insaturações nos tocotrienóis (AZZI, 2000a; HERRERA, 2001).



**Figura 1. Formas naturalmente encontradas de tocoferóis e tocotrienóis** (Fonte: Adaptado de BIESALSKI, 2007).

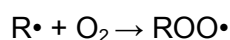
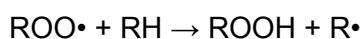


O alfa-tocoferol é o composto mais ativo biologicamente (Figura 1). É encontrado nos alimentos, acompanhado de pequenas quantidades de beta, gama e delta-tocoferol, que diferem pelo número e posições dos grupos metil ligados ao anel. Essas diferenças estruturais representam uma redução na atividade em relação à forma alfa de 50% para a forma beta, 90% para a gama e 97% para a delta (BJORNEBOE, 1990; BIESALSKI, 2007).

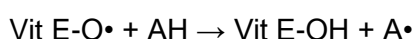
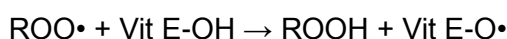
O alfa-tocoferol natural possui três centros quirais, nos quais os grupos metil estão em configuração -R, por isso recebe oficialmente a denominação de RRR-alfa-tocoferol. Possui uma ramificação na posição 2 que facilita sua retenção nas membranas biológicas (BIESALSKI, 2007). A forma artificial da vitamina E, designada de dl-alfa-tocoferol ou all-rac-alfa-tocoferol, é constituída de uma mistura de oito estereoisômeros, sendo apenas um destes idêntico ao natural (BURTON, 1998).

A vitamina E atua como antioxidante e modulador da sinalização celular. Todas as células expostas ao oxigênio molecular são susceptíveis aos danos causados pelos radicais livres. A função antioxidante da vitamina E ocorre pelo bloqueio da peroxidação lipídica. Esta é uma reação em cadeia iniciada pela perda de um átomo de hidrogênio do ácido graxo (RH), levando a um desemparelhamento de elétrons do átomo de carbono (R•). Esse radical lipídico formado pode reagir com moléculas derivadas de oxigênio para formar o radical peróxido de lipídio (ROO•), altamente reativo e continuar a reação em cadeia. A vitamina E (Vit E-OH) pode terminar essa reação de diferentes maneiras: ao reagir com ROO• pode formar um radical tocoferoxila (Vit E-O•) menos reativo, devido à possibilidade de ressonância do elétron desemparelhado pela cadeia aromática; o radical Vit E-O• formado pode sofrer redução pelo ácido ascórbico (AH) ou reagir com outro radical para formar um produto não reativo (BJORNEBOE, 1990; BRAMLEY, 2000; TRABER, 2006). O esquema resumido da atuação da vitamina E é ilustrado abaixo:

Na ausência de vitamina E:



Na presença de vitamina E:



Quando os radicais livres não são inativados, sua reatividade química pode danificar várias macromoléculas celulares, dentre elas os lipídios da membrana e as lipoproteínas plasmáticas. Seu efeito destrutivo tem sido estudado, sugerindo-se que a ação sobre proteínas pode ter um papel chave no desenvolvimento da catarata, sobre o DNA pode causar câncer e seu efeito sobre o LDL colesterol pode estar relacionado com doenças cardiovasculares (BAGCHI, 1998). Embora não seja consenso na literatura, evidências clínicas e estudos epidemiológicos sugerem que uma alta ingestão de vitamina E pode estar relacionada a um menor risco de desenvolvimento de doenças como diabetes, algumas formas de câncer e doenças cardiovasculares (HEINONEN, 1998; SALONEN, 2000; HODIS, 2002; DEVARAJ, 2002; LONN, 2002; KIRSH, 2006).

Outras funções da vitamina E tem sido investigadas. Ao alfa-tocoferol tem sido atribuída a atividade de modulação de vias de sinalização celular, através da inibição da proteína cinase C, levando a diversas respostas biológicas em diferentes tipos celulares, tais como inibição da agregação plaquetária, inibição da produção de óxido nítrico pelas células endoteliais e de superóxido pelos neutrófilos e macrófagos (AZZI, 2000b; AZZI, 2002).

As melhores fontes alimentares de vitamina E são os óleos vegetais, germe de trigo, sementes oleaginosas, vegetais folhosos verde escuros e produtos derivados. Também é encontrada, em menor quantidade, em alimentos de origem animal, como ovos e fígado. Estes alimentos contem os homólogos (alfa, beta, gama e delta-tocoferol) em variadas proporções (BIESALSKI, 2007).

### **1.1.2. Absorção, transporte, excreção e biodisponibilidade**

As formas esterificadas da vitamina E provenientes da dieta são hidrolisadas no intestino por enzimas pancreáticas e intestinais, sendo igualmente absorvidas no intestino (CLIFFOR, 2006). Sob a forma alcoólica, a vitamina é transportada para o interior do enterócito por difusão passiva e incorporada ao quilomícron para ser liberada no sistema linfático (TRABER, 1992; BRAMLEY 2000).

Ao contrário de outras vitaminas lipossolúveis, a vitamina E é transportada inespecificamente por todas as lipoproteínas plasmáticas. O tocoferol também pode ser transportado na circulação associado a eritrócitos (TRABER, 1992).

Por ser lipossolúvel e transportada em lipoproteínas, a vitamina E compartilha vias pelas quais os lipídios são transferidos para os tecidos. Entre os mecanismos de transferência identificados, destaca-se o dependente da ação da lipase lipoprotéica (LPL) durante o catabolismo de lipoproteínas ricas em triglicerídeos, bem como a via do receptor LDL, que permite a ligação de lipoproteínas contendo apo-B e apo-E, principais transportadoras do alfa-tocoferol para o meio intracelular (TRABER, 1985; DEBIER, 2005) (Figura 2).

Na circulação, os triglicerídeos contidos nos quilomícrons são hidrolisados pela LPL ligada ao endotélio, resultando na transferência de lipídios e vitamina E para os tecidos periféricos (TRABER, 1985). Os quilomícrons remanescentes resultantes, contendo todas as formas de vitamina E, chegam ao fígado, onde há discriminação entre as diferentes formas de vitamina E pela proteína transportadora de alfa-tocoferol ( $\alpha$ -TTP) hepática, que incorpora preferencialmente RRR-alfa-tocoferol ao VLDL nascente (BRAMLEY, 2000). A afinidade da  $\alpha$ -TTP hepática varia de acordo com a estrutura do análogo, consistindo em 100% para alfa-tocoferol, 38% para o beta-tocoferol, 9% para o gama-tocoferol e 2% para o acetato de alfa-tocoferol. Dessa maneira, o alfa-tocoferol é retido no organismo, enquanto quantidade considerável das outras formas de vitamina E são excretadas através da bile (HOSOMI, 1997).

A seletividade da  $\alpha$ -TTP explica porque mesmo em dietas como a norte-americana, na qual a concentração é dez vezes maior em gama-tocoferol, o nível encontrado deste no sangue é cinco a dez vezes menor que o alfa-tocoferol (TRABER, 1999). Esse tipo de proteína também foi encontrado em outros tecidos além do fígado, como cérebro e placenta de mamíferos (COPP, 1999; KAEMPF-ROTZOLL, 2003).

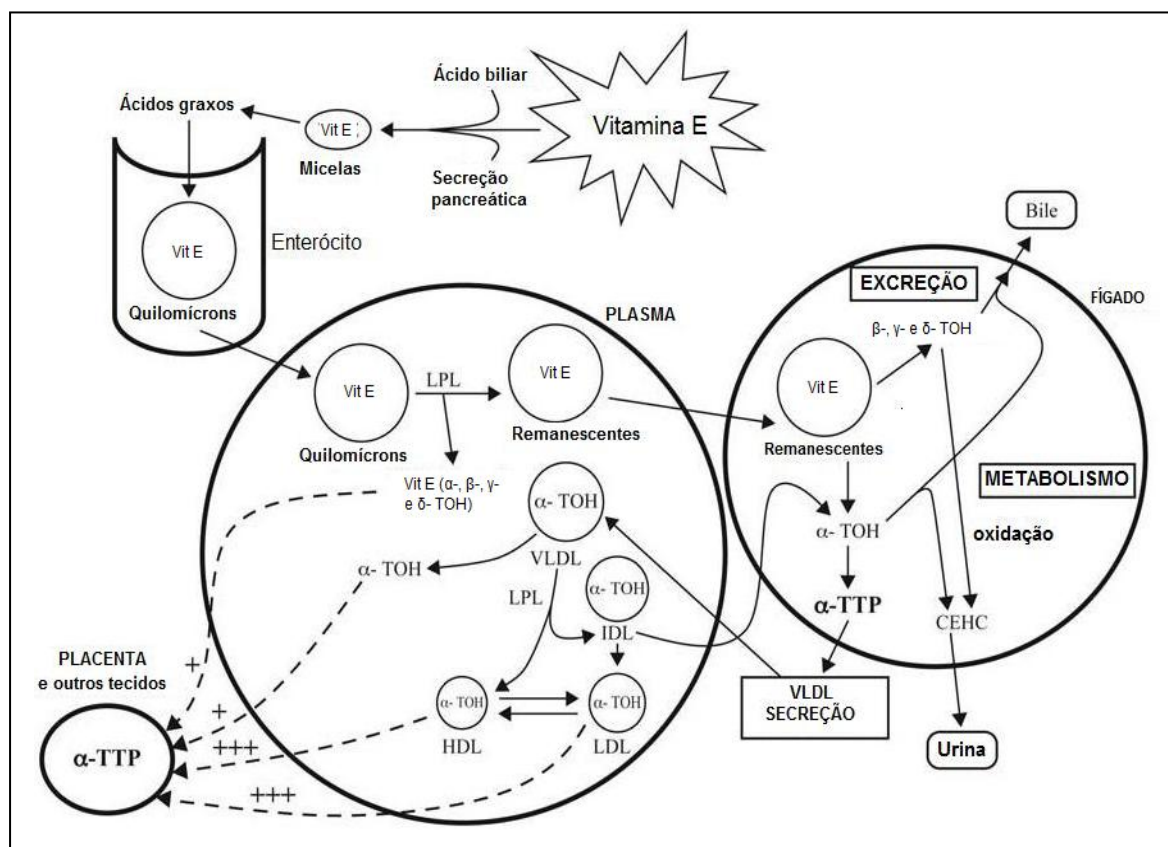
A VLDL circulante é catabolizada pela LPL formando VLDL remanescentes (IDL), dos quais 50% retornam ao fígado, enquanto o restante é convertido a LDL, importante carreador de vitamina E para os tecidos periféricos. Através da ação da LPL ocorre transferência do tocoferol para tecidos e para a HDL, que por sua vez pode transferi-lo para quaisquer lipoproteínas circulantes e componentes celulares como leucócitos e eritrócitos (KAYDEN & TRABER, 1993; LODGE, 2005).

O alfa-tocoferol pode se acumular em tecidos como fígado, tecido adiposo e músculos. Embora o tecido adiposo concentre grande quantidade desta vitamina,

em caso de deficiência dietética sua mobilização é muito lenta (TRABER & KAYDEN, 1987).

Os mecanismos relacionados ao transporte da vitamina para a placenta e tecido mamário envolvem receptores de lipoproteínas (receptor LDL, receptor VLDL, SR-BI), além da lipase lipoprotéica (LANDSCHULZ, 1996; MONKS, 2001; MARTINEZ, 2002). A presença da  $\alpha$ -TTP na placenta sugere sua influência na seletividade pelo transporte da forma RRR-alfa-tocoferol através da barreira placentária. Isso poderia explicar a maior concentração de alfa-tocoferol encontrado no sangue de recém-nascidos em relação às demais formas da vitamina (KAEMPF-ROTZOLL, 2003).

A principal forma de excreção desta vitamina é através das fezes, contribuindo também a excreção pela bile e secreção pelas células mucosas (KAYDEN & TRABER 1993; BRAMLEY, 2000). A urina representa uma importante via de excreção para o metabólito carboxietil-hidroxicromano (CEHC) no caso de suplementação com doses excessivas de vitamina E (SCHULTZ, 1997).



**Figura 2. Metabolismo da vitamina E.** (Fonte: Adaptado de GAGNÉ, 2008).

Entre os fatores que podem influenciar a biodisponibilidade das vitaminas, alguns estão associados ao indivíduo (estado nutricional, idade e estilo de vida) e outros estão relacionados ao alimento (forma química, quantidade consumida, quantidade de gordura e matriz alimentar) (VAN DEN BERG, 2001; BOREL, 2003). Cerca de 20 a 40% da vitamina E ingerida é absorvida. Essa absorção pode ser influenciada pela ingestão concomitante de pequena quantidade de gordura na dieta (JEANES, 2004; HERRERO-BARBUDO, 2006).

Em sua revisão, BJORNEBOE (1990) mencionou que não apenas a quantidade, mas o tipo de gordura pode ser importante na absorção, e que, o consumo elevado de ácidos graxos polinsaturados pode aumentar a necessidade dessa vitamina, devido à susceptibilidade das insaturações à ação dos radicais livres.

O álcool exerce efeito negativo sobre a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no soro. Um possível mecanismo é o aumento da peroxidação lipídica causada pelo consumo de etanol (BJORNEBOE, 1998).

Apesar dos mecanismos serem desconhecidos, estudos com animais sugerem que ingestão elevada de vitamina A diminui o aproveitamento da vitamina E (SCHELLING, 1995; ZINN, 1996). Uma possível explicação seria a competição entre retinol e tocoferol por enzimas ou mecanismos de transporte celular (EICHER, 1997; AMETAJ 2000).

A absorção de vitamina E no recém-nascido é variável, podendo ser influenciada pelos diversos fatores supracitados, sendo os mais importantes a idade gestacional e os componentes da dieta (EUCLYDES, 1997).

### **1.1.3. Deficiência de vitamina E**

Estudos sugerem que um bom estado antioxidante durante a gestação exerce efeito protetor sobre o binômio mãe-filho, aumentando o crescimento intra-uterino e peso ao nascer, evitando assim o dano oxidativo causado ao DNA, proteínas e lipídios, que pode estar associado a complicações gestacionais como parto pré-termo e pré-eclâmpsia (CHAPPELL, 1999; SCHOLL, 2001; SCHOLL, 2005).

A deficiência de vitamina E pode ocorrer por diferentes causas, dentre estas estão: os defeitos genéticos que comprometem a síntese da proteína transportadora

de alfa-tocoferol ( $\alpha$ -TTP), defeitos genéticos que comprometem a síntese de lipoproteínas; pode ainda ser secundária a absorção deficiente de gorduras e também tem sido observada em crianças desnutridas, por estas terem uma dieta limitante tanto na própria vitamina quanto em proteínas necessárias para a síntese de  $\alpha$ -TTP (OUAHCHI, 1995; TRABER, 2007).

Essa deficiência é mais encontrada em crianças e tem sido associada à anemia hemolítica, que ocorre tipicamente no segundo mês de vida em crianças com baixo peso ao nascer. Outros sintomas como disfunções neurológicas, displasia broncopulmonar, enterocolite necrosante e hemorragia intracranial também são observados (WILFOND, 1994; ROGERS, 2000). O lactente prematuro com deficiência de vitamina E apresenta baixos níveis de hemoglobina para a idade ( $< 9,28 \mu\text{mol/L}$ ), alterações morfológicas (anisocitose, eritrócitos fragmentados), resposta reticulocitária, aumento do número de plaquetas e hiperbilirrubinemia (CORRALES, 1981). Tais crianças se incluem no principal grupo de risco para desenvolvimento da deficiência, pois necessitam de um maior aporte de nutrientes antioxidantes pela exposição ao estresse oxidativo causado por infecções, oxigênio, ventilação mecânica e nutrição intravenosa (BUONOCORE, 2002).

Mulheres durante gestação sem complicações apresentam aumento nos níveis plasmáticos de vitamina E, enquanto que, as gestantes com complicações fetais ou risco materno têm menor concentração desta vitamina (ROXBOROUGH et al, 1998). Devido à limitada transferência placentária, a vitamina E encontra-se reduzida no soro de recém-nascidos, que dependem da adequação nutricional do leite materno, especialmente o colostro, para restabelecer sua capacidade antioxidante (BAYDAS, 2002; BOERSMA, 1991).

#### **1.1.4. Vitamina E no leite materno**

A ingestão de vitamina E através do leite materno representa uma importante forma de suprir o recém-nascido com uma essencial defesa antioxidante e estimular o desenvolvimento do sistema imune (DEBIER & LARONDELE, 2005a). Apesar da importância desta vitamina nos estágios iniciais da vida, os mecanismos bioquímicos envolvidos na transferência de tal nutriente para o leite materno ainda não foram completamente elucidados (DEBIER, 2005b).

Sabe-se que os níveis de vitaminas lipossolúveis são maiores no leite dos primeiros dias pós-parto e decrescem com a progressão da lactação (SCHWEIGERT, 2004). A variação na concentração de vitaminas não é proporcional a secreção de lipídios no leite. Ao contrário das vitaminas, os lipídios totais inicialmente em menor concentração no colostro aumentam no leite maduro. O aumento no diâmetro do glóbulo de gordura do leite pode ter efeito desfavorável sobre constituintes da membrana, como a vitamina E (BARBAS & HERRERA, 1998). Na Tabela 1 pode-se observar a tendência decrescente na concentração da vitamina E com a mudança do estágio da lactação em estudos realizados em diversas localidades.

**Tabela 1. Concentração de alfa-tocoferol no leite materno em diferentes fases da lactação**

Referência	Local	Vitamina E no leite (µg/dL)		Método de análise
		Colostro	Maduro	
Boersma et al., 1991	Santa Lúcia/Caribe	2192,3 ± 1391,2	801,1 ± 460,9	HPLC
Ortega et al., 1998	Espanha	Não determinado	187,8 ± 65,9	HPLC
Macias et al., 2001	Cuba	1180 ± 630	270 ± 110	HPLC
Schweigert et al., 2004	Alemanha	2200,9 ± 1339,5	568,5 ± 219,7	HPLC
Ahmed et al., 2004	Bangladesh	919,1 ± 364,8	Não determinado	HPLC
Campos et al., 2005	Brasil (PE)	1313,9 ± 798,7	Não determinado	HPLC
Azeredo et al., 2008	Brasil (RJ)	Não determinado	116,3 ± 77,5*	HPLC

\* Estudo realizado com adolescentes

A modulação do transporte do alfa-tocoferol durante a gestação e lactação foi reconhecida em experimentos com mamíferos, com destaque para o papel da lipase lipoprotéica na glândula mamária. Animais gestantes e lactantes apresentaram maior atividade desta enzima na glândula mamária que o grupo não-gestante. Após suplementação com vitamina E, a concentração de alfa-tocoferol no tecido adiposo se manteve a mesma entre os grupos, enquanto a concentração na glândula mamária foi aumentada no grupo de gestantes e lactantes (MARTINEZ, 2002). Outros pesquisadores observaram um rápido aumento na expressão do RNAm e atividade da lipase lipoprotéica na glândula mamária logo após o parto, enquanto a

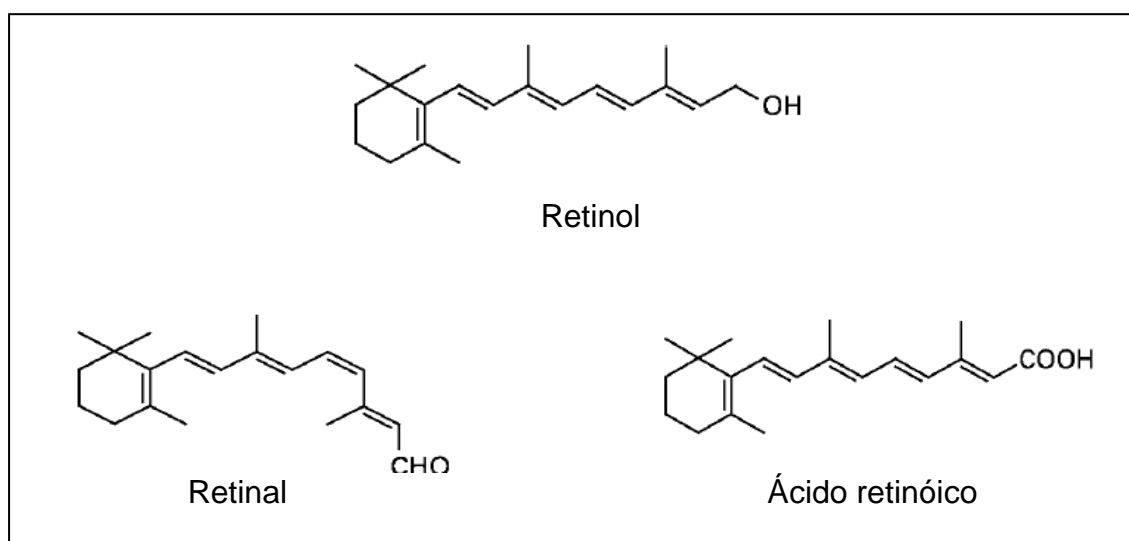
atividade da enzima no tecido adiposo não houve alteração (Ramirez, 1983; Ramos, 1999). SCHWEIGGERT (1990) sugeriu que, além do efeito da LPL, outros mecanismos de transporte envolvendo receptores LDL seriam responsáveis pelo aumento na concentração da vitamina E no colostro.

## 1.2. Vitamina A

### 1.2.1. Estrutura química, funções e fontes alimentares

O termo vitamina A é usado para todos os derivados da  $\beta$ -ionona que possuam atividade biológica de retinol todo-trans. Suas formas metabolicamente ativas incluem o retinal e o ácido retinóico (Figura 3). Enquanto a designação retinóides corresponde ao retinol, seus derivados naturais ou sintéticos e metabólitos, que não apresentam, necessariamente, a mesma atividade do retinol, embora apresentem semelhança na estrutura química (IOM, 2001).

A forma natural da vitamina A são os ésteres de retinila de cadeia longa (GOMES, 2005). A principal forma de vitamina A pré-formada disponível nos alimentos é o retinol; um álcool primário, lipossolúvel, de fórmula molecular  $C_{20}H_{30}O$  (PENTEADO, 2003).



**Figura 3. Estruturas químicas de alguns retinóides com ação de vitamina A.**



A vitamina A desempenha importantes funções no organismo, é necessária na visão para transdução do estímulo luminoso em sinal neural, para manter a diferenciação normal de membranas, a integridade do epitélio, atua na expressão gênica de proteínas específicas, no desenvolvimento embrionário e manutenção do sistema imune (IOM, 2001).

A vitamina A pode ser encontrada em alimentos de origem animal na sua forma livre (retinol) ou esterificada. As melhores fontes animais da vitamina A são: fígados de peixes marinhos e de mamíferos, ovos, leite e derivados. Em vegetais amarelos alaranjados e verdes escuros, são encontrados os carotenóides, precursores da vitamina A, que contribuem de forma expressiva para atingir as necessidades nutricionais da vitamina, principalmente em populações carentes (PENTEADO, 2003).

### **1.2.2. Absorção, transporte, excreção e biodisponibilidade**

As formas esterificadas do retinol ao atingirem o lúmen intestinal são hidrolisadas pela esterase pancreática bem como por outras enzimas intestinais. Na forma alcoólica, o retinol é absorvido pelo enterócito por difusão facilitada (BLOMHOFF, 1991).

No entérocito, o retinol é reesterificado pelas enzimas lecitina retinol aciltransferase (LRAT) e acil CoA:retinol aciltransferase (ACAT). Dessa forma é incorporado aos quilomícrons e liberado no sistema linfático (BLOMHOFF, 1991). Ao atingirem a circulação geral, sofrem a ação da LPL que degrada parcialmente os quilomícrons, transferindo algumas moléculas de ésteres de retinila para os tecidos periféricos. Os quilomícrons remanescentes chegam ao fígado, onde os ésteres são hidrolisados. O retinol é transferido para o retículo endoplasmático e se liga a proteína transportadora de retinol (RBP). Dessa forma, pode ser liberado na circulação ou transferido para as células estelares, onde serão reesterificados para estocagem (BLOMHOFF, 1994). O transporte de retinol para os tecidos pode ocorrer de diferentes formas: por difusão passiva, através da ligação ao receptor para a RBP e pela ação da LPL sobre os quilomícrons (BLOMHOFF, 1991; BLOMHOFF, 1994).

A absorção da vitamina A pré-formada é geralmente eficiente, em torno de 70 a 90% do total ingerido (OLSON, 1996). A concentração da vitamina A hepática varia de acordo com a ingestão dietética (IOM, 2001). A integridade da mucosa e o

estado nutricional do indivíduo podem influenciar a biodisponibilidade da vitamina A. Proteínas, gorduras, vitamina E e zinco presentes nos alimentos também podem afetar a biodisponibilidade dessa vitamina (MACHLIN, 1990).

Segundo BLOMHOFF (1991) a gordura da dieta pode influenciar a absorção do retinol, já que é veículo de transporte e estimulador do fluxo biliar. Dessa forma, a biodisponibilidade da vitamina pode ser favorecida pela associação desta com a gordura presente no leite materno.

### **1.2.3. Deficiência de vitamina A e estratégias de intervenção**

A deficiência de vitamina A constitui um dos principais problemas nutricionais de populações de países em desenvolvimento. É considerada um importante fator de risco para mortalidade infantil (BLACK, 2008). No Brasil, é considerado um problema de saúde pública, afetando principalmente crianças em idade pré-escolar, recém-nascidos, mulheres grávidas e nutrizes (BRASIL, 2009).

O sintoma inicial da deficiência é a má adaptação ao escuro (cegueira noturna), seguido por ceratinização de epitélios, que afeta o trato gastrointestinal, respiratório e aparelho geniturinário, aumentando a susceptibilidade a infecções. A xeroftalmia (córnea opaca e necrótica) é um sintoma típico de deficiência avançada, podendo progredir para cegueira, se não tratada (BIESALSKI, 2007).

O Brasil foi enquadrado entre os países que apresentam deficiência de base em vitamina A quando considerado indicadores como retinol sérico, citologia de impressão da conjuntiva e xeroftalmia (WEST JR, 2002). A região nordeste, o Vale da Ribeira em São Paulo e o Vale do Jequitinhonha, do Mucurici e o norte do estado de Minas Gerais são consideradas áreas de risco de deficiência (BRASIL, 2004).

Como estratégia de combate a deficiência, vários países tem adotado programas de suplementação com distribuição de doses maciças da vitamina entre os grupos que apresentam maior risco de desenvolvimento da deficiência, como crianças em idade pré-escolar e parturientes. Outras medidas indicadas para o combate a deficiência são: a fortificação de alimentos, estímulo a produção e consumo de alimentos fontes e o incentivo ao aleitamento materno (DINIZ, 2001; BRASIL, 2009).

No Brasil, a suplementação com vitamina A é realizada há 25 anos. Em 1994, foi implantado o Programa Nacional de Controle das Deficiências de Vitamina A,

com aumento expressivo na distribuição de cápsulas de 100.000 UI para crianças de 6 meses de idade e de 200.000UI para crianças entre 1 a 5 anos de idade residentes nas áreas consideradas de risco de deficiência acima citadas. Em 2001, o programa foi ampliado para puérperas no pós-parto imediato, com administração de dose única de 200.000UI via oral (BRASIL, 2009).

As cápsulas fornecidas pelo Ministério da Saúde contém em sua composição vitamina E na forma sintética (49,4 mg) com função de proteção antioxidante dos compostos lipídicos.

#### **1.2.4. Vitamina A no leite materno**

Ao nascerem, as crianças apresentam baixas reservas hepáticas de vitamina A. O leite materno é capaz de transferir para a criança até 60 vezes mais vitamina A que a placenta. Por esse motivo o leite materno, especialmente o colostro, representa uma importante fonte deste micronutriente, contribuindo para restabelecer as reservas do recém-nascido (STOLTZFUS & UNDERWOOD, 1995).

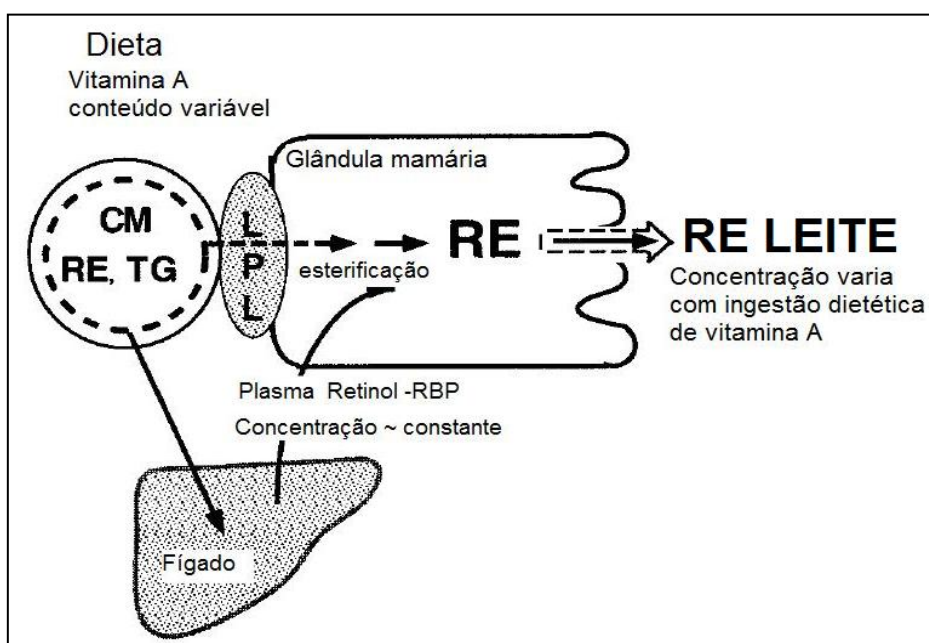
Os mecanismos fisiológicos de transporte da vitamina A para o tecido mamário não foram completamente esclarecidos. Sabe-se que quilomícrons e a RBP (proteína transportadora de retinol) contribuem para a secreção de vitamina A no leite (GREEN, 2001). ROSS et al. (2004) reportaram que o metabolismo na glândula mamária do retinol ligado ao quilomícrom requer ligação a LPL e ativa lipólise local, com aumento proporcional à dose da vitamina recebida (Figura 4). A vitamina A dietética pode ser transportada diretamente do enterócito para a glândula mamária, antes do quilomícrom ser metabolizado no fígado (DÁVILA et al., 1985)

O complexo RBP-retinol no sangue é transferido para a glândula mamária mediado por receptor, onde o retinol é reesterificado nos microssomos e secretado no leite na forma de éster de retinila (ROSS, 1982; HASKELL, 1999). Quando o estado nutricional materno em vitamina A é adequado, a contribuição do transporte do retinol ligado a RBP para a glândula mamária é relativamente constante (ROSS, 2004).

O teor da vitamina no leite é dependente da ingestão e reservas da mãe. Assim, o risco de depleção para a criança aumenta com a deficiência materna (ALLEN, 1994). Fatores como hábitos alimentares, acesso aos alimentos e método de preparo podem influenciar na disponibilidade do nutriente. Isso explica as

variações encontradas nos teores de vitamina A entre regiões e populações, como apontam estudos realizados em diversas regiões (CANFIELD, 2003; RIBEIRO, 2004; MENESES, 2005).

Por fornecer informações relacionadas tanto ao estado nutricional materno quanto ao infantil, a concentração de vitamina A no leite humano é um indicador importante e tem sido utilizado para investigações sobre deficiência de vitamina A subclínica no grupo materno-infantil (STOLTZFUS & UNDERWOOD, 1995).



**Figura 4. Transporte da vitamina A para a glândula mamária**  
(Fonte: Adaptado de ROSS, 2004).

### 1.3. Relação entre a vitamina A e vitamina E

Alguns efeitos antagônicos têm sido evidenciados entre as vitaminas A e E. Em estudo desenvolvido com mamíferos, foi observado que no grupo controle a concentração de alfa-tocoferol plasmático permaneceu maior que o valor encontrado no grupo suplementado, durante as 7 semanas em que foi administrado o palmitato de retinila (NONNECKE, 1999).

Ametaj (2000), verificou que quanto maior a dosagem administrada de vitamina A, menor a concentração encontrada de alfa-tocoferol plasmático. Esse efeito não foi observado quando analisado outra forma de vitamina E, como o gama-tocoferol. Resultados semelhantes foram obtidos por Schelling (1995), que observou

decréscimo na concentração de vitamina E, não somente no plasma como também no leite, proporcional ao aumento da dosagem administrada de vitamina A através da suplementação.

Em diversos países, foi avaliado o efeito dos programas de suplementação materna com vitamina A sobre o estado nutricional materno-infantil da vitamina, bem como o impacto desta medida sobre a morbimortalidade infantil (RICE, 1999; BHASKARAM, 2000; VINUTHA, 2000; DARBOE, 2007; DIMENSTEIN, 2007). No entanto, estudos sobre o efeito que tal megadose pode exercer sobre outros nutrientes, como a vitamina E são escassos. Estas vitaminas compartilham algumas vias de transporte e distribuição para os tecidos. Portanto, o estudo da vitamina E no leite materno se torna relevante para confirmar a segurança da suplementação com vitamina A, bem como para conhecer realidades regionais do estado nutricional materno-infantil em vitamina E.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Investigar a influência da suplementação materna de palmitato retinila no período pós-parto sobre a concentração de retinol e alfa-tocoferol no leite materno de lactantes atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco, Natal – RN.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar as puérperas envolvidas no estudo;
- Estabelecer o estado nutricional em vitamina A e E das lactantes, antes da suplementação com vitamina A, através da análise do retinol e alfa-tocoferol no sangue e no leite;
- Investigar o efeito da suplementação com vitamina A sobre os níveis das vitaminas A e E no colostro;
- Avaliar a influência de características das lactantes, como estado nutricional, idade e paridade sobre os níveis de vitamina E, após suplementação.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Sujeitos

O estudo foi um ensaio clínico aleatorizado, conduzido na Maternidade Escola Januário Cicco (MEJC), localizada na cidade de Natal/RN. O protocolo (CAAE 0004.0.51.000-08) obteve aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa da UFRN (Apêndice A). As parturientes recrutadas foram esclarecidas sobre os objetivos da pesquisa e autorizaram sua inclusão no estudo ao assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndices B e C).

O cálculo da amostra foi feito através de método inferencial, sendo usados valores médios e medidas de dispersão de estudos anteriores. Foi adotado que o desvio-padrão do alfa-tocoferol no colostro não seria maior que 300 µg/dL (Ahmed et al., 2004; Campos, 2005), conseqüentemente seria necessário recrutar 30 mulheres em cada grupo para detectar uma diferença de 250 µg/dL, com poder de 80% e confiança de 95%. A amostragem foi obtida de acordo com os seguintes critérios de exclusão: mulheres residentes em outros municípios, gestação múltipla, má-formação do neonato, uso de suplementos vitamínicos (contendo vitamina A e E) durante a gestação, portadoras de infecções ou doenças crônicas (diabetes, hipertensão) e mais de 12 horas pós-parto.

As mulheres (n=73) foram divididas em grupo controle (n=37) e grupo suplementado (n=36). Cada grupo foi composto por mulheres adolescentes e adultas, com distribuição percentual de acordo com incidência encontrada no local de coleta (MEJC). As mesmas etapas foram realizadas com os dois grupos, exceto a suplementação no grupo controle, que foi realizada após a última coleta de leite.

#### 3.2. Coleta de dados

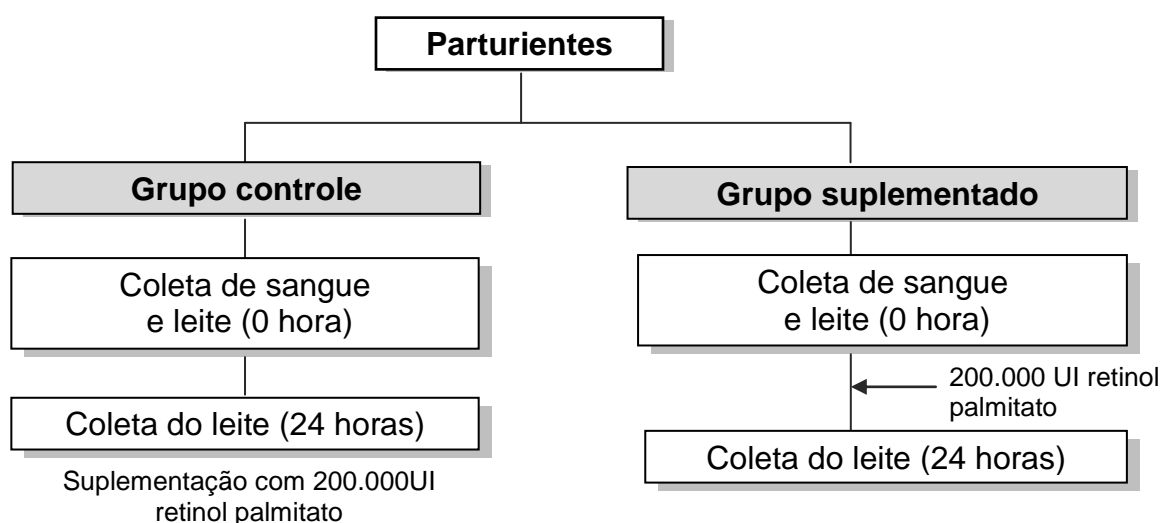
Dados sobre as características obstétricas, maternas e do neonato, como idade, estado nutricional, paridade, uso de suplemento contendo vitaminas A e E, peso ao nascer, tipo de amamentação (exclusiva, mista) foram obtidos do prontuário, do cartão de acompanhamento do pré-natal e através de questionário aplicado pelos pesquisadores (Anexo D).

O estado nutricional antropométrico durante a gestação foi obtido através do Índice de Massa Corporal (IMC) gestacional, considerando as informações de peso e altura da última consulta de pré-natal, contidas no cartão de acompanhamento da gestante. A classificação do estado nutricional foi realizado de acordo com o gráfico de Atalah et al. (1997).

Após as coletas de dados e material biológico, as nutrizes receberam orientações e folder explicativo sobre as fontes de vitamina A, importância do aleitamento materno e doação ao Banco de Leite Humano (Anexos E e F).

### 3.3. Coleta de material biológico

Após jejum noturno, foram coletados pelo corpo de enfermagem do hospital 5mL de sangue, que foi armazenado em tubo de polipropileno protegido da luz com papel alumínio. As amostras de leite foram coletadas por expressão manual de única mama não sugada previamente, desprezando os primeiros jatos e obtendo-se 2mL de um *pool* de leite do início e final da mamada, para evitar flutuações nas concentrações de vitaminas. Das mães incluídas na pesquisa, foram coletadas 2 amostras de leite colostro, no 1º e 2º dia pós-parto (Figura 5). Logo após a 1ª coleta foi administrado nas mulheres do grupo suplementado uma dose de 200.000UI de palmitato retinila. No grupo controle esse suplemento foi administrado após a última coleta.



**Figura 5. Esquema ilustrativo das coletas de material biológico dos grupos controle e suplementado.**



As amostras biológicas foram transportadas sob refrigeração ao Laboratório de Bioquímica da Nutrição, Departamento de Bioquímica - Centro de Biociências (UFRN). O sangue foi centrifugado (500xg) por cinco minutos para separação e remoção do soro. Em seguida, as amostras de soro e leite foram quantificadas e armazenadas sob nitrogênio a -20°C até o momento da análise.

### **3.4. Procedimento de extração das vitaminas**

#### **3.4.1. Extração do retinol no leite**

A extração de retinol nas amostras de leite foi realizada de acordo com o método adaptado de Giuliano et al. (1992). Ao tubo contendo 0,5 mL de leite, foram adicionados 0,5 mL de etanol 95% (Merck) para precipitação protéica e 1 mL de KOH 50% (Vetec) para hidrolisar os ésteres de retinol. Esse tubo foi agitado por 1 minuto e levado a banho-maria a 45°C, onde permaneceu por duas horas. Decorrido o tempo, foi iniciada a extração da fase lipídica da amostra com adição de 2 mL de hexano pa (Merck), seguido por agitação em Vortex por 1 minuto e centrifugação (4000 rpm) durante 10 minutos. Essa etapa foi repetida três vezes, sendo recuperado em cada etapa o sobrenadante contendo o extrato hexânico, que foi colocado em tubo a parte. Deste último, foi retirado uma alíquota de 2 mL para evaporação em banho-maria a 37°C, sob atmosfera de nitrogênio. Esse extrato evaporado foi redissolvido em 500 µL de etanol 99,3% (Vetec), agitado por 1 minuto e analisado em cromatógrafo de alta eficiência (Figura 6).

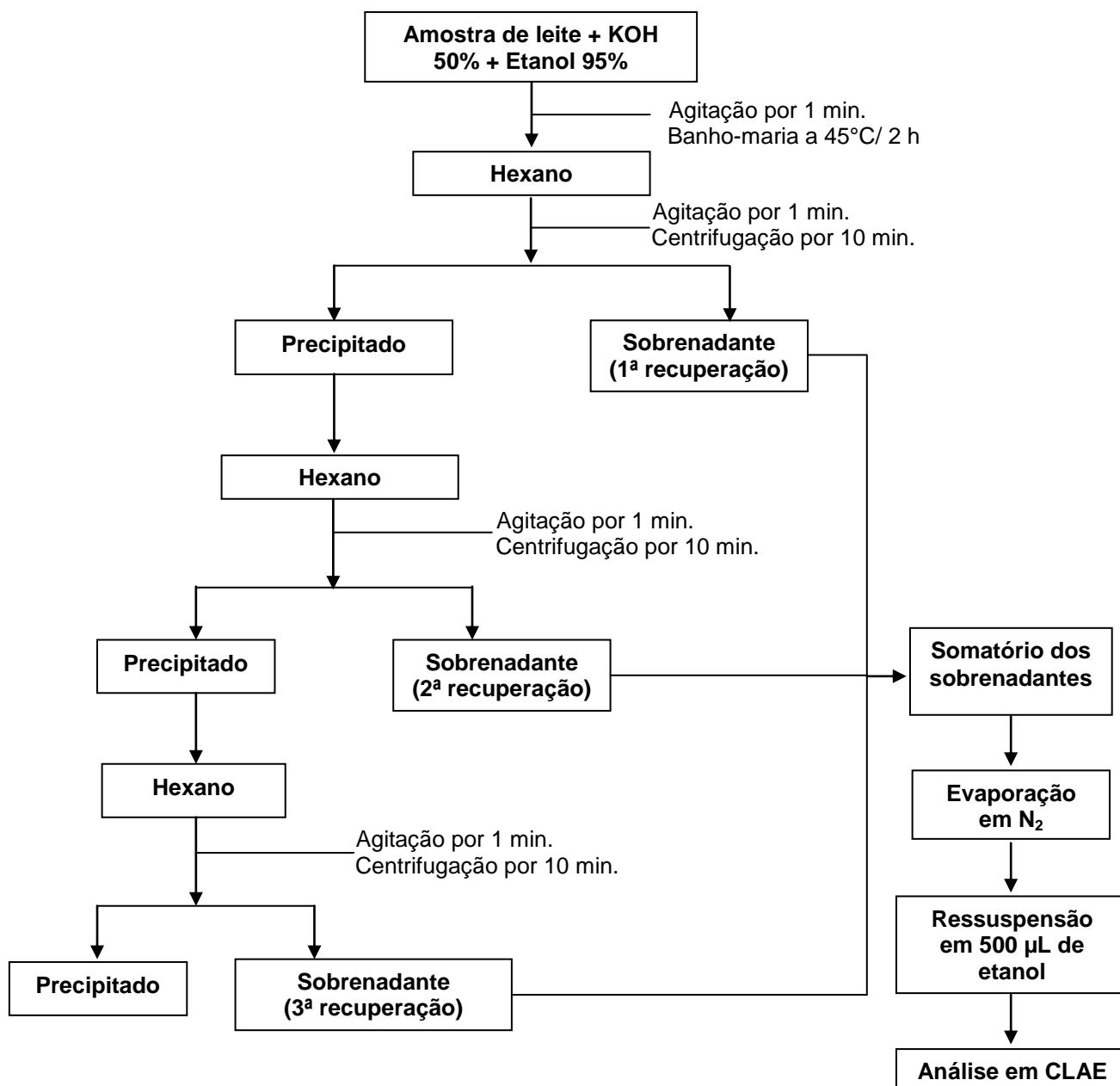


Figura 6. Esquema ilustrativo do processo de extração de retinol nas amostras de leite materno

### 3.4.2. Extração do alfa-tocoferol no leite

A técnica extrativa para alfa-tocoferol no leite foi adaptada de Ortega et al. (1998). Uma amostra de 500 µL de leite foi tratada com etanol 95% (Merck), seguida por 2 etapas de extração com 2 mL de hexano (Merck) cada, evaporação de uma

alíquota de 2 mL, que no momento da análise foi redissolvida em 250  $\mu$ L de etanol absoluto e aplicado 20  $\mu$ L no CLAE.

### 3.4.3. Extração do retinol e alfa-tocoferol no soro

A concentração de alfa-tocoferol e retinol nas amostras de soro foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com adaptação do método utilizado por Ortega et al (1998). Para 1 mL de soro, foi utilizado 1 mL de etanol 95% (Merck) para precipitação das proteínas, seguida por extração com 6 mL de hexano (Merck) e evaporação do extrato sob atmosfera de nitrogênio, em banho-maria a 37°C. No momento da análise, o extrato foi redissolvido em 500  $\mu$ L de Etanol absoluto (Vetec) e 20  $\mu$ L foram aplicados no aparelho CLAE.

### 3.5. Condições cromatográficas

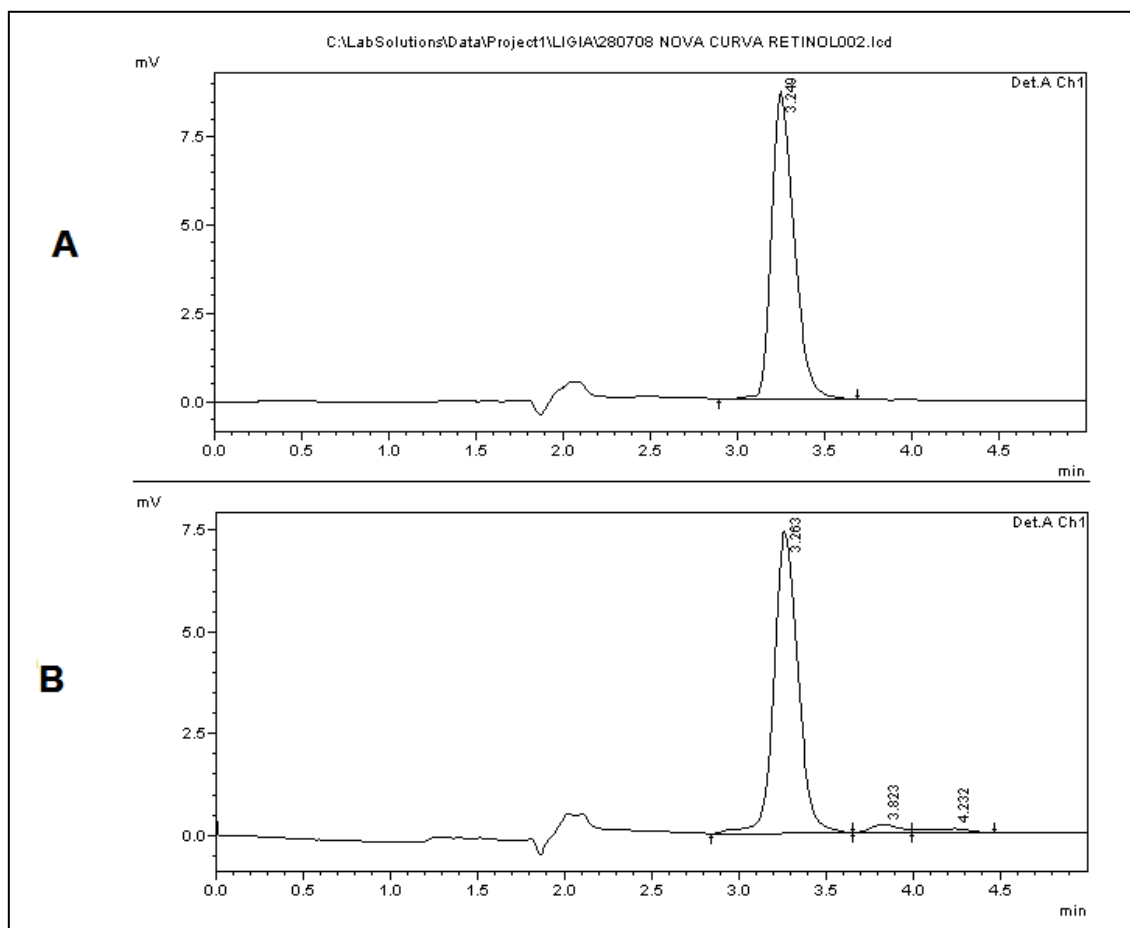
A concentração de retinol e  $\alpha$ -tocoferol no soro e leite materno foram determinados em cromatógrafo da marca Shimadzu, constituído de bomba LC-20 AT Shimadzu, acoplado a um Detector SPD-20A Shimadzu UV-VIS, Coluna Shim-pack CLC-ODS (M) 4,6 mm x 15 cm e computador com programa “*LC solution*” (Shimadzu Corporation) para processamento dos dados.

A fase móvel utilizada para a análise de retinol nas amostras de leite foi metanol 100%, em sistema isocrático com fluxo de 1mL/min e tempo de retenção de 3,2 minutos. O comprimento de onda adotado para monitoramento da absorbância foi de 325nm. Para a análise de  $\alpha$ -tocoferol no leite, foi utilizado um comprimento de onda de 292nm a um fluxo de 1,5mL/min de metanol:água (97:3), obtendo-se um tempo de retenção de 8,2 minutos.

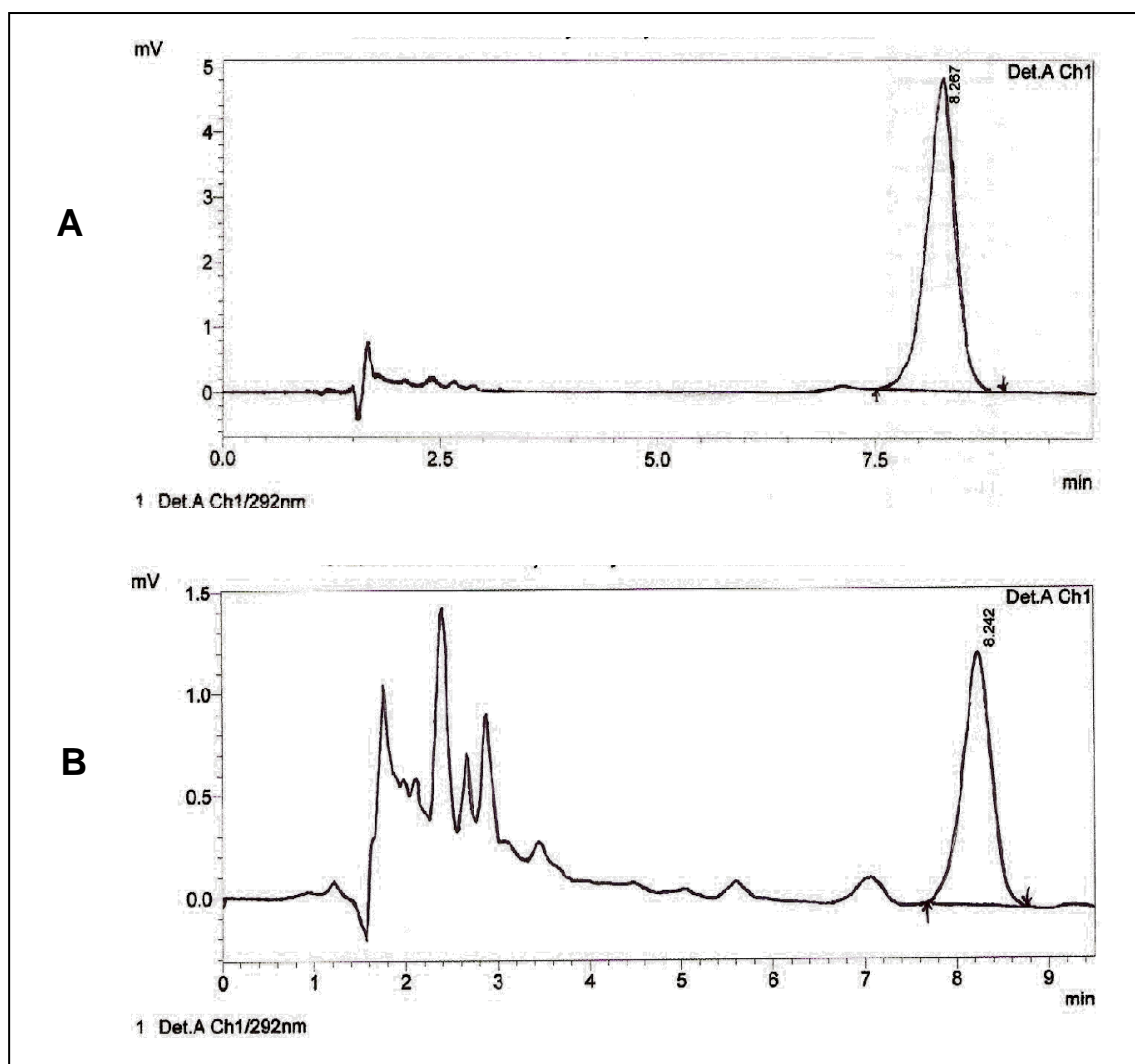
A detecção do retinol e alfa-tocoferol no soro foi realizada na mesma corrida, com mudança programada no comprimento de onda, de 325nm para 292nm, com 5 minutos de eluição da amostra em metanol 100% e fluxo de 1mL/min.

A identificação e quantificação do retinol e alfa-tocoferol nas amostras foram estabelecidas por comparação das respectivas áreas dos picos obtidos no cromatograma com as áreas dos respectivos padrões de todo-trans retinol e alfa-tocoferol – SIGMA (Figuras 7 e 8). As concentrações dos padrões foram confirmadas

peelo coeficiente de extinção específico para retinol (e 1%, 1cm = 1850 a 325nm) e  $\alpha$ -tocoferol (e 1%, 1cm = 75,8 a 292nm) em etanol absoluto (Vetec) (Nierenberg e Nann, 1992).



**Figura 7. Cromatogramas de retinol.** Padrão externo (A) e amostra de leite materno (B), com tempo de retenção de 3,2 minutos.



**Figura 8. Cromatogramas de alfa-tocoferol.** Padrão externo (A) e amostra de leite materno (B), com tempo de retenção de 8,2 minutos.

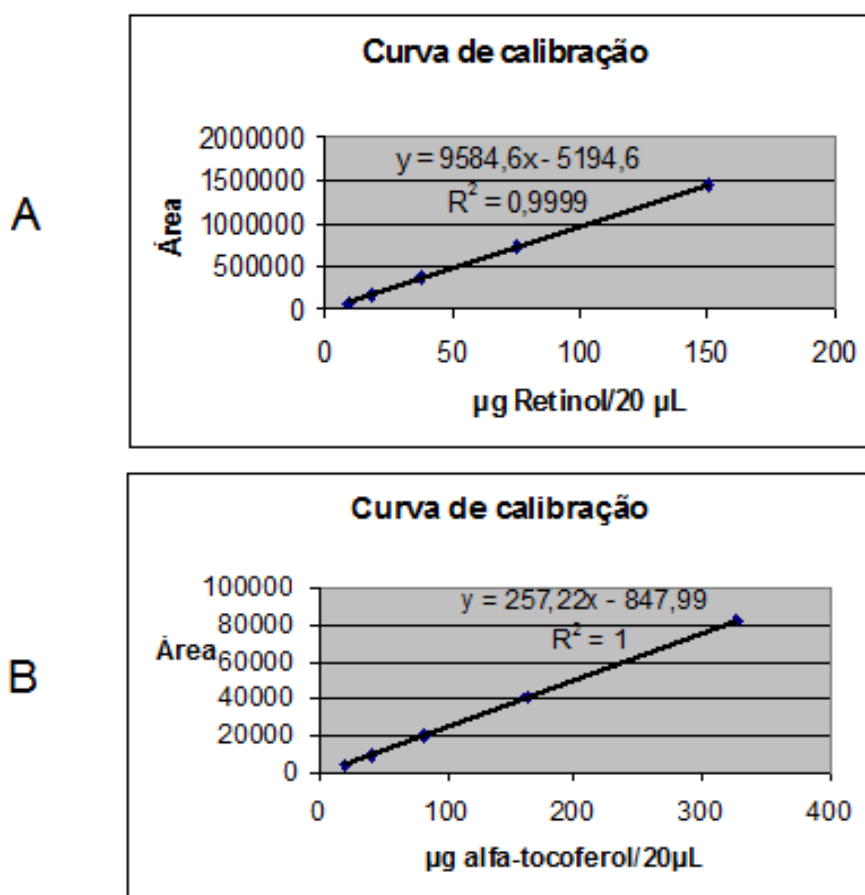
### 3.6. Linearidade, exatidão e precisão dos métodos

A linearidade do método foi verificada através de curvas de calibração periódicas estabelecidas com soluções padrões de concentrações crescentes de cada vitamina. As curvas de calibração (Figura 9) foram construídas por regressão linear (concentrações dos padrões x área dos padrões) e serviram para quantificação das concentrações nas amostras através da conversão das áreas obtidas.

A exatidão dos métodos empregados foi avaliada através do teste de recuperação da extração. Esse método consiste em adicionar padrão interno com uma concentração conhecida em alíquotas da amostra teste, que foi submetida a

todas as etapas da extração e posterior aplicação em CLAE para determinar a porcentagem de recuperação do padrão interno. Os testes foram realizados com alíquotas de um pool de leite materno e um de soro. Para o teste do retinol no leite, foram utilizadas 6 alíquotas e acetato de retinol (Sigma) como padrão interno, obtendo-se uma recuperação de 99%. No teste do alfa-tocoferol no leite foram utilizadas 8 alíquotas do pool de leite e acetato de tocoferol (Sigma) como padrão interno, obtendo-se uma recuperação de 96%. No soro, os mesmos padrões internos foram utilizados, com uma recuperação de 96%.

A precisão dos métodos foi avaliada através do teste de repetitividade, com utilização de 6 alíquotas de uma mesma amostra, que passaram pelos processos de extração citados anteriormente e foram redissolvidas em etanol absoluto, seguidas da aplicação em CLAE em 3 dias alternados. O coeficiente de variação foi inferior a 4% para todos os métodos.



**Figura 9. Curvas de calibração dos padrões retinol e alfa-tocoferol.** A e B representam as curvas de calibração com equação da reta e coeficiente de regressão linear dos padrões retinol e alfa-tocoferol, respectivamente.

### 3.7. Valores de referência

Para identificação de deficiência marginal em vitamina A foi adotado o ponto de corte de 30  $\mu\text{g/dL}$  de retinol sérico (Haskell, 1999). No colostro, foram considerados indicativo de baixa concentração de retinol valores menores que 60  $\mu\text{g/dL}$  (Macias e Schuweigert, 2001).

Valores de alfa-tocoferol sérico materno menor que 11,6  $\mu\text{mol/L}$  (499,6  $\mu\text{g/dL}$ ) são indicativos de deficiência de vitamina E, entre 11,6 a 16,2  $\mu\text{mol/L}$  (499,6 a 697,7  $\mu\text{g/dL}$ ) valores de risco e acima de 16,2  $\mu\text{mol/L}$  (697,7  $\mu\text{g/dL}$ ) foram considerados como aceitáveis (Saubertlich, 1974).

### 3.8. Análise estatística

Para análise estatística foi utilizado o software Statistica 7. Os dados das concentrações de vitaminas no soro e leite foram apresentados em média  $\pm$  desvio-padrão. As diferenças entre as médias dos dados numéricos paramétricos foram tratadas utilizando o teste t de student para dados dependentes e independentes. O teste do Qui-quadrado foi utilizado para variáveis categóricas. A relação entre os dados bioquímicos e as características maternas foi avaliada pela correlação de Pearson. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Caracterização das puérperas

As puérperas incluídas no estudo (n=73) tinham entre 13 e 31 anos. Das mulheres inseridas no grupo controle, 97% estavam amamentando exclusivamente seus filhos, enquanto no grupo suplementado 92% destas estavam amamentando exclusivamente. O restante das mães não amamentavam ou amamentavam de forma mista. Um total de 40 mães foram categorizadas como primíparas, das quais 22 eram do grupo controle e 18 do suplementado. Apenas 60% tinham dados do acompanhamento nutricional gestacional. A maioria (54%) apresentou peso acima do adequado durante a gestação, considerando a classificação de sobrepeso e obesidade. As características das puérperas (Tabela 2) foram semelhantes entre os grupos (p>0,05).

**Tabela 2. Características gerais das puérperas incluídas no estudo.**

Características	Grupo controle (n=37)	Grupo suplementado (n=36)	Total (n=73)
Adolescentes (n)	7	10	17
Adultas (n)	30	26	56
Paridade (número de filhos)	1,9 ± 1,2 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,9	1,8 ± 1,0
Peso do recém-nascido (Kg)	3329,9 ± 576,8	3142,9 ± 669,8	3241,7 ± 624,9
Estado nutricional			
Baixo peso [n(%)]	3 (13)	2 (10)	5 (11)
Peso adequado [n(%)]	7 (29)	8 (40)	15 (34)
Sobrepeso [n(%)]	7 (29)	5 (25)	12 (27)
Obesidade [n(%)]	7 (29)	5 (25)	12 (27)

<sup>a</sup> Média ± desvio-padrão

### 4.2. Estado nutricional em vitamina A

O estado nutricional em vitamina A das puérperas (n= 73) segundo o retinol sérico foi avaliado, obtendo-se uma concentração média de 50,7 ± 14,4 µg/dL, que corresponde a valores normais. Uma prevalência de deficiência subclínica de 7% foi



encontrada no grupo total. Nas adolescentes (n=17), a concentração de retinol sérico foi  $44,6 \pm 13,7 \mu\text{g/dL}$ , menor que a média das puérperas adultas (n= 56) de  $52,5 \pm 14,2 \mu\text{g/dL}$  (p=0,046).

A concentração média de retinol no leite colostro (zero hora) foi adequada ( $72,4 \pm 60,3 \mu\text{g/dL}$ ), considerando o ponto de corte de  $60 \mu\text{g/dL}$ , com grandes variações entre as amostras. No entanto, foi encontrada uma porcentagem de 52% das mulheres com concentração de retinol no colostro abaixo da normalidade. Não houve diferença significativa (p=0,74) entre os valores no leite de puérperas adultas ( $73,8 \pm 63,7 \mu\text{g/dL}$ ) e adolescentes ( $68,1 \pm 49,1 \mu\text{g/dL}$ ).

#### 4.3. Estado nutricional em vitamina E

O estado nutricional em vitamina E foi avaliado de acordo com os níveis séricos de alfa-tocoferol, obtendo-se uma concentração média de  $1326,8 \pm 278,1 \mu\text{g/dL}$ , considerado aceitável de acordo com o ponto de corte adotado ( $> 697,7 \mu\text{g/dL}$ ). Apenas uma mãe do grupo suplementado apresentou valor ( $691 \mu\text{g/dL}$ ) inserido na faixa de risco de deficiência de acordo com esse indicador. Entre as concentrações médias de adultas e adolescentes não houve diferença significativa,  $1358,0 \pm 282,9 \mu\text{g/dL}$  e  $1224,0 \pm 241,8 \mu\text{g/dL}$ , respectivamente.

A concentração média de alfa-tocoferol no colostro foi de  $1217,4 \pm 959,9 \mu\text{g/dL}$ . Não havendo diferença (p=0,30) entre os valores das puérperas adolescentes e adultas,  $1431,3 \pm 963,5 \mu\text{g/dL}$  e  $1152,4 \pm 958,0 \mu\text{g/dL}$ , respectivamente.

Ao avaliar a relação entre as características do grupo e as concentrações de vitaminas, foi encontrada correlação positiva entre os valores de retinol e alfa-tocoferol no leite 0 hora (p=0,00), bem como entre a concentração de retinol no leite 0 hora e a paridade (p=0,04).

#### 4.4. Avaliação da suplementação com retinol palmitato

A concentração de retinol no colostro aumentou significativamente no grupo suplementado (p = 0,002) após a administração da megadose com retinol palmitato, o mesmo não acontecendo para o grupo controle (p = 0,9), como já era esperado (Tabela 3).

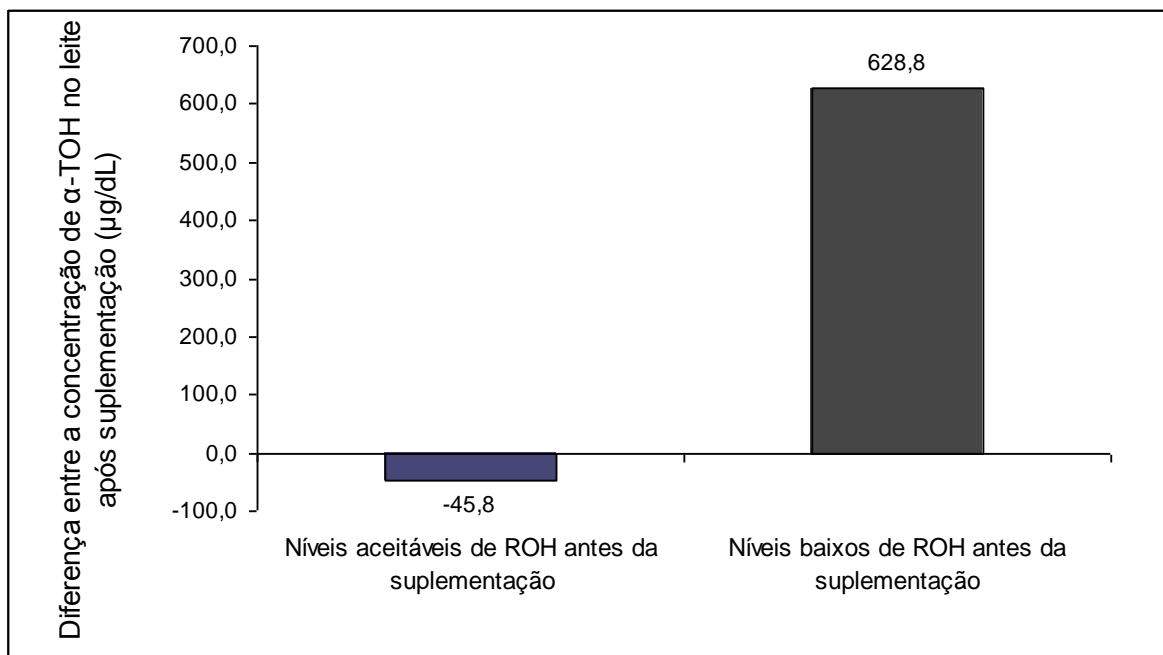
Os dados na Tabela 3 mostram um aumento significativo na concentração de alfa-tocoferol no leite materno após a suplementação com retinol palmitato no grupo suplementado ( $p = 0,04$ ). Essa significância não foi observada no grupo controle ( $p = 0,1$ ).

**Tabela 3. Efeito da suplementação com retinol palmitato sobre a concentração de retinol e alfa-tocoferol no leite materno.**

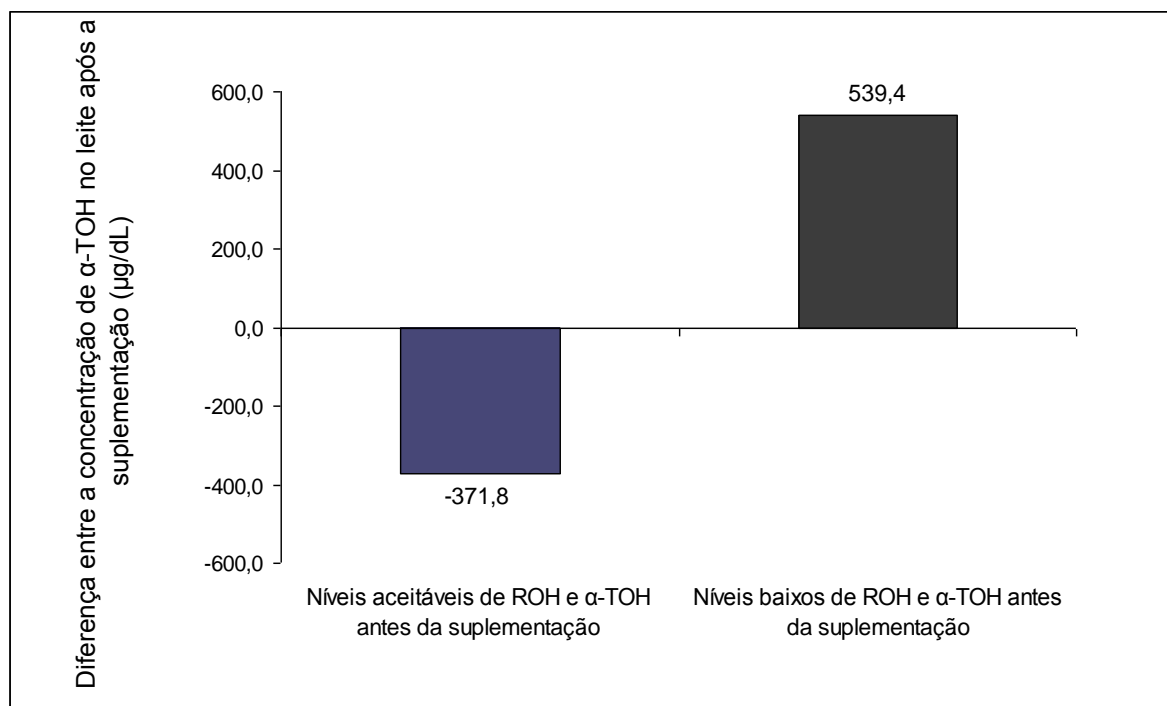
Retinol ( $\mu\text{g/dL}$ )			
Grupo controle		Grupo suplementado	
Leite 0 hora	Leite 24 horas	Leite 0 hora	Leite 24 horas
$75,0 \pm 53,0^a$	$76,0 \pm 71,4^a$	$69,6 \pm 67,7^a$	$122,0 \pm 100,0^b$
Alfa-tocoferol ( $\mu\text{g/dL}$ )			
Grupo controle		Grupo suplementado	
Leite 0 hora	Leite 24 horas	Leite 0 hora	Leite 24 horas
$984,6 \pm 750,0^a$	$1175 \pm 730,8^a$	$1456,6 \pm 1095,8^a$	$1804,3 \pm 1432,0^b$

<sup>ab</sup> Letras sobre-escritas diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Ao avaliar a influência das características do grupo sobre a variação na concentração de alfa-tocoferol no colostro, após a suplementação materna, foi observado que as mulheres que apresentaram baixos níveis de retinol no leite 0 hora ( $<60 \mu\text{g/dL}$ ) tiveram aumento considerável na concentração de alfa-tocoferol no leite 24 após suplementação (Figura 10). Enquanto que as mulheres com teores aceitáveis de retinol no leite antes da suplementação ( $>60 \mu\text{g/dL}$ ) apresentaram redução na concentração de alfa-tocoferol no leite após a suplementação ( $p = 0,04$ ). Esse efeito também foi observado ao agrupar mulheres de acordo com a adequação nos níveis das duas vitaminas analisadas no leite 0 hora (Figura 11). As mulheres com níveis aceitáveis apresentaram redução na concentração de alfa-tocoferol após suplementação. Enquanto que, aquelas com níveis baixos nas duas vitaminas se beneficiaram com aumento na concentração de alfa-tocoferol após a suplementação com retinol palmitato. Outras características como idade, paridade e peso ao nascer não apresentaram influência sobre este parâmetro.



**Figura 10. Variação na concentração de alfa-tocoferol no colostro após a suplementação com retinol palmitato de acordo com os níveis de retinol no leite antes da suplementação.**



**Figura 11. Variação na concentração de alfa-tocoferol no colostro após a suplementação com retinol palmitato de acordo com a adequação nos níveis de vitaminas A e E no leite antes da suplementação.**

## 5. DISCUSSÃO

As lactantes constituem um grupo biologicamente vulnerável, uma vez que a lactação é o período do ciclo reprodutivo do ser humano de maior demanda energética. O estado nutricional materno constitui um determinante crítico do resultado da gravidez, tanto para a mãe como para o concepto. O monitoramento de carências e excessos nutricionais diminui consideravelmente os riscos de complicações gestacionais (Brasil, 2003). Os dados disponíveis sobre o estado nutricional gestacional neste estudo mostraram uma porcentagem elevada de mulheres com peso acima do adequado. Resultados semelhantes foram obtidos com estudos em diversos países (Walsh, 2007), mostrando uma tendência mundial na elevação do peso no decorrer da gestação, o que pode aumentar o risco de complicações como pré-eclampsia, baixo peso ao nascer, entre outras.

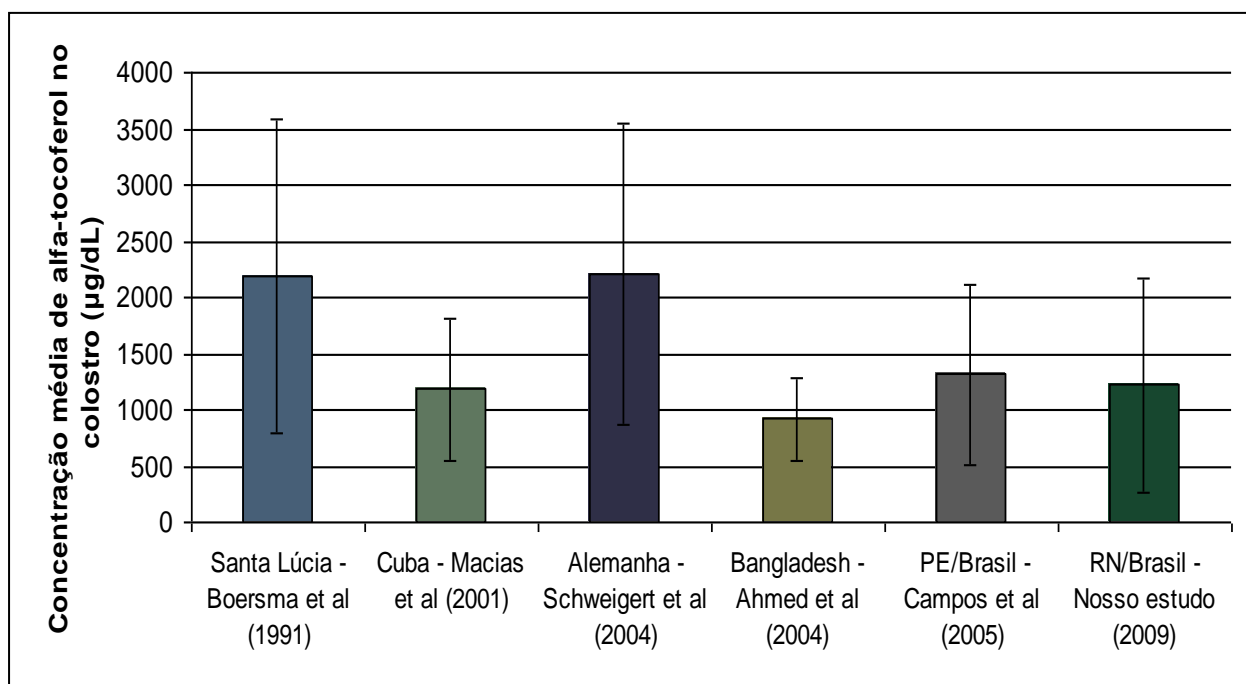
A carência de nutrientes essenciais, como as vitaminas E e A, pode levar a sérios problemas de saúde para a criança durante o desenvolvimento fetal e após o nascimento (Henriksen, 2006). Para evitar as conseqüências de tais deficiências, o leite materno precisa fornecer um suporte adequado para garantir a formação de reservas e fortalecer as defesas do recém-nascido contra os efeitos da carência de vitamina A e a toxicidade do oxigênio (Boersma, 1991; Macias, 2001; Schweigert, 2004).

O estado nutricional bioquímico em vitamina A das mulheres incluídas no estudo foi adequado, estando de acordo com valores de retinol sérico encontrado em mulheres tailandesas (Panpanich, 2002), alemãs (Schweigert, 2004) e suíças (Soderlund, 2005), superior aos níveis de mulheres do Nepal (Yamini, 2001) e inferiores aos da região sudeste do Brasil (Meneses e Trugo, 2005). A prevalência de 7% de inadequação quando comparada a encontrada em outras regiões brasileiras como Rio de Janeiro (22 - 24%) e Recife (25%), indica um baixo risco de desenvolvimento de deficiência no grupo estudado, de acordo com esse indicador (Saunders, 2005; Ramalho, 2006; Lopes, 2006).

A concentração de retinol no leite materno tem sido proposta como indicador do estado nutricional em vitamina A no grupo materno-infantil (Haskell, 1999). Nesse estudo foi encontrado valor superior ao de parturientes em Bangladesh (Ahmed, 2004), e inferior ao de mulheres de países desenvolvidos (Macias, 2001; Ross, 2003; Schulz, 2007). Uma elevada porcentagem de mulheres com baixos níveis de

retinol no colostro (52%) foi observada, o que demanda maior atenção para esse grupo de risco, visto que o recém-nascido apresenta ao nascimento baixas concentrações plasmáticas de tal vitamina, dependendo do leite materno para o restabelecimento desses níveis e das reservas hepáticas.

As parturientes apresentaram um adequado estado nutricional em vitamina E segundo o alfa-tocoferol no plasma. Resultado semelhante foi encontrado por Mayne (1998), e inferiores foram obtidos por Lee (2003) e Yamini (2001). Ao comparar o resultado encontrado para alfa-tocoferol no colostro (1217,4  $\mu\text{mol/L}$ ) com resultados de outros estudos (Figura 12), é possível observar valores semelhantes em estudos conduzidos em Pernambuco / Brasil e em Cuba. Alguns autores (Ostrea, 1986; Babinsky, 1991) sugeriram que um adequado aporte de vitamina E ao nascimento protege não somente da toxicidade do oxigênio, como também estimula o desenvolvimento do sistema imunológico.



**Figura 12. Concentração de alfa-tocoferol no colostro em relação a outros estudos.**

As gestantes adolescentes são especialmente vulneráveis em termos nutricionais devido à demanda aumentada de nutrientes relacionada tanto ao crescimento e desenvolvimento próprio, quanto ao crescimento e desenvolvimento fetal (Spear, 1996). Neste estudo foi observada menor concentração de retinol sérico em puérperas adolescentes em relação às adultas. Em estudos realizados por outro grupo de pesquisadores brasileiros, com mulheres em diferentes estágios de vida, foram verificados valores menores, embora não-significativos para adolescentes em relação a mulheres adultas (Meneses e Trugo, 2005; Azeredo e Trugo, 2008). A idade não exerceu influência para as vitaminas no colostro. Resultados semelhantes foram encontrados por Vitolo e colaboradores (1999) ao trabalhar com leite maduro.

Correlação positiva foi observada entre retinol e alfa-tocoferol no leite, como encontrado em estudo com mulheres brasileiras ao analisar leite maduro (Azeredo e Trugo, 2008). O retinol e alfa-tocoferol plasmáticos não foram relacionados às suas concentrações no leite, provavelmente por haver mecanismos de transporte alternativos destas vitaminas para a glândula mamária que independem da concentração plasmática (Li, 2000; Azeredo e Trugo, 2008).

A suplementação materna de vitamina A no pós-parto imediato vem sendo uma intervenção bastante utilizada em áreas de risco para deficiência de vitamina A, e vários estudos indicam que essa medida resulta no aumento de retinol no leite materno (Stoltzfus, 1993; Bahl, 2002; Rice, 2000; Dimenstein, 2007; Bhaskaram, 2000). A megadose de vitamina A aumentou os níveis de retinol no leite 24 horas após a suplementação, confirmando a importância e eficácia dessa estratégia no combate a deficiência de vitamina A no grupo materno infantil.

Nesse estudo a megadose de vitamina A também aumentou os níveis de alfa-tocoferol no colostro do grupo suplementado. Na cápsula de vitamina A é adicionado 49,4 mg de all-rac-alfa-tocoferol (forma sintética de vitamina E composta de 8 diastereoisômeros) com função de proteção antioxidante. A partir dessa informação e dos resultados do presente estudo, duas hipóteses podem ser sugeridas: a vitamina E adicionada à cápsula contribuiu para o aumento do alfa-tocoferol no leite materno e/ou a suplementação com vitamina A aumentou a retenção da vitamina E na glândula mamária.

Roxborough et al (1998) ao avaliarem o efeito da suplementação sobre a concentração plasmática de vitamina E em estudo utilizando uma dosagem de 75 mg d<sub>6</sub>-RRR-alfa-tocoferol, observaram aumento variável entre os participantes.

Brigelius-Flohé et al. (2009) sugeriram que tais diferenças em resposta a suplementação podem resultar de variações individuais em diversos fatores regulatórios, como atividade da alfa-TTP, taxa metabólica, conteúdo e composição de lipídios, estado de outros micronutrientes que reciclam a vitamina E, além de condições ambientais. Neste sentido, o momento pós-parto pode ter favorecido o melhor aproveitamento da vitamina E presente na cápsula.

Sabe-se que a captação de alfa-tocoferol pelos tecidos ocorre por diversas vias, destacando-se a via da lipase lipoprotéica (LPL) e a de receptores de lipoproteínas (Debier, 2005a). Na glândula mamária, essa captação depende da atividade da LPL, que está aumentada durante a lactação, aumentando a eficiência de captação do alfa-tocoferol (Green, 2001).

Em situações de suplementação, a transferência da vitamina A à glândula mamária também ocorre via quilomícrons (cerca de 60%) e depende do sítio de ligação dos quilomícrons e lipólise dos triacilgliceróis, via ação da LPL (Green, 2001). Provavelmente, esse aumento de quilomícrons circulantes, com o aumento da atividade da LPL na glândula mamária, favoreceu também a captação do alfa-tocoferol presente na cápsula de vitamina A ou do tocoferol dietético, por aumentar sua biodisponibilidade (Martinez, 2002).

Na literatura tem sido discutida a presença de competição negativa entre as vitaminas A e E. Ametaj et al (2000) afirmaram que a ingestão de altas quantidades de vitamina A reduzia em até 39% os níveis plasmáticos de tocoferol. Os autores sugeriram que os isômeros de ácido retinóico, presentes no plasma após suplementação, podem modular negativamente a produção da proteína transportadora de alfa-tocoferol (alfa-TTP), importante na manutenção do tocoferol plasmático. Existem evidências que esses isômeros também poderiam reduzir a expressão hepática de RNAm da apolipoproteína A-I presente na lipoproteína de alta densidade (HDL), um importante transportador de alfa-tocoferol plasmático para os tecidos (Zolfaghari, 1994).

Schelling et al (1995), avaliaram o efeito da suplementação com megadoses de vitamina A sobre os níveis de tocoferol no plasma e leite de ruminantes, e verificaram que houve redução significativa de alfa-tocoferol no leite apenas quando os mamíferos foram suplementados com quantidade de vitamina A acima de 675 000 UI. No presente estudo, a suplementação com megadose de 200.000UI de vitamina A aumentou os níveis médios de alfa-tocoferol no leite, provavelmente por

existirem mecanismos de transporte e captação para a glândula mamária independentes do HDL, quando comparados ao transporte de alfa-tocoferol no plasma e sua transferência para outros tecidos.

A análise mais detalhada dos resultados mostrou que esse efeito da suplementação sobre o alfa-tocoferol no leite variou de acordo com o estado nutricional nas vitaminas A e E no colostro antes da suplementação (Figuras 10 e 11). As mulheres com baixos níveis das vitaminas no leite 0 hora se beneficiaram com a suplementação pelo aumento na concentração do alfa-tocoferol no colostro. Já as mulheres com estado nutricional adequado nas vitaminas, que supostamente não necessitariam de suplementação contendo vitaminas A e E, apresentaram redução na concentração de alfa-tocoferol no leite 24 horas. Estes resultados mostram uma possível interação entre tais nutrientes, que provavelmente pode estar relacionada a competição por mecanismos de transportes, saturação de receptores de lipoproteínas transportadoras, associados a maior demanda de nutrientes no período pós-parto.

A suplementação com megadose de vitamina A é uma medida de intervenção importante no combate à deficiência de vitamina A e os resultados desse estudo trazem evidências de sua eficácia em aumentar a biodisponibilidade da vitamina E no leite em mulheres com baixos níveis de retinol no colostro. No entanto, deve-se avaliar a real necessidade de suplementar mulheres com níveis adequados de vitaminas, visto que o excesso de vitamina A pode resultar em interações desfavoráveis entre nutrientes essenciais para o grupo materno-infantil.



## 6. CONCLUSÕES

- As puérperas envolvidas no estudo eram, na maioria, adultas, primíparas, com peso acima do adequado durante a gestação e amamentavam de forma exclusiva.
- A concentração de retinol e alfa-tocoferol, no plasma e colostro, mostrou que o estado nutricional nas vitaminas A e E das lactantes estava adequado.
- Apenas o retinol sérico foi menor em adolescentes comparando-se com as mulheres adultas.
- A suplementação com retinol palmitato implicou no aumento das concentrações de retinol e alfa-tocoferol no leite colostro de mulheres com níveis baixos destas vitaminas antes da suplementação.
- As características maternas como estado nutricional, idade e paridade, não exerceram efeito sobre a concentração de alfa-tocoferol após a suplementação materna com retinol palmitato.

## REFERÊNCIAS

AHMED L, NASRUL ISLAM SK, KHAN MNI, HUQUE S, AHSAN M. Antioxidant Micronutrient Profile (Vitamin E, C, A, Copper, Zinc, Iron) of Colostrum: Association with Maternal Characteristics. *J Trop Pediatr*, 50(6), p. 357-358, 2004

ALLEN LH. Maternal micronutrient malnutrition: effects on breast milk and infant nutrition, and priorities for intervention. *SCN News*, 11, p. 21–24, 1994.

AMETAJ BN, NONNECKE BJ, FRANKLIN ST, HORST RL, BIDLACK WR, STUART RL, BEITZ DC. Dietary Vitamin A Modulates the Concentrations of *RRR*- $\alpha$ -tocopherol in Plasma Lipoproteins from Calves Fed Milk Replacer. *J. Nutr*, 130, p. 629–636, 2000.

ATALAH SE, CASTILLO LC, CASTRO SR, ALDEA PA. Propuesta de un nuevo estandar de evaluación nutricional en embarazadas. *Rev Med Chile*. 123, p. 1429-1436, 1997.

AZEREDO VB, TRUGO NMF. Retinol, carotenoids, and tocopherols in the milk of lactating adolescents and relationships with plasma concentrations. *Nutrition*, 24, p.133–139, 2008.

AZZI A, RICCIARELLI R, ZINGG JM. Non-antioxidant molecular functions of  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E). *FEBS Letters*, 519, p.8-10, 2002.

AZZI A, STOCKER A. Vitamin E: non-antioxidant roles. *Prog Lipid Res*, 39(3), p.231-55, 2000a.

AZZI A, BREYER I, FEHER M, PASTORI M, RICCIARELLI R, SPYCHER S, STAFFIERI M, STOCKER A, ZIMMER S, ZINGG JM. Specific cellular responses to  $\alpha$ -tocopherol. *J.Nutr.*, 130, p.1649-52, 2000b.

BABINSZKY L, LANGHOAT DJ, VERSTEGEN MWA, DEN HARTOG LA, JOLING P, NIEWL M. Effect of vitamin E and fat source in sow's diets on immune response of sucking and weaned piglets. *J. Anim. Sci*. 69, p.1833-1842, 1991.

BAGCHI K, PURI S. Free radicals and antioxidants in health and disease. *East Mediterr Health J*, 4(2), p.350-60, 1998.

BAHL R, BHANDARI N, WAHED MA, KUMAR GT, BHAN MK, AND THE WHO/CHD IMMUNIZATION-LINKED VITAMIN A GROUP. Vitamin A supplementation of women postpartum and of their infants at immunization alters breast milk retinol and infant vitamin A status. *J. Nutr.*, 132, p.3243–3248, 2002.

BARBAS C, HERRERA E. Lipid composition and vitamin E content in human colostrum and mature milk. *J. Physiol. Biochem*, 54, p.167-173, 1998.

BAYDAS G, KARATAS F, GURSU MF, BOZKURT HA, ILHAN N, YASAR A, CANATAN H. Antioxidant Vitamin Levels in Term and Preterm Infants and Their Relation to Maternal Vitamin Status. *Arch Med Res.*, 33, p.276–280, 2002.

BHASKARAM P, BALAKRISHNAZ N, MADHAVAN NK, SIVAKUMAR B. Vitamin A deficiency in infants: effects of postnatal maternal vitamin A supplementation on the growth and vitamin A status. *Nutr Res*, 20(6), p.769-778, 2000.

BIESALSKI HK, GRIMM P. *Nutrição: texto e atlas*. Porto Alegre: Artmed. 2007.

BJORNEBOE A, BJORNEBOE GEAA, DREVON CA. Absorption, Transport and Distribution of Vitamin E. *J.Nutr.* 120, p.233-42, 1990.

BJORNEBOE GEA, JOHNSEN J, BJORNEBOE A, BACHE-WIIG J, MORLAND J, DREVON CA. Diminished serum concentration of vitamin E and selenium in alcoholics. *Ann. Nutr. Metab.* 32, p.56-61, 1998.

BLACK RE, ALLEN LH, BHUTTA ZA, CAULFIELD L, ONIS M, EZZATI M, MATHERS C, RIVERA J. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet.* 371, p.243-260, 2008.

BLOMHOFF R, GREEN MH, GREEN JB, BERG T, NORUM KR. Vitamin A metabolism: new perspectives on absorption, transport and storage. *Physiol Rev.* 71, p.951–990, 1991.

BLOMHOFF R. Transport and metabolism of vitamin A. *Nutr Rev*, 52, p.S13-S23, 1994.

BOERSMA ER, OFFRINGA PJ, MUSKIET FAJ, CHASE WM, SIMMONS IJ. Vitamin E, lipid fractions, and fatty acid composition of colostrum, transitional milk, and mature milk: an international comparative study. *Am J Clin Nutr.*, 53, p.1197-1204, 1991.

BOREL P. Factors affecting intestinal absorption of highly lipophilic food microconstituents (fat-soluble vitamins, carotenoids and phytosterols). *Clin Chem Lab Med.*, 41(8), p.979–994, 2003.

BRAMLEY PM, ELMADFA I, KAFATOS A, KELLY FJ, MANIOS Y, ROXBOROUGH HE, SCHUCH W, SHEEHY PJA, WAGNER K-H. Vitamin E. *J. Sci. Food Agric.*, 80, p.913–938, 2000.

BRASIL ANL, DEMARCHI ALG. Nutrição na gestação e lactação. Cap 1.1. Lopez FA. Nutrição e dietética em clínica pediátrica. São Paulo: Atheneu, 2003.

BRASIL. Boletim Carências Nutricionais: Deficiência de Vitamina A. Ministério da Saúde. Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2009

BRASIL. Vitamina A mais: Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A: condutas gerais. Ministério da Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2004, 28p.

BRIGELIUS-FLOHÉ R, KELLY FJ, SALONEN JT, NEUZIL J, ZINGG JN, AZZI A. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am J Clin Nutr.*, 76, p.703–16, 2002.

BUONOCORE G, PERRONE S, LONGINI M, VEZZOSI P, MARZOCCHI B, PAFFETTI P, BRACCI R. Oxidative Stress in Preterm Neonates at Birth and on the Seventh Day of Life. *Pediatr. Res.*, 52, p.46–49, 2002.

BURTON GW, TRABER MG, ACUFF RV, WALTERS DN, KAYDEN H, HUGHES L, INGOLD KU. Human plasma and tissue  $\alpha$ -tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E. *Am. J. Clin. Nutr.*, 67, p.669-84, 1998.

CAMPOS JM. Perfil dos níveis de vitaminas A e E em leite de doadoras primíparas e múltiparas em Bancos de Leite Humano. Recife; 2005. [Dissertação de mestrado – Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE].

CANFIELD LM, TAREN DL, KAMINSKY RG, MAHAL Z. Short-term  $\beta$ -carotene supplementation of lactating mothers consuming diets low in vitamin A. *J Nutr Biochem*, 10, p.532-538, 1999.

CHAPPELL LC, SEED PT, BRILEY AL, KELLY FS, LEE R, HUNT BJ, PARMAR K, BEWLEY SJ, SHENNAN AH, STEER PJ, POSTON L. Effect of antioxidants on the occurrence of pre-eclampsia in women at increased risk: a randomized trial. *Lancet*. 354, p.810–6, 1999.

CLIFFORD AJ, DE MOURA FF, HO CC, CHUANG JC, FOLLETT J, FADEL JG, NOVOTNY JA. A feasibility study quantifying in vivo human  $\alpha$ -tocopherol metabolism. *Am J Clin Nut*. 84(6), p.1430-1441, 2006.

COPP RP, WISNIEWSKI T, HENTATI F, LARNAOUT A, BEN HAMIDA M, KAYDEN HJ. Localization of alpha-tocopherol transfer protein in the brains of patients with ataxia vitamin E deficiency and other oxidative stress related neurodegenerative disorders. *Brain Res*; 822, p.80-87, 1999.

DARBOE MK, THURNHAM DI, MORGAN G, ADEGBOLA RA, SECKA O, SOLON JA, JACKSON SJ, NORTHROP-CLEWES C, FULFORD T, DOHERTY CP, PRENTICE AM. Effectiveness of an early supplementation scheme of high-dose vitamin A versus standard WHO protocol in Gambian mothers and infants: a randomised controlled trial. *Lancet*, 369, p.2088–96, 2007.

DAVILA M, NORRIS L, CLEARY M, ROSS A. Vitamin A during lactation: Relationship of maternal diet to milk vitamin A content and to the vitamin A status of lactating rats and their pups. *J. Nutr*; 115, p.1033 -1041, 1985.

DEBIER C, LARONDELLE Y. Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. *Br J Nutr*. 93, p.153-74, 2005a.

DEBIER C, POTTIER J, GOFFE CH, LARONDELLE Y. Present knowledge and unexpected behaviours of vitamins A and E in colostrum and milk. *Livest Prod Sci*. 98, p.135–147, 2005b.

DEVARAJ S, CHAN JR AVC, JIALAL I.  $\alpha$ -tocoferol supplementation decreases plasminogen activator inhibitor-1 and P-selectin levels in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*; 25, p.524-529, 2002.

DIMENSTEIN R, LOURENÇO RMS, RIBEIRO KDS. Impacto da suplementação com retinil palmitato no pós-parto imediato sobre os níveis de retinol do colostro. *Rev Panam Salud Publica.*, 22(1), p.51–54, 2007.

DINIZ AS. Combate à deficiência de vitamina A: linhas de ação e perspectivas. *Rev Brás Saúde Mater Infant*; 1(1), p. 31-36, 2001.

EICHER SD, MORRILL JL, VELAZCO J. Bioavailability of  $\alpha$ -Tocopherol Fed with Retinol and Relative Bioavailability of D- $\alpha$ -Tocopherol or DL- $\alpha$ -Tocopherol Acetate. *J Dairy Sci* . 80, p.393–399, 1997.

EUCLYDES MP. Nutrição no lactente: base científica para uma alimentação adequada. 3 ed. Minas Gerais: UFV, 1997.

FUKUI E, KUROHARA H, KAGEYU A, KUROSAKI Y, NAKAYAMA T, KIMURA T. Enhancing effect of médium-chain triglycerides on intestinal absorption of d- $\alpha$ -tocopherol acetate from lecithin-dispersed preparations in the rat. *J Pharmacobiodyn*. 12(2), p.80-6, 1989.

GAGNÉ A, WEI AQ, FRASER WD, JULIEN P. Absorption, transport, and bioavailability of vitamin E and its role in pregnant women. *J. Obstet. Gynaecol*. 31(3), p.210-217, 2008.

GIULIANO AR, NEILSON EM, KELLY BE, CANFIELD LM. Simultaneous quantitation and separation of carotenoids and retinol in human milk by high-performance liquid chromatography. *Methods Enzimol*. 213, p.391-99, 1992.

GOMES MM, SAUNDERS C, ACCIOLY E. papel da vitamina A na prevenção do estresse oxidativo em recém-nascidos. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant*, 5 (3), p. 275-282, 2005.

GREEN MH, GREEN JB, AKOHOUE SA, KELLEY SK. Vitamin A intake affects the contribution of chylomicrons vs. retinol-binding protein to milk vitamin A in lactating rats. *J. Nutr*. 131, p.1279–1282, 2001.

HASKELL MJ, BROWN KH. Maternal Vitamin A Nutriture and the Vitamin A Content of Human Milk. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*.; 4(3), p. 243-257, 1999

HEINONEN OP, ALBANES D, VIRTAMO J, TAYLOR PR, HUTTUNEN JK, HARTMAN AM, HAAPAKOSKI J, MALILA N, RAUTALAHTI M, RIPATTI S, MAENPAA H, TEERENHOVI L, KOSS L, VIROLAINEN M, EDWARDS BK. Prostate cancer and supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene: incidence and mortality in a controlled trial. *J Natl Cancer Inst*, 90, p.440-446, 1998.

HENRIKSEN C, HELLAND IB, RONNESTAD A, GRONN M, IVERSEN PO, DREVEN CA. Fat-soluble vitamins in breast-fed preterm and term infants. *Eur J Nutr.*; 60, p.756–762, 2006.

HERRERA E, BARBAS C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J. Physiol. Biochem.* 57(1), p.43-56, 2001.

HERRERO-BARBUDO C, OLMEDILLA-ALONSO B, GRANADO-LORENCIO F, BLANCO-NAVARRO I. Bioavailability of vitamins A and E from whole and vitamin-fortified milks in control subjects. *Eur J Nutr.* 45, p.391–398, 2006.

HODIS HN, MACK WJ, LABREE L, MAHRER PR, SEVANIAN A, LIU CR, LIU CH, HWANG J, SELZER RH, AZEN SP.  $\alpha$ -tocopherol supplementation in healthy individuals reduces low-density lipoprotein oxidation but not atherosclerosis: The Vitamin E Atherosclerosis Prevention Study (VEAPS). *Circulation.* 106, p.1453-1459, 2002.

HOSOMI A, ARITA M, SATO Y, KIYOSE C, UEDA T, IGARASHI O, ARAI H, INOUE K. Affinity for  $\alpha$ -tocopherol transfer protein as a determinant of the biological activities of vitamin E analogs. *FEBS Lett.* 409, p.105–8, 1997.

IOM (Institute of Medicine). Vitamin A. In: Food and Nutrition Board. IOM (Institute of Medicine). Dietary references intake for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington (DC): Nacional Academy Press; p.82-161, 2001.

JEANES YM, HALL WL, ELLARD S, LEE E, LODGE JK. The absorption of vitamin E is influenced by the amount of fat in a meal and the food matrix. *Br J Nutr.* 92(4), p.575–579, 2004.

KAEMPF-ROTZOLL DE, HORIGUCHI M, HASHIGUCHI K, AOKI J, TAMAI H, LINDERKAMP O, ARAI H. Human placental trophoblast cells express  $\alpha$ -tocopherol transfer protein. *Placenta.* 24, p.439-44, 2003.

KAYDEN HJ, TRABER MG. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. *J Lipid Res.*; 34, p.343–58, 1993.

KIRSH VA, HAYES RB, MAYNE ST, CHATTERJEE N, SUBAR AF, DIXON LB, ALBANES D, ANDRIOLE GL, URBAN DA, PETERS U. Supplemental and dietary vitamin E,  $\beta$ -carotene, and vitamin C intakes and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 98, p.245-54, 2006.

LI Y, CRAFT NE, HANDELMAN GJ et al. Associations between serum and breast milk carotenoids, vitamins A and E. *FASEB J.* 14, p. A240, 2000.

LODGE JK. Vitamin E bioavailability in humans. *J Plant Physiol.* 162, p.790—796, 2005.

LONN E, YUSUF S, HOOGWERF B, POQUE J, YI Q, ZINMAN B, BOSCH J, DAGENAIS G, MANN JF, GERSTEIN HC. Effects of vitamin E on cardiovascular and microvascular outcomes in high-risk patients with diabetes: results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. *Diabetes Care.* 25, p.1919-27, 2002.

LOPES RE, RAMOS KS, BRESSANI CC, ARRUDA IK, SOUZA AI. Prevalencia de anemia e hipovitaminose A em puerperas do centro de atenção a mulher do Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, IMIP: um estudo piloto. *Rev Bras Saúde Matern Infant.* 6(1), p.S63-S68, 2006.

MACHLIN LJ (ed) *Handbook of vitamins.* Marcel Dekker Inc, p.1-57, 1990.

MACIAS C, SCHUWEIGERT FJ. Changes in the concentration on of carotenoids, vitamin A, alpha-tocopherol and total lipids in human milk throughout early lactation. *Ann Nutr Metab.* 42, p.82-85, 2001.

MENESES F, TRUGO NMF. Retinol, b-carotene, and lutein + zeaxanthin in the milk of Brazilian nursing women: associations with plasma concentrations and influences of maternal characteristics. *Nutr Res.* 25, p.443–451, 2005.

MARTINEZ S, BARBAS C, HERRERA E. Uptake of alpha-Tocopherol by the Mammary Gland But Not by White Adipose Tissue Is Dependent on Lipoprotein Lipase Activity Around Parturition and During Lactation in the Rat. *Metabolism;* 51(11), p.1444-1451, 2002.

MAYNE ST, CARTMEL B, SILVA F, KIM CS, FALLON BG, BRISKIN K, ZHENG T, BAUM M, SHOR-POSNER G, GOODWIN JR WJ. Effect of supplemental b-carotene on plasma concentrations of carotenoids, retinol, and alpha-tocopherol in humans. *Am J Clin Nutr;* 68, p.642–7, 1998.

MONKS J, HUEY PU, HANSON L, ECKEL RH, NEVILLE MC, GAVIGAN S. A lipoprotein-containing particle is transferred from the serum across the mammary epithelium into the milk of lactating mice. *J. Lipid. Res.* 42, p.686-696, 2001.



MORRISSEY PA, SHEEHY PJ. Optimal nutrition: vitamin E. *Proc Nutr Soc*; 58, p.459–468, 1999.

NAPOLI JL, BECK CD.  $\alpha$ -Tocopherol and phylloquinone as non-competitive inhibitors of retinyl ester hydrolysis. *Biochem. J*; 223, p.267-70, 1984.

NIERENBERG DW, NANN SL. A method for determining concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am J Clin Nutr.*; 56, p.417-426, 1992.

NONNECKE BJ, HORST RL, WATERS WR, DUBESKI P, HARP JA. Modulation of fat-soluble vitamins concentrations and blood mononuclear leukocyte populations in milk replacer-fed calves by dietary vitamin A and  $\beta$ -carotene. *J Dairy Sci.*; 82, p.2632–2641, 1999.

OLSON JA. In: Ziegler (ed.). *Present knowledge in nutrition*, ILSI Press, Washington, D.C., p.109-119, 1996.

ORTEGA RM, ANDRÉS P, MARTÍNEZ RM, LÓPEZ-SOBALER. Vitamin A status during the third trimester of pregnancy in Spanish women: influence on concentrations of vitamin A in breast milk. *Am J Clin Nut.*, 66, p.564-568, 1997.

ORTEGA RM, LÓPEZ-SOBALER AM, MARTÍNEZ RM, ANDRÉS P, QUINTAS ME. Influence of smoking on vitamin E status during the third trimester of pregnancy and on breast-milk tocopherol concentrations in Spanish women. *Am J Clin Nutr.* 68, p.662–667, 1998.

OSTREA EM, BALUN JE, WINKLER R, PORTER T. Influence of breast-feeding on the restoration of the low serum concentration of vitamin E and  $\beta$ -carotene in the newborn infant. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 154, p.1014-1017, 1986.

OUAHCHI K, ARITA M, KAYDEN H, HENTATTI F, HAMIDA MB, SOKOL R, ARAI H, INOUE K, MANDEL JL, KOENIG M. Ataxia with isolated vitamin E deficiency is caused by mutation in the alpha-tocopherol transfer protein. *Nat. Genet.* 1995. 9:141-45.

PANPANICH R, VITSUPAKORN K, HARPER G, BRABIN B. Serum and breast-milk vitamin A in women during lactation in rural Chiang Mai, Thailand. *Ann trop paediatr.* 22, p.321-324, 2002.

PENTEADO MVC. Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. São Paulo: Manole, 2003.

PICCIANO MF. Pregnancy and lactation: physiological adjustments, nutritional requirements and the role of dietary supplements. *J Nutr.* 133, p.1997-2002S, 2003.

RAMALHO RA, FLORES H, ACCIOLY E, SAUNDERS C. Associação entre deficiência de vitamina A e situação sociodemográfica de mães e recém-nascidos. *Rev Assoc Med Brás.* 52(3), p.170-175, 2006.

RAMIREZ I, LLOBERA M, HERRERA E. Circulating triacylglycerols, lipoproteins, and tissue lipoprotein lipase activities in rat mothers and offspring during the perinatal period: Effect of postmaturity. *Metabolism.* 32, p.333-341, 1983.

RAMOS P, MARTIN-HIDALGO A, HERRERA E. Insulin-induced upregulation of lipoprotein lipase messenger ribonucleic acid and activity in mammary gland. *Endocrinology*, 140, p.1089-1093, 1999.

RIBEIRO KD DA S, DIMENSTEIN R. Níveis de retinol no leite materno ao início e final da mamada. *Rev Panam Salud Publica;*16(1), p.19–22, 2004.

RICE AL, STOLTZFUS RJ, DE FRANCISCO A, CHAKRABORTY J, KJOLHEDE CL, WAHED MA. Maternal vitamin A and  $\beta$ -caroteno supplementation in lactating Bangladesh women benefits mothers and infants but does not prevent subclinical deficiency. *J. Nutr.;* 129, 356-365, 1999.

RICE AL, STOLTZFUS RJ, DE FRANCISCO A, KJOLHEDE CL. Evaluation of serum retinol, the modified–relative–dose–response ratio, and breast–milk vitamin A as indicators of response to postpartum maternal vitamin A supplementation. *Am J Clin Nutr.;* 71, p.799–806, 2000.

ROGERS S, WITZ G, ANWAR M, HIATT M, HEGYI T. Antioxidant Capacity and Oxygen Radical Diseases in the Preterm Newborn. *Arch Pediatr Adolesc Med.;* 154, p.544-548, 2000.

ROODENBURG AJ, LEENEN R, VAN HET HOF KH, WESTSTRATE JA, TIJBURG LB. Amount of fat in the diet affects bioavailability of lutein esters but

not of alpha-carotene, betacarotene, and vitamin E in humans. *Am J Clin Nutr.*; 71, p.1187–1193, 2000.

ROSS A. Retinol esterification by mammary gland microsomes from the lactating rat. *J. Lipid Res.*; 23, p.133-144, 1982.

ROSS AC, PASATIEMPO AM, GREEN MH. Chylomicron margination, lipolysis, and vitamin A uptake in the lactating rat mammary gland: implications for milk retinoid content. *Exp Biol Med.* 229, p.46-55, 2004.

ROSS JS, HARVEY PWJ. Contribution of breastfeeding to vitamin A nutrition of infants: a simulation model. *Bull World Health Organ.*, 81(2), p.80–86, 2003.

ROXBOROUGH HE, BURTON GW, KELLY FJ. Inter- and intra-individual variation in plasma and red blood cell vitamin E after supplementation. *Free Radic Res*, 33, p.437–46, 2000.

SALONEN JT, NYSSÖNEN K, SALONEN R, LAKKA H-M, KAIKKONEM J, PORKKALA-SARATAHO E, VOUTILAINEN S, LAKKA TA, RISSANEN T, LESKINEN L, TUOMAINEN T-P, VALKONEN V-P, RISTONMAA U, POULSEN HE. Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention (ASAP) study: a randomized trial of the effect of vitamins E and C on 3-year progression of carotid atherosclerosis. *J Intern Med.*; 248, p.377-86, 2000.

SAUBERLICH HE, DOWDY RP, SKALA JH. *Laboratory Tests for the Assessment of Nutritional Status.* Cleveland, OH: CRC Press; 74–80, 1974.

SAUNDERS C, RAMALHO R, LIMA APT, GOMES MM, CAMPOS LF, SILVA BAS, SOARES AG, LEAL MC. Association between gestational night blindness and serum retinol in mother/newborn pairs in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Nutrition*, 21, p. 456-461, 2005.

SCHELLING GT, ROEDER RA, GARBER MJ, PUMFREY WM. Bioavailability and Interaction of Vitamin A and Vitamin E in Ruminants. *J. Nutr*; 125, p.1799S-803S, 1995.

SCHOLL TO, LESKIW M, CHEN X, SIMS M, STEIN TP. Oxidative stress, diet and the etiology of preeclampsia. *Am J Clin Nutr*; 81, p.1390–1396, 2005.

SCHOLL TO, STEIN TP. Oxidant damage to DNA and pregnancy outcome. *J Matern Fetal Med*, 10, p.182–185, 2001.

SCHULZ C, ENGEL U, KREIENBERG R, BIESALSKI HK. Vitamin A and  $\beta$ -carotene supply of women with gemini or short birth intervals. *Eur J Nutr* . 46, p.12–20, 2007.

SCHULTZ M, LEIST M, ESLNER A, BRIGELIUS-FLOHÉ R.  $\alpha$ -Carboxyethyl-6-hydroxychroman as urinary metabolite of vitamin E. *Methods Enzymol* 282, p.297-310, 1997.

SCHWEIGERT FJ, BATHE K, CHEN F, BÜSCHER U, DUDENHAUSEN JW. Effect of the stage of lactation in humans on carotenoid levels in milk, blood plasma and plasma lipoprotein fractions. *Eur J Nutr*. 43, p.39-44, 2004.

SCHWEIGERT FJ. Effect of gestation and lactation on lipoprotein pattern and composition in dairy cows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 63, p.75-83, 1990.

SÖDERLUND MB, FEX GA, NILSSON-EHLE P. Concentrations of retinoids in early pregnancy and in newborns and their mothers. *Am J Clin Nutr*. 81, p.633-6, 2005.

STOLTZFUS RJ, HAKIMI M, MILLER KW, RASMUSSEN KM, DAWIESAH S, HABICHT JP, DIBLEY MJ. High dose vitamin A supplementation of breastfeeding Indonesian mothers: effects on the vitamin A status of mother and infant. *J Nutr*. 123(4), p.666–675, 1993.

STOLTZFUS RJ, UNDERWOOD BA. Breast Milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. *Bull World Health Organ*. 73(5), 703-711, 1995.

TRABER MG, KAYDEN HJ. Bovine milk lipoprotein lipase transfers tocopherol to human fibroblasts during triglyceride hydrolysis in vitro. *J. Clin. Invest*. 75, p.1729-34, 1985.

TRABER MG, ARAI H. Molecular mechanisms of vitamin E transport. *Annu. Rev. Nutr*. 19, p.343–55, 1999.

TRABER MG, KAYDEN HJ. Tocopherol distribution and intracellular localization in human adipose tissue. *Am. J. Clin. Nutr*. 46, p.488-95, 1987.

TRABER MG, LANE JC, LAGMAY NR, KAYDEN HJ. Studies on the transfer of tocopherol between lipoproteins. *Lipids*. 27, p.657–63, 1992.

TRABER MG. Vitamin E regulatory mechanisms. *Annu. Rev. Nutr.* 27, p. 347-62, 2007.

TRABER MG. Vitamin E. In: Bowman BA, Russell RM. *Present Knowledge in Nutrition*. Ninth Edition V.I. Washington DC: International Life Sciences Institute, p.211-9, 2006.

VAN DEN BERG H, VAN DER GAAG M, HENDRIKS H. Influence of lifestyle on vitamin bioavailability. *Int J Vitam Nutr Res.* 72 (1), p.53–59, 2001.

VINUTHA B, MEHTA MN, SHANBAG P. Vitamin A status of pregnant women and effect of post partum vitamin A supplementation. *Indian Pediatr.* 37(11), p.1188-93, 2000.

VITOLO MR, ACCIOLY E, RAMALHO RA, SOARES AG, CARDOSO CB, CARVALHO EB. Níveis de vitamina A no leite maduro de nutrizes adolescentes e adultas de diferentes estratos socioeconômicos. *Rev. Cienc. Méd.* 8(1), p.3-10, 1999.

WAART FG, PORTENGEN L, DOEKES G, VERWAAL CJ, KOK FJ. Effect of 3 months vitamin E supplementation on indices of the cellular and humoral immune response in elderly subjects. *Br J Nutr.* 78, p.761-774, 1997.

WALSH SW. Obesity: a risk factor for preeclampsia. *Trends in Endocrinol Metab.* 18(10), p.365-370, 2007.

WEST KP JR. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *J Nutr.* 132 (9 suppl), p.2857S–66S, 2002.

WHO – World Health Organization. *Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes*. Geneva: WHO, 1996.

WILFOND BS, FARRELL PM, LAXOVA A, MISCHLER E. Severe hemolytic anemia associated with vitamin E deficiency in infants with cystic fibrosis : implications for neonatal screening . *Clin pediatr*, 33 (1), p. 2-7, 1994.

YAMINI S, WEST JR KP, WU L, DREYFUSS ML, YANG D-X, KHATRY SK. Circulating levels of retinol, tocopherol and carotenoid in Nepali pregnant and postpartum women following long-term  $\beta$ -carotene and vitamin A supplementation. *Eur J Nutr.* 55, p.252-259, 2001.

YEUM KJ, FERLAND G, PATRY J, RUSSEL RM. Relationship of plasma carotenoids, retinol and tocopherols in mothers and newborn infants. *J Am Coll Nutr.* 17, p.442-447, 1998.

ZINN AR, ALVAREZ PE, STUART RL. Interaction of supplemental vitamin A and E on health and performance of crossbred and Holstein calves during the receiving period. *Prof. Anim. Scient.* 12, p.17–23, 1996.

# APÊNDICES

## APÊNDICE A

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE – UFRN  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEPPARECER Nº 037/2008  
(Final)

<b>Prot. nº</b>	004/08 – CEP/UFRN
<b>CAAE</b>	0004.0.051.000-08
<b>Projeto de Pesquisa</b>	Avaliação da suplementação materna com megadose de vitamina A sobre os níveis de retinol e $\alpha$ - tocoferol no leite humano de mulheres adolescentes e adultas.
<b>Área de Conhecimento</b>	Ciências da Saúde – Grupo III
<b>Pesquisador Responsável</b>	Roberto Dimenstein
<b>Instituição Onde Será Realizado</b>	UFRN – Centro de Biociências Departamento de Bioquímica
<b>Instituição Sediadora</b>	Maternidade Escola Januário Cicco (MEJC)
<b>Finalidade</b>	Dissertação de Mestrado
<b>Período de Realização</b>	Arrolamento dos sujeitos Início: fevereiro/08 Término: junho/08
<b>Revisão Ética em</b>	07 de março de 2008

## RELATO

Considerando que as pendências expostas por este Comitê, foram adequadamente cumpridas, o Protocolo de Pesquisa em pauta enquadra-se na categoria de APROVADO.

**Orientações ao Pesquisador:** em conformidade com a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) através do Manual Operacional para Comitês de Ética em Pesquisa (Brasília, 2002) e Resol. 196/96 – CNS o pesquisador responsável deve:

1. Entregar ao sujeito da pesquisa uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), na íntegra, por ele assinada (Resol. 196/96 CNS – item IV.2d);
2. Desenvolver a pesquisa conforme foi delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após a análise das razões da descontinuidade pelo CEP/UFRN (Resol. 196/96 – CNS – item III.3z);
3. Apresentar ao CEP/UFRN eventuais emendas ou extensões ao protocolo original, com justificativa (Manual Operacional para Comitês de Ética em Pesquisa – CONEP – Brasília – 2002 – p.41);
4. Apresentar ao CEP/UFRN relatório final após conclusão da pesquisa (Manual Operacional para Comitês de Ética em Pesquisa – CONEP – Brasília – 2002 – p.65);

Os formulários para os Relatórios Parciais e Final estão disponíveis na página do CEP/UFRN ([www.etica.ufrn.br](http://www.etica.ufrn.br)).

Natal, 11 de março de 2008.

Dulce Almeida  
Vice-Coordenadora do CEP-UFRN



## APÊNDICE B



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE Nº \_\_\_\_  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA  
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA DOS ALIMENTOS

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O REPRESENTANTE LEGAL DA  
MÃE ADOLESCENTE  
CAAE 0004.0.51.000-08**

**Justificativa:** As mães que estão amamentando podem ficar deficientes em uma vitamina chamada de vitamina A. Ela é fundamental à 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. Porém não se sabe se essa quantidade administrada de vitamina A interfere no aproveitamento no leite materno de outra vitamina também importante para o bebê, chamada de vitamina E. A falta de informações sobre esse efeito contribui para a realização deste trabalho.

**Objetivo:** Avaliação da suplementação materna com megadose de vitamina A sobre os níveis de retinol e  $\alpha$ -tocoferol no leite humano de mulheres adolescentes e adultas

**Pesquisador responsável:** Prof Dr. Roberto Dimenstein (Endereço: Av. Praia de Genipabu, 2100, Ponta Negra. Fone: (84) 3219-3559

**Comitê de Ética – UFRN:** Praça do Campus Universitário, Lagoa Nova. Caixa Postal 1666, CEP 59072-970 Natal/RN. Telefone/Fax (84)3215-3135

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. Nesta pesquisa, a adolescente sob sua responsabilidade será submetida aos **procedimentos enumerados a seguir:**

1. Informação sobre o endereço residencial
2. Dados sobre a consulta pré-natal (Data da última menstruação, paridade, uso de medicamentos ou vitaminas, exames realizados: hemograma e parasitológico de fezes, altura e peso)
3. Dados sobre o parto (data, horário, tipo de parto, peso e idade gestacional do recém nascido)
4. Coleta de material biológico (04 mL de leite materno, fracionado em 2 coletas) e uma coleta de 05 mL de sangue )
5. Suplementação com vitamina A (200.000UI). Para evitar possíveis efeitos tóxicos, é recomendado não consumir em excesso, nos 3 dias após a suplementação, alimentos ricos em vitamina A, como fígado, vísceras e óleo de dendê.

**Para seu esclarecimento informamos que:**

1. Serão garantidos esclarecimentos, antes e durante o curso da pesquisa, sobre a metodologia;
2. Os sujeitos poderão se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, por quaisquer motivos sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado. Também podem optar por não responder a todas as perguntas do questionário;
3. Os resultados obtidos em análise serão arquivados e mantidos eticamente em absoluto sigilo;
4. Declaramos que caso ocorra algum eventual dano ao participante decorrente da sua inclusão na pesquisa, a instituição (UFRN) indenizará o mesmo de acordo com a Resolução 196/96 CNS.
5. As despesas causadas aos participantes advindas da pesquisa serão ressarcidas.

**Consentimento:**

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

\_\_\_\_\_  
Assinatura da Adolescente

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Representante Legal da Adolescente

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador

Natal, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_

## APÊNDICE C



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE N° \_\_\_\_  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA  
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA DOS ALIMENTOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO  
CAAE 0004.0.51.000-08

**Justificativa:** As mães que estão amamentando podem ficar deficientes em uma vitamina chamada de vitamina A. Ela é fundamental 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. Porém não se sabe se essa quantidade administrada de vitamina A interfere no aproveitamento no leite materno de outra vitamina também importante para o bebê, chamada de vitamina E. A falta de informações sobre esse efeito contribui para a realização deste trabalho.

**Objetivo:** Avaliação da suplementação materna com megadose de vitamina A sobre os níveis de retinol e  $\alpha$ -tocoferol no leite humano de mulheres adolescentes e adultas

**Pesquisador responsável:** Prof Dr. Roberto Dimenstein (Endereço: Av. Praia de Genipabu, 2100, Ponta Negra. Fone: (84) 3219-3559

**Comitê de Ética – UFRN:** Praça do Campus Universitário, Lagoa Nova. Caixa Postal 1666, CEP 59072-970 Natal/RN. Telefone/Fax (84)3215-3135

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. Nesta pesquisa, a senhora será submetida aos **procedimentos enumerados a seguir:**

6. Endereço residencial
7. Dados sobre a consulta pré-natal (Data da última menstruação, paridade, uso de medicamentos ou vitaminas, exames realizados: hemograma e parasitológico de fezes, altura e peso)
8. Dados sobre o parto (data, horário, tipo de parto, peso e idade gestacional do recém nascido)
9. Coleta de material biológico (04 mL de leite materno (fracionado em 2 coletas) e uma coleta de 05 mL de sangue )
10. Suplementação com vitamina A (200.000UI). Para evitar possíveis efeitos tóxicos, é recomendado nos 3 dias após a suplementação não consumir em excesso alimentos ricos em vitamina A, como fígado, vísceras e óleo de dendê. É possível ocorrência de náuseas no dia da suplementação.

**Para seu esclarecimento informamos que:**

6. Serão garantidos esclarecimentos, antes e durante o curso da pesquisa, sobre a metodologia;
7. Os sujeitos poderão se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, por quaisquer motivos sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado. Também podem optar por não responder a todas as perguntas do questionário;
8. Os resultados obtidos em análise serão arquivados e mantidos eticamente em absoluto sigilo;
9. Declaramos que caso ocorra algum eventual dano ao participante decorrente da sua inclusão na pesquisa, a instituição (UFRN) indenizará o mesmo de acordo com a Resolução 196/96 CNS.
10. As despesas causadas aos participantes advindas da pesquisa serão ressarcidas.

**Consentimento:**

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador

\_\_\_\_\_  
Assinatura da Participante

Natal, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_

## APÊNDICE D

## INQUÉRITO P/ MÃES

Nº: \_\_\_\_\_

**Dados pessoais**

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_ Data de Nascimento: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

**Dados da consulta (Pré-Natal / Cartão da gestante)**

D.U.M.: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Paridade: \_\_\_\_\_

Altura: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ IG: \_\_\_\_\_

Estado Nutricional Materno:  Baixo peso  Normal  SobrepesoUsou algum medicamento ou vitamina?  Sim  Não Qual: \_\_\_\_\_Amamentou durante a gestação?  Sim  Não Frequência: \_\_\_\_\_Apresentou algum episódio de diarreia durante a gestação?  Sim  NãoFuma?  Sim  Não OBS.: \_\_\_\_\_

EXAME	VALOR	DATA
Hemácias		
Hemoglobina		
Hematócrito		
Parasitológico de fezes		

**Dados sobre o parto (prontuário)**

Data/parto: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Hora/parto: \_\_\_\_\_ Tipo/parto: \_\_\_\_\_

Peso do RN: \_\_\_\_\_ IG/ RN: \_\_\_\_\_ Aleitamento:  Sim  NãoMãe foi suplementada com vitamina A?  Sim  Não Hora: \_\_\_\_\_

Menarca (adolescentes): \_\_\_\_\_

EXAME	VALOR	DATA
Proteínas totais		
Albumina		
Hemoglobina		
Hematócrito		

**Coleta da amostra**

Hora da coleta de sangue: \_\_\_\_\_ Hora da coleta de leite: 1º \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ 2º \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

3º \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

**Análise Laboratorial**

TIPO DE ANÁLISE	SANGUE	LEITE		
	1ª COLETA	1ª COLETA	2ª COLETA	3ª COLETA
ROH				
Lipídeos Totais	XXXXXXXXXXXX			

DATA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Responsável: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE E



UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
RIO GRANDE DO NORTE  
PRÓ REITORIA DE EXTENSÃO  
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE  
BIOQUÍMICA

LEITE MATERNO:  
"Fonte Natural de Vitamina A"

Trabalho vinculado ao projeto de extensão:

"ORIENTAÇÕES NUTRICIONAIS PARA  
PUERPERAS ADOLESCENTES ATENDIDAS  
NA MATERNIDADE ESCOLA  
JANUÁRIO CICCO, NATAL-RN".

## ELABORAÇÃO:

Lígia Rejane Siqueira Garcia,  
Karla Danielly da S. Ribeiro,  
Katherine Feitosa de Araújo,  
Gabrielle Mahara Martins Azevedo,  
Roberto Dimenstein  
Carlos José de Lima

## Colaboração:

Maternidade Escola  
Januário Cicco - UFRN.  
EDITORA DA UFRN

Contato:  
3215.3416 Ramal:205/212  
dbq@cb.ufrn.br

### Como retirar o leite do peito?



1. Massageie as mamas com movimentos circulares ao redor de todo o seio, da base ao mamilo.
2. Coloque o polegar acima do mamilo e os dois primeiros dedos abaixo. Firme os dedos e empurre para trás em direção ao corpo. Aperte o mamilo até sair o leite.
3. Descarte os primeiros jato. Abra o frasco (previamente lavado e fervido por 15 minutos) e coloque a tampa sobre a mesa com a abertura para cima.
4. Colha o leite no frasco. Após terminar a ordenha, feche-o e conserve na geladeira por até 12 horas, se for oferecê-lo para o seu bebê.
5. Para oferecer à criança, descongele em banho-maria até ficar morno.
6. Se quiser doar para o banco de leite, colha mais leite em um copo descartável (ou de vidro limpo e fervido por 15 minutos) e complete o volume do frasco de leite congelado.



LEITE MATERNO

FONTE NATURAL DE

**VITAMINA A**

NATAL - 2008



APÊNDICE F

**Por que você e seu bebê precisam de Vitamina A?**

A Vitamina A:

- É fundamental para o crescimento e desenvolvimento das crianças.
- Mantém a saúde da visão e dos olhos evitando a cegueira.
- Diminui a gravidade das infecções como diarreia e sarampo.

**"As mulheres que amamentam precisam de vitamina A para manter a sua saúde e a do seu bebê através do leite materno"**

**Alimentos ricos em vitamina A**

		
Mamão	Batata doce	Hortaliças escuras
		
Leite	Fígado	Queijo
		
Cuscuz	Ovo	Jerimum



**DOAÇÃO DE LEITE MATERNO**

**"UM ATO DE AMOR"**

A doação do leite materno contribui para a melhora da qualidade de vida dos bebês que não são amamentados por suas mães.

- O leite materno é um alimento completo, protege seu filho contra doenças e não custa nada.

- Ao amamentar ofereça todo o leite do mesmo seio. Caso o bebê necessite de mais leite, ofereça o outro seio.

- Quanto mais seu bebê mamar mais leite você terá.

- A amamentação reduz a perda de sangue no pós-parto.

- Alimente seu filho apenas com leite materno nos primeiros 6 meses de vida. Não é necessário dar água, leite de vaca, chás, sucos, mingaus e outros alimentos nesse período.

- A partir dos 6 meses, ofereça de forma lenta e gradual outros alimentos, mantendo o leite materno até os 2 anos ou mais.

- O ato de amamentar transmite amor, carinho e fortalece laços entre mãe e filho.

**CASO EXISTAM DÚVIDAS SOBRE A AMAMENTAÇÃO, RETIRADA DO LEITE E/OU DOAÇÃO DE LEITE, LIGUE PARA O BANCO DE LEITE.**

**TELEFONE: 0800842400**

**Banco de Leite Humano (BLH)**

- É um centro especializado vinculado a um hospital materno-infantil, responsável pelo incentivo ao aleitamento materno.

- Realiza coleta, processamento e controle de qualidade do leite materno doado, para depois distribuir sob prescrição do médico ou nutricionista para bebês que não podem ser amamentados por sua mães.

# 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](#)