



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

LAHYANA RAFAELLA DE FREITAS CUNHA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM PALMITATO DE
RETINILA SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE RETINOL NO
COLOSTRO EM CONDIÇÕES DE JEJUM E PÓS-PRANDIAL**

**NATAL – RN
2010**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

LAHYANA RAFAELLA DE FREITAS CUNHA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA COM PALMITATO DE
RETINILA SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE RETINOL NO
COLOSTRO EM CONDIÇÕES DE JEJUM E PÓS-PRANDIAL**

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
2010**

Folha de aprovação

DEDICO ESTA OBRA

A Deus,

a luz que guia o meu caminho.

Aos meus pais, Laélcio e Liduina,

que sempre depositaram sua confiança em mim, me dando apoio, carinho e estímulo em todos os momentos e por serem motivo do meu maior orgulho, de ser sua filha.

A todos os parentes e amigos,

que estiveram ao meu lado durante esses dois anos e que fizeram parte dessa caminhada junto comigo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar pelo caminho do bem e por ser a força maior que rege a minha vida.

A minha família, Laélío, Liduina, Liélío, Lauren, Ceci, tios, tias, primos e primas, pelo amor e por acreditarem que sou capaz de conquistar os meus sonhos.

A Evandson Fernandes, pelo incentivo e pelo que começamos a construir juntos.

Ao professor Roberto Dimenstein, pela atenção, orientação, confiança e por ter me ensinado coisas que levarei em todos os momentos da minha vida pessoal e profissional.

Ao Programa de pós-graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, pela oportunidade de concretizar esse trabalho.

A CAPES, pelo financiamento da pesquisa.

Aos professores Luis, Giuliana, Edda, Luciana e Carlos Bola pelo apoio, sugestões e correções.

A Maternidade Escola Januário Cicco e as técnicas de enfermagem pela coleta de dados para realização dessa pesquisa.

As lactantes e seus filhos, principais sujeitos desse trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica, por sempre ter um sorriso acolhedor para nos oferecer.

A Carol, amiga e companheira durante esses dois anos de trabalho, obrigada pelo carinho e pelos momentos inesquecíveis que passamos juntas.

As alunas de iniciação científica, Jeane, Samara, Gabrielle, Ana Paula, Juliana Tamizy, Erica, Mayara e Júlia, sem vocês esse trabalho dificilmente seria possível.

As colegas de laboratório, Larissa, Ligia, Videanny, Carla Danielle, Danille Soares e Katherine, pelo apoio e incentivo.

Aos meus colegas de mestrado, Cris, Marília, Adriana, Léo, Ralfo, Amanda, Raniere, Almino, João, Acarizia, Jailma. Em especial Cinthia, Nilmara, Mariana Norberto e Carol, pelos momentos felizes que passamos juntos e pela amizade que levarei sempre comigo.

As minhas amigas que me amaram e apoiaram mesmo na minha ausência. Obrigada!
(Gabriella Dias, Gabriela Gondim, Juliana Paiva, Jucimeire, Juliana Bruna, Aline Rocha,
Aline mylena, Tenille, Julianne, Aniely, karenine, Rafaella e Lurdinha).

A todos que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse realizado, o
meu muito obrigada.

Valeu a pena? Sim valeram a pena os dias de angústia, de cansaço, de tédio e exaustão. Valeram a pena todos os passos pelo caminho traçado. Cada momento vivido nessa correria em busca de um objetivo. Pela alegria de mais uma etapa cumprida, pela perspectiva para um caminho vindouro. Por isso afirmo: sim valeu muito a pena!

Alberto da Cruz

RESUMO

Vitamina A é importante em muitos processos essenciais no corpo e sua deficiência resulta em severas conseqüências para a saúde dos seres humanos. O leite humano é a única fonte dessa vitamina para crianças que são amamentadas de forma exclusiva. A análise da vitamina A no leite materno é importante, porque a sua concentração neste fluido está relacionada com o estado de vitamina A materno e com a ingestão desta vitamina pela mãe durante a lactação. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da suplementação materna com palmitato de retinila sobre a concentração de retinol no colostro em condições de jejum e pós-prandial. Para isso, foram recrutadas 149 nutrízes saudáveis da Maternidade Escola Januário Cicco (Natal-RN), sendo os grupos – Comparação 69 e Teste 80. Amostras de sangue, colostro em jejum e colostro pós-prandial foram coletadas até 24hs após suplementação. As concentrações de retinol no soro e colostro foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência. A concentração sérica de retinol de $41,6 \pm 12,7 \mu\text{g/dL}$ (média \pm desvio-padrão) indica estado nutricional bioquímico adequado. A concentração de retinol no colostro não foi influenciada pelos níveis séricos de retinol, em nenhuma das condições estabelecidas. No colostro, a concentração do retinol no grupo teste sem suplementação foi de $67,3 \pm 37,7 \mu\text{g/dL}$ no jejum e de $80,3 \pm 35,1 \mu\text{g/dL}$ no pós-prandial ($p < 0,05$), evidenciando um aumento de 19,3%. No grupo teste suplementado os valores foram de $102,6 \pm 57,3 \mu\text{g/dL}$ e $133,4 \pm 78,3 \mu\text{g/dL}$ no jejum e pós-prandial, respectivamente ($p < 0,05$), representando um aumento de 30%. Considerando que no jejum a maior parte da vitamina A transportada ao leite tem sua origem através da proteína transportadora de retinol (RBP), o aumento no retinol do colostro pós-prandial sugere um mecanismo de transporte do retinol para o leite materno distinto daquele realizado pela RBP. Tal situação fica mais evidente em condições de suplementação.

Palavras-chaves: Retinol. Colostro. Jejum. Pós-prandial. Suplementação e soro

ABSTRACT

Vitamin A is important in many essential body processes and its deficiency results in serious consequences for human health. Breast milk is the only source of this vitamin for children that are exclusively breastfed. Analysis of vitamin A in mother's milk is important because its concentration is related to maternal vitamin A status and to its ingestion by the mother during pregnancy. The aim of the present study was to assess the effect of maternal supplementation with retinyl palmitate on the concentration of colostrum retinol under fasting and postprandial conditions. A total of 149 nursing mothers were recruited at the Januário Cicco Maternity School (Natal, Brazil) and allocated to two groups: Comparison (n = 69) and Test (n = 80). Blood and colostrum (in fasting and postprandial conditions) samples were collected up to 24hs after delivery. Serum retinol and colostrum levels were analyzed by high-performance liquid chromatography. The serum retinol level of $41.6 \pm 12.7 \mu\text{g/dL}$ (mean \pm standard deviation) indicates adequate biochemical nutritional status. Colostrum retinol level was not influenced by serum retinol levels under any of the conditions established. In the colostrum, the retinol concentration in the unsupplemented test group was $67.3 \pm 37.7 \mu\text{g/dL}$ under fasting and $80.3 \pm 35.1 \mu\text{g/dL}$ under postprandial conditions ($p < 0.05$), showing an increase of 19.3%. In the supplemented test group the values were $102.6 \pm 57.3 \mu\text{g/dL}$ and $133.4 \pm 78.3 \mu\text{g/dL}$ under fasting and postprandial, respectively ($p < 0.05$), representing an increase of 30%. Considering that under fasting conditions most of the vitamin A transported to the milk originates in the retinol binding protein (RBP), the postprandial increase in colostrum retinol suggests a different transport mechanism of retinol to maternal milk from that performed by RBP. This situation becomes more evident under supplementation conditions.

Keywords: Retinol. Colostrum. Fasting. Postprandial. Supplementation and serum.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura química geral e nomenclatura das diferentes formas de vitamina A.....	16
Figura 2.	Estrutura do palmitato de retinila, o éster de retinila mais freqüente nos animais.....	16
Figura 3.	Metabolismo, transporte e distribuição do retinol no organismo.....	19
Figura 4.	Mapa global da deficiência de vitamina A de crianças em idade pré-escolar.....	26
Figura 5.	Transporte da vitamina A para a glândula mamária.....	33
Figura 6.	Esquema ilustrativo das coletas de material biológico dos grupos comparativo e teste.....	39
Figura 7.	Extração de retinol das amostras de leite materno.....	41
Figura 8.	Perfil do padrão de referência para retinol em cromatografia.....	43
Figura 9.	Curva de calibração dos padrões de retinol em diferentes concentrações.....	45
Figura 10.	Comparação dos níveis de retinol sérico de lactantes.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Características gerais do binômio mãe-filho arroladas para o estudo realizado na Maternidade Escola Januário Cicco.....	48
Tabela 2.	Quantidade média de vitamina A ofertada no desjejum.....	49
Tabela 3.	Concentração de retinol nas amostras de soro.....	50
Tabela 4.	Correlações entre o retinol no soro, retinol no leite e Proteína C Reativa.....	50
Tabela 5.	Efeito da alimentação na concentração de retinol no colostro.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS - WHO	Organização Mundial de Saúde
IOM	Instituto de Medicina
CRBP	Proteína Celular Transportadora de Retinol
LRAT	Lecitina Retinol Acil Transferase
ACAT	Acil Coenzima A Retinol Aciltransferase
RBP	Proteína Ligante de Retinol
TTR	Transtirretina
ROH	Retinol
RE	Éster de Retinila
QM	Quilomícrons
QMR	Quilomícrons Remanescentes
RA	Ácido Retinóico
RAR	Receptor de Ácido Retinóico
RXR	Receptor de Ácido Retinóico Do Tipo X
DRI	Referências de Ingestão Dietéticas
RDA	Níveis de Ingestão Dietética Diária
EAR	Média de Requerimento Estimada Para Grupos
AI	Ingestão Adequada
UL	Níveis Máximos de Ingestão Toleráveis
RE	Retinol Equivalente
DVA	Deficiência em Vitamina A
RDR	Dose Resposta Relativa
MRDR	Dose Resposta Relativa Modificada
IVACG	Grupo Consultivo Internacional em Vitamina A
LPL	Lipase Lipoprotéica
RAE	Atividade Equivalente de Retinol
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
HUOL	Hospital Universitário Onofre Lopes

TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
IMC	Índice de Massa Corporal
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
HPLC - CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
KOH	Hidróxido de Potássio
N₂	Nitrogênio
PCR	Proteína C Reativa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 VITAMINA A.....	15
1.1.1 Definição, estrutura química e fontes alimentares.....	15
1.1.2 Absorção e transporte da vitamina A.....	17
1.1.3 Biodisponibilidade da vitamina A e pró-vitamínicos nos alimentos.....	20
1.1.4 Importância biológica.....	21
1.1.5 Recomendações nutricionais.....	22
1.1.6 Deficiência de vitamina A (DVA).....	23
1.1.6.1 Causas, conseqüências e localização geográfica.....	23
1.1.6.2 Diagnóstico da DVA.....	25
1.1.6.3 Combate à deficiência de vitamina A.....	27
1.1.7 Proteína C Reativa (PCR) e vitamina A.....	27
1.1.8 Lactação e vitamina A.....	28
1.1.8.1 Transferência de vitamina A para o leite materno e impacto da suplementação com palmitato de retinila.....	31

2 OBJETIVO	36
2.1 OBJETIVO GERAL.....	36
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36
3 MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1 SUJEITOS.....	37
3.2 COLETA DE DADOS.....	38
3.3 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO.....	39
3.4 QUANTIFICAÇÃO DO RETINOL NO SORO E LEITE MATERNO.....	40
3.4.1 Hidrólise alcalina e extração do retinol no colostro	40
3.4.2 Extração do retinol no soro	40
3.4.3 Condições cromatográficas	42
3.4.4 Linearidade, exatidão e precisão dos métodos	43
3.5 ANÁLISE DA PROTEÍNA C REATIVA.....	45
3.6 VALORES DE REFERÊNCIA.....	46
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	46
4 RESULTADOS	47
5 DISCUSSÃO	52
6 CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS	59
APÊNDICES	78

1 INTRODUÇÃO

1.1 VITAMINA A

1.1.1 Definição, estrutura química e fontes alimentares

Vitamina A é o termo usado para designar compostos que possuem atividade biológica de retinol, enquanto o termo “retinóides” inclui formas de vitamina A e os muitos análogos sintéticos do retinol, como o retinil-acetato e retinil-palmitato-*trans*, com ou sem atividade biológica (BIESALSKI, GRIMM 2007; SHILS *et al*, 2002).

Retinol é uma molécula lipossolúvel, constituinte do grupo de substâncias orgânicas, com estrutura variada e nosso organismo não a sintetiza. Sua estrutura geral é composta de um anel β -ionona hidrofóbico, uma cadeia de hidrocarboneto, com insaturações alternadas, ligado a um grupo funcional que exiba as propriedades biológicas do retinol (SOUZA; VILLAS BOAS, 2002). Cada forma molecular apresenta uma modificação no carbono da 15ª posição (C₁₅) do grupo funcional correspondente. Assim o termo vitamina A inclui o éster de retinila, o retinol, o retinal e o ácido retinóico em suas diversas isoformas (Figura 1).



Grupo R	Componente
- CH ₂ OH	Retinol
- CHO	Retinal
- COOH	Ácido Retinóico

Figura 1. Estrutura química geral e nomenclatura das diferentes formas de vitamina A. Adaptado de (MUSIB, 2000).

Os ésteres de retinila são as formas ésteres de vitamina A resultante da reação do retinol com ácidos graxos. Os ésteres de retinila são as principais formas da vitamina A presentes em alimentos de origem animal. Dentre as suas várias isoformas, encontram-se principalmente o palmitato de retinila (figura 2), estearato de retinila, linoleato de retinila e oleato de retinila (PIANTEDOSI et al, 2005).

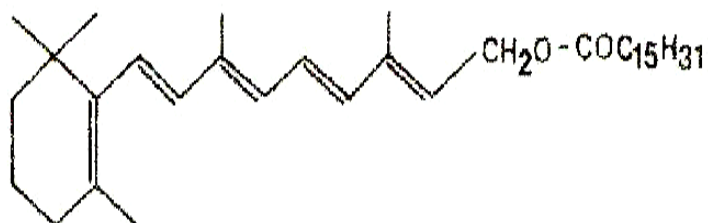


Figura 2. Estutura do palmitato de retinila, o éster de retinila mais freqüente nos animais. Adaptado de (SENOO, 2004).

O armazenamento da vitamina A se dá predominantemente no fígado e ela se origina de dois tipos de compostos: os carotenóides pró-vitamina A provenientes dos alimentos de origem vegetal e o retinol ou vitamina A pré-formada encontrada nos alimentos de origem animal (RONCADA, 1998).

As melhores fontes animais de vitamina A são: fígados de peixes marinhos e de mamíferos, ovos e laticínios. Entre os alimentos fontes de carotenóides pró-vitamínicos A estão principalmente as hortaliças verde-escuras, certas frutas e vegetais de cor laranja e amarelo escuro (cenoura, abóbora, palma, milho, caju, manga, goiaba, dentre outros) (FRANCO, 1998; SAUNDERS et al., 2000). Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1995), nas Américas cerca de 64% da vitamina A obtida na alimentação são provenientes de carotenóides pró-vitamínicos A.

1.1.2 Absorção e transporte da vitamina A

A utilização e o transporte da vitamina absorvida nos tecidos incluem absorção celular e conversão para uma forma que realiza alguma função bioquímica. A palavra disponível é importante, pois a vitamina também pode ser metabolizada dentro da célula e ficar indisponível para a excreção subsequente, ou simplesmente pode ser armazenada para uso futuro (BALL, 1998).

A vitamina A dietética é encontrada na forma de ésteres de retinila. A absorção intestinal dessa vitamina requer vários passos enzimáticos. Quando consumidos, os ésteres de retinila sofrem hidrólise por uma hidrolase de retinila, específica para ésteres de cadeia longa. Em seguida, o retinol livre é incorporado às micelas lipídicas e absorvido na mucosa intestinal (HARRISON, 2005).

Os carotenóides por sua vez, de acordo com o Instituto de Medicina (IOM, 2001), após serem solubilizados em micelas no lúmen duodenal, são absorvidos inalterados pelas células da mucosa por mecanismo de difusão passiva. Cerca de 81% do retinol formado a partir do β -caroteno é clivado através da enzima 15-15' β -caroteno monoxigenase no intestino, os 19% restantes são convertidos após absorção intestinal (PARKER, 1996; TANG et al., 2003).

No enterócito, o retinol livre liga-se a proteína celular transportadora de retinol (CRBP II) que evita sua oxidação e o direciona a reesterificação com ácidos graxos de cadeia longa mediada pelas enzimas lecitina-retinol aciltransferase (LRAT) e acil coenzima A retinol aciltransferase (ARAT). A LRAT é uma enzima expressa principalmente no fígado, intestino e olhos, com ação catalítica na transesterificação do retinol com um dos grupos acil presente na lecitina. Tem como substrato o complexo retinol:CRBP II (no enterócito) e retinol:CRBPI (no fígado). A ARAT também tem importante papel na esterificação do retinol em alguns tecidos principalmente quando o retinol está livre na célula, nos casos de alta ingestão de vitamina A (suplementação, por exemplo) e saturação da CRBP II (DEBIER; LARONDELLE, 2005; O'BYRNE, 2005; LIU; GUDAS, 2005).

Após ser convertido novamente a éster de retinila nos enterócitos, o retinol é incorporado à fase lipídica dos quilomícrons. Esses por sua vez, são transportados na linfa até a circulação sistêmica, onde são convertidos a quilomícrons remanescentes. Durante este percurso, uma parte dos ésteres de retinila é hidrolisada e o retinol é liberado diretamente nos tecidos. Contudo, a maioria dos ésteres de retinila e parte do retinol livre permanecem nos quilomícrons e são captados principalmente pelas células parênquimais do fígado, através de mecanismos envolvendo receptores de quilomícrons remanescentes, e em menor extensão por células de outros órgãos (HASKELL; BROWN, 1999) (figura 3).

Nas células parênquimais, os ésteres de retinila são rapidamente hidrolisados a retinol, que se liga à proteína ligante de retinol (RBP), podendo então ser armazenado no fígado ou ser lançado de volta a corrente sanguínea. O complexo de retinol-RBP é transportado para as células estreladas hepáticas ou células de Ito. Nessas células, o retinol é estocado como ésteres de retinila, essencialmente como palmitato de retinila. Todo o processo a partir da ingestão da vitamina A até a sua liberação pelas células estreladas leva em torno de 5 horas (AZAÏS-BRAESCO; PASCAL, 2000). Em situações de excesso na concentração de retinol plasmático, a vitamina A é estocada nessas células, (DEBIER; LARONDELLE, 2005) (figura 3).

Os tecidos periféricos podem utilizar tanto retinol dos quilomícrons, quanto o presente no complexo com RBP. Quando a vitamina A da reserva hepática é

mobilizada para os tecidos periféricos, os ésteres de retinila são hidrolisados por hidrolases e o retinol livre liga-se a RBP formando um complexo com outra proteína chamada transtirretina (TTR), que também é produzida no fígado, formando um complexo que previne as perdas da vitamina no processo de filtração glomerular (BLOMHOFF *et al.*, 1991). O complexo retinol-RBP:TTR é captado por uma variedade de células que possuem receptores específicos para RBP em sua superfície (figura 3).

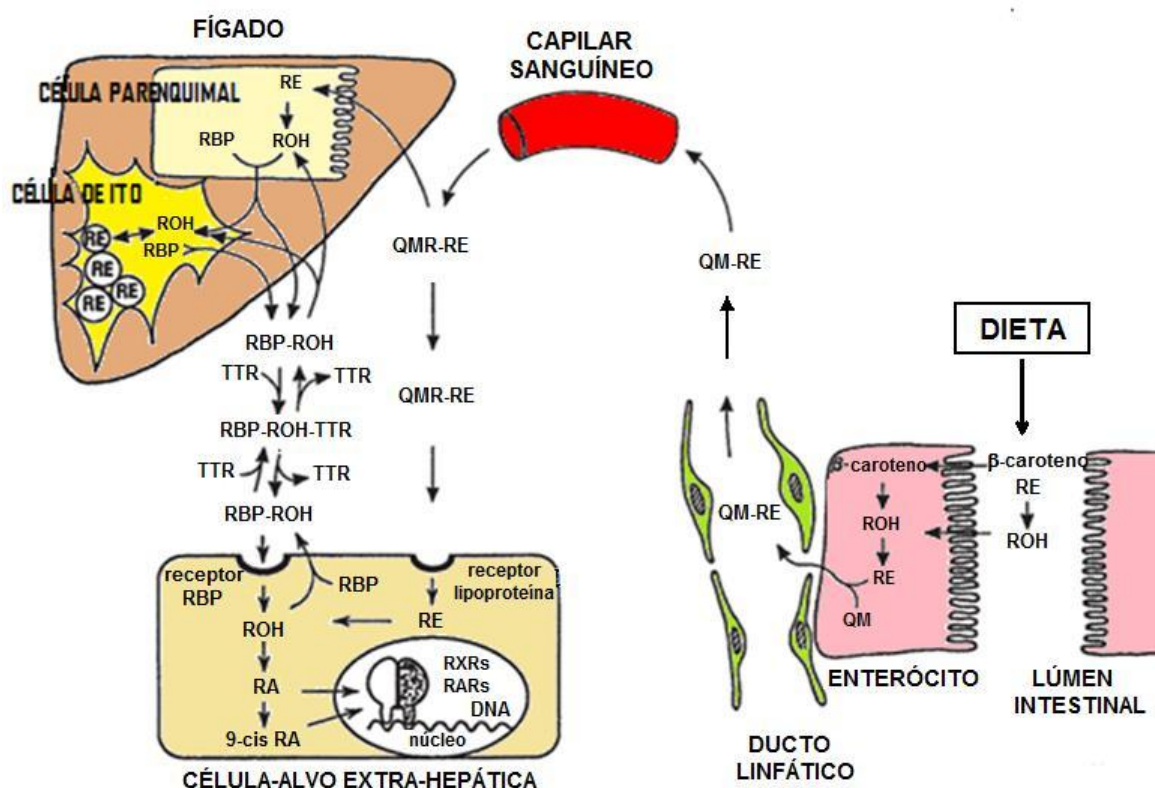


Figura 3. Metabolismo, transporte e distribuição do retinol no organismo. ROH = retinol; RE = éster de retinila; QM = quilomícrons; QMR = quilomícrons remanescentes; RBP = proteína carreadora de retinol; RA = ácido retinóico; RAR = receptor do ácido retinóico; RXR = receptor de ácido retinóico do tipo x; TTR = transtirretina (Fonte: Adaptado de BLOMHOFF, 2001).

1.1.3 Biodisponibilidade da vitamina A e pró-vitamínicos A nos alimentos

De acordo com (SOLOMONS, 2001), a capacidade de um determinado nutriente presente no alimento ser absorvido e armazenado ou utilizado pelo organismo, é denominada biodisponibilidade. 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) (BOREL, 2003; VAN DEN BERG, 2001).

Em relação a biodisponibilidade da vitamina A, a pré-formada tem eficiência de absorção de cerca de 70% a 90%, enquanto que as pró-vitaminas possuem entre 20% a 50% após a ingestão de dieta mista, contendo alimentos ricos nesses compostos (IOM, 2001). Um fator importante no aumento da biodisponibilidade tanto da vitamina A quanto dos carotenóides pró-vitamínicos A, é a presença de lipídios na dieta (JALAL *et al.*, 1998).

A vitamina A presente no leite materno, por exemplo, possui uma alta biodisponibilidade por está associada à gordura do leite. Dessa forma, existe uma forte correlação entre o que a mãe secreta e o que a criança absorve (STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995).

Além de lipídios, uma dieta rica em aminoácidos essenciais, zinco e vitamina E aumenta a biodisponibilidade da absorção do retinol (MACHLIN, 1990). Os aminoácidos essenciais fazem parte da composição da proteína plasmática transportadora de retinol (RBP), sendo sua síntese dependente de aminoácidos sulfurados. As proteínas também são importantes na formação de micelas, participando como agentes ativos de superfície (MOURÃO *et al.*, 2005). O zinco participa da síntese de quilomícrons no enterócito e controle da síntese hepática de RBP (proteína transportadora de retinol) e alteração da atividade de enzimas envolvidas na esterificação do retinol, sendo de fundamental importância para a mobilização de vitamina A dos depósitos hepáticos ou extra-hepáticos (COELHO, 2000; KELLEHER; LONNERDAL, 2001).

No caso dos carotenóides, a biodisponibilidade também é afetada pela matriz celular dos alimentos onde estes se encontram, por isso é importante o processo de mastigação e a ação de enzimas digestivas para promover a dissociação dos carotenóides das proteínas dos cromoplastos (PARKER, 1996). Um estudo feito com cenoura, por exemplo, demonstrou que na ingestão de purê de cenoura há um aumento na absorção de α e β -caroteno em cerca de duas vezes em relação a ingestão de cenoura apenas cozida (CAMPOS; ROSADO, 2005).

As fibras, a clorofila e os carotenóides que não são pró-vitamina A como o licopeno que se ingerem comumente, reduzem a biodisponibilidade de vitamina A. Por outro lado, o processamento, a homogeneização mecânica e o tratamento térmico aumentam a absorção dos carotenóides (MOURÃO et al., 2005), mas este quando prolongado pode conduzir à destruição oxidativa dos mesmos.

1.1.4 Importância biológica

A vitamina A exerce suas funções através dos metabólitos oriundos da oxidação do retinol (NAPOLI, 1996). O primeiro metabólito resultante da oxidação reversível do retinol é o retinaldeído (retinal), constituinte do pigmento visual rodopsina. Posteriormente, o retinal pode ser oxidado a ácido retinóico. Este último e seus isômeros medeiam quase todas as funções dependentes de vitamina (AZAÏS-BRAESCO; PASCAL, 2000; FROLIK, 1984; OLSON, 1996). A vitamina A é importante em muitos processos biológicos essenciais tais como: visão, imunidade, reprodução, crescimento e desenvolvimento, diferenciação, integridade do tecido epitelial e remodelamento ósseo (SOLOMONS, 2001).

O retinal é necessário no processo de transdução da luz em sinais neurais. A absorção da luz catalisa a fotoisomerização do 11-cis-retinal, presente no pigmento rodopsina dos receptores *rod*, a todo-trans retinal. Tais receptores liberam sinais que ativam as células neurais associadas à porção do córtex cerebral responsável pela visão (OLSON, 1996).

Outra função da vitamina A está relacionada ao sistema reprodutor. A deficiência dessa vitamina causa infertilidade ou comprometimento da reprodução. As principais características resultantes da deficiência de vitamina A são: reabsorção fetal e malformações congênitas (CLAGETT-DAME; DELUCA, 2002).

O ácido retinóico está relacionado à transcrição de genes envolvidos no desenvolvimento de tecidos, vértebras, aparelhos visual, circulatório, auditivos, além de codificadores de enzimas, receptores, proteínas da matriz celular, entre outros (IOM, 2001). Ele é responsável por manter a proliferação e diferenciação celular, resposta imune, reprodução (espermatogênese, concepção, formação placentária e embriogênese) e remodelação óssea (CLAGETT-DAME; DELUCA, 2002; NAPOLI, 1996; VLIET *et al.*, 2001;).

Em relação ao sistema imune, o interesse pela vitamina A como um imunorregulador tem ocorrido devido a susceptibilidade em animais deficientes em vitamina A a infecção, resultando de depressão humoral e imunidade celular. O ácido retinóico participa na regulação do desenvolvimento, diferenciação e apoptose de células imunes, que são requeridas para o bom funcionamento da imunidade inata e adquirida. O ácido retinóico é importante também na manutenção de células *natural killers* circulantes, que possuem atividade antiviral e antitumorígena (ZHAO; ROSS, 1995), potencializa as capacidades fagocitárias dos macrófagos, sendo, essencial no processo de diferenciação dos leucócitos (KATZ *et al.*, 1987).

1.1.5 Recomendações nutricionais

Os valores de referência são chamados coletivamente como Referências de Ingestão Dietéticas (*Dietary Reference Intakes* - DRI). Uns dos padrões disponíveis são estimativas quantitativas para o planejamento e avaliação de dietas de populações saudáveis, desenvolvidas inicialmente para americanos e canadenses; incluem, Níveis de Ingestão Dietética Diária (*Recommended Dietary Allowance* - RDA), Ingestão Adequada (*Adequate Intake* - AI), Média de Requerimento Estimada para Grupos

(*Estimated Average Requirement* - EAR) e Níveis Máximos de Ingestão Toleráveis (*Tolerable Upper Intake Level* - UL) (IOM, 2001).

O nível de requerimento da vitamina A é baseado na quantidade absorvida, necessária para manter o estado nutricional adequado. O requerimento difere de acordo com o sexo, idade e situações fisiológicas especiais que aceleram o uso, estocagem ou destruição da vitamina, tais como a gestação, lactação e certas doenças crônicas e agudas. As ingestões recomendadas de vitamina A são as quantidades a serem consumidas diariamente para garantir que indivíduos absorvam seus níveis de requerimento, mas não experimentem os efeitos prejudiciais da toxicidade (SOLOMONS, 2001).

O Instituto de Medicina (IOM, 2001) recomenda um consumo diário de vitamina A (ou retinol equivalente - RE) para homens a partir de 14 anos igual a 900 µg; para mulheres a partir de 14 anos, 700 µg; grávidas entre 19-50 anos, 770 µg e para lactantes (19-50 anos), 1300 µg. A quantificação humana da necessidade diária recomendada de vitamina A é realizada através do Nível de Ingestão Dietética Diária, suficiente para atender as necessidades nutricionais de 97 a 98% dos indivíduos saudáveis de um determinado grupo de mesmo gênero e estágio de vida. Para crianças, utiliza-se a ingestão adequada, obtida a partir da observação do consumo de vitamina A de uma dada população e recomenda-se que entre 0 e 6 meses de vida o consumo diário seja de 400µg e entre 1 e 3 anos esta recomendação seja de 300µg.

1.1.6 Deficiência de vitamina A (DVA)

1.1.6.1 Causas, conseqüências e localização geográfica da DVA

A carência de vitamina A é causada principalmente por uma persistente ingestão inadequada de alimentos que contenham essa vitamina, e é agravada pelo aparecimento de infecções (ZANCUL, 2004). Para Sommer (1995), uma variedade de razões justifica o consumo insuficiente desta vitamina, sobretudo a falta de

conhecimento e a não preferência pelos alimentos ricos em vitamina A, seja pelo seu custo ou hábito alimentar. Essa ingestão inadequada de vitamina A prejudica as funções fisiológicas, tanto em crianças quanto em indivíduos adultos, ainda que os sinais clínicos de carência não sejam evidentes.

A DVA é a principal causa de cegueira permanente acompanhada de morte entre crianças de países em desenvolvimento, contribuindo também para o aumento significativo dos índices de morbidade e mortalidade infantil associada a processos infecciosos (MCLAREN, 1999; MILAGRES *et al.*, 2008; BLACK *et al.*, 2008). No Brasil, é considerado um problema de saúde pública, afetando principalmente crianças em idade pré-escolar, recém-nascidos, mulheres grávidas e nutrizas (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).

A possível relação da xeroftalmia grave com o desmame precoce já foi citada e é plausível: a totalidade das crianças com xeroftalmia corneal estudadas no Nordeste nunca haviam recebido amamentação materna (SANTOS, 1996) e, além disso, a distribuição geográfica da afecção parecia coincidir com as áreas de maior prevalência do desmame precoce na Paraíba.

Mesmo nos casos de deficiência leve em vitamina A, pode haver comprometimento do sistema imunológico, o que reduz a resistência à diarreia e ao sarampo, que, por sua vez, contribuem para a morte de, respectivamente, 2,2 milhões e 1 milhão de crianças por ano no mundo (BRASIL, 2007).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, globalmente, a cegueira noturna afeta 5,2 milhões de crianças em idade pré-escolar e 9,8 milhões de mulheres grávidas e, baixas concentrações de retinol sérico ($<0,70 \mu\text{mol/l}$) afetam cerca de 190 milhões de crianças em idade pré-escolar e 19,1 milhões de mulheres grávidas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009). Em nosso país, conforme dados da Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (PNDS 2006),

17,4% das crianças e 12,3% das mulheres apresentavam níveis inadequados de VA. Entre as crianças, os índices mais preocupantes são os do Sudeste (21,6%) e do Nordeste (19%), (BRASIL, 2004; BRASIL, 2009).

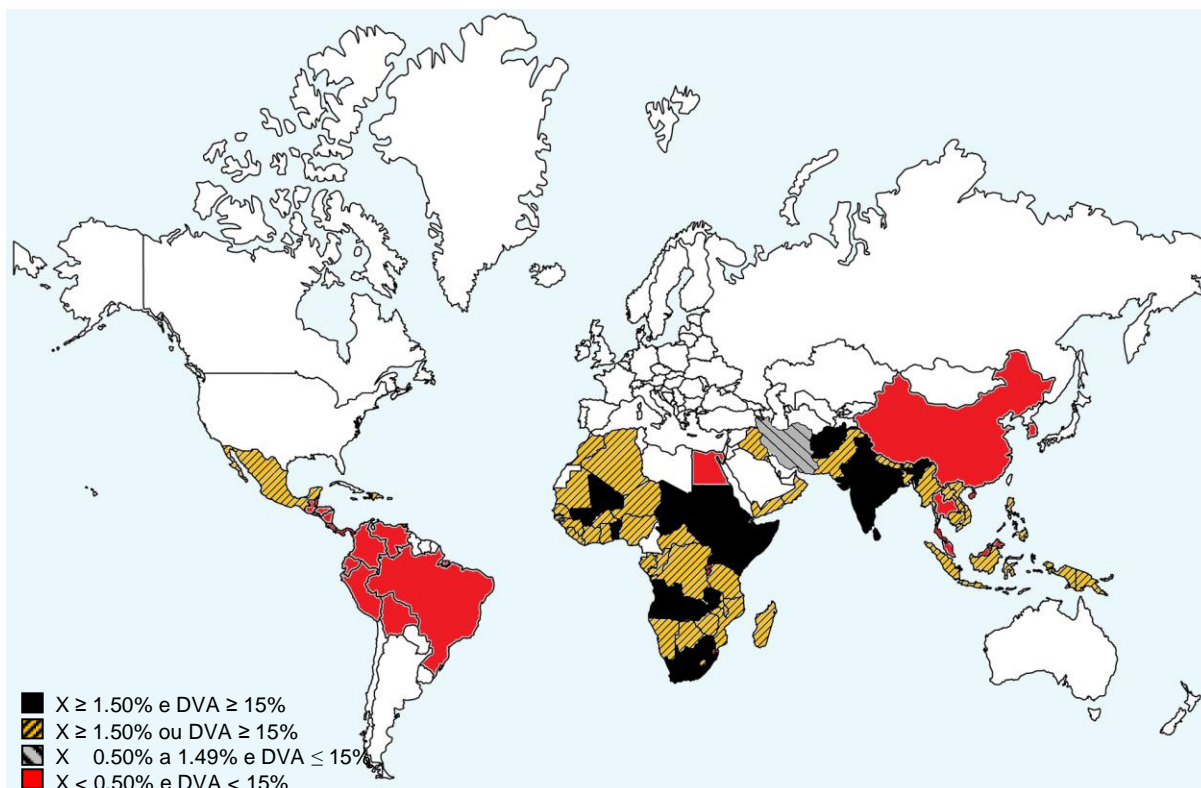


Figura 4. Mapa global da deficiência de vitamina A de crianças em idade pré-escolar. X = xeroftalmia; DVA = deficiência de vitamina A (Fonte: Adaptada de WEST JR, 2003).

1.1.6.2 Diagnóstico da DVA

Devido à vitamina A ser importante em alguns processos essenciais para corpo, a sua deficiência resulta em severas conseqüências para a saúde dos seres humanos (WONGSIRIRO; WASANTWISUT; BLANER, 2007). Existe uma diversidade de indicadores de DVA que empregam métodos de diagnóstico clínicos (sinais e sintomas de xeroftalmia), citológicos (citologia de impressão conjuntival), bioquímicos (níveis

séricos e hepáticos de retinol) e dietéticos (inquéritos quantitativos e qualitativos) (QUEIROZ, 2001).

O diagnóstico clínico da xeroftalmia tem como base as alterações oculares como hemeralopia ou cegueira noturna, xerose conjuntival com manchas de Bitot, xerose corneal, ulceração corneal, ceratomalácia e cicatrizes corneais. Um dos diagnósticos citológicos baseia-se no exame citopatológico de material colhido mediante toque na superfície conjuntival.

Os indicadores bioquímicos convencionais são os níveis séricos e hepáticos de retinol. Tradicionalmente, concentração de retinol sérico inferiores a 20 µg/dL têm sido considerados baixos e valores menores que 10 µg/dL, deficientes. Uma prevalência de níveis séricos baixos da ordem de 2% a 10% representa um problema de saúde pública leve; prevalências maiores ou iguais a 15% são indicativas de grave problema de saúde pública (WHO, 1996). Outras medidas e métodos utilizados para avaliação bioquímica são a dosagem de retinol hepático, dose resposta relativa (RDR), dose resposta relativa modificada (MRDR), retinol no leite materno, avaliação sérica da RBP e razão RBP: transtirretina. Os dois últimos ainda não são muito empregados em estudos epidemiológicos (TANUMIHARDJO, 2004; ROSALES; ROSS, 1998).

O retinol hepático pode ser usado como estimativa do status de vitamina A, uma vez que o fígado detém cerca de 90% das reservas totais do corpo. No entanto, não é eticamente justificável a autópsia do fígado na ausência de patologias, apenas em casos de objeto diagnóstico ou pós-morte (UNDERWOOD, 1990; DINIZ; SANTOS, 2000).

Atualmente, sabe-se que mesmo a DVA subclínica (quando estão ausentes os sinais de xeroftalmia) intensifica a gravidade de enfermidades como diarreia e outros processos infecciosos, podendo provocar quadros de imunodeficiência de origem exclusivamente nutricional.

A metodologia proposta para avaliar o consumo de vitamina A leva em conta o consumo recente e a ingestão habitual de alimentos que são fonte de retinol e de pró-vitamina A (INTERNATIONAL VITAMIN A CONSULTATIVE GROUP, 1989).

1.1.6.3 Combate à deficiência de vitamina A

Os especialistas propõem três tipos de estratégias de intervenção no combate a hipovitaminose A nos grupos considerados de risco: a suplementação com doses maciças como medida emergencial de curto prazo; enriquecimento de alimentos em médio prazo; e diversificação dietética através da educação alimentar como solução definitiva (BRASIL, 2009; CHAGAS *et al.*, 2003).

A ingestão adequada de alimentos de origem animal e vegetal, considerados fornecedores de vitamina A, é importante para evitar o desenvolvimento de quadros de deficiência de vitamina A. Dessa forma, programas de modificação de hábitos alimentares tornam-se necessários, para que a população em geral passe a ter conhecimento e preferência pelos alimentos fontes de vitamina A (DOLINSKY; RAMALHO, 2003).

É utilizado o argumento da melhoria do conteúdo de vitamina A materno como estratégia de sobrevivência infantil. A Organização Mundial de Saúde (OMS), juntamente com o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) e o Grupo Consultivo Internacional sobre Vitamina A, recomendam que nas regiões onde a carência de vitamina A é endêmica, sejam dadas doses elevadas de vitamina A (200.000 UI), em suplementação às mulheres lactantes durante o período de sessenta dias pós-parto (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001; BRASIL, 2009).

1.1.7. Proteína C reativa (PCR) e vitamina A

A PCR é uma proteína de fase aguda, responsiva a estímulos agudos ou crônicos de processos inflamatórios, infecciosos ou em caso de ferida tissular. Atualmente recomenda-se sua análise em estudos que utilizam o retinol sérico como indicador do estado nutricional de vitamina A em populações, com intuito de eliminar os casos falso-positivos da deficiência (STEPHENSEN; GILDENGORIN, 2000; THURNHAM *et al.*, 2003).

(STEPHENSEN; GILDENGORIN, 2000) verificaram que a presença da inflamação contribuiu para erros de classificação relacionados ao estado nutricional concernente à vitamina A. Assim, é importante considerar a atividade inflamatória para a interpretação correta dos níveis séricos de vitamina A. Isto se aplica em populações com prevalência elevada de infecções, mesmo aquelas subclínicas, as quais podem, por vários mecanismos, determinar queda da concentração sérica de retinol, sem que isso represente um comprometimento do estado nutricional relacionado com a vitamina A (FILTEAU *et al.*, 1993).

Segundo (FILTEAU *et al.*, 1993), a diminuição da concentração de retinol sérico, na vigência de doenças, pode não refletir com exatidão o estado nutricional relacionado com a vitamina em populações com alta prevalência de infecções. Vários fatores podem participar da diminuição na concentração sérica de retinol durante as infecções, como necessidade aumentada da vitamina, sua distribuição entre tecidos e aumento de sua utilização.

1.1.8 Lactação e vitamina A

O leite materno é o alimento completo para o recém-nascido, onde é constituído de proteínas, glicídios e sais, nos quais estão suspensos diversos compostos lipídicos, além de fornecerem vitaminas, leucócitos, imunoglobulinas e fatores de crescimento. Dessa forma, fornece energia e nutrientes em quantidades apropriadas para uma boa nutrição nos primeiros meses de vida (AZAIS-BRAESCO; PASCAL, 2000; MAHAN, 1994; PETITJEAN *et al.*, 2007). Não há controvérsias em relação ao leite materno ser o alimento ideal para o crescimento e desenvolvimento adequados de crianças (SILVEIRA, 2006).

Graças aos inúmeros fatores existentes no leite materno que protegem contra infecções, ocorrem menos mortes entre as crianças amamentadas. Estima-se que o aleitamento materno poderia evitar 13% das mortes em crianças menores de 5 anos em todo o mundo, por causas preveníveis. Nenhuma outra estratégia isolada alcança o impacto que a amamentação tem na redução das mortes de crianças menores de 5

anos. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Unicef, em torno de seis milhões de vidas de crianças estão sendo salvas a cada ano por causa do aumento das taxas de amamentação exclusiva (BRASIL, 2009).

A gravidez e lactação são estados anabólicos que são orquestrados via hormônios para produzir um redirecionamento de nutrientes aos tecidos maternos altamente especializados característicos da reprodução, isto é, placenta e glândula mamária. Em seguida, os nutrientes são transferidos para promover o desenvolvimento fetal ou infantil (PICCIANO, 2003).

Segundo (BELL, 1997) após o início da lactação, demandas mamárias de glicose são aumentados várias vezes, sendo superiores aos do período gestacional. Dessa forma, alteração na glicemia durante a gestação pode repercutir sobre a saúde materna, fetal e perinatal, causando sérias complicações.

Atualmente, existe evidências de uma forte associação entre diabetes mellitus e os níveis de retinol sérico em mulheres grávidas. A presença desta patologia durante o período gestacional torna essas mulheres mais propensas a apresentar estado bioquímico marginal ou deficiente em vitamina A quando comparadas com as de gestação saudável (BASSO *et al.*, 2007; GOLBERT; CAMPOS, 2008; KRZYZANOWSKA *et al.*, 2008).

Em gestantes, tem sido observada uma tendência de diminuição dos níveis de vitamina A no sangue, especialmente no último trimestre da gestação (RONDO *et al.*, 1995). Além disso, as reservas de vitamina A do feto são baixas, por causa da seletividade da barreira placentária para a passagem dessa vitamina para o feto, provavelmente para evitar efeitos teratogênicos (OLSON, 1987), causando, assim, baixa reserva hepática de vitamina A no recém-nascido.

A carência de nutrientes essenciais, como a vitamina A, pode levar a sérios problemas de saúde para a criança durante o desenvolvimento fetal e após o nascimento (HENRIKSEN *et al.*, 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 (MACIAS, 2001; SCHWEIGERT *et al.*, 2004).

Neste sentido, em condições ideais de aleitamento, o leite materno é considerado a mais importante fonte de vitamina A para multiplicar as reservas hepáticas do recém-nascido e o grande fator protetor da deficiência de vitamina A (DVA) até os dois anos de idade, fase de maior vulnerabilidade (MARTINS *et al.*, 2007).

De acordo com o período pós-parto, o leite materno pode ser classificado como leite colostro, leite de transição e leite maduro (NASCIMENTO; ISSER, 2003; NATIONAL ACADEMY PRESS, 1991).

O colostro é um fluido amarelado de alta densidade e de pequeno volume, secretado entre o parto e 7º dia (NASCIMENTO; ISSER, 2003; NATIONAL ACADEMY PRESS, 1991). Sua coloração amarelada se deve a concentrações elevadas de vitamina A e carotenóides (NATIONAL ACADEMY PRESS, 1991). O colostro também é rico em outras proteínas, minerais e fatores de defesa como, as imunoglobulinas e os leucócitos (NASCIMENTO; ISSER, 2003; NATIONAL ACADEMY PRESS, 1991).

Na fase de transição que é do 7º ao 21º dia pós-parto (NAP, 1991), há uma diminuição na concentração de vitaminas (KAMOA *et al.*, 2007), imunoglobulinas e proteínas e um aumento na concentração de lactose e gordura, o que resulta no aumento do conteúdo energético do leite (NASCIMENTO; ISSER, 2003).

O leite maduro é uma mistura homogênea constituída de três frações: a solução aquosa com a maioria das proteínas, oligossacarídeos e nutrientes como a lactose, citrato, fosfato e cálcio; uma fase suspensa, constituída por micelas de caseína em suspensão; e a emulsão formada pelos glóbulos de gordura, que são gotículas de gordura envoltas por fosfolipídios, algumas proteínas e vitaminas lipossolúveis (MCMANAMAN; NEVILLE, 2003).

A concentração de retinol e carotenóides no leite materno varia durante o período de lactação de acordo com o estado de maturação do leite. A fase do colostro é relatada como sendo a de maior concentração de vitamina A e essa concentração reduz progressivamente atingindo certa estabilidade a partir da fase do leite maduro. Nesse momento a concentração pode chegar à metade dos níveis iniciais (GOMES; SAUNDERS; ACCIOLY, 2005). Além de variar quanto ao estágio de lactação, acredita-se que o teor de vitamina A no leite materno possa ser também influenciado pelo

momento da mamada, composição corporal e atividade de alguns minerais na glândula mamária (ALENCAR *et al.*, 2002, BADMAN; FLIER, 2007; GRAHAM *et al.*, 2006; RIBEIRO; DIMENSTEIN, 2004).

A ingestão recente de nutrientes pode também influenciar na composição do leite. Alguns estudos mostram que o retinol no leite responde melhor à suplementação, mas não se correlacionam com os níveis de retinol no soro nem com a condição clínica, principalmente em situações de deficiência estabelecida de vitamina A (retinol < 10ug/dL no soro) (RIBEIRO *et al.*, 2007). Além disso, o retinol do leite ainda não foi validado como indicador do estado nutricional, nem existem faixas validadas de normalidade. O que há é a sugestão de que concentrações menores que 1,1 micromol/L (30ug/dL) no leite poderiam não ser suficientes para acumular reservas adequadas no recém-nascido até o momento do desmame (em torno dos 6 meses) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

1.1.9.1 Transferência de vitamina A para o leite materno e impacto da suplementação com palmitato de retinila

A vitamina A pode ser transferida da mãe para a criança por duas vias: passagem através da placenta e secreção do leite. Normalmente a vitamina A é transferida da mãe para o filho sessenta vezes mais durante seis meses de lactação, que a acumulação realizada pelo feto em nove meses de gestação (STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995).

As reservas de vitamina A do recém nascido podem ser influenciadas pelo estado nutricional da mulher durante e anterior à gestação. Dessa forma, crianças de gestantes com deficiência desse micronutriente podem nascer com estoque restrito. Deve-se levar em consideração também que deficiência de zinco, desnutrição materna e situações que ativam uma resposta de fase aguda podem limitar o transporte de vitamina A para o leite materno (RASMUSSEN, 1998).

O mecanismo de transferência da vitamina A para o leite vem sendo estudado em modelos animais, mas o mecanismo ainda não é completamente entendido em

humanos. A vitamina A é transferida ao leite através de duas fontes, retinol:RBP e quilomícrons. Sugere-se que em condições de ingestão basal de vitamina A, cerca de 70% dessa vitamina seja transferida ao leite via RBP plasmática; e 30% via quilomícrons. Portanto, as reservas hepáticas de vitamina A materna são suficientes para manter a secreção constante de holo-RBP, forma principal de transferência da vitamina A presente no leite (ROSS, 2004).

Entretanto, (O`BYRNE, 2006) em estudo com ratos mutantes, afirmaram que a RBP não é essencial na transferência de retinol ao leite materno, sugerindo que a vitamina A pode ser adquirida exclusivamente da dieta e que a Lipase Lipoprotéica (LPL) é uma enzima essencial no processo de captação do retinol pós-prandial ao leite. Este efeito é garantido pelo aumento da atividade da LPL no tecido mamário durante o parto e lactação. Sugere-se que a LPL pode ser responsável pela hidrólise de ésteres de retinila derivados de quilomícrons, permitindo a transferência do retinol as células alveolares, ou que sua ligação com os quilomícrons poderia favorecer a internalização através do reconhecimento de receptores celulares de superfície, entre outros mecanismos (BENNEKUM *et al.*, 1999).

Sendo assim, dados da literatura indicam que a vitamina A secretada no leite materno pode chegar à glândula mamária tanto ligada a RBP advinda dos tecidos de reserva desta vitamina, como por meio dos quilomícrons pós-prandiais (figura 5).

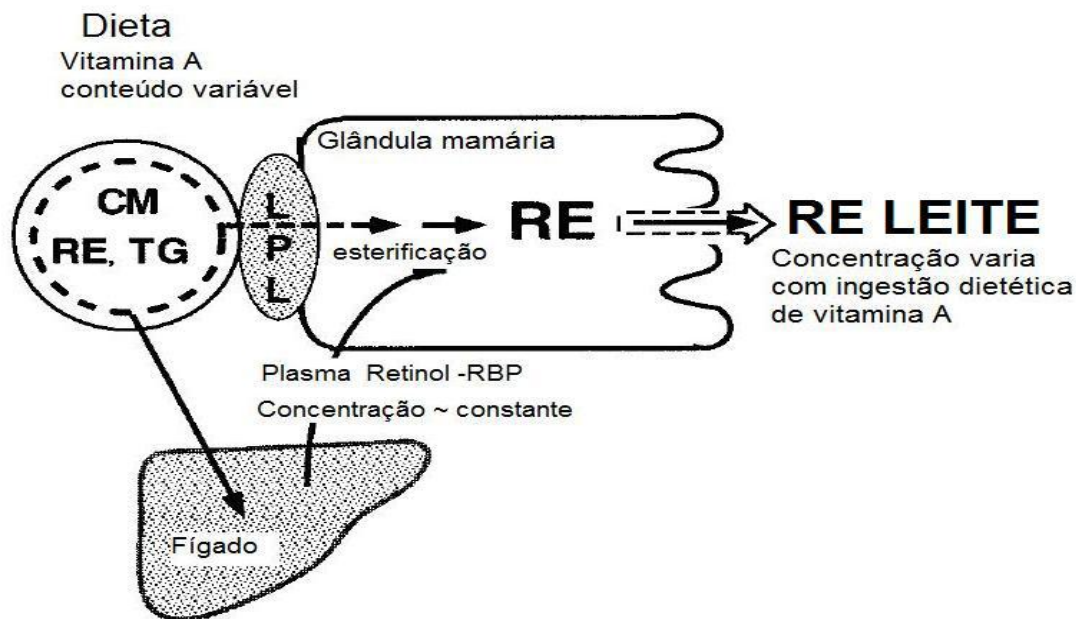


Figura 5. Transporte da vitamina A para a glândula mamária (Fonte: Adaptado de ROSS, 2004).

Desde 1983 o Brasil vem efetuando a distribuição de doses maciças de vitamina A. Contudo, foi a partir de dezembro de 1994 que a distribuição desse micronutriente foi intensificada através da instituição do Programa Nacional de Controle da Deficiência de vitamina A. Em 2002, o Ministério da Saúde lançou um projeto com o objetivo de ampliar o programa para o grupo de puérperas, através da aplicação de 1 megadose de vitamina A (200 000 UI) por via oral no pós-parto imediato - momento da alta hospitalar. A atual dose recomendada de 200 000 UI de retinol palmitato no pós-parto deve permitir a uma mulher saudável manter suas reservas hepáticas enquanto produz leite com concentrações normais de vitamina A por 60 dias. Este cálculo considera um bom estado inicial de vitamina A, boa saúde, consumo dietético adequado para suprir as necessidades basais para a vitamina e requerimento adicional de 500 RAE (Atividade Equivalente de Retinol)/dia devido à lactação (RICE *et al*, 1999).

Nosso grupo vem realizando estudos sistemáticos sobre os efeitos da suplementação materna com megadose de palmitato de retinila sobre o leite materno (BEZERRA *et al.*, 2009; LOURENÇO, 2005; RIBEIRO, 2007) e duas situações foram constatadas: 1- Grande variabilidade do retinol no colostro e 2- Eficácia limitada em

dupla suplementação com retinol palmitato para intervalos menores do que 48 horas, considerando a primeira megadose (200.000 UI de palmitato de retinila) 24 horas após o parto e a segunda 24 horas após a primeira megadose.

Quando comparada à administração de uma ou mais doses desta vitamina ao infante, o uso de suplementação nas lactantes com altas doses de vitamina A (200.000 UI) logo após o parto passa a ser considerada a alternativa mais segura para melhorar o estado nutricional em lactentes abaixo de seis meses de idade. Além do mais, tanto a mãe quanto a criança são beneficiadas com a megadose (WORLD HEALTH ORGANIZATION/UNICEF/IVACG, 1997).

O impacto da suplementação de vitamina A durante a lactação como medida terapêutica e profilática tem sido examinado em alguns estudos. (OLIVEIRA, 2006) conduziu uma revisão sistemática sobre os efeitos da suplementação de vitamina A para lactantes. Entre seus achados, ela concluiu que há indicação de que a suplementação materna esteja relacionada à manutenção do teor adequado de retinol no leite materno até o sexto mês pós-parto.

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 (BHASKARAM et al., 2000; DARBOE *et al.*, 2007; DIMENSTEIN et al., 2007; RICE et al., 1999). Além disso, um estudo realizado na Indonésia demonstrou que o efeito protetor do aleitamento materno contra a deficiência subclínica de vitamina A foi observado apenas em crianças de mães suplementadas com megadoses de vitamina A (SIGHT; LIFE, 1997). Além disso, uma pesquisa com ratos demonstrou que a vitamina A estava presente no leite mesmo dos animais que receberam uma quantidade de vitamina A muito baixa da dieta. Esse balanço deve ocorrer devido à presença da holo-RBP advinda dos tecidos de reserva. Esse estudo demonstra também um aumento na concentração de vitamina A no leite de ratas suplementadas (DAVILA, 1985). Segundo (ROSS, 2004) esse aumento na secreção de vitamina A em animais suplementados é feito pelos quilomícrons. Como os tecidos mamários de lactantes também contem ARAT, a vitamina A dietética transferida durante a hidrólise lipídica dos quilomícrons poderia ser reesterificada para a secreção preferencial no leite ou ser estocada em células

epiteliais do tecido mamário (ROSS, 2004). Assim ingestões crescentes da vitamina A ou sua suplementação aumentarão a contribuição dos quilomícrons em relação ao transporte de vitamina A para o leite materno (GREEN *et al.*, 2001).

Pouco se sabe sobre o mecanismo de transporte da vitamina A para a glândula mamária em humanos e sobre a concentração dessa vitamina em condição pós-prandial em lactantes. Desse modo, a avaliação da concentração de vitamina A no soro e leite maternos, nos momentos iniciais da lactação, seja em condições de jejum ou pós-prandial (com e sem suplementação), poderão ajudar no entendimento do transporte da vitamina A para a glândula mamária e como se comporta a concentração desse nutriente antes e após a alimentação e suplementação. Além disso, essas informações podem auxiliar na identificação de situações de risco e contribuir na avaliação da eficácia das atuais estratégias de intervenção no combate a carências nutricionais.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a influência da suplementação com 200.000 UI de palmitato de retinila sobre a concentração de retinol no colostro materno, em condições de jejum e pós-prandial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a. Avaliar a concentração de retinol no colostro, no jejum, em condições basais e de suplementação com 200.000UI de palmitato de retinila;
- b. Avaliar a concentração de retinol no colostro, no estado pós-prandial, em condições basais e em condições de suplementação com 200.000UI de palmitato de retinila;
- c. Dosar retinol sérico das nutrizes e estabelecer o estado nutricional bioquímico em vitamina A das lactantes;
- d. Dosar a proteína C reativa no soro das nutrizes e correlacionar com a concentração do retinol presente no soro materno;
- e. Investigar a relação entre a concentração de retinol obtido no leite, durante os estágios iniciais da lactação, com a concentração do retinol sérico.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 SUJEITOS

O estudo foi do tipo transversal e a amostragem foi obtida por conveniência, composta por nutrizes voluntárias, atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco (Natal-RN). O estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Onofre Lopes (CEP - HUOL) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (protocolo nº 284/09) (Apêndice A). As nutrizes recrutadas foram esclarecidas sobre os objetivos da pesquisa e autorizaram sua inclusão no estudo ao assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndices B).

O cálculo do tamanho da amostra foi feito com base em métodos probabilísticos objetivando testar hipóteses unilaterais de comparação de médias do Retinol do tipo $H_0 : \mu_1 = \mu_2$ versus $H_1 : \mu_1 < \mu_2$ em um experimento clínico Comparação x Teste. A precisão da amostra foi estabelecida impondo um poder de 80% na detecção de um aumento mínimo de 30% no nível médio do Retinol do grupo teste em relação ao controle, com nível de significância de 5%. Os cálculos foram feitos com base em dados empíricos obtidos em pesquisa similar (AYAH *et al.*, 2007) na qual se observou um aumento relativo em torno de 90% nos níveis de retinol. Assim, a amostra global ficou dimensionada em 149 nutrizes sendo os grupos – Comparação $n = 69$ e Teste $n = 80$. Foi considerada perda de continuação de 25%.

Foram incluídas no estudo apenas mulheres sem patologias (diabetes, neoplasias, doenças do trato gastrintestinal e hepática, cardiopatias, infecciosas, sífilis e HIV positivo), que tiveram partos a termo e concepto único sem má-formação e que afirmaram não fazer uso de suplementos vitamínicos contendo vitamina A durante a gestação.

As mulheres foram divididas em grupo de comparação (C) e grupo teste (T). O grupo teste foi subdividido em teste jejum e pós-prandial (sem suplementação) e teste jejum e pós-prandial (com suplementação com uma megadose de vitamina A). Foram

coletadas amostras de sangue, leite colostro em jejum e leite colostro pós-prandial das mulheres que participaram do estudo.

3.2 COLETA DE DADOS

Os dados do pré-natal e informações sobre o parto foram coletados do prontuário, do cartão de acompanhamento do pré-natal de cada parturiente e através de questionário aplicado pelos pesquisadores (Apêndice C). As informações adquiridas através do formulário aplicado pelos pesquisadores correspondiam à idade materna, idade gestacional, história reprodutiva (número de gestações anteriores), uso de medicamentos ou suplementos contendo vitamina A, presença de diarreia durante a gestação, presença de aleitamento durante a gestação, tipo de parto (normal ou cesáreo), sexo, peso e comprimento do recém-nascido.

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).

A informação sobre a quantidade de vitamina A ofertada através da dieta foi obtida pela análise quantitativa do desjejum no cardápio semanal fornecido pela maternidade, a partir de tabela de composição alimentar (PHILIPPI, 2002). Os valores foram expressos em micrograma/dia, sendo calculadas as médias diárias e semanais do desjejum. A adequação do provável consumo alimentar de vitamina A foi baseada nas DRIs (Dietary Reference Intakes) ou Ingestão Alimentar de Referência da vitamina A (FOOD & NUTRITION BOARD, 2000) para lactantes, que equivale a 1300 µg/dia.

3.3 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

Após esclarecimento dos objetivos da pesquisa e obtida a autorização através do TCLE, foram coletados 5 mL de sangue das pacientes, no primeiro dia pós-parto, antes da primeira refeição do dia e armazenado em tubo de polipropileno protegido da luz. Em seguida, foram coletados 2 mL do colostro também em jejum. Novo colostro foi coletado 3 horas após a refeição. Após essa coleta foi administrada uma cápsula de 200.000 UI ou 60 mg de palmitato de retinila. No dia seguinte foram realizadas mais duas coletas do colostro antes e após o café da manhã (figura 6). O colostro foi obtido por expressão manual de uma única mama.

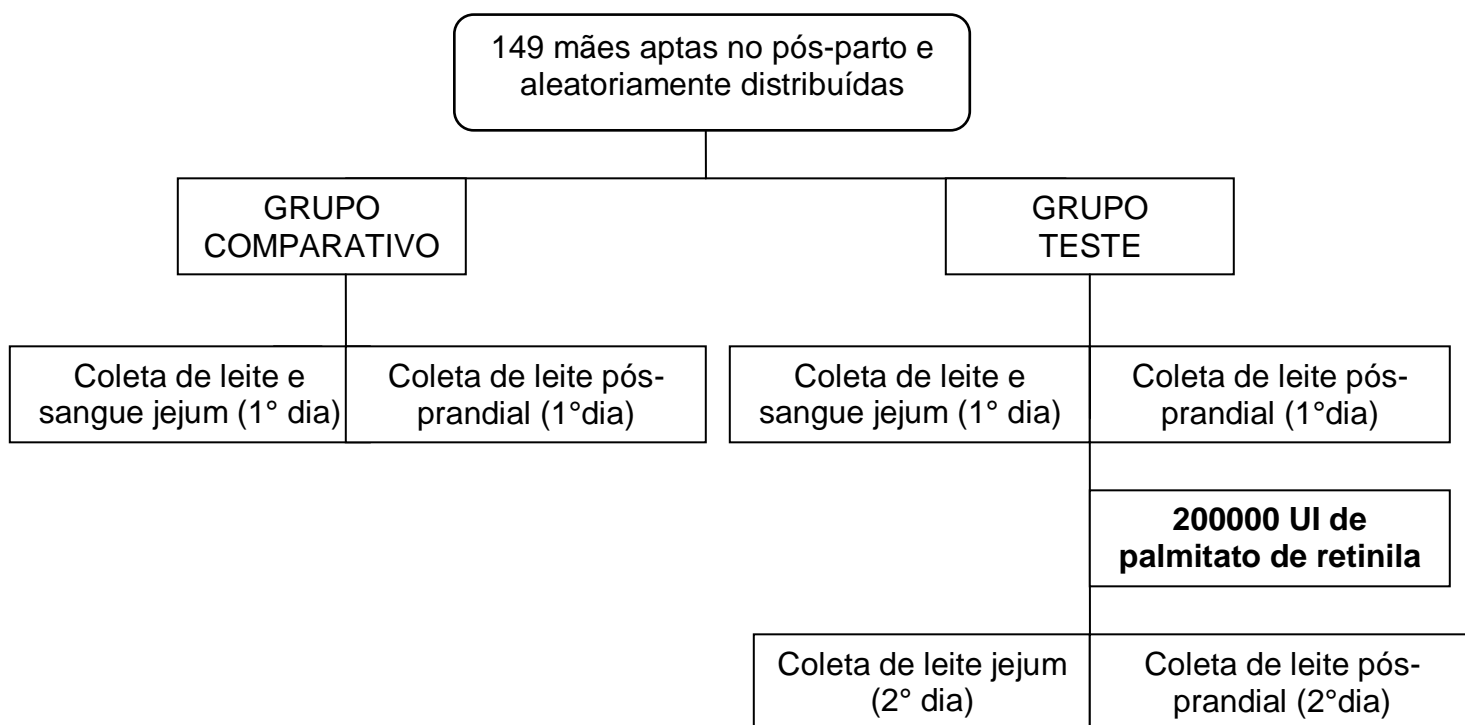


Figura 6. Esquema ilustrativo das coletas de material biológico dos grupos comparativo e teste.

As amostras de colostro e sangue foram transportadas sob refrigeração ao Laboratório de Pesquisa em Bioquímica da Nutrição, Departamento de Bioquímica do Centro de Biociências (UFRN) e armazenadas a -20°C até o momento das análises. As

alíquotas de sangue foram centrifugadas por 10 minutos (500xg) para separação e remoção do soro.

3.4 QUANTIFICAÇÃO DO RETINOL NO SORO E LEITE MATERNOS

3.4.1 Hidrólise alcalina e extração do retinol no colostro

O retinol das amostras de colostro foi extraído segundo adaptação do método de (GIULIANO *et al*, 1992) conforme descrito a seguir. Foram acrescentados nas amostras 1 mL hidróxido de potássio 50% v/v (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e 500 µL de álcool etílico 95% (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) em 500 µL das amostras de leite para a etapa de hidrólise alcalina. Em seguida, o retinol das amostras foi extraído com hexano (Merck, São Paulo, Brasil). Após cada adição de 2 mL do hexano, as amostras foram agitadas durante 1 minuto e centrifugadas a (500x g) por 10 minutos e a camada hexânica removida para outro tubo. Este processo ocorreu por três vezes e do total extraído, foram utilizadas alíquotas de 3 mL da fase hexânica. As alíquotas foram evaporadas sob atmosfera de nitrogênio em banho-maria a 37°C. No momento da análise, o extrato foi redissolvido em 500 µL de Etanol absoluto (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e 20 µL foram aplicados no aparelho Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (figura 7).

3.4.2 Extração do retinol no soro

O retinol das amostras de soro foi extraído 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, São Paulo, Brasil) para precipitação das proteínas, seguida por extração com 6 mL de hexano (Merck, São Paulo, Brasil) e evaporação do extrato sob atmosfera de nitrogênio, em banho-maria a 37°C. No momento da análise, o extrato foi

redissolvido em 500 μL de Etanol absoluto (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e 20 μL foram aplicados no aparelho CLAE.

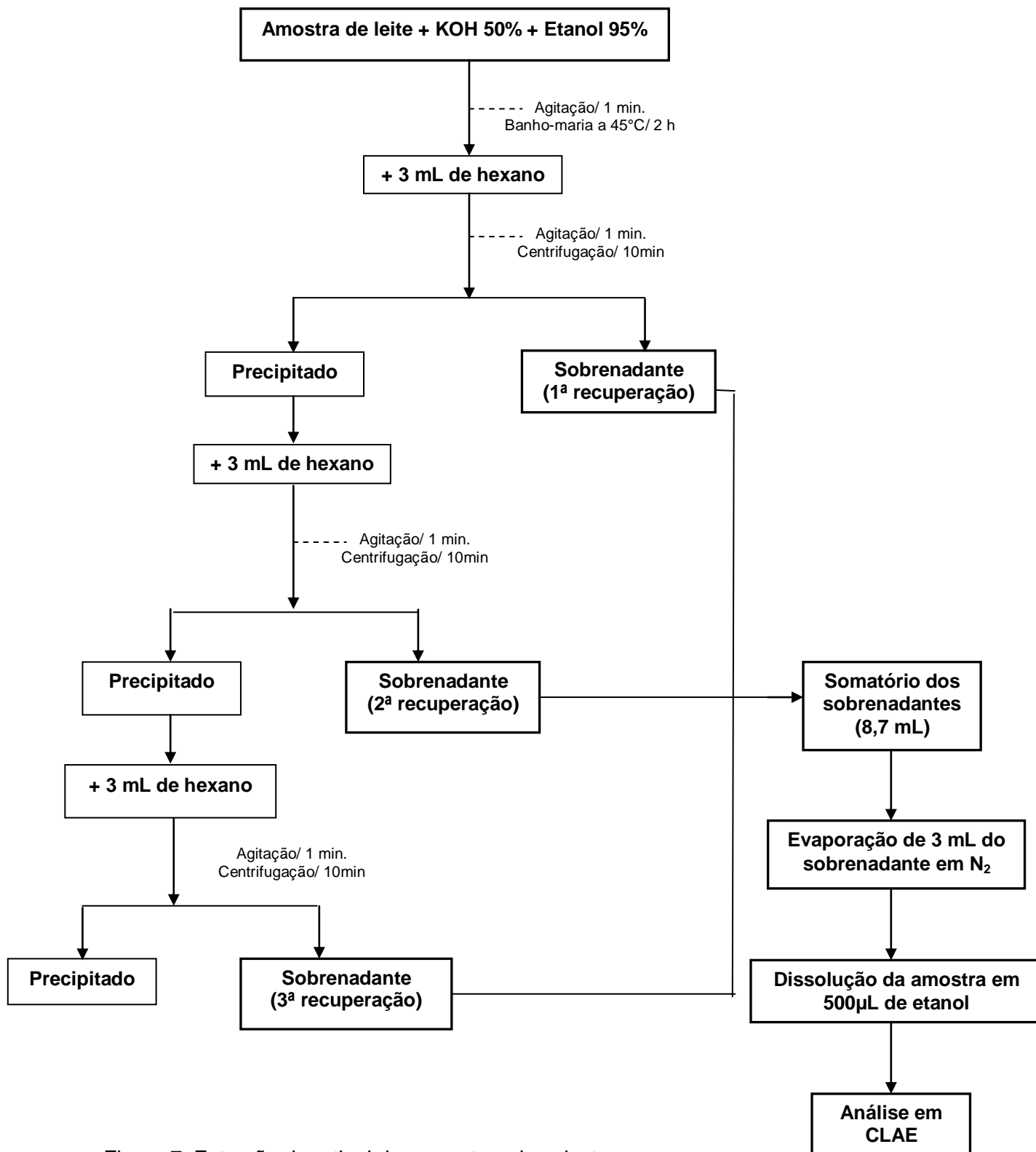


Figura 7. Extração de retinol das amostras de colostro.

3.4.3 Condições cromatográficas

A concentração de retinol no soro e leite maternos 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 e soro foi metanol 100%, 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.

A identificação e quantificação do retinol nas amostras foi estabelecida por comparação da respectiva área do pico obtido no cromatograma com a área do padrão de retinol – SIGMA, St. Louis, USA (figura 8a). A concentração do padrão foi confirmada pelo coeficiente de extinção específico para retinol (E 1%, 1 cm = 1850 a 325nm) (NIERENBERG, 1992) em etanol absoluto (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil).

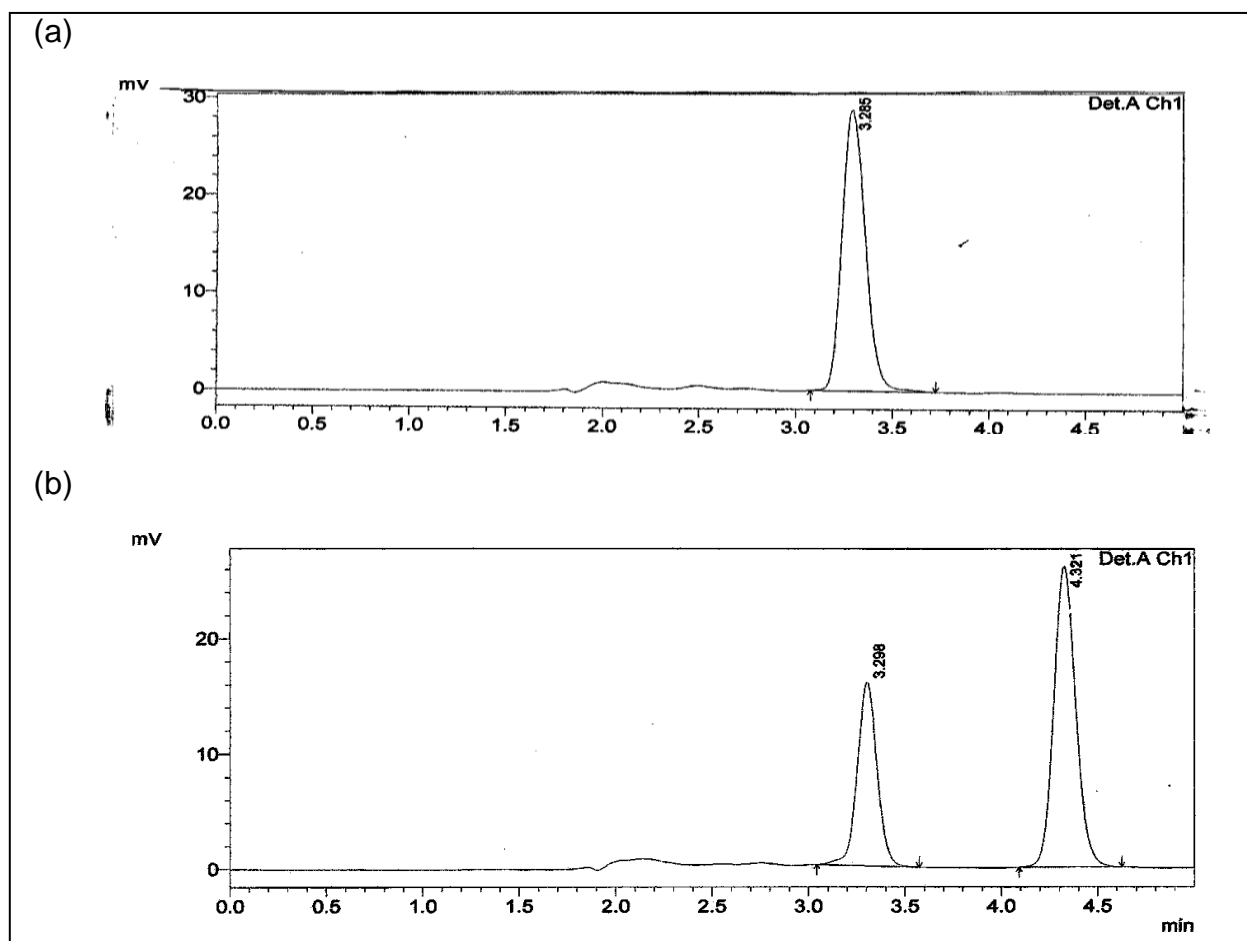


Figura 8. Perfil do padrão de referência para retinol em cromatografia, tempo de retenção de 3,2 minutos (a). Identificação do retinol (à esquerda) e retinol acetato (à direita), em amostras de leite humano, tempo de retenção de 3,2 e 4,3 minutos, respectivamente (b).

3.4.4 Linearidade, exatidão e precisão dos métodos

Curvas analíticas foram construídas usando o padrão de retinol em diferentes concentrações. O cálculo das concentrações de retinol foi baseado nestas curvas.

A linearidade da curva foi determinada avaliando-se a proporcionalidade entre a resposta do detector e as concentrações do padrão. Para tal finalidade foram preparadas a partir do padrão de leitura, padrões de aplicação nas concentrações de 0.47, 0.94, 1.89, 3.78, 7.56, 15.12, 31.52, 63.04, 126.08 ng/ μ l. A curva de calibração, obtida por regressão linear (área do pico *versus* concentração do padrão), utilizando-se

nove pontos de concentração da solução padrão apresentou boa linearidade. Um coeficiente de correlação acima de 0,990 foi obtido possibilitando desta forma a quantificação do retinol pelo método do padrão externo (figura 9).

A exatidão do método (porcentagem de recuperação) foi determinada adicionando-se quantidades conhecidas do padrão de retinol acetato (29,7 g/ 20µl) em cinco amostras de leite humano (8b). Foram adicionados 0,5 mL de etanol absoluto para precipitação das proteínas e às demais etapas propostas pelo método são as seguintes: três extrações com hexano (2mL em cada extração), evaporação de uma alíquota de 3 mL do extrato hexânico a 37°C sob atmosfera de nitrogênio, diluição em 500µl de etanol absoluto grau HPLC e dosagem do retinol por CLAE com metanol como sua fase móvel.

As recuperações obtidas para o retinol nas amostras de leite humano estavam na faixa de 92 a 105%, indicando assim uma exatidão confiável na metodologia utilizada. Intervalos aceitáveis de recuperação geralmente estão entre 80 e 110% (PINTO; JARDIM, 2000). Nas amostras de soro observou-se que a recuperação do retinol acetato também foi eficaz (95%), as amostras variaram de 91 a 99,9%.

A precisão dos métodos foi avaliada através do teste de repetitividade, onde foram utilizadas cinco alíquotas de uma amostra de leite que passaram pelas etapas de extração delineadas anteriormente. A avaliação foi realizada durante cinco dias alternados e após dosagem em CLAE foi encontrado coeficiente de variação equivalente a 1,9%.

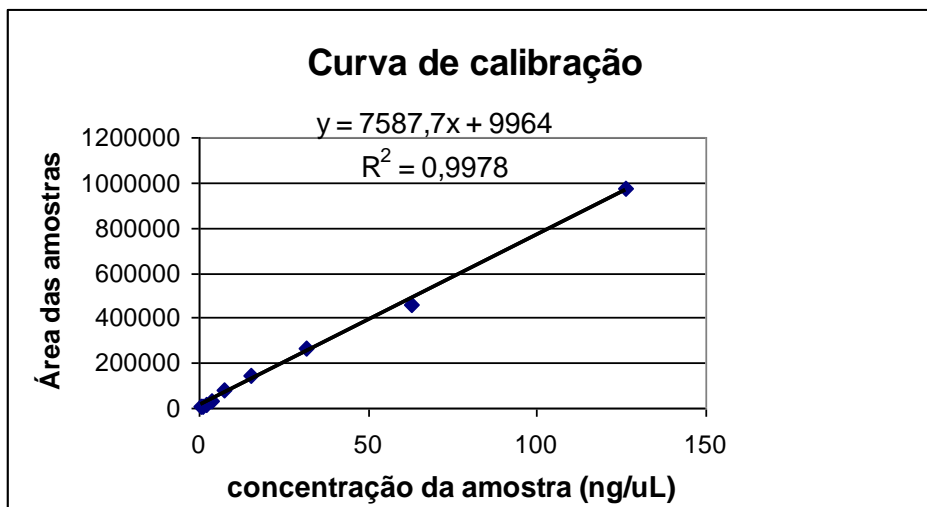


Figura 9. Curva de calibração do padrão de retinol em diferentes concentrações (0,47 a 126,08 ng/20 μ l). No centro, equação da reta e coeficiente de regressão linear.

3.5 ANÁLISE DA PROTEÍNA C REATIVA (PCR)

Na determinação da Proteína C Reativa (PCR) foi utilizado o kit comercial (Bio-látex PCR, Bioclin). O método de látex fundamenta-se em uma reação de aglutinação de partículas de látex recobertas com Gama-globulina anti-PCR.

Em uma placa de fundo escuro, contendo círculos separados para cada reagente, foram acrescentados 20 μ L de látex PCR, que contém partículas de látex sensibilizadas, em suspensão; 20 μ L de controle positivo, que contém soro com concentração igual ou superior a 6 mg/L, Azida sódica 15,38 mmol/L; 20 μ L de controle negativo, que contém soro com concentração inferior a 6 mg/L, Azida sódica 15,38 mmol/L e 20 μ L de soro correspondente a cada amostra. As amostras e os reagentes foram homogeneizados com o auxílio de uma espátula, utilizando toda extensão de cada círculo da lâmina. Logo após, a lâmina foi agitada com movimentos circulares por dois minutos. Em seguida, foi efetuada a leitura com luz artificial.

A aglutinação foi visível em amostras com concentrações de PCR igual ou superior a 6 mg/L, de acordo com as referências estabelecidas pelos Padrões Internacionais da Organização Mundial de saúde.

Em caso de amostras positivas para PCR foi realizada a prova semiquantitativa, onde foram utilizadas diluições da amostra com salina (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 etc). Foi considerada a concentração com maior diluição do soro que apresentou aglutinação.

3.6 VALORES DE REFERÊNCIA

A concentração de retinol no soro e colostro foram expressas em $\mu\text{g/dL}$. Valores menores que $60 \mu\text{g/dL}$ para leite colostro (MACIAS & SCHWEIGERT, 2001) foram considerados indicativos de baixa concentração de retinol. A deficiência de vitamina A materna foi definida quando encontrado concentrações no soro $\leq 20 \mu\text{g/dL}$ (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Segundo critérios adotados pela Organização Mundial de Saúde para classificar a magnitude do problema, a carência foi determinada como um grave problema de saúde pública quando encontrada prevalência acima de 15% de valores baixos de retinol no soro e leite materno (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística foi utilizado o software Statistica 7. Os valores de retinol foram expressos em média e desvio padrão. Para testar as diferenças entre as médias dos dados numéricos paramétricos foi utilizado o teste t de Student. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. A associação entre variáveis contínuas (concentração de nutrientes no leite e soro) foi determinada pela análise de correlação de Pearson.

4 RESULTADOS

As características gerais das nutrizes estudadas encontram-se na tabela 1, cuja idade média total correspondeu a $24,7 \pm 7,5$ anos. Um total de 62 mães foi categorizado como primíparas, das quais 24 eram do grupo de comparação e 38 do grupo teste. Das mulheres inseridas no estudo foi apresentado o predomínio de parto tipo Cesáreo (58,8%). A maioria apresentou peso normal durante a gestação (54,5%). Pode-se observar que 82,8% das puérperas utilizaram suplemento durante a gestação. Das mulheres inseridas no grupo de comparação, 86,4% não estavam amamentando durante a gestação, enquanto no grupo teste, 92,5% destas não estavam amamentando e que a maioria não apresentou diarreia durante o período de gestação (70,5%). As características das nutrizes foram semelhantes entre os grupos ($p>0,05$).

Tabela 1 - Características gerais do binômio mãe-filho arroladas para o estudo realizado na Maternidade Escola Januário Cicco.

Características	Grupo comparação (n = 69)	Grupo Teste (n = 80)	Total (n = 149)
Materna			
Idade (anos)	24,9 ± 7,1 ^a	24,4 ± 7,9 ^a	24,7 ± 7,5 ^a
Paridade (número de filhos)	2,4 ± 2,1 ^a	2,1 ± 1,8 ^a	2,3 ± 2,0 ^a
Tipo de parto			
Normal [n (%)]	33 (47,8)	28 (35,4)	61 (41,2)
Cesáreo [n (%)]	36 (52,2)	51 (64,6)	87 (58,8)
Estado nutricional materno			
Baixo peso [n (%)]	3 (4,9)	4 (6,5)	7 (5,7)
Normal [n (%)]	42 (68,9)	25 (40,3)	67 (54,5)
Sobrepeso [n (%)]	16 (26,2)	33 (53,2)	49 (39,8)
Utilização de suplementos na gestação			
Mulheres que utilizaram [n (%)]	53 (81,5)	67 (83,75)	120 (82,8)
Mulheres que não utilizaram [n (%)]	12 (18,5)	13 (16,25)	25 (17,2)
Amamentação durante a gestação			
Amamentou [n (%)]	9 (13,6)	6 (7,5)	15 (10,3)
Não amamentou [n (%)]	57 (86,4)	74 (92,5)	131 (89,7)
Apresentou diarreia durante a gestação			
Apresentou	23 (34,8)	20 (25)	43 (29,5)
Não apresentou	43 (65,2)	60 (75)	103 (70,5)
RN			
Peso (kg)	2,9 ± 0,6 ^a	2,9 ± 0,6 ^a	2,9 ± 0,6 ^a
Idade gestacional (semanas)	37,8 ± 2,4 ^a	39 ± 2 ^a	38 ± 2,2 ^a

RN = recém-nascido; a = média ± desvio padrão.

Foram coletadas amostras de 149 nutrizes. Dessas mulheres, 132 foram analisadas quanto ao estado nutricional bioquímico em vitamina A. Apenas 37 do grupo de comparação e 58 do grupo teste foram incluídas nos resultados do efeito da alimentação e suplementação, porque estavam pareadas em relação ao soro, colostro de jejum e colostro pós-prandial. Das 58 mulheres do grupo teste, apenas 45 participaram do grupo teste suplementado, pois algumas mulheres deixaram a maternidade antes da coleta do colostro suplementado.

Não foi encontrada diferença estatística entre o grupo de comparação e o grupo teste sem suplementação ($p > 0,05$), conferindo legitimidade ao presente estudo.

Foi realizada uma análise com relação à dieta das nutrizes na maternidade e a quantidade média semanal de vitamina A ofertada no desjejum foi de 202,46 (tabela 2).

Tabela 2: Quantidade média de vitamina A ofertada no desjejum das pacientes (μg)

DESJEJUM (VA)	
Segunda	223,08
Terça	185,49
Quarta	194,05
Quinta	182,90
Sexta	240,65
Sabado	206,40
Domingo	184,65
Média total	202,46

VA = vitamina A

Avaliando-se as mulheres ($n = 132$) quanto ao estado nutricional bioquímico em vitamina A, encontrou-se uma concentração média de retinol sérico de $41,6 \pm 15,1$ $\mu\text{g/dL}$, considerada adequada de acordo com os valores de referência (20 $\mu\text{g/dL}$) (tabela 3). Foi encontrada uma porcentagem de 4,5% das mulheres com concentração de retinol abaixo da normalidade.

Tabela 3. Concentração de retinol nas amostras de soro

GRUPO	RETINOL SÉRICO ($\mu\text{g/dL}$)
Teste	$43 \pm 13,6$
Comparativo	$40,3 \pm 16,6$
Valor de referência*	20

* WHO, 1996

A Proteína C reativa foi analisada em 71 mulheres e os valores apresentaram uma concentração média de $26,5 \pm 24$ mg/L, onde 94% dessas mulheres estavam com valores sanguíneos altos, segundo a referência do teste utilizado (6 mg/L). Não foi encontrada correlação entre a PCR e os níveis séricos de retinol ($p=0,50$) (tabela 4).

A concentração média de retinol no leite colostro do grupo de comparação ($n=37$) foi adequada tanto na condição de jejum ($87,4 \pm 42,1$ $\mu\text{g/dL}$), quanto em condição pós-prandial ($91,8 \pm 44,4$) considerando o ponto de corte de 60 $\mu\text{g/dL}$. No entanto, foram encontradas porcentagens de 35,1% (jejum) e 27% (pós-prandial) das mulheres com concentração de retinol no colostro abaixo da normalidade. A concentração de retinol no colostro não foi influenciada pelos níveis séricos de retinol, em nenhuma das condições estabelecidas (tabela 4).

Tabela 4. Correlações entre o retinol no soro, retinol no leite e Proteína C Reativa.

VARIÁVEIS	Correlação de Pearson ^a	
	r	p
Retinol soro x retinol leite sem suplementação/jejum ($\mu\text{g/dL}$)	0,02	0,86
Retinol soro x retinol leite sem suplementação/pós-prandial ($\mu\text{g/dL}$)	0,19	0,16
Retinol soro x retinol leite suplementado/jejum ($\mu\text{g/dL}$)	0,00	0,98
Retinol soro x retinol leite suplementado/pós-prandial ($\mu\text{g/dL}$)	-0,02	0,89
Retinol soro x PCR	-0,08	0,50

^a r = coeficiente de correlação; p = nível de significância.

No colostro, a concentração do retinol no grupo teste sem suplementação no jejum foi de $67,3 \pm 37,7 \mu\text{g/dL}$ e de $80,3 \pm 35,1 \mu\text{g/dL}$ no pós-prandial ($p < 0,05$), evidenciando um aumento de 19,3%. No grupo teste suplementado os valores foram de $102,6 \pm 57,3 \mu\text{g/dL}$ e $133,4 \pm 78,3 \mu\text{g/dL}$ no jejum e pós-prandial, respectivamente ($p < 0,05$) representando um aumento de 30% após a refeição (Tabela 6).

Tabela 5: Efeito da alimentação e suplementação na concentração de retinol no colostro de puérperas do grupo teste sem suplementação ($n = 58$) e grupo teste suplementado ($n = 45$).

	Grupo sem suplementação	Grupo suplementado
Jejum	$67,30 \pm 37,7 \mu\text{g/dL}^a$	$102,6 \pm 57,3 \mu\text{g/dL}^a$
Pós-prandial	$80,30 \pm 35,1 \mu\text{g/dL}^b$	$133,4 \pm 78,3 \mu\text{g/dL}^b$

^{ab} Diferença estatisticamente significativa entre o colostro jejum e pós-prandial do grupo sem suplementação ($p=0,004$) e grupo suplementado ($p=0,002$) Teste t de Student para amostras dependentes; ^{aa} Diferença estatisticamente significativa entre o colostro jejum do grupo sem suplementação e grupo suplementado ($p=0,001$) Test t de Student para amostras independentes; ^{bb} Diferença estatisticamente significativa entre o colostro pós-prandial sem suplementação e suplementado ($p=0,0001$) Test t de Student para amostras independentes.

5 DISCUSSÃO

A melhor fonte de vitamina A para o recém-nascido é o leite materno, sendo fornecedor de energia e nutrientes em quantidades apropriadas para uma boa nutrição nos primeiros meses de vida (MAHAN; ESCOTT-STUMP 2002). A secreção de vitamina A no leite materno está diretamente relacionada ao estado de nutrição da mãe, ressaltando-se que os recém-nascidos têm baixos estoques dessa vitamina. 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).

Nesse estudo, a idade média das participantes foi de 24 anos, onde 5,7% tiveram baixo peso, 54,5% peso normal e 39,8% sobrepeso. Essa alta porcentagem de gestantes com sobrepeso pode ser devido ao fato de que no último trimestre de gestação ocorre um aumento das reservas energéticas no organismo da mãe para atender a demanda calórica necessária para secreção do leite. Esse acúmulo energético ocorre principalmente na forma de gordura periférica e visceral que ocasiona a elevação do índice de massa corporal (IMC) (DOREA, 1997). 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.

O grupo das nutrizes era composto predominantemente por adultas com algumas características semelhantes às populações estudadas em Bangladesh (RICE *et al.*, 2000), Tailândia (PAPANICH, 2002) Rio de Janeiro (MENESES; TRUGO, 2005) e Campinas-SP (VITOLLO *et al.*, 1999).

(MENESES; TRUGO, 2005) sugerem que a paridade pode influenciar os níveis de retinol no leite quando a lactação prévia proporciona uma alta mobilização das reservas de retinol e alta transferência à glândula mamária. Porém, nesse trabalho a paridade e

outras características maternas não influenciaram os níveis de retinol nem em condições basais, nem em condições de suplementação.

Até o final da gravidez, um adequado estado nutricional com relação à ingestão de vitamina A e uma dieta balanceada são importantes para garantir a transferência de nutrientes para o feto, preparando-o para o nascimento e o período de amamentação. A vitamina A cumpre um papel essencial neste período, uma vez que está intimamente envolvida em processos de grande proliferação e crescimento celular como os da gravidez, lactação e primeira infância (UNDERWOOD, 1994).

Analisando os resultados e relacionando-os com a Referência de Ingestão Dietética (DRI) da vitamina A, verifica-se que a quantidade média total no desjejum provavelmente ingerida pelas nutrizes representa 16% do aporte dietético diário (1300µg), recomendado pelo Instituto de Medicina. Um controle adequado da ingestão de vitamina A pelas lactantes deve ser adotado, pois as deficiências nutricionais da nutriz podem contribuir para a manutenção de baixas reservas de nutrientes nos lactentes, aumentando as chances para o desenvolvimento de carências nutricionais nos primeiros anos de vida, período em que há maior prevalência de agravos à saúde infantil (CANADIAN PAEDIATRIC SOCIETY, 1995; OLIVARES & UAUY, 1996).

Os valores médios de retinol no soro das mulheres estudadas ($41,6 \pm 15,1$ µg/dL) estão de acordo com o encontrado na Indonésia (STOLTZFUS, 1993), Alemanha (SCHULZ *et al.*, 2007), Espanha (ORTEGA *et al.*, 1997) e Bangladesh (RICE *et al.*, 2000). Inferiores aos níveis de mulheres da região Sudeste do Brasil (MENESES; TRUGO, 2005); e superiores ao apresentado em lactantes da África (SEMBA *et al.*, 2000) (figura 10). Foi encontrada nesse trabalho uma porcentagem de 4,5% das mulheres com níveis de retinol inadequados (≤ 20 µg/dL). A quantidade de mulheres com índices de vitamina A abaixo da normalidade, quando comparada à encontrada em outros estudos brasileiros, como São Paulo (12%), Natal-RN (30%), Rio de Janeiro (22 - 24%) e Recife (25%), indica um baixo risco de desenvolvimento de deficiência no grupo estudado (DIMENSTEIN *et al.*, 2006; LOPES *et al.*, 2006; RAMALHO *et al.*, 2006; RONDÓ, 1999; SAUNDERS *et al.*, 2005).

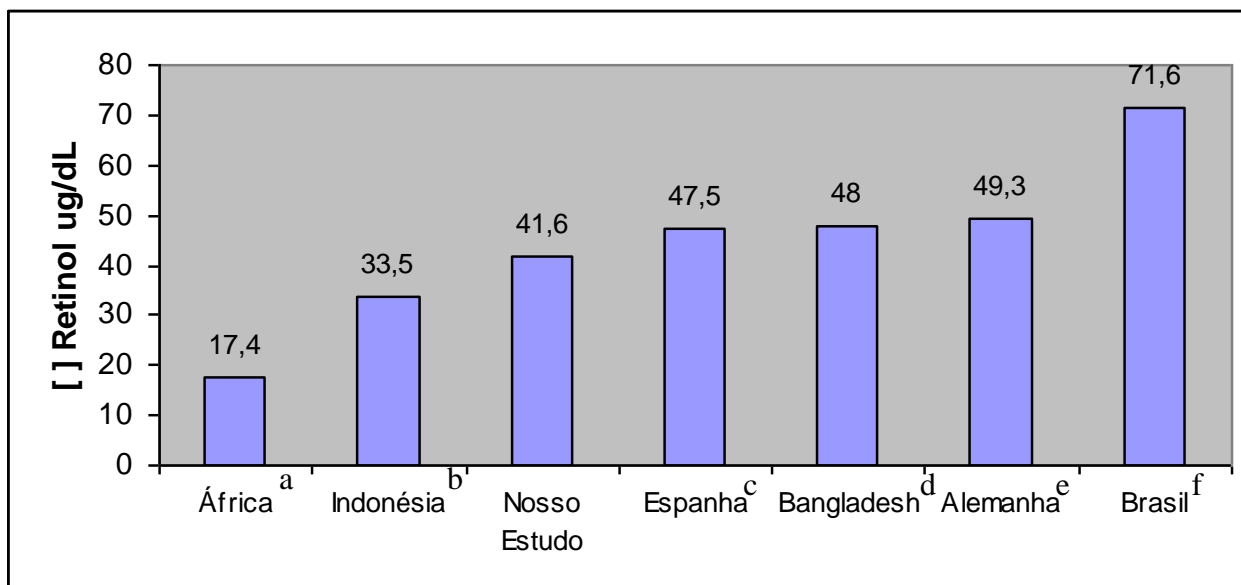


Figura 10: Comparação dos níveis de retinol sérico de lactantes. ^a SEMBA *et al.*, 2000; ^b STOLTZFUS *et al.*, 1993; ^c ORTEGA *et al.*, 1997; ^d RICE., *et al.*, 2000; ^e SCHULZ *et al.*, 2007; ^f MENESES e TRUGO, 2005.

O leite materno secretado pelas mães com estado nutricional inadequado em vitamina A, é capaz de suprir apenas as necessidades metabólicas dos organismos dos bebês, não sendo suficientes para permitir o acúmulo desta vitamina no organismo, dessa forma crianças que se alimentam exclusivamente de leite materno com concentrações baixas de vitamina A, aos 6 meses de idade, serão subclínicamente deficientes, podendo apresentar manifestações clínicas dessa deficiência, caso o consumo de nova dieta não tenha quantidades suficientes de vitamina A (STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995).

O retinol plasmático não foi relacionado à concentração no leite, provavelmente por haver mecanismos de transporte alternativos desta vitamina para a glândula mamária que independem da concentração plasmática (AZEREDO; TRUGO, 2008).

A análise da Proteína C Reativa (PCR) tem sido recomendada em estudos que utilizam o retinol sérico como indicador do estado nutricional de vitamina A em populações (THURNHAM *et al.*, 2003; STEPHENSEN; GILDENGORIN, 2000). Neste estudo a PCR não influenciou os níveis séricos de retinol. Tal fato pode ser decorrente

de sua análise ter sido realizada no soro pós-parto, uma vez que em situações de estresse a PCR pode elevar-se (LOWN *et al.*, 1992).

Os níveis de retinol no leite jejum do grupo suplementado (102,6 µg/dL) foi compatível com os estudos realizados em Cuba (102 µg/dL) (MACIAS & SCHWEIGERT, 2001) e Natal (100,6 µg/dL) (RIBEIRO *et al.*, 2007). Já os níveis de retinol no colostro do grupo sem suplementação tanto em jejum (67,3 µg/dL) quanto em condição pós-prandial (80,3 µg/dL) foram superiores ao encontrado por (AHMED *et al.*, 2004) em Bangladesh (22,6 µg/dL) e o retinol do colostro de todas as condições analisadas nesse estudo foram inferiores aos resultados encontrados por (SCHWEIGERT *et al.*, 2004) (153,3 µg/dL), (HASKEL; BROW, 1999) (152,4 µg/dL) e (CHAPPEL; FRANCIS; CLANDININ, 1985) (145 µg/dL).

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 (BAHL *et al.*, 2002; BENOIST, 2001; BHASKARAM, 2000; RICE *et al.*, 2000; STOLTZFUS *et al.*, 1993; OLIVEIRA, 2006).

Observando-se o percentual de aumento de retinol no leite colostro vinte e quatro horas após a suplementação, (ROY *et al.*, 1997) encontrou um aumento de 283% no retinol do leite. Em mulheres indianas a concentração de retinol no colostro subiu de 110 µg/dL para 345,5 µg/dL (214%), 24 horas após a suplementação com 200.000 UI de retinol no segundo dia pós-parto (BASU, 2003). (RIBEIRO *et al.*, 2007) e (BEZERRA *et al.*, 2009), em região semelhante à deste trabalho, verificaram que houve um aumento médio de 137,5% e 85,4%, respectivamente. Nesse estudo houve um aumento médio de retinol no leite após 24 horas da suplementação de 52,5% para o estado jejum e 66,1% em condição pós-prandial.

Avaliando-se o efeito da alimentação sobre os níveis de retinol no colostro foi observado no presente estudo um aumento de 19,3% para o grupo teste sem suplementação e 30% para o grupo teste suplementado. Isso evidencia que após a refeição os níveis de retinol aumentam e esse aumento fica ainda mais evidente após a suplementação.

A vitamina A é transferida ao leite materno através de duas fontes, retinol:RBP (proteína ligante de retinol) e ésteres de retinol carregados por lipoproteínas (quilomícrons). O retinol ligado a RBP não varia com a ingestão de grandes quantidades de vitamina A. Entretanto, os ésteres de retinol transportados pelos quilomícrons agem diretamente no conteúdo de vitamina A levado para glândula mamária (ROSS, 2004; GREEN *et al.*, 2001, MOORE, 1971; PASATIEMPO; ROSS, 1990; ROSS; GARDNER, 1994). Alguns autores acreditam que o conteúdo de vitamina A no leite pode ser regulado pela dieta, porém, não parece ser tão controlado como o retinol plasmático (UNDERWOOD, 1994; ORTEGA *et al.*, 1997; STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995; CANFIELD *et al.*, 1999; HASKELL; BROW, 1999; VITOLO *et al.*, 1999; ACCIOLY; SOUZA, 2000; WHO, 2001; MILLER *et al.*, 2002).

(GREEN *et al.*, 2001) especulam que durante a lactação, uma grande proporção de vitamina A oriunda de suplementos é direcionada preferencialmente para a glândula mamária ao invés do fígado, ao contrário do que ocorre em estados de não lactância. Esta transferência da vitamina A para a glândula mamária ocorre via quilomícrons (cerca de 60%) e depende do sítio de ligação dos quilomícrons e lipólise dos triglicéridos, provavelmente via ação da LPL que tem sua atividade aumentada durante a lactação. (BLANER *et al.*, 1994) evidenciaram que a LPL no tecido mamário é responsável pela hidrólise dos ésteres de retinila derivados dos quilomícrons, e com isso, permite a transferência do retinol às células alveolares. Como no tecido mamário a enzima que esterifica o retinol está presente (ARAT) (RANDOLPH, 1991), a vitamina A transferida durante a lipólise dos quilomícrons pode ser reesterificada para secreção no leite ou ser estocada nas células epiteliais, fato que explica a manutenção de níveis aumentados de vitamina A no leite horas ou dias após a suplementação (GREEN *et al.*, 2001).

A confirmação desta via principal de transporte da vitamina A dietética ou de suplementos ao leite pode ser evidenciada quando a concentração de vitamina A muda no leite após rápidas mudanças de ingestão, enquanto no sangue permanecem inalteradas (ROSS, 2004; GREEN *et al.*, 2001; AKOHOUE, 2006; RIBEIRO, 2009). Isso está de acordo com o que foi encontrado em nossos resultados, já que esses evidenciam um aumento na quantidade de retinol após a refeição e suplementação.

Considerando que no jejum a maior parte da vitamina A transportada ao leite tem sua origem através da proteína transportadora de retinol (RBP), o aumento no retinol do colostro pós-prandial sugere um mecanismo de transporte do retinol para o leite materno distinto daquele realizado pela RBP. Tal situação fica mais evidente em condições de suplementação.

6 CONCLUSÕES

- As médias de retinol nos leites colostro jejum e pós-prandial, dos grupos comparação e teste, apresentaram-se adequadas em relação ao ponto de corte utilizado.
- A suplementação aumentou os níveis de retinol no colostro.
- A concentração de retinol sérico mostrou que o estado nutricional em relação à vitamina A das lactantes estava adequado.
- A Proteína C Reativa apresentou-se elevada em 94% das mulheres estudadas e não influenciou os níveis séricos de retinol.
- A alimentação influenciou os níveis de retinol no colostro. A condição pós-prandial apresentou maior concentração de retinol.
- A concentração de retinol no colostro não foi influenciada pelos níveis séricos de retinol, em nenhuma das condições estabelecidas.

REFERÊNCIAS

ACCIOLY, E.; SOUZA, QS. Deficiência de vitamina A en embarazadas asistidas en una maternidad pública en Rio de Janeiro, Brasil. **Rev Chilena Nutr**, v. 27 p. 316-319, 2000.

AHMED, L. et al. Antioxidant Micronutrient Profile (Vitamin E, C, A, Copper, Zinc, Iron) of Colostrum: Association with Maternal Characteristics. **J Trop Pediatr**, v. 50 n. 6 p. 357-358, 2004.

AKOHOUE, SA.; GREEN, JB.; GREEN, MH. Dietary vitamin A has both chronic and acute effects on vitamin A indices in lactating rats and their offspring. **J Nutr**, v. 136 p. 128-132, 2006.

ALENCAR, NMN. et al. Estudo das diferenças nutricionais do leite humano maduro no início e final da mamada. **Rev Bras Analises Clinicas**, v. 34, n. 2 p. 67-69, 2002.

ATALAH, SE. et al. Propuesta de un nuevo estandar de evaluación nutricional en embarazadas. **Rev Med Chile**, v. 123 p. 1429-1436, 1997.

AYAH, RA. et al. The effects of maternal and infant vitamin A supplementation on vitamina A status: a randomised trial in Kenya. **Br J Nutr**, v. 98 p. 422-430, 2007.

AZAIS-BRAESCO, V.; PASCAL G. Vitamin A in pregnancy: requirements and safety limits. **Am J Clin Nutr**, v. 71 n. 5 p. 1325-1333, 2000.

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

BADMAN, MK.; FLIER JS. The adipocyte as an active participant in energy balance and metabolism. **Gastroenterology**, v. 132 p. 2103-2115, 2007.

BAHL, R. et al. Vitamin A supplementation of women postpartum and of their infants at immunization alters breast milk retinol and infant vitamin A status. **J. Nutr**, v. 132, p. 3243-3248, 2002.

BALL, G. **Bioavailability and analysis of vitamins in foods**. London: Chapman & Hall, 1998.

BASSO, NA. et al. Insulinoterapia, controle glicêmico materno e prognóstico perinatal: diferença entre o diabetes gestacional e o clínico. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 29 2539p, 2007.

BASU, S.; SENGUPTA, B.; PALADHI, PKR. Single megadose vitamin a supplementation of indian mothers and morbidity in breastfed young infants. **Postgrad Med J**, v. 79, p. 397-402, 2003.

BELL, AW.; BAUMAN DE. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. **J Mammary Gland Biol Neoplasia**, p. 265-278, 1997.

BENNEKUM, AM. et al. Lipoprotein lipase expression level influences tissue clearance of chylomicron retinyl ester. **J. Lipid. Res**, v. 40, p. 565-574, 1999.

BENOIST, B.; MARTINES, J.; GOODMAN, T. Vitamin A supplementation and the control of vitamin A deficiency: conclusions. **Food Nutr Bull**, v. 22, n. 3, p. 335-337, 2001.

BEZERRA, DS. et al. Maternal supplementation with retinyl palmitate during immediate postpartum period: potential consumption by infants. **J Public Health**, v. 43 n. 4 p. 572-579, 2009.

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

BIESALSKI, HK.; GRIMM, P. **Nutrição: texto e Atlas**. Porto Alegre: Artmed, 2007. 400p.

BLACK, RE. et al. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. **Lancet**, v. 371, p.243-260, 2008.

BLANER, WS. et al. Lipoprotein lipase hydrolysis of retinyl ester. **J Biol Chem**, v. 269, p. 16559–16565, 1994.

BLOMHOFF, R. et al. Vitamin A metabolism: new perspectives on absorption, transport and storage. **Physiol Rev**, v. 71, p.951–990, 1991.

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

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Vitamina A Mais: Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A: Condutas Gerais**. Brasília, 2004. 28 p.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Carências de micronutrientes**. Cadernos de Atenção Básica - Normas e Manuais Técnicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. n 20 Série A.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. **SAÚDE DA CRIANÇA: Nutrição Infantil, Aleitamento Materno e Alimentação Complementar**. Caderno de atenção básica nº23, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher**. Brasília, 2009.

CAMPOS, FM.; ROSADO, GP. Novos fatores de conversão de carotenóides provitamínicos A. **Ciência e Tecnologia dos alimentos**, v. 25 n. 3 p. 571-578, 2005.

CANADIAN PAEDIATRIC SOCIETY. Nutrition Committee. Nutrient needs and feeding of premature infants. **Can. Med. Assoc. J.**, v.12, p. 1765-1785, 1995.

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

CHAGAS, MHC. et al. Teratogenia da vitamina A. **Rev Bras Saude Mater Infant**, Recife, v.3, n.3, p.247-252, jul./set, 2003.

CHAPPELL, JE.; FRANCIS, T. ; CLANDININ, MT. Vitamin A and E content of human milk at early stages of lactation. **Early Human Development**, v. 11, p. 157-167, 1985.

CLAGETT-DAME, M.; DELUCA HF. The role of vitamin A in mammalian reproduction and embryonic development. **Annu Rev Nutr**, v. 22, p. 347-81, 2002.

COELHO RG. **O estudo das interações nutricionais e da biodisponibilidade de nutrientes:** otimizando a elaboração de cardápios. Curso realizado pelo Departamento de Nutrição Clínica da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto. 2000.

DARBOE, MK. Et al. 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**, v. 369, p.2088–2096, 2007.

DAVILA, M. et al. 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**, v. 115, p.1033 -1041, 1985.

DEBIER, C.; LARONDELLE, Y. Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. **Br J Nutr**, v. 93, p. 153–174, 2005.

DIMENSTEIN, R. et al. Avaliação dos níveis de retinol no colostro humano e a sua relação com o estado nutricional materno em vitamina A. **Rev Bras Méd**, v. 63, n. 5, p. 206-209, 2006.

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**, v. 22, n. 1, p. 51–54, 2007.

DINIZ, AS.; SANTOS, LMP. Hipovitaminose A e xeroftalmia. **J Ped**, v. 76, p. 311-322, 2000.

DOLINSKY, M.; RAMALHO, A. Deficiência de Vitamina A: Uma Revisão Atualizada. **Compacta Nutrição**, v. 4, n. 2, p. 7-18, 2003.

DOREA, JG. Changes in body weight and adiposity during lactation. **Nutrition Research**, v. 17, n. 2, p. 379 – 389, 1997.

FILTEAU, SM. et al. Influence of morbidity on serum retinol of children in a community-based study in northern Ghana. **Am J Clin Nutr**, v. 58, p.192-97, 1993.

FOOD & NUTRITION BOARD. **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids**. *A report of the Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds*. Washington, DC: National Academy of Sciences, 2000.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**, 9. ed. São Paulo: Atheneu, 1998.

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

GIULIANO, AR. et al. Simultaneous Quantitation and Separation of Carotenoids and Retinol in Human Milk by High-Performance Liquid Chromatography. **Meth Enzymo**, v. 213, p. 391-399, 1992.

GOLBERT, A.; CAMPOS, MAA. Diabetes melito tipo 1 e gestação. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 52, p. 30714, 2008.

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

GRAHAM, TE. et al. Retinol - binding protein 4 insulin resistance in lean, obese and diabetic subjects. **The New England Journal of Medicine**, v. 354, n. 24, p. 2552-2563, 2006.

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

GREEN, MH. et al. Increased rat mammary tissue vitamin A associated with increased vitamin A intake during lactation is maintained after lactation. **J Nutr**, v. 131, p. 1544-1547, 2001.

HARRISON, EH. Mechanisms of digestion and absorption of dietary vitamin A. **Annu Rev Nutr**, v. 25, p. 87-103, 2005.

HASKELL, M.; BROWN K. Maternal vitamin A nutriture and vitamin A content of human milk. **J Mam Gland Biol Neopl**, v. 4, n. 3, p. 243-257, 1999.

HENRIKSEN, C. et al. Fat-soluble vitamins in breast-fed preterm and term infants. **Eur J Nutr** v. 60, p.756–762, 2006.

INTERNATIONAL VITAMIN A CONSULTATIVE GROUP (IVACG). **Guidelines for the development of a simplified assessment to identify groups at risk for inadequate intake of vitamin A**. New York: IVACG, 1989.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary Reference Intake for vitamin A, vitamin K, Arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc**. 2 ed. Washington DC. National Academy Press, 2001. Disponível em: <<http://www.iom.edu/Reports/2001/Dietary-Reference-Intakes-for-Vitamin-A-Vitamin-K-Arsenic-Boron-Chromium-Copper-Iodine-Iron-Manganese-Molybdenum-Nickel-Silicon-Vanadium-and-Zinc.aspx>>. Acesso em: 10 de jan de 2010.

JALAL, F. et al. Serum retinol concentrations in children are affected by food sources of β -caroteno, fat intake, and anthelmintic drug treatment. **Am J Clin Nutr**, v. 68, p. 623-629, 1998.

KAMOA, M. et al. Quantification of fat-soluble vitamins in human breast milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of chromatography B**, v. 859, p. 192-200, 2007.

KATZ, DR. et al. Regulation of accessory cell function by retinoids in murine immune responses. **Br J Exp Pathol**, v. 38, p. 1-14, 1987.

KELLEHER, S.; LONNERDAL, B. Long-term marginal intakes and retinol affect retinol homeostasis without compromising circulating levels during lactation in rats. **J Nutr**, v. 131, p. 3237-3242, 2001.

KRZYZANOWSKA, K. et al. Serum concentrations of retinol binding protein 4 in women with and without gestational diabetes. **Diabetologia**, v. 51, p. 1115-1122, 2008.

LIU, L.; GUDAS, L. Disruption of the lecithin:retinol acyltransferase gene makes mice more susceptible to vitamin A deficiency. **J Biol Chem**, v. 280, n. 48, p. 40226-40234, 2005.

LOPES, RE. et al. 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**, v. 6, n. 1, p. S63-S68, 2006.

LOURENÇO, RMS. **Influência da suplementação de retinol palmitato sobre os níveis de vitamina A do leite de puérperas saudáveis**. 2005. Dissertação de mestrado em Bioquímica. Departamento de Bioquímica, UFRN, Natal, Brasil.

LOWN, JA. et al. Blood vitamin concentrations during the acute-phase response. **Crit Care Méd**, v. 20, p. 934-941, 1992.

MACHLIN, LJ. **Handbook of vitamins**. Marcel Dekker, 1990.

MACIAS, C.; SCHWEIGERT, FJ. Changes in the concentration of carotenoids, vitamin A, alpha-tocopherol and total lipids in human milk throughout early lactation. **Ann Nutr Metab**, v. 45, n. 2, p. 82-5, 2001.

MAHAN, F. A comprehensive review: the role vitamins in human diet. Vitamin A-nutrition. **J of IAS**, v. 7, n. 4, 1994.

MARTINS, MC. et al. Panorama das ações de controle da deficiência de vitamina A no Brasil. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 5-18, 2007.

MCLAREN, DS.; FRIGG, M. **Manual de ver y vivir sobre los trastornos por deficiencia de vitamina A (VADD)**. Washington: Organization Panamericana de la Salud, 1999.

MCMANAMAN, JL.; NEVILLE MC. Mammary physiology and milk secretion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 55, p. 629-641, 2003.

MAHAN, LK.; ESCOTT-STUMP, S. In: **KRAUSE**: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 10ª ed. São Paulo: Roca, 2002.

MENESES, F.; TRUGO, NMF. Retinol, β -caroteno, and lutein + zeaxanthin in the milk of brazilian nursing women: associations with plasma concentrations and influences of maternal characteristics. **Nutr Res**, v. 25 p. 443-451, 2005.

MILAGRES, RC.; NUNES, LC.; PINHEIRO, SHM. A deficiência de vitamina A em crianças no Brasil e no mundo. **Ciênc Saúde Coletiva**, v. 12, p. 1253-66, 2007.

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

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

MOORE, T. Vitamin A transfer from mother to offspring in mice and rats. **Int J Vitam Nitr Res**, v. 41 p. 301-306, 1971.

MOURÃO, DM. et al. Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Rev. Nutr.**, v. 18, n. 4, p. 529-539, 2005.

MUSIB, LC. **The absorption mechanism of retinoic acids in the intestinal epithelium.** Minneapolis – MN, Thesis (Doctor of Philosophy) – Graduation School, University of Minnesota, 2000. 205p.

NASCIMENTO, MBR.; ISSLER, H. Breastfeeding: Making the difference in the development, health and nutrition of term and preterm newborns, **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v. 58, n. 1 p. 49 – 60, 2003.

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

NATIONAL ACADEMY PRESS (NAP). **Nutrition during lactation, Institute of Medicine, food and nutrition, board**, p. 115 – 125, 1991. Disponível em: <http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=1577>. acesso em: 10 de abr. de 2009.

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

O`BYRNE, SM.; PALCZEWSKI, K.; BLANER, WS. Incorporation of vitamin A into milk of wild type and mutant mice. **FASEB J**, v. 20, p. A996, 2006.

OLIVARES, M.; UAUY, R. Copper as an essential nutrient. **Am J Clin Nutr**, v. 63, p. S791-S6, 1996, (Suppl).

OLIVEIRA, JM. **Suplementação de vitamina A em lactantes**: revisão sistemática. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2006.

OLSON, JA. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, n. 45. 1987.

OLSON, JA. In: ZIEGELER EE., FILER JÚNIOR LJ. (ed). **Present knowledge in nutrition**. 7. ed. Washington: ILSI, 1996, cap.11, p.109-119.

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

ORTEGA, RM. et al. 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**, v. 68, p.662–667, 1998.

PAPANICH, R. Serum and breast-milk vitamin A in women during lactation in rural Chiang Mai, Thailand. **Ann Trop Paediat**, v. 22 p. 321-324, 2002.

PARKER, RS. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. **FASEB J**, v. 10, p. 542-51, 1996.

PASATIEMPO, AM.; ROSS, AC. Effects of food nutrient restriction on milk vitamin A transfer and neonatal vitamin A stores in the rat. **Br J Nutr**, v. 63, p. 351-362, 1990.

PETITJEAN, G. et al. Isolation and characterization of HIV-1-infected resting CD4 + T-lymphocytes in breast milk. **Journal of Clinical Virology**, v. 39 p. 1-8, 2007.

PHILIPPI, ST. **Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional**. Brasília: Anvisa, Finatec/Nut-UNB, 2002.

PIANTEDOSI, R. et al. Cellular retinol-binding protein type III is needed for retinoid incorporation into milk, **The Journal of Biological Chemistry**, v. 280 n. 24 p. 24286 – 24292, 2005.

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

PINTO, GMF.; JARDIM, ICSF. Use of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for the determination of triazine residues in water: validation of the method. **J Chromatography**, v. 869 p. 463-469, 2000.

QUEIROZ, SS. Proposta de atuação no combate a hipovitaminose A na comunidade. **Temas de nutrição em pediatria**. Departamento de Nutrição, Sociedade Brasileira de Pediatria. p. 18-21, 2001. Edição especial.

RAMALHO, AR.; ANJOS, LA.; FLORES, H. Hipovitaminose A em de nascidos em duas maternidades públicas no Rio de Janeiro, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro v. 14 n. 4, 1998.

RAMALHO, RA. et al. Associação entre deficiência de vitamina A e situação sociodemográfica de mães e recém-nascidos. **Rev Assoc Med Brás**, v. 52, n. 3, p.170-175, 2006.

RASMUSSEN, K. **Vitamin A needs during pregnancy and lactation for the health of the mother and her fetus or infant.** In: WHO (World Health Organization). Safe vitamin A dosage during pregnancy and lactation: recommendations and report of a consultation. Geneva, 1998, p. 8 – 14.

RANDOLPH, RK.; WINKLER, KE.; ROSS, AC. Fatt acyl CoA-dependent and independent retinol esterification by rat liver and lactating mammary gland microsomes. **Arch biochem Biophys**, v. 288, p. 500-508, 1991.

RIBEIRO, KDS.; DIMENSTEIN, R. Níveis de retinol no leite materno ao início e final da mamada. **Rev Panam Salud Pública**, v. 16, n. 1, p. 19–22, 2004.

RIBEIRO, KDS. **Avaliação do efeito da megadose de vitamina A no colostro humano.** Dissertação de mestrado em Bioquímica. Departamento de Bioquímica; UFRN. Natal, Brasil, 2007.

RIBEIRO, KDS. et al. Evaluation of retinol levels in human colostrum in two samples collected at an interval of 24 hours. **Jornal de pediatria**, v. 22, p. 51-54, 2007.

RIBEIRO, KDS.; ARAÚJO, KF.; DIMENSTEIN, R. Efeito da suplementação com vitamina A sobre a concentração de retinol no colostro de mulheres atendidas em uma maternidade pública. **Rev. Assoc. Med. Brás**, São Paulo, v. 55 n. 4, 2009.

RICE, AL. et al. Maternal vitamin A and β -caroteno supplementation in lactating Bangladesh women benefits mothers and infants but does not prevent subclinical deficiency. **J. Nutr**, v. 129, p. 356-365, 1999.

RICE, AL. et al. 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**, v. 71, p. 799-806, 2000.

RONCADA, MS. Vitaminas Lipossolúveis: In: Dutra-de-Oliveira JE, Marchini JS. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier. 1998, p.167-189.

RONDO, PHC. et al. Vitamin A, folate and iron concentrations in cord and maternal blood of intra-uterine growth retarded and appropriate birth weight babies. **European Journal of Clinical Nutrition**, n. 49, 1995.

RONDO, PHC.; VILLAR, BS.; TOMKINS, AM. Vitamin A status of pregnant women assessed by a biochemical indicator and a simplified food frequency questionnaire. **ALAN**, v. 49, n. 4, p. 322-325, 1999.

ROSALES, FJ.; ROSS, C. A low molar ratio of retinol binding protein to transthyretin indicates vitamin A deficiency during inflammation: studies in rats and a posteriori analysis of vitamin A-supplemented children with measles. **J Nutr**, v. 128, p. 1681-1687, 1998.

ROSS, AC.; GARDNER, EM. **The function of vitamin A in cellular growth and differentiation, and its roles during pregnancy and lactation. In nutrient regulation during Pregnancy, Lactation, and Infant Growth**. New York: Plenum Press. 1994, p.187-200.

ROSS, JS.; HARVEY, PWJ. Contribution of breastfeeding to vitamin A nutrition of infants: a simulation model. **Bull World Health Organ**, v. 81, n. 2, p. 80–6, 2003.

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**, v. 229, p. 46 – 55, 2004.

ROY, SK. et al. Impact of a single megadose of vitamin A at delivery on breastmilk of mothers and morbidity of their infants. **Eur J Clin Nutr**, v. 51, n. 5, p. 302-307, 1997.

SANTOS, LMPS.; BATISTA, M.; DINIZ, AS. Epidemiologia da carência de vitamina A no Nordeste do Brasil. **Bol of Sanit Panam**, v. 120 n. 5, p. 525-537, 1996.

SAUNDERS, C. et al. Utilização de tabelas de composição de alimentos na avaliação do risco de hipovitaminose A. **Arch Latin Nutr**, v.50, n.3, p. 237-242, 2000.

SAUNDERS, C. et al. Association between gestational night blindness and serum retinol in mother/newborn pairs in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Nutrition**, v. 21, p. 456-461, 2005.

SCWEIGERT, FJ. et al. Concentrations of carotenoids, retinol And α -tocopherol in plasma And follicular fluid of women undergoing IVF. **Human Reproduction**, v. 18, n. 6, p. 1259-1264, 2003.

SCHULZ, C. et al. Vitamin A and β -carotene supply of women with Gemini or short birth intervals. A pilot study. **Eur J Nutr**, v. 46, p. 12-20, 2007.

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

SEMBA, RD. et al. Plasma and breast milk vitamin A as indicators of vitamin A status in pregnant women. **Int J vitam Nutr Res**, v. 70, n. 6, p. 271-277, 2000.

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

SHILS, ME. et al. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. São Paulo: Manole Ltda, v. 1, p. 325-350, 2002.

SIGHT; LIFE. **Prevention and eradication of xerofthalmia**. Switzerland: Sight & Life, 4:27, 1997. [Annual Reports]

SILVEIRA, FJF.; LAMOUNIER, JA. Fatores associados à duração do aleitamento materno em três municípios na região do Alto Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. **Cad Saúde Pública**, v. 22, p. 69-77, 2006.

SOLOMONS, NWA. Vitamin A and carotenoids. In: BOWMAN BA, RUSSEL RM. **Present knowledge in nutrition**. 8. ed. Washington: ILSI press, 2001, Cap. 12.

SOMMER, A. **Vitamin A deficiency and its consequences a field guide to detection and control**. Epidemiology 3. Geneva: World Health Organization, 1995. 65p.

SOUZA, WA.; VILAS BOAS, OMGC. A deficiência de vitamina A no Brasil: um panorama. **Pan American Journal of Public Health**, v. 12, n. 3, p. 173 – 179, 2002.

STEPHENSEN, CB.; GILDENGORIN, G. Serum retinol, the acute phase response, and the apparent misclassification of vitamin A status in the third National Health and Nutrition Examination Survey. **Am J Clin Nutr**, v. 72, p. 1170-1178, 2000.

STOLTZFUS, RJ. et al. High dose vitamin A supplementation of breast-feeding Indonesian mothers: effects on the vitamin A status of mother and infant. **J Nutr**, v. 123, n. 4, p. 666–75, 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**, v. 73, n. 5, p. 703-711, 1995.

TANG, G. et al. Short-term (intestinal) and long-term (postintestinal) conversion of β -carotene to retinol in adults as assessed by a stable-isotope reference method. **Am J Clin Nutr**, v. 78, p. 259-266, 2003.

TANUMIHARDJO, SA. Assessing vitamin A status: Past, present and future. **J Nutr**, v. 134, p.S290 - S293, 2004.

TAUCHER, E. Tendências Demográficas en America Latina. In : LOPEZ, G. et al. **Salud Reproductiva en Las Americas**. Washington: Organization Panamericana de la Salud, 1992.

THURNHAM, DI. et al. Effects of subclinical infection on plasma retinol concentrations and assessment of prevalence of vitamin A deficiency: meta-analysis. **The Lancet**, v. 362, p. 2052-2058, 20-27/dez/2003.

UNDERWOOD, B. Methods of assessment of vitamin A status. **J Nutr**, v.120, p. 1459-1463, 1990.

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

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

VITOLLO, MR. et al. Níveis de vitamina A no leite maduro de nutrizas adolescentes e adultas de diferentes extratos socioeconômicos. **Rev Cienc Méd**, v. 8, p.3-10, 1999.

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

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

WEST, JRKP. Vitamin A deficiency disorders in children and women. **Food Nutr Bull**, v. 24, n. 4, p. S48-S90, 2003.

WONGSIRIRO, JN.; WASANTWISUT, E.; BLANER, WS. Vitamin A Deficiency in Children. **Clinical Studies in Medical Biochemistry**, 3.ed., Oxford University Press, 2007, p 313-322.

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

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application for monitoring and evaluating interventions programmes: Micronutrient Series**. Geneva: WHO/UNICEF. 1996.

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

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

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005: WHO Global Database on Vitamin A Deficiency**. Geneva, 2009.

ZANCUL, MS. Fortificação de alimentos com ferro e vitamina A. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 37, p. 45-60, 2004.

ZHAO Z., ROSS C. Retinoic acid repletion restores the number of leukocytes and their subsets and stimulates natural cytotoxicity in vitamin A deficiency rats. **J Nutr.** v. 125, p. 2064-2073, 1995.

APÊNDICES

APÊNDICE A



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO ONOFRE LOPES (CEP-HUOL)

CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Onofre Lopes (CEP-HUOL), devidamente reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/MS), analisou o projeto:

Título: – Estudo do transporte materno de Vitamina A e E para a glândula mamária durante os estágios iniciais da lactação de parturientes da maternidade Januário Cicco, Natal/RN.


Protocolo – 284/09.

Pesquisador Responsável: Roberto Dimenstein.

Este projeto foi aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, incluindo o termo de consentimento livre e esclarecido de acordo com as diretrizes da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, Ad Referendum no dia 23 de junho de 2009. Toda e qualquer alteração no projeto/protocolo de pesquisa, assim como eventos adversos que venham a ocorrer deverão ser comunicados oficialmente e imediatamente ao CEP-HUOL. O relatório final do projeto ou a cópia de sua publicação deverá ser encaminhado ao CEP/HUOL após o término do estudo, conforme cronograma, com a respectiva cópia da folha de rosto.

Natal, 24 de junho de 2009.

Dra. Maria Sanali Moura de O. Paiva
Coordenadora do CEP/HUOL


Maria Sanali Moura de Oliveira Paiva
Coordenadora do CEP-HUOL

APÊNDICE B



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA DOS ALIMENTOS

Nº _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Esclarecimentos

Este é um convite para você participar da pesquisa que tem como título “estudo do transporte materno de vitamina a e e para a glândula mamária durante os estágios iniciais da lactação de parturientes da maternidade januário cicco, natal/rn” que é coordenada pelo pesquisador Roberto Dimenstein e será realizada na maternidade Januário Cicco, Natal-RN.

Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade.

Essa pesquisa procura avaliar a concentração de alfa-tocoferol, retinol e IgA em condições de jejum e pós-prandial, desde o pós-parto até o décimo dia de lactação, em condições basais e após suplementação com uma megadose de palmitato de retinol. Dessa forma, esse estudo pretende verificar se os níveis de retinol no leite materno podem ser utilizados como indicador do estado nutricional, além de auxiliar no entendimento do transporte do retinol e alfa-tocoferol para a glândula mamária. Assim, será possível investigar a influência da suplementação com retinol palmitato e do momento da refeição (jejum e pós-prandial) sobre as concentrações do retinol e do alfa-tocoferol do leite materno. Estas informações podem auxiliar na identificação de situações de risco e contribuir na avaliação da eficácia das atuais estratégias de intervenção, como a suplementação de megadose de Vitamina A.

Caso decida aceitar o convite, você será submetida aos seguintes procedimentos: Serão retirados 2 mL de leite antes e 2 horas após o café da manhã. Após a primeira coleta (antes do café da manhã) será administrada uma cápsula de palmitato de retinol (200 000 UI ou 60 mg). O leite será obtido por expressão manual de uma única mama, no início e final da mamada, para evitar flutuações no teor de retinol e gordura. Serão coletados também 3 mL de sangue antes da primeira refeição do dia. O sangue será coletado pelo corpo de enfermagem do hospital.

Os riscos envolvidos com sua participação são: Após a coleta do sangue poderão surgir hematomas. O palmitato de retinol é bem tolerado, mas seu excesso (superdosagem) pode causar cefaléia, fadiga, vertigens, náuseas, vômitos e prurido. Esses riscos serão minimizados através das seguintes providências: a coleta de sangue será sempre feita por profissionais capacitados (enfermeiros ou

farmacêutico-bioquímico) e com relação às reações adversas decorrentes da administração de palmitato de retinol serão fornecidos meios para minimizar tais efeitos.

Todas as informações obtidas serão sigilosas e seu nome não será identificado em nenhum momento. Os dados serão guardados em local seguro e a divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os voluntários.

Se você tiver algum gasto que seja devido à sua participação na pesquisa, você será ressarcido, caso solicite.

Em qualquer momento, se você sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, você terá direito à indenização.

Você ficará com uma cópia deste Termo e toda a dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente para Roberto Dimenstein, no endereço Av. Praia de Genipabu, 2100, Ponta Negra ou pelo telefone (84) 3219-3559.

Dúvidas a respeito da ética dessa pesquisa poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa da HUOL no endereço Nilo Peçanha, 620 - Petrópolis, CEP 59012-300 Natal/RN ou pelo telefone (84)3202-3944 / (84)2302-3763.

Consentimento Livre e Esclarecido

Declaro que compreendi os objetivos desta pesquisa, como ela será realizada, os riscos e benefícios envolvidos e concordo em participar voluntariamente da pesquisa “estudo do transporte materno de vitamina A e E para a glândula mamária durante os estágios iniciais da lactação de parturientes da maternidade Januário Cicco, Natal/RN”.

Assinatura do Pesquisador

Assinatura da Participante

Natal, ____ de _____ de 20 ____

APÊNDICE C

INQUÉRITO P/ MÃES A TERMO ADULTAS

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 Sobrepeso

Usou algum medicamento ou vitamina? Sim Não Qual: _____

Amamentou durante a gestação? Sim Não Frequência: _____

Apresentou algum episódio de diarreia durante a gestação? Sim Não

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 Não

Mãe foi suplementada com vitamina A? Sim Não Hora: _____

EXAME	VALOR	DATA
Proteínas totais		
Albumina		
Hemoglobina		
Hematócrito		

Coleta da amostra

Hora da coleta de sangue: _____ Hora da coleta de leite: 1° _____
2° _____

Inquérito Dietético

Recordatório de 24 horas: _____ QFCA semi-quantitativo: _____

Análise Laboratorial

Retinol: 1° _____ RBP: 1° _____ IgA: 1° _____
2° _____ 2° _____

DATA: ____ / ____ / ____

Responsável: _____

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](#)