



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

ANA CAROLINE PÉREZ MEDEIROS

**INFLUÊNCIA DO ESTADO NUTRICIONAL MATERNO EM VITAMINA A SOBRE
OS NÍVEIS DE IMUNOGLOBULINA A NO COLOSTRO HUMANO.**

NATAL-RN

2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

ANA CAROLINE PÉREZ MEDEIROS

**INFLUÊNCIA DO ESTADO NUTRICIONAL MATERNO EM VITAMINA A SOBRE
OS NÍVEIS DE IMUNOGLOBULINA A NO COLOSTRO HUMANO.**

Dissertação apresentada ao
Departamento de Bioquímica da
Universidade Federal do Rio
Grande no Norte como requisito
parcial para obtenção do título de
Mestre em Bioquímica

Orientador: Roberto Dimenstein

NATAL-RN

2010

Divisão de Serviços Técnicos

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

Medeiros, Ana Caroline Pérez.

Influência do estado nutricional materno em vitamina A sobre os níveis de imunoglobulina A no colostro humano./ Ana Caroline Pérez Medeiros. – Natal, RN, 2009. 102 f.

Orientador: Roberto Dimenstein.

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

1. Leite materno – Dissertação. 2. Estado nutricional materno – Dissertação. 3. Retinol – Dissertação. 4. Soro – Dissertação. 5. SIgA – Dissertação. 6. Colostro – Dissertação. I. Dimenstein, Roberto. II. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. III. Título.

RN/UF/BCZM

CDU 613.287.1(043.3)

DEDICO ESTA OBRA

A Deus.

Por tudo que Ele é... Por tudo que Ele faz... Por tudo que Ele me dá... Por tudo em que Ele me capacita e Por todo o Amor que Ele deposita em mim. Eu sou grata a Deus por tudo.

Aos meus pais Ricardo e Goretti,

Que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade; que iluminaram meus caminhos com afeto e dedicação para que eu seguisse nessa estrada sem medo e cheia de esperança; que se doaram inteiros e renunciaram aos seus sonhos, para que, muitas vezes, pudessem realizar os meus. A vocês, não bastaria dizer que não tenho palavras para agradecer tudo isso. Mas é o que me acontece agora, quando procuro arduamente uma forma verbal de exprimir essa emoção ímpar. Uma emoção que jamais seria traduzida por palavras.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças para continuar seguindo em frente mesmo diante das dificuldades;

A minha família, Ricardo e Goretti, Dina, Juliano e Laura, Carlos, missilene e Maria Luiza, Raphael, Alessandra, Raphaela e Gabriel, George, Célia e Mateus, Michel e Olga, Ricardo, Patrícia, Vitor, Maria Clara e Maria Carolina pelo carinho, apoio e incentivo constantes;

Aos meus irmãos Ricardo e Michel por me fazerem acreditar que sou capaz, por me incentivarem a seguir sempre em frente, por tudo o que vocês fizeram por mim. Admiro muito vocês e sei que estarão sempre ao meu lado;

Ao professor Roberto Dimenstein, por estar sempre presente, me orientando, incentivando, pelos momentos de atenção, incentivo, paciência, amizade e de alegria;

Ao programa de Mestrado em Bioquímica da Universidade Federal do Rio grande do Norte, pela oportunidade de realização deste trabalho. Aos professores Luiz, João Paulo, Carlos Bola, Edda, Eliseu e Selma pelo apoio, sugestões e orientações dadas a mim durante esses dois anos;

Aos funcionários e amigos, Margarita, Rogério, Ricardo, Ângela, Jonas, Itamar e Marcos, por terem me acolhido, por serem prestativos e solícitos, por me ajudarem sempre em tudo o que eu precisava;

A CAPES, pelo financiamento da pesquisa;

A Maternidade escola Januário Cicco, por permitir a coleta de dados;

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

A Lahyana, amiga e companheira, por estar comigo sempre, mesmo quando pensei não estar, por sempre tentar me alegrar nos momentos de desânimo, pelas muitas vezes que ela me fez rir, por sempre querer me mostrar o lado bom das pessoas e das diversas situações e por ter participado diretamente em várias etapas da minha pesquisa;

As alunas de iniciação científica, Jeane, Samara, Gaby, Érica, Juliana, Ana Paula, Thamisy, Julia e Mayhara, pela contribuição inestimável nas coletas e análises;

Aos Amigos de laboratório, Lígia, Kathe, Larissa, Jovilma, Penha e Videany, pelo apoio e pela alegria gerada nos momentos de descontração;

As amizades conquistadas durante esses dois anos de mestrado, em especial, Adriana, Marília, Leonardo, Almino, Thiago, Luiza, Sheila, Virgínia, Sergio, Carlinhos, Celina, Paulinha, Rafaela, Kleisivan e Mila, por estarem sempre ao meu lado, me dando força e coragem pra encarar qualquer problema de frente.

As minhas amigas queridas e amadas, Patrícia, Priscilla, Juliana, Débora e Kris, que apesar do tempo e da distância, se fizeram presentes em muitos momentos importantes e decisivos da minha vida, sempre me apoiando, qualquer que fosse minha decisão.

A todos que passaram pela minha vida ou que estão fazendo parte dela hoje, que me apoiaram e me ajudaram de alguma forma a vencer mais essa etapa da minha vida, o meu muito obrigada!

Pedras no caminho? Guardo todas! Um dia vou construir um castelo.

Fernando Pessoa

RESUMO

Mães com bom estado nutricional em vitamina A na gestação e lactação terão melhores condições em nutrir e proteger o neonato através do leite materno. Nossa hipótese é que as mulheres com mais retinol no soro possuirão mais retinol e imunoglobulina A secretora no colostro. Foram recrutadas 190 puérperas saudáveis em uma maternidade pública brasileira, que foram divididas segundo o ponto de corte para retinol sérico (30 µg/dL). 118 delas foram suplementadas com uma dose de 200000 UI (60 mg) de palmitato de retinila no pós-parto imediato. Foram coletados soro e colostro no 1º dia pós-parto e colostro novamente no dia seguinte. O retinol (soro e colostro) foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência e a SIgA (colostro) por turbidimetria. As mães apresentaram estado nutricional bioquímico adequado segundo retinol sérico (44,6 µg/dL). Houve diferenças significativas ($p= 0,0017$ e $p= 0,043$, respectivamente) nos níveis de retinol e SIgA no colostro de mães com retinol sérico > 30 µg/dL e < 30 µg/dL. A concentração de SIgA no colostro das mães não suplementadas, no 1º dia pós-parto, foi de 822,6 mg/dL, decrescendo, após 24 horas, para 343,7 mg/dL. As mães suplementadas apresentaram níveis de SIgA no colostro de 498,9 mg/dL no 2º dia pós-parto ($p= 0,00006$). O colostro de mulheres com bom estado nutricional em vitamina A possuem mais retinol e SIgA. Além disso, a suplementação materna aumenta os níveis de SIgA no colostro. Os níveis superiores de SIgA no 1º dia pós-parto evidenciam a importância da amamentação precoce, pois isso garante benefícios imunológicos consideráveis ao recém-nascido.

Palavras-chaves: estado nutricional materno. Retinol. Soro. SIgA. Colostro.

ABSTRACT

Mothers with good vitamin A nutritional status during gestation and lactation are better able to nourish and protect their infant with maternal milk. Our hypothesis is that women with more serum retinol have more retinol and secretory immunoglobulin A in colostrum. 190 healthy puerperal women from a Brazilian public maternity were recruited and divided according to the cutoff point for serum retinol (30 µg/dL). A number of the women was supplemented with 200000 UI (60 mg) of retinyl palmitate in the immediate postpartum. Serum and colostrum were collected on the 1st day postpartum and colostrum again on the following day. Retinol (serum and colostrum) was analyzed by HPLC and SIgA (colostrum) by turbidimetry. The mothers presented with adequate biochemical indicators of nutritional status, according to serum retinol (44.6 µg/dL). There were significant differences ($p= 0.0017$ and $p= 0.043$, respectively) in retinol and SIgA levels in the colostrum of mothers with serum retinol > 30 µg/dL and < 30 µg/dL. The concentration of SIgA in the colostrum of non-supplemented mothers on the 1st day postpartum was 822.6 mg/dL, decreasing after 24 hours to 343.7 mg/dL. Supplemented mothers showed levels of SIgA in colostrum of 498.9 mg/dL on the 2nd day postpartum ($p= 0.00006$). The colostrum of women with good vitamin A nutritional status had more retinol and SIgA. Additionally, maternal supplementation increases the levels of SIgA in colostrum. The higher levels of SIgA on the 1st day postpartum showed the importance of early breastfeeding, given that it provides considerable immunological benefits to newborn infants.

Keywords: Maternal nutritional status. Retinol. Serum. SIgA. Colostrum.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas químicas de alguns compostos com ação de vitamina A.....	14
Figura 2. Visão geral da digestão e absorção de vitamina A.....	19
Figura 3. Metabolismo intracelular do retinol.....	21
Figura 4. Metabolismo, transporte e distribuição do retinol no organismo.....	23
Figura 5. Transporte da vitamina A para a glândula mamária.....	27
Figura 6. Sistema imune das mucosas.....	31
Figura 7. Diagrama da molécula de IgA secretora humana.....	31
Figura 8. Síntese de SIgA.....	32
Figura 9. Deficiência bioquímica de vitamina A como um problema de saúde pública em crianças em idade pré-escolar entre os países (1995-2005).....	41

Figura 10. Fluxograma das coletas de material biológico dos grupos com retinol sérico ≤ 30 $\mu\text{g/dL}$ e > 30 $\mu\text{g/dL}$	48
Figura 11. Esquema ilustrativo do processo de extração de retinol nas amostras de leite materno.....	50
Figura 12. Diluições do padrão de retinol para leitura no espectrofotômetro.....	52
Figura 13. Cromatograma de retinol.....	53
Figura 14. Curva de calibração dos padrões de retinol.....	55
Figura 15. Esquema ilustrativo do processo de extração de IgA secretora nas amostras de leite materno.....	56
Figura 16. Efeito imediato da suplementação com vitamina A sobre os níveis de retinol do colostro.....	60
Figura 17. Efeito imediato da suplementação com vitamina A sobre os níveis de SIgA no colostro.	62
Figura 18. Níveis de SIgA no colostro de mães com retinol sérico $\leq 30\mu\text{g/dL}$ e $> 30\mu\text{g/dL}$ não suplementadas e suplementadas no primeiro e segundo dia pós parto.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características gerais das mães recrutadas para esse estudo na Maternidade Escola Januário Cicco, Natal-RN.....58

Tabela 2. Correlações entre o retinol sérico e os níveis de retinol no colostro de mães sem suplementação e suplementadas.....61

Tabela 3. Correlações entre o retinol sérico e os níveis de IgA secretora no colostro de mães sem suplementação e suplementadas.....63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Apo B	Apolipoproteína B
AR	Ácido retinóico
bsiREH	Hidrolase de ER dependente de sais biliares neutros
CE	Ésteres de colesterol
CEL	Carboxilester lípase
Ch	Colesterol
CMRE	Quilomícrons contendo os ésteres de retinila absorvidos recentemente
CRBP	Proteína ligadora de retinol celular
DVA	Deficiência de vitamina A
ER	Ésteres de retinila
GM-CFS	Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
HPLC (CLAE)	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
KOH	Hidróxido de potássio
LPL	Lipase lipoprotéica
LRAT	Lecitina:retinol aciltransferase
MEJC	Maternidade Escola Januário Cicco
N₂	Gás nitrogênio
PL	Fosfolípido
PLB	Fosfolipase B
Qm	Quilomícron
RALDH	Retinal dehidrogenase
RAR	Receptores de ácido retinóico
RBP	Proteína ligadora de retinol
ROH	Retinol livre
RoDH	Retinol dehidrogenase

RXR	Receptores do retinóide X
SIgA	Imunoglobulina A Secretora
TNF-α	Fator de necrose tumoral α
TGF-β	Fator de transformação de crescimento β
TG	Triglicerídeo
TTR	Transtirretina
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	VITAMINA A.....	14
1.1.1	Definição, nomenclatura e propriedades físico-químicas.....	14
1.1.2	Fisiologia da vitamina A: Funções e ações.....	16
1.1.3	Fontes dietéticas de vitamina A.....	17
1.1.4	Absorção e metabolismo da vitamina A.....	18
1.1.4.1	Mecanismo de absorção da vitamina A.....	18
1.1.4.2	Metabolismo da vitamina A.....	20
1.1.4.3	Armazenamento e transporte.....	22
1.1.4.4	Excreção.....	24
1.1.4.5	Toxicidade.....	24
1.2	VITAMINA A E LACTAÇÃO.....	25
1.2.1	Aleitamento materno.....	25
1.2.2	Vitamina A x Leite Materno.....	26
1.3	VITAMINA A E IMUNIDADE.....	28
1.3.1	Propriedades gerais das respostas imunes.....	28
1.3.2	O sistema Imune das Mucosas.....	29
1.3.3	IgA Secretora.....	30
1.3.4	Sistema imune no Recém-nascido.....	33
1.3.5	Papel da vitamina A no sistema Imune.....	35
1.4	NECESSIDADES NUTRICIONAIS RECOMENDADAS.....	36
1.5	DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A (DVA).....	37
1.5.1	Etiologia.....	37
1.5.2	Conseqüências à saúde.....	38
1.5.3	Distribuição geográfica.....	40
1.5.4	Um problema de saúde pública.....	40

1.5.5	Diagnóstico de DVA.....	42
1.5.6	Controle da DVA.....	43
1	OBJETIVOS.....	45
2.1	OBJETIVO GERAL.....	45
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	45
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
3.1	SUJEITOS.....	46
3.2	COLETA DE DADOS.....	47
3.3	COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO.....	47
3.4	QUANTIFICAÇÃO DO RETINOL NO SORO E LEITE MATERNOS.....	49
3.4.1	Hidrólise alcalina e extração do retinol no colostro.....	49
3.4.2	Extração do retinol no soro.....	50
3.4.3	Preparo do padrão de retinol.....	51
3.4.4	Condições cromatográficas.....	52
3.4.5	Linearidade, exatidão e precisão dos métodos.....	54
3.5	ANÁLISE DA IMUNOGLOBULINA A SECRETORA NO COLOSTRO.....	55
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	57
4	RESULTADOS.....	58
5	DISCUSSÃO.....	64
6	CONCLUSÕES.....	70
7	REFERÊNCIAS.....	71

APÊNDICES.....	98
APÊNDICE A – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	99
APÊNDICE B – CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	100
APÊNDICE C – INQUÉRITO PARA MÃES ADULTAS.....	102

1 INTRODUÇÃO

1.1 VITAMINA A

1.1.1 Definição, nomenclatura e propriedades físico-químicas

O termo vitamina A se refere a um subgrupo de retinóides que possuem atividade biológica de retinol todo trans (AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION, 1990). Diferente desses são os retinóides que se referem a qualquer composto natural ou sintético que se assemelhe estruturalmente ao retinol todo trans, com ou sem atividade biológica de vitamina A (O'BYRNE; BLANER, 2005). A estrutura de algumas espécies de vitamina A importantes, bem como o carotenóide provitamina A mais ativo, β -caroteno todo trans, são mostrados na figura 1.

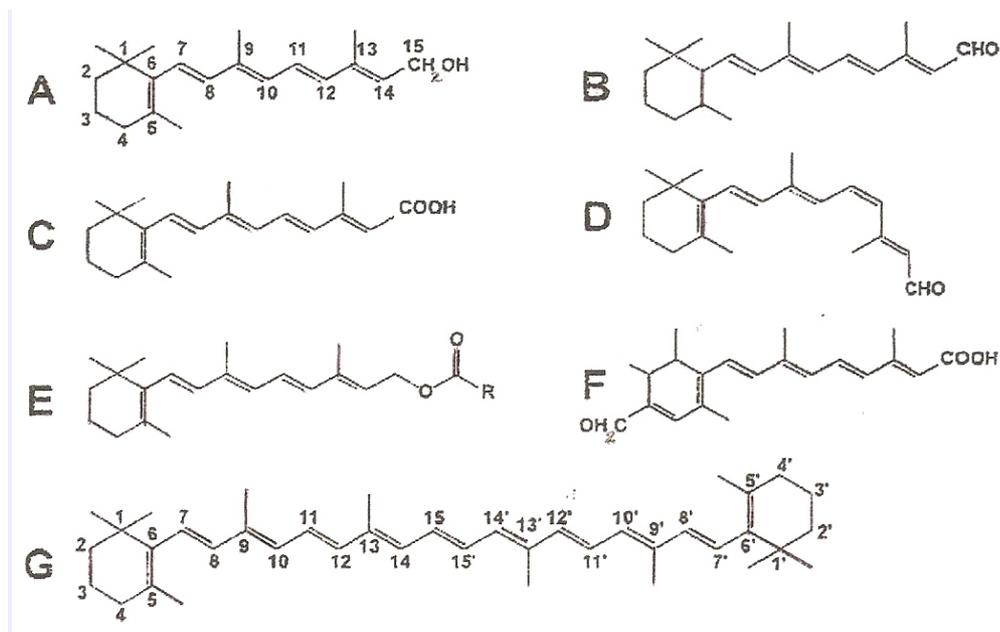


Figura 1. Estruturas químicas de alguns compostos com ação de vitamina A. A: retinol todo trans; B: retinal todo trans; C: ácido retinóico todo trans; D: 11-cis-retinal; E: ésteres de retinila, principalmente palmitato de retinila; F: ácido trimetil metoxifenol retinóico (etrina, acitretina); G: β -caroteno todo trans. Fonte: Solomons, 2006.

O retinol tem fórmula empírica $C_{20}H_{30}O$, peso molecular de 285,5 Da e contém em sua estrutura química o anel β -ionona ligado a uma estrutura terpênica (MACHLIN, 1990), que corresponde a 4 estruturas isoprenóides unidas, contendo 5 duplas ligações carbono-carbono conjugadas. O sistema de numeração para os carbonos do retinol é ilustrado na figura 1A (AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION, 1990). O retinol pode ser reversivelmente oxidável para retinal (figura 1B), o qual exibe toda a atividade biológica do retinol, ou, além disso, ser oxidado a ácido retinóico (figura 1C), que por sua vez não tem atividade biológica conhecida na visão ou reprodução animal (FROLIK, 1984). A forma da vitamina A envolvida no ciclo visual é o retinal-11-cis (figura 4D), enquanto que a forma principal de estocagem é o palmitato de retinila (figura 1E) (BLOMHOFF et al., 1994). Além destas funções, os retinóides podem ser efetivos terapêuticamente para o tratamento de distúrbios da pele e de alguns cânceres (DAWSON; OKAMURA, 1990). A acitretina (figura 1F) é um exemplo de um retinóide sintético pouco tóxico e de alta atividade utilizado no tratamento da psoríase e disceratoses (MARTINS, 2009).

O termo “provitamina A” é dado a vários carotenóides, com estrutura semelhante ao β -caroteno (Figura 1G), que tem um peso molecular de 536,9 Da e pode ser clivado para produzir retinóides ativos. Um anel β -ionona insubstituível é necessário para esta função. O licopeno, é um exemplo de caroteno que não é um composto provitamina A, pois o anel β -ionona está ausente (SOLOMONS, 2006).

Quanto às propriedades físico-químicas, os retinóides se apresentam como óleo amarelo, solúveis em muitos solventes orgânicos, mas insolúveis em soluções aquosas. São sensíveis a oxidação e isomerizam quando expostos a luz, oxigênio, metais reativos e altas temperaturas (ALMEIDA-MURADIAN; PENTEADO; RIBEIRO et al., 2005). A isomerização da vitamina A da forma trans para a forma cis resulta em diminuição significativa da atividade biológica, uma vez que sua função é desempenhada pela forma trans (MAHAN, 1994). A vitamina A possui diversas propriedades físicas úteis para sua análise. A série de duplas ligações conjugadas produz características ultravioletas ou absorção espectrofotométrica visíveis. A absorção máxima e o coeficiente de extinção molar em etanol para o retinol todo trans é de 325 nm (ϵ 1%, 1cm = 1780) (KOFLEK; RUBIN, 1960).

O coeficiente de extinção molar (ϵ), também citado como absorbtividade molar ou absorvidade molar, é a capacidade que um mol de substância tem em absorver luz a um dado comprimento de onda, ou em outras palavras, o quão fortemente uma substância absorve

radiação a uma determinada frequência. O coeficiente de extinção é característico de uma dada substância sob uma série de condições exatamente definidas, tais como comprimento de onda, solvente e temperatura e está relacionada com a concentração da substância na amostra. Na prática, a medida do coeficiente de extinção molar também depende parcialmente das características do instrumento utilizado. Por esta razão, valores pré-determinados para o coeficiente de extinção não são usados normalmente em análises quantitativas. Em seu lugar, é feita uma curva de calibração da substância que vai ser analisada, usando uma ou mais soluções padrões com concentrações conhecidas do analito (GORDON, 1995; REED et al., 1998).

1.1.2 Fisiologia da vitamina A: Funções e ações

Algumas formas de retinóides estão envolvidas em funções de todas as células do corpo. Visão, comunicação intercelular, produção de mucina, embriogênese, crescimento celular e diferenciação celular são notáveis entre a gama de funções relacionadas à vitamina A; as mais recentes envolvem os tecidos vascular, hematopoiético, imune, osteoblástico e osteoclástico, alveolar e neuronal (SOLOMONS, 2006).

A forma ativa da vitamina A na visão é o retinal, que é derivado do retinol circulante e dos ésteres de retinila. 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 retinal todo trans. Tais receptores liberam sinais que ativam as células neurais associadas à porção do córtex cerebral responsável pela visão (OLSON, 1996).

O ácido retinóico está relacionado à transcrição de genes envolvidos no desenvolvimento de tecidos, vértebras, aparelhos visual, circulatório e auditivo, 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 (espermatozoides, concepção, formação placentária e embriogênese) e remodelação óssea (NAPOLI, 1996; VLIET et al., 2001; CLAGETT-DAME; DELUCA, 2002).

O interesse pela vitamina A como um imunorregulador se deve ao aumento da susceptibilidade dos animais deficientes em vitamina A à infecção, resultado de depressão na imunidade humoral e 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 na manutenção de células *natural killers* circulantes, que possuem atividade antiviral e antitumor (ZHAO; ROSS, 1995), potencializa as capacidades fagocitárias dos macrófagos, sendo essencial no processo de diferenciação dos leucócitos (KATZ et al., 1987).

A habilidade da vitamina A e de suas formas isoméricas para promover a diferenciação terminal, inibir a proliferação celular e promover a apoptose é importante em situações em que um tecido sofre transformações malignas. Altas doses de retinóides têm mostrado atividade antineoplásica *in vitro* em diversos tipos de linhagens de células cancerosas (DAWSON, 2002; EVANS, 2005; ABU et al., 2005).

1.1.3 Fontes dietéticas de vitamina A

A vitamina A pré-formada é encontrada quase exclusivamente em produtos de origem animal, como leite humano, carnes, fígado e óleo de fígado de peixe (especialmente), gema de ovo, leite integral e outros produtos lácteos. A vitamina A pré-formada é também utilizada para fortificar alimentos processados como açúcar, cereais, condimentos, gorduras e óleos (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997). Os carotenóides provitamina A são encontrados em vegetais de folhas verdes (por exemplo, espinafre), legumes amarelos (por exemplo, abóbora e cenoura) e frutas amarelas e laranjas não-cítricas (por exemplo, manga, damasco e mamão). O óleo vermelho da Palma (óleo de dendê) produzido em vários países do mundo é especialmente rico em provitamina A (BOOTH et al, 1992). Outra fonte vegetal extraordinariamente rica em provitamina A é o fruto da palmeira brasileira Buriti (*Mauritia flexuosa*), encontrado em áreas ao longo do rio Amazonas (assim como no resto da América Latina) (ADVISORY COMMITTEE ON TECHNOLOGY INNOVATIONS, 1975). Estes alimentos contendo carotenóides pró-vitamina A tendem a ter menos vitamina A

biologicamente disponível, mas são mais acessíveis do que os produtos animais. É, sobretudo, por esta razão que os carotenóides fornecem a maior parte da atividade de vitamina A nas dietas das populações economicamente desfavorecidas.

1.1.4 Absorção e metabolismo da vitamina A

1.1.4.1 Mecanismo de absorção da vitamina A

O ponto inicial para acessar os nutrientes da dieta é a extração deles dos alimentos. A mastigação e a ação do suco gástrico é o 1º passo fundamental na obtenção da vitamina A disponível, contida em alimentos sólidos, pelo indivíduo. Portanto, essas duas ações devem ser eficientes. As bem descritas ações dos sais biliares e lipases pancreáticas em um pH adequado, em conjunto com a formação de micelas dentro do lúmen, é um pré-requisito para liberar os ésteres de retinila para a absorção intestinal (HARRISON, 2005).

A vitamina A pré-formada obtida de fontes animais é encontrada na forma de ésteres de retinila (ERs). A absorção intestinal dessa vitamina requer a participação de algumas enzimas. Os ERs da dieta são hidrolisados no lúmen pelas enzimas lipase lipoprotéica (LPL) e fosfolipase B (PLB) nas microvilosidades dos enterócito. O retinol livre (ROH) é, então, absorvido pelo enterócito, talvez facilitado por uma proteína de transporte de retinol ainda não identificada (RT). Uma vez dentro da célula, o retinol é complexado com uma proteína ligadora de retinol celular tipo 2 (CRBP2) e este complexo serve como substrato para a reesterificação do retinol pela enzima lecitina:retinol aciltransferase (LRAT). Os ésteres de retinila (ER) são então incorporados aos quilomícrons (Qm), lipoproteínas intestinais que transportam outros lipídios da dieta como os triacilgliceróis (TGs), fosfolipídios (PLs), colesterol (Ch), ésteres de colesterol (CEs) e apolipoproteína B (Apo B). Os quilomícrons contendo os ésteres de retinila absorvidos recentemente (CMREs) são então secretados 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). O retinol não esterificado é também absorvido pela circulação porta e a sua saída através da membrana basolateral da célula também pode ser facilitada por proteínas transportadoras de retinol (RT) (HARRISON, 2005). Uma visão geral do que foi exposto acima é diagramaticamente mostrado na figura 2.

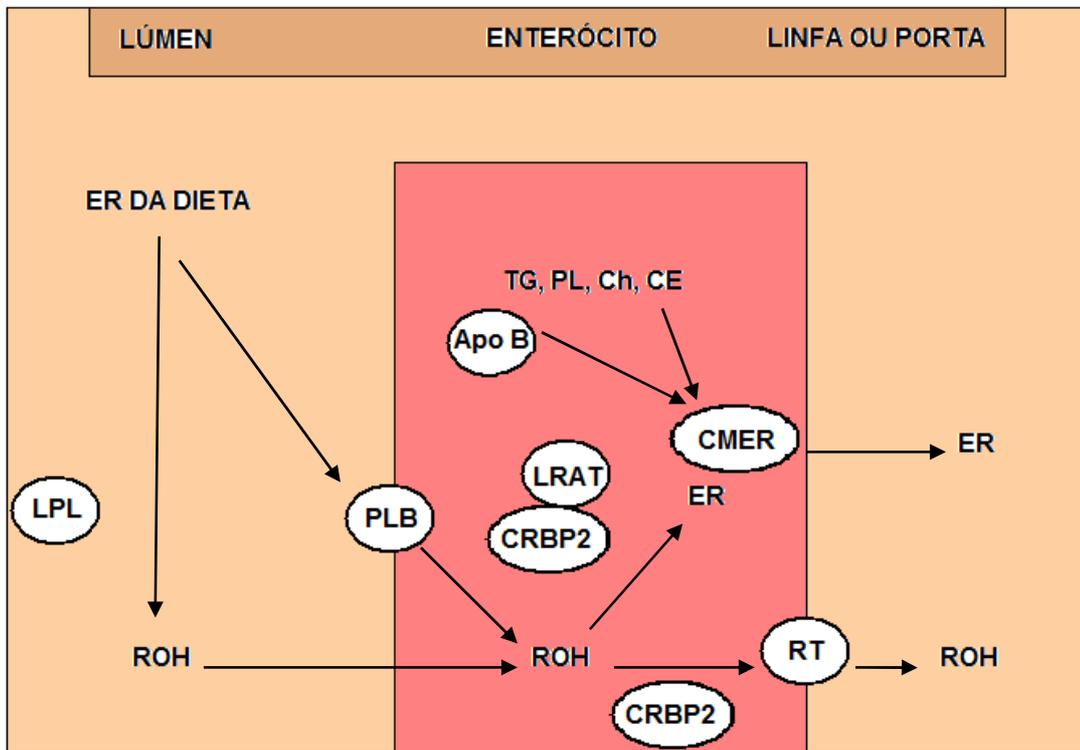


Figura 2. Visão geral da digestão e absorção de vitamina A. LPL (lipase lipoprotéica); PLB (fosfolipase B); CEL (carboxilester lipase); ROH (retinol livre); ER (ésteres de retinila); CRBP2 (proteína ligadora de retinol celular tipo 2); LRAT (lecitina:retinol acil transferase); Qm (quilomícrons); TG (triacilglicerol); PL (fosfolípídeos); Ch (colesterol); CE (éster de colesterol); Apo B (apolipoproteína B); CMRE (éster de retinila absorvido recentemente). Fonte: adaptado de Harrison, 2005.

Os carotenóides, por sua vez, após serem solubilizados em micelas no lúmen duodenal, são absorvidos inalterados pelas células da mucosa por mecanismo de difusão passiva e em parte são bioconvertidos a retinol nas microvilosidades dos enterócitos através

da enzima 15-15' β -caroteno monoxigenase (PARKER, 1996; CASTENMILLER; WEST, 1998; INSTITUTE OF MEDICINE, 2001). Esta enzima, também conhecida como caroteno monoxigenase 1, leva a clivagem central do β -caroteno com a formação de até 2 moléculas de retinal para cada fração carotenóide. Clivagens em outras partes da molécula do β -caroteno também ocorrem com a conversão de β -caroteno em β -apo-carotenal e eventualmente em retinóides. Esta bioconversão é feita via caroteno monoxigenase 2 (OLSON, 1983). Cerca de 81% do retinol formado a partir do β -caroteno é clivado no intestino e os 19% restantes são convertidos após absorção intestinal (TANG et al., 2003).

1.1.4.2 Metabolismo da vitamina A

A partir do momento em que os carotenóides e os ERs são absorvidos têm-se início o metabolismo do retinol. No intestino, os carotenóides da dieta sofrem clivagem central a retinal, que se liga a CRBP II. Uma redutase retinal microsomal reconhece o retinal ligado à CRBP II e o converte em retinol. Os ERs da dieta sofrem hidrólise em retinol, que se liga à CRBP II. A LRAT reconhece o complexo retinol-CRBP II e sintetiza ERs. A CRBP II impede a oxidação do retinal e retinol, otimizando a formação dos ERs. Os Qm incorporam e entregam os ERs para o fígado como Qm remanescentes, formados após a hidrólise dos TG (NAPPOLI, 2000).

No fígado, os lisossomos englobam os ERs e uma hidrolase ácida libera retinol para se ligar à CRBP. A holo-CRBP formada serve como substrato para a esterificação do retinol catalisada pela LRAT. Uma hidrolase de ERs dependente de sais biliares neutros (bsiREH) cataliza a mobilização do ERs. A apo-CRBP controla o metabolismo do retinol pela inibição da LRAT e pelo aumento da taxa de hidrólise via bsiREH. A holo-CRBP também serve como substrato para a formação de retinal, catalisada pela retinol desidrogenase (RoDH). A isozima retinal desidrogenase (RALDH) catalisa a conversão irreversível de retinal a ácido retinóico (AR). A ausência de CRBP permitiria que outras enzimas (desidrogenases alcoólicas de cadeia intermediária, citocromo P-450 (CY) e oxidoredutases) e moléculas reativas intracelulares tivessem acesso ao retinol, juntamente com LRAT e RoDH. Isso aceleraria o

metabolismo do retinol e a depleção dos ERs (NAPPOLI, 2000). O metabolismo intracelular do retinol é mostrado na figura 3.

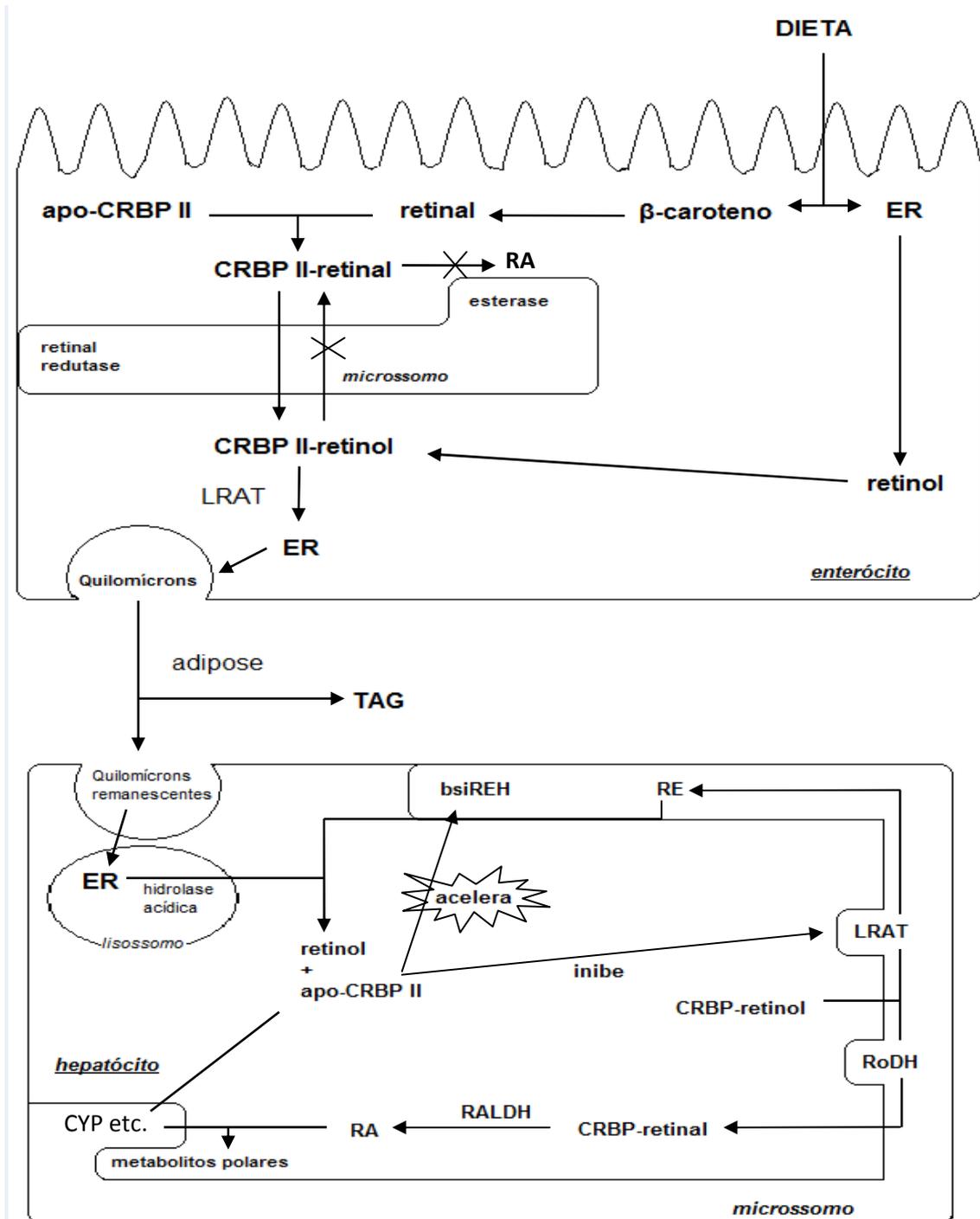


Figura 3. Metabolismo intracelular do retinol. ER (éster de retinila); CRBP (proteína ligadora de retinol celular); RA (ácido retinóico); TAG (triacilglicerol); LRAT (lecitina: retinol acil transferase); bsiREH (hidrolase dependente de sais biliares neutros); RoDH (retinol dehidrogenase); RALDH (retinal dehidrogenase). Fonte: adaptado de Nappoli, 2000.

1.1.4.3 Armazenamento e transporte

No parênquima hepático, os ésteres de retinila são rapidamente hidrolisados a retinol, o qual se liga a proteína ligante de retinol (RBP), podendo então ser armazenados no fígado ou serem lançados de volta a corrente sanguínea. Em níveis de vitamina A suficientes, a síntese de RBP e sua acumulação são razoáveis; observa-se pouca produção, se alguma vitamina absorvida recentemente sai do fígado. Em níveis deficientes de vitamina A, os níveis de RBP hepáticos estão aumentados e uma alimentação rica em vitamina A manifesta uma maior liberação de retinol para alimentar tecidos periféricos desprovidos (LOERCH et al., 1979).

A partir dos hepatócitos, o transporte de vitamina A pode ser local ou distante. O transporte local envolve a proteína de ligação de retinol celular I (CRBP I ou RBP) que transloca o retinol até as células estreladas de armazenamento de gordura (células de Ito). Cerca da metade da vitamina A no fígado de um indivíduo repleto de vitamina A reside nos hepatócitos, enquanto que a outra metade está em células estreladas de depósito de gordura (células de Ito) (SENOO, 2004).

O transporte da vitamina A para os tecidos periféricos envolve o complexo transtirretina-RBP. Dentro do hepatócito, o retinol forma um complexo com a RBP, um peptídeo com 183 aminoácidos (21,23 Da); este, por sua vez, se junta a um sítio de ligação na TTR e é estocado no complexo de Golgi até o transporte do retinol disponível (GAETANI et al., 2002). A estabilidade do ligante de RBP para o retinol é aumentada pelo complexo com TTR, aumentando a afinidade de ligação do RBP para o retinol (ZANOTTI; BERNI, 2004). Este complexo é um homotetrâmero de 55 Da que evita a filtração glomerular da pequena RBP (RAGHU; SIVAKUMAR, 2004). O complexo retinol: RBP: TTR pode ser captado por uma variedade de células que possuem receptores específicos para RBP em sua superfície (por exemplo, a glândula mamária). Estas células são capazes de oxidar enzimaticamente o retinol a retinal e ácido retinóico (DUESTER, 2000). O ácido retinóico pode ainda ser metabolizado por reações de isomerização não-enzimática, descarboxilação e glicuronização, formando diversos metabólitos que podem ter atividade biológica (por exemplo, ácido

retinóico 9-cis) ou serem apenas produtos do catabolismo (AZÄIS-BRAESCO; PASCAL, 2000).

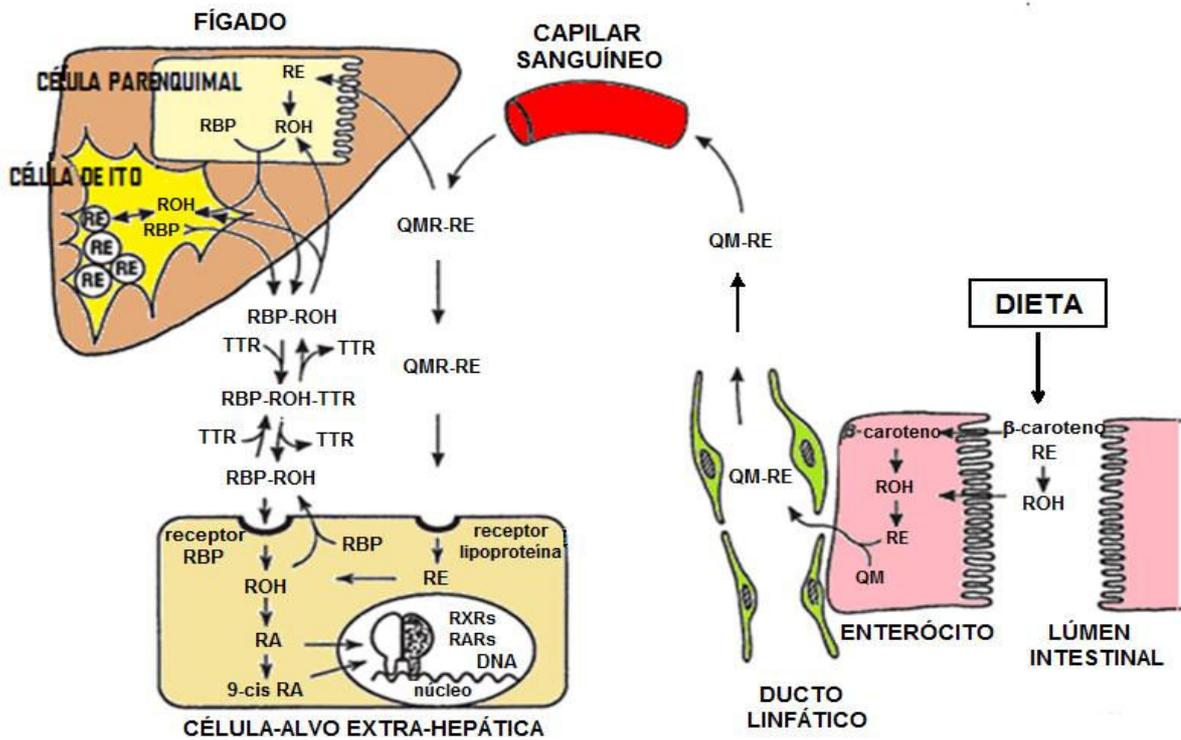


Figura 4. Metabolismo, transporte e distribuição do retinol no organismo. ROH = retinol; RE = éster de retinila; QM = quilomícrons; QMR = quilomícrons remanescentes; RBP = proteína carreadora de retinol; RA = ácido retinóico; RAR = receptor do ácido retinóico; RXR = receptor X do retinóide; TTR = transtirretina (Fonte: Adaptado de BLOMHOFF, 2001).

O ácido retinóico, por sua vez, se liga à proteína ligante de ácido retinóico (CRABP I ou II) e o complexo CRABP: ácido retinóico é transportado ao núcleo (não mostrado na figura), onde o ácido retinóico liga-se aos seus receptores nucleares específicos (RAR para ácido retinóico todo trans, e RXR para ácido retinóico 9-cis) (SENOO, 2004). No núcleo, o ácido retinóico e seus metabolitos, de maneira análoga aos hormônios esteróides, regulam a expressão gênica ligando-se, através de seus receptores, a seqüências curtas de DNA. Dessa maneira, induzem a síntese de glicoproteínas específicas e exercem as funções da vitamina A, exceto o papel no ciclo visual (BLOMHOFF, 2001; MCLAREN; FRIGG, 2002; ALMEIDA-MURADIAN; PENTEADO, 2003).

Todo o processo a partir da ingestão da vitamina A até a liberação pelas células estreladas leva em torno de 5 horas (AZÄIS-BRAESCO; PASCAL, 2000). Em situações de

excesso na concentração de retinol plasmático, a vitamina A é estocada nas células estreladas (DEBIER; LARONDELLE, 2005).

1.1.4.4 Excreção

A principal via de excreção para a vitamina A e seus metabolitos do corpo é a biliar. A perda de vitamina A pela urina é pequena sob circunstâncias normais (SOLOMONS, 2006). Entretanto, situações patológicas como toxemia (RAILA et al., 2004), insuficiência renal crônica (GAVRILOV et al., 2004), mieloma múltiplo (GAVRILOV et al., 2003) e infecções febris (MITRA et al., 1998) aumentam a perda urinária. Estima-se que 20 a 40% das reservas hepáticas infantis podem ser perdidas em um episódio de diarreia crônica (MITRA et al., 2002).

1.1.4.5 Toxicidade

Quando consumida em excesso, a vitamina A pré-formada pode causar diversos efeitos tóxicos e teratogênese (em casos de gravidez). Nesses eventos, é capturada intensamente e excede a capacidade de ligação da RBP, ocorrendo alterações nas membranas biológicas e manifestações de toxicidade sistêmica. Sinais e sintomas de hipervitaminose A aguda incluem dor abdominal, náusea, vômito, dor de cabeça, fadiga, irritabilidade e descamação generalizada da pele; quando não fatais, os sintomas são resolvidos em um período de dias ou semanas (ALLEN; HASKELL, 2002). O consumo crônico pode levar a lesões mucocutâneas, oculares, neuromusculares, psicológica, reumatológica e endócrinas. Os sintomas desaparecem em semanas ou meses quando a suplementação é suspensa (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2002).

1.2 VITAMINA A E LACTAÇÃO

1.2.1 Aleitamento materno

As vantagens da amamentação se estendem por toda a vida do indivíduo, ao atuar como agente imunizador e diminuir o risco de ocorrência de doenças alérgicas e respiratórias (BALABAN; SILVA, 2004). O lactente que recebe leite materno tem menos chance de desenvolver diabetes, hipertensão arterial e doenças cardiovasculares (SALVIANO, 2004). Por todos esses motivos que a Organização Mundial de Saúde (1989) recomenda que os lactentes sejam alimentados exclusivamente com leite materno até os seis meses de idade. Essa posição é defendida não só pelos aspectos benéficos para o lactente, como também pelos aspectos físicos e psicológicos maternos, além dos fatores socioeconômicos (HASCHKE; VANT’HOF, 2000).

A composição química do leite humano varia significativamente nas duas primeiras semanas de lactação. O primeiro produto da secreção láctea é denominado colostro e permanece, em média, até o 4º ou 7º dia pós-parto. Ele difere do leite maduro no tocante a características físicas e composição. O colostro é um líquido espesso de coloração amarelada, embora variável, cujo volume varia entre 2 mL e 10 mL por mamada, sendo maior a produção em multíparas. Ele contém mais proteínas e minerais, principalmente sódio, potássio, zinco e cloro, e menos gordura e carboidratos do que o leite maduro. O colostro é rico em anticorpos, principalmente a imunoglobulina A secretora, e atua como uma vacina, protegendo o recém-nascido contra infecções. Além dessa vantagem, ele tem a propriedade de facilitar o estabelecimento de uma flora intestinal predominantemente bífida (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium infantis*) e com efeito laxativo, ajudando na eliminação do mecônio (EUCLYDES, 2000). Do 7º ao 21º dia pós-parto o leite passa a receber a denominação de “leite de transição”. Em torno do 21º dia, a composição do leite torna-se relativamente mais estável, passando a ser caracterizado como leite maduro (INSTITUTE OF MEDICINE, 1991).

O colostro apresenta vários componentes importantes na resposta imunológica, tais como: imunoglobulinas (IgA, IgM, IgG, IgD e IgE), lactoferrina, lisozimas, mucina, lipídeos, fagócitos polimorfonucleares e mononucleares (GOLDMAN; OGRA, 1999), interleucinas (IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10), fator de necrose tumoral α (TNF- α) (BERNT;

WALKER, 1999), fator de transformação de crescimento β (TGF- β) e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) (HANSON, 1998). Essa grande variedade de efeitos protetores é de grande importância para a criança que se encontra em período crítico de adaptação imposto pelo ambiente extra-uterino. Os lactentes quando amamentados são menos susceptíveis às infecções, especialmente gastrointestinais e respiratórias. Isso, em parte, é atribuído à ausência de contaminação bacteriana no leite materno, especialmente nas regiões de clima quente, onde a refrigeração não é disponível. O leite humano além de puro é anti-infeccioso, o que justifica seu importante papel na prevenção de doenças (GOLDMAN; GOLDBLUM, 1991; EUCLYDES, 2000).

1.2.2 Vitamina A x Leite Materno

No leite materno a maior parte do retinol (95-100%) encontra-se sob a forma de ésteres de retinila, principalmente palmitato e estearato de retinila, e o restante como retinol livre (OMS, 2001). Os níveis médios de retinol no colostro de mulheres provenientes de países desenvolvidos equivalem a 152,4 $\mu\text{g/dL}$, enquanto que de países em desenvolvimento não ultrapassam os 100 $\mu\text{g/dL}$ (ROSS; HARVEY, 2003; STOLTZFUS; UNDEWOOD, 1995).

O mecanismo de transferência da vitamina A para o leite vem sendo estudado em modelos animais, mas 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% desta 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 et al., 2004). A figura 5 mostra como a vitamina A pode chegar à glândula mamária.

Em gestantes, tem sido observada uma tendência de diminuição dos níveis de vitamina A no sangue, especialmente no último trimestre da gestação (RONDO, 1995). Por outro lado, 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. Tal mecanismo favorece a baixa reserva hepática de vitamina A nas crianças ao nascerem (UNDERWOOD, 1994; RAMALHO et al., 1999). O leite materno é capaz de transferir para o bebê até 60 vezes mais vitamina A do que a placenta. Por esse motivo, o leite materno, especialmente o colostro, representa uma importante fonte deste micronutriente, contribuindo para restabelecer as reservas do recém-nascido (STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995). Além disso, a vitamina A do leite materno é mais facilmente absorvida do que a vitamina A originária de outras fontes dietéticas no trato gastrointestinal dos bebês porque o leite humano contém uma lipase que é ativada pelos sais biliares no duodeno do lactente. O papel principal desta lipase é hidrolisar os ésteres de retinila do leite (HASKELL; BROWN, 1999).

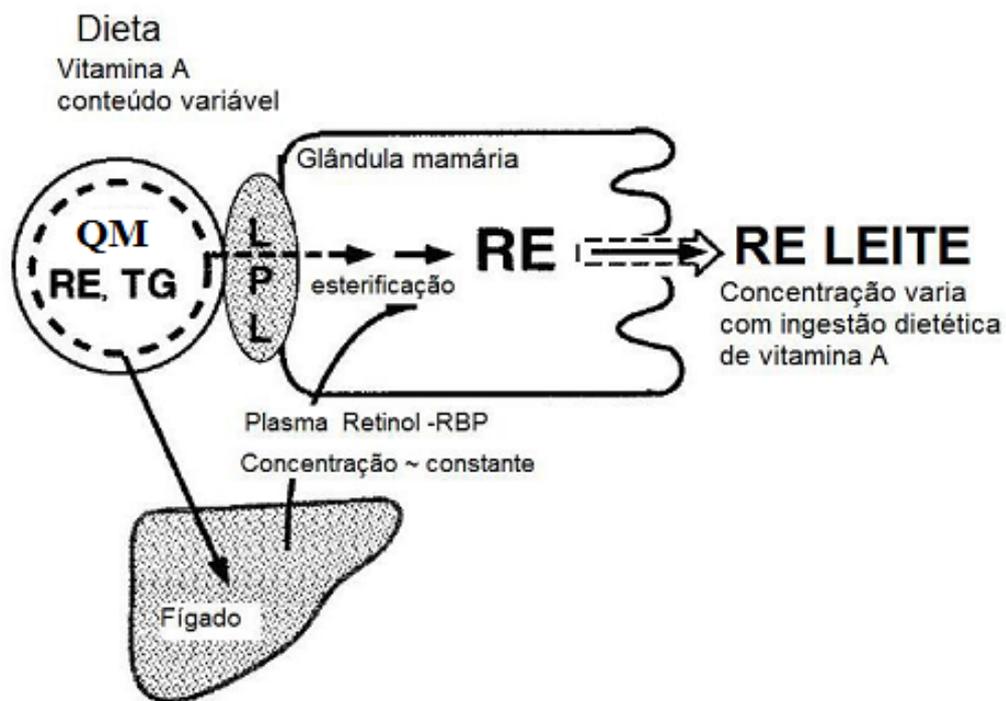


Figura 5. Transporte da vitamina A para a glândula mamária. QM (quilomícron); RE (éster de retinila); TG (triacilglicerol); LPL (lipase lipoprotéica); RBP (proteína ligadora de retinol). Fonte: Adaptado de ROSS, 2004.

A concentração de retinol e de carotenóides no leite materno variam 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 et al., 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, já que o leite posterior é rico em gordura, nutriente envolvido na absorção e transporte dessa vitamina (ALENCAR et al., 2002).

A ingestão recente de nutrientes pode também influenciar na composição do leite. Alguns estudos mostram uma associação positiva entre a concentração de vitamina A do leite e o retinol sérico, ressaltando a importância do estado nutricional materno em vitamina A para garantir um consumo adequado de retinol pela criança (STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995; GROSS et al, 1998; DIJKHUIZEN et al 2001; MELLO-NETO et al, 2009).

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). Apesar de ser utilizado como tal, ainda não há faixas validadas de normalidade para o retinol no leite. O que há é a sugestão de que concentrações menores que 1,1 $\mu\text{mol/L}$ (30 $\mu\text{g/dL}$) no leite poderiam não ser suficientes para acumular reservas adequadas no recém-nascido até o momento do desmame que ocorre em torno dos 6 meses (WHO, 1996).

1.3 VITAMINA A E IMUNIDADE

1.3.1 Propriedades gerais das respostas imunes

O corpo humano tem a capacidade de resistir a quase todos os tipos de organismos ou toxinas que tendem a lesar os tecidos e órgãos. Essa capacidade é denominada imunidade. Portanto, imunidade é a reação do organismo a substâncias estranhas, incluindo microorganismos bem como macromoléculas (proteínas e polissacarídeos). As células e moléculas responsáveis pela imunidade constituem o sistema imune, e sua resposta coletiva e

coordenada à introdução de substâncias estranhas no organismo é chamada resposta imune (ABBAS; LICHTMAN, 2003; PARHAM, 2001).

A imunidade protetora contra um microorganismo pode ser induzida pela resposta do hospedeiro ao patógeno pela transferência de anticorpos ou de linfócitos específicos para aquele microorganismo (GUYTON, 2002). A forma de imunidade que é induzida pela exposição a um antígeno estranho é designada imunidade ativa, pois o indivíduo imunizado produz uma resposta ativa ao antígeno. A imunidade passiva é conferida ao indivíduo transferindo-lhe o soro ou os linfócitos de outra pessoa especificamente imunizada. O receptor dessa transferência torna-se imune ao antígeno em particular sem nunca ter sido exposto ou ter respondido àquele antígeno (ABBAS; LICHTMAN, 2003). A imunidade passiva constitui um método útil para conferir resistência rapidamente sem ter que esperar que uma resposta ativa se desenvolva. Um exemplo de imunidade passiva é a transferência de anticorpos da mãe para o recém nascido através do leite materno (FERREIRA et al, 1998).

1.3.2 O sistema imune da mucosa (MALT)

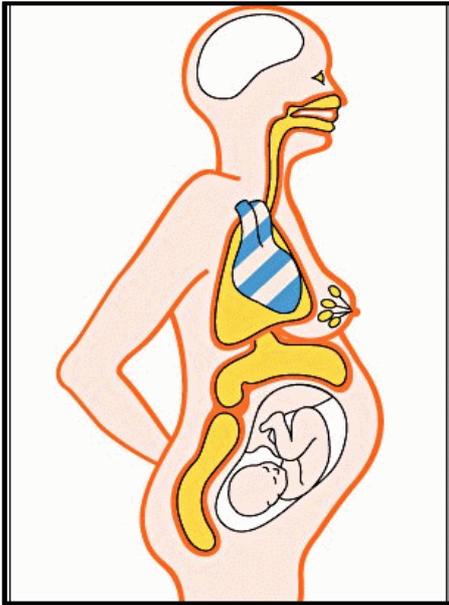
As superfícies da mucosa do corpo são particularmente vulneráveis a infecção. Elas são barreiras finas e permeáveis para o interior do corpo em função de sua atividade fisiológica de troca de gases (pulmão), absorção de alimento (intestino), atividades sensoras (olhos, nariz, boca e garganta) e reprodução (útero e vagina), com uma superfície total de 400 m² (BRANDTZAEG, 2007). A necessidade de permeabilidade da superfície que recobre esses locais, conseqüentemente, cria uma vulnerabilidade óbvia à infecção e a grande maioria dos agentes infecciosos invade o corpo humano através dessas vias (JANEWAY et al, 2007). A observação da presença de anticorpos em regiões particulares do corpo, com detecção baixa ou nenhuma de anticorpos séricos, levou a descoberta da existência de um mecanismo de resposta independente da imunidade sistêmica, ao qual se denominou imunidade local ou imunidade das secreções (CALICH; VAZ, 2001). Nas secreções internas (líquido

cefalorraquidiano, humor aquoso, líquido pleural, sinovial e amniótico), a proporção de diversos isótipos de imunoglobulina é semelhante à encontrada no soro, sendo a IgG a classe mais abundante. As secreções externas (saliva, lágrima, colostro, fluidos dos tratos respiratório, gastrintestinal e geniturinário) são caracterizadas pela predominância de IgA secretora (JANEWAY et al, 2007).

1.3.3 IgA Secretora

A IgA secretora (SIgA) é a imunoglobulina mais encontrada nas secreções mucosserosas, sendo uma das primeiras linhas de defesa da mucosa. Ela existe sob duas isoformas: IgA₁ e IgA₂, que diferem na sua primeira seqüência de aminoácidos e estrutura de carboidratos. Os anticorpos IgA são encontrados tanto no sangue como em secreções mucosas. A IgA no soro humano é principalmente monomérica, sendo 90-95% subclasse IgA₁. A maioria da IgA das secreções é polimérica sua concentração é aumentada em relação a concentração de IgA no soro. A IgA do soro é derivada principalmente da medula óssea, enquanto que a IgA das secreções externas é sintetizada localmente nos tecidos associados a mucosas e glândulas (MAJKOWSKA-SKROBEK; AUGUSTYNIAK; JANKOWSKI, 2003).

Durante as infecções agudas das mucosas verifica-se grande aumento do teor de anticorpos nos fluidos que irrigam a área afetada. Esta elevação não corresponde a aumentos da IgA sérica. Todas as mucosas e glândulas de secreção externa são ricas em plasmócitos que produzem localmente os anticorpos, principalmente a IgA secretora (SNOECK et al., 2006), que recobre toda a área mucosserosa como mostra a figura 6.



A SIgA está
ura, está sendo
rrenty Biology

A SIgA possui PM de 390 kDa. Sua molécula é formada por duas unidades de IgA, idênticas à IgA do soro, interligadas por um peptídeo denominado peça J com PM de 26 kDa e um outro componente com PM de 64 kDa, também protéico, referido como componente ou peça secretora (SC, do inglês, *secretory component*). A figura 7 mostra a estrutura da SIgA.

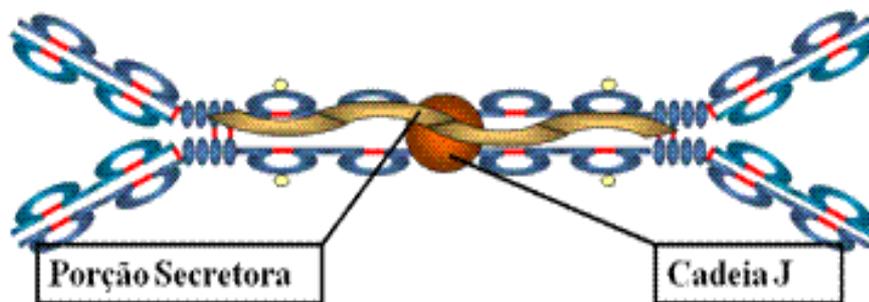


Figura 7. Diagrama da molécula de IgA secretora humana, mostrando o arranjo dos monômeros de IgA “grudados” por um fragmento protéico conhecido como cadeia J. O elemento secretor (em amarelo) envolve as moléculas unidas. Cada um dos quatro braços deste anticorpo possui uma área de fixação do antígeno. Fonte: pathmicro.med.sc.edu.

O componente J é sintetizado pelo próprio plasmócito do tecido glandular, de tal modo que a SIgA já é secretada sob a forma dimerizada. Este componente é essencial, pois o dímero IgA: cadeia J se complexa com o receptor polimérico de imunoglobulinas (pIgR) na porção basolateral da célula epitelial, estimulando a transcitose do receptor e da IgA anexada através da célula epitelial (MOSTOV et al., 1984). A clivagem do receptor na porção apical da célula libera a SIgA e uma porção do pIgR, o componente secretor (SC), e ambos são descarregados dentro do lúmen da mucosa (SINGER; MOSTOV, 1998) (figura 8). O componente SC confere uma resistência a IgA secretora frente a enzimas proteolíticas. Isso é de grande importância fisiológica, pois os fluidos como lágrima, saliva, suco gástrico e entérico, sendo ricos em enzimas, destruiriam a IgA (FALLGREEN-GEBAUER et al., 1993).

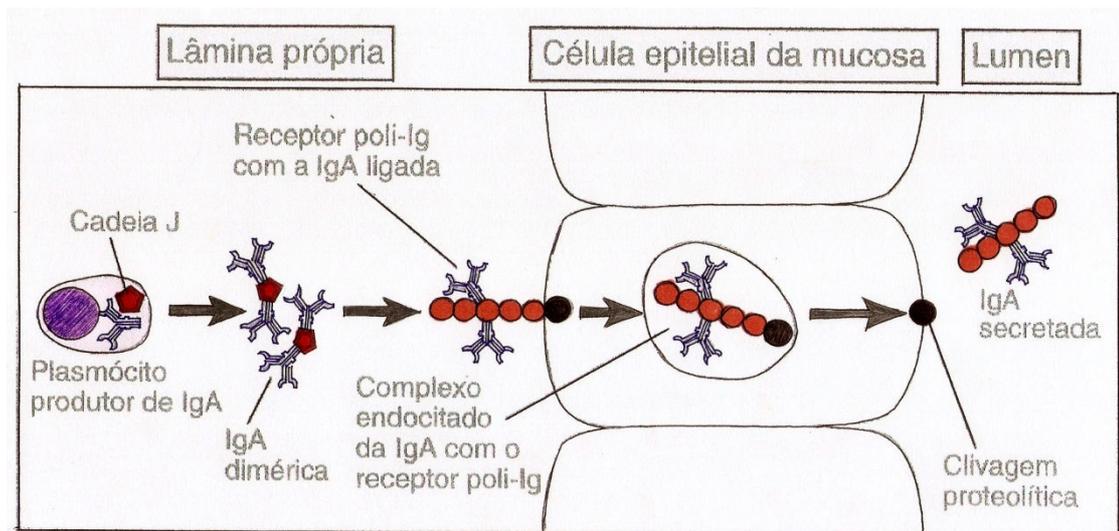


Figura 8. Síntese de SIgA. Fonte: adaptado de Abbas e Lichtman, 2003.

A principal função biológica da IgA é a proteção contra microorganismos invasores como vírus e bactérias nas superfícies das mucosas, inibindo seus mecanismos de aderência às células epiteliais. Além disso, promove diminuição de uma variedade de antígenos ou alérgenos, inalados ou ingeridos, que podem desencadear respostas imunes (RUPULO et al., 1998). A SIgA presente no leite humano é específica para combater patógenos encontrados no ambiente comum a ambos, mãe e filho, como *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* enteropatogênica, *Shigella*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Rotavírus*, dentre outros (EUCLYDES, 2000).

A SIgA está presente em níveis mais elevados no colostro (até 1200 mg/ dL), formando uma camada que protege o intestino da criança quando esta se alimenta do leite humano. A partir do segundo dia pós-parto, o nível de IgA decresce, mas quantidades significativas (aproximadamente 200 mg/dL) ainda continuam a ser fornecidas ao lactente que permanece em aleitamento materno (RÄIHÄ, 1989).

O mecanismo de transferência de imunidade passiva da mãe para o filho através do aleitamento materno é descrito a seguir. Após ingerir um patógeno estranho, as células M da mãe – células especializadas do revestimento intestinal do trato digestivo – capturam este patógeno e o apresenta aos macrófagos adjacentes. Os macrófagos digerem os patógenos e apresentam seus fragmentos (antígenos) para os linfócitos T auxiliares (T helper), os quais secretam substâncias químicas que ativam os linfócitos B circulantes. As células B, por seu turno, amadurecem transformando-se em células plasmáticas que migram para os tecidos epiteliais da mama, onde é sintetizado o componente secretor, liberando anticorpos SIgA (NEWMAN, 1995). A SIgA através do leite materno entra no trato gastrointestinal do bebê, impedindo que microorganismos patogênicos penetrem a barreira mucosa do lactente, desta forma, prevenindo a doença, principalmente doenças diarréicas e respiratórias (NEWBURG, 2005).

As moléculas de SIgA, distintamente de outros anticorpos, não causam prejuízo ao bebê, uma vez que afastam a doença sem causar inflamação - processo em que vários agentes químicos destroem os microorganismos, mas potencialmente podem lesar o tecido sadio. No intestino em desenvolvimento de um bebê, a membrana mucosa é extremamente delicada e um excesso destes agentes químicos poderia causar um dano considerável (NEWMAN, 1995).

1.3.4 Sistema imune no Recém-nascido

O sistema imune do RN tem características de amadurecimento semelhantes a qualquer outro sistema orgânico neste período de vida, isto é, nem todas as suas respostas

estão ao nível daquelas obtidas no indivíduo adulto, seja por alterações quantitativas ou por alterações qualitativas nos diferentes componentes do sistema imunológico (CHIRICO, 2005).

O RN possui certas peculiaridades que o tornam um hospedeiro susceptível às infecções, pois suas barreiras naturais são mais facilmente transponíveis, visto que existe:

(1) Uma maior permeabilidade da pele e há uma tendência desta a reagir com a formação de bolhas; existe uma grande área desprotegida ao nível de cordão umbilical, além de haver a utilização freqüente de meios mecânicos que rompem a integridade cutânea (fórcipe, alavanca, venóclises, cateterizações e intubações, acolamento de eletrodos, etc);

(2) No RN a resposta inflamatória é imatura. A síntese de proteínas de fase aguda se inicia mais tardiamente em relação à infecção e a presença de leucocitose não é uma constante nas infecções (SEGRE, 1995);

(3) O neutrófilo no RN é disfuncional, porque a capacidade de migrar para o foco inflamatório (quimiotaxia) está deprimida, tanto por deficiência de fatores quimioatraentes do plasma (baixos níveis de C3a e C5a), quanto por alterações intrínsecas ao neutrófilo (NOTARANGELO et al., 1984). Além disso, o estoque e o número de neutrófilos, monócitos e macrófagos no RN estão comprometidos e essa deficiência quantitativa e qualitativa do sistema fagocítico é considerada como uma das principais causas de aumento da suscetibilidade destas crianças às infecções sistêmicas por patógenos encapsulados como *Streptococcus* do grupo B, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella* sp (UGAZIO et al., 1990);

(4) Os linfócitos fetais produzem pouco interferon gama, o qual é necessário para a morte de patógenos intracelulares e uma infecção materna por *Toxoplasma gondi*, no terceiro trimestre, irá produzir efeitos graves no feto (LA PINE; HILL, 2004);

(5) A quantidade e o tipo de imunoglobulina encontrados no sangue do RN de termo ao nascimento é constituído quase que totalmente por IgG (GASPARONI et al., 1992). Nos RN pré-termo (que nascem antes de 37 semanas de gestação) estes níveis acham-se diminuídos de maneira proporcional a prematuridade, isto porque a passagem de IgG se faz principalmente a partir da 34ª semana de gestação; portanto podemos encontrar níveis baixíssimos nos bebês pré-termo abaixo de 28 semanas de gestação, o que indica imunodeficiência humoral e alta incidência de infecção e sepse (LEWIS; WILSON, 2001; LEWIS; TU, 2004), além de risco

aumentado de morbidade, mortalidade e seqüelas neurológicas (FANAROFF et al., 1998). Das classes de Igs, somente a IgG atravessa a placenta, exceto a subclasse IgG₂. As Imunoglobulinas IgA, IgM e IgE também não conseguem transpor esta barreira. Anticorpos classe IgM são importantes para a defesa contra bactérias gram-negativas e anticorpos subclasse IgG₂ são importantes contra antígenos polissacarídeos (cápsulas de bactérias). Isto explica a susceptibilidade aumentada dos RNs às infecções por germes gram-negativos e encapsulados. Sob condições fisiológicas não há síntese de IgA *in utero*. Nenhuma IgA é detectada nos dois - três dias de vida, porém com quatro a seis meses de vida os níveis de IgA secretora alcançam quantidades semelhantes às do adulto (SEGRE, 1995).

1.3.5 Papel da vitamina A no sistema imune

Nas duas últimas décadas, consideráveis evidências sugeriram que a vitamina A tenha um papel importante na imunidade contra doenças infecciosas. Sabe-se mais sobre como a vitamina A modula a função imunológica do que para qualquer outro micronutriente (SEMBA, 1999). A vitamina A e seus retinóides relacionados modulam diferentes elementos da resposta imune, incluindo a expressão de queratina e mucinas, linfopoiese, apoptose, produção de citocinas, função dos neutrófilos, células *natural killer*, monócitos ou macrófagos, linfócitos T e linfócitos B, e produção de imunoglobulina (Ig). A regulação da resposta imune pela vitamina A e seus metabólicos ativos ocorre via receptores nucleares do ácido retinóico em nível de genoma, bem como através de uma via envolvendo retroretinóides (SEMBA, 1998).

O ácido retinóico em sua configuração todo trans ou 9-cis são ativadores altamente potentes dos receptores de ácido retinóico (RAR) e dos receptores do retinóide X (RXR). Pela ativação destes receptores nucleares, o ácido retinóico pode influenciar a transcrição de vários genes que respondem aos retinóides (DE LUCA, 1991). Além do ácido retinóico, vários outros retinóides, como o ácido 13,14-diidroretinóico (MOISE et al., 2005), ácidos 3,4-dideidroretinóico (ALLENBY et al. 1993), 4-oxo-retinol (ACHKAR et al., 1996) e também

o ácido 4-oxo-retinóico (BARON et al., 2005), foram encontrados por serem ativadores potentes do RAR.

Outra via importante e pertinente para o sistema imune envolve retinóides com uma retro-estrutura, tais como anidroretinol (4,5-didehidro-15,5-retro-deoxiretinol, AdR) e 14-hidroxi-retro-retinol (14-HRR). O 14-HRR tem demonstrado ser um fator crucial para a proliferação de linfócitos e o AdR é um fator responsável pela indução de efeitos apoptóticos (BUCK et al., 1991; DERGUINI et al., 1994; O'CONNELL et al., 1996).

Os retinóides parecem modular a fagocitose, aumentar o aparecimento de genes que expressam proteínas receptoras de interleucina-2 (IL-2) e agir como importantes co-fatores na ativação de células T (GARBE et al., 1992; OLSON, 1999). Alguns estudos realizados *in vitro* e em animais de laboratório observaram que a vitamina A pode ocasionar um discreto aumento no número de neutrófilos circulantes (ZHAO; ROSS, 1995).

Provavelmente o aspecto mais importante do papel do ácido retinóico em relação ao sistema imune é seu efeito no balanço T-helper (Th) 1 e Th 2 (HOAG et al., 2002; RÜHL, 2004). Alguns grupos de pesquisa (HOAG et al, 2002; STEPHENSEN et al, 2002; IWATA, 2003) têm mostrado que tanto em modelos *in vitro* como *in vivo*, o ácido retinóico exerce um efeito direto sobre as células T, suprimindo o desenvolvimento Th-1 e aumentando o desenvolvimento Th-2 via respostas mediadas por RAR. A vitamina A também exerce seus efeitos sobre a função das células B na produção de anticorpos (DE CICCIO et al., 2001; HOANG et al., 2002).

1.4 NECESSIDADES NUTRICIONAIS RECOMENDADAS

A vitamina A é um nutriente essencial necessário em pequenas quantidades para o funcionamento normal do organismo. Nutrientes essenciais não podem ser sintetizados pelo organismo e, portanto, devem ser fornecidos através da dieta. 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, 2006).

O INSTITUTE OF MEDICINE (2001) recomenda um consumo diário de vitamina A (ou retinol equivalente - RE) para homens a partir de 14 anos igual a 900 µg; para mulheres a partir de 14 anos, 700 µg; grávidas entre 19-50 anos, 770 µg e para lactantes (19-50 anos), 1300 µg. A quantificação humana da necessidade diária recomendada de vitamina A é realizada através da RDA, que significa o nível de ingestão dietética diária, suficiente para atender as necessidades nutricionais de 97 a 98% dos indivíduos saudáveis de um determinado grupo de mesmo gênero e estágio de vida. Para crianças, utiliza-se a ingestão adequada (AI), 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 400 µg e para crianças prematuras (nascidas antes de 37 semanas) nestas mesmas condições, de 420 µg/dia. A recomendação para crianças com idade entre 1 e 3 anos é de 300 µg.

1.5 DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A (DVA)

1.5.1 Etiologia

A DVA pode ser causada por dois fatores principais. O primeiro por uma ingestão inadequada de vitamina A para satisfazer as necessidades orgânicas, como o consumo insuficiente de produtos de origem animal e de frutas e hortaliças ricas em pró-vitamina A, levando a uma ineficiente absorção deste micronutriente que pode levar às baixas reservas corporais e a não satisfação das necessidades fisiológicas (suporte ao crescimento tecidual, metabolismo normal e resistência à infecção) (WHO, 2009). O segundo está relacionado ao sinergismo entre episódios infecciosos e a carência de vitamina A (RAMALHO; SAUNDERS, 2003).

Normalmente, a DVA se desenvolve em um ambiente de privação ecológica, social e econômica, em que uma ingestão deficiente crônica de vitamina A convive com graves infecções, como o sarampo, infecções diarreicas frequentes e doenças respiratórias, que pode reduzir o consumo através da depressão do apetite e da absorção, e diminuir os estoques corporais de vitamina A através do metabolismo excessivo e excreção (ALVAREZ et al., 1995; MITRA et al., 1998). O conseqüente “sinergismo” pode resultar no esgotamento das reservas hepáticas, levando a depleção e a diminuição dos níveis de retinol no soro e tecidos periféricos até níveis de deficiência, aumentando o risco de xeroftalmia, infecção, DVA e mortalidade (WHO, 2009).

1.5.2 Conseqüências à saúde

A deficiência de vitamina A prejudica inúmeras funções e, como resultado, pode levar a muitas conseqüências para a saúde de lactantes, crianças e mulheres grávidas que parecem ser o grupo de maior risco. A xeroftalmia (popularmente, *secura do olho*) é o sintoma mais específico de DVA e é a principal causa de cegueira evitável em crianças em todo o mundo (SOMMER; WEST, 1996). A cegueira noturna costuma aparecer durante a gravidez, uma conseqüência previsível do estado nutricional marginal em vitamina A preexistente das mães, sobreposta às demandas nutricionais da gravidez e infecções intercorrentes (CHRISTIAN et al., 1998). A anemia pode resultar de DVA em crianças e mulheres, provavelmente devido à multiplicidade de papéis aparentes da vitamina A no suporte a mobilização e transporte do ferro e na hematopoiese (WEST et al., 2007).

A prevalência de manifestações oculares (ou seja, xeroftalmia ou DVA clínica) é reconhecida para subestimar a magnitude do problema de DVA funcionalmente significativa. Muitas crianças em idade pré-escolar, e talvez crianças mais velhas e mulheres grávidas ou amamentando, têm sua saúde comprometida quando estão deficientes subclínicamente. Em crianças pequenas, a deficiência subclínica, como a deficiência clínica, aumenta a gravidade de algumas infecções, principalmente diarreia e sarampo, e aumenta o risco de morte (BEATON et al., 1996). Além disso, a incidência (BARRETO et al., 1994) e a prevalência

(BHANDARI et al., 1994) de diarreia podem também aumentar com a DVA subclínica. A mortalidade em crianças que são cegas por queratomalácia ou que têm doença na córnea é de 50% para 90% (SOMMER, 1994), e a mortalidade do sarampo associada com a DVA é aumentada em até 50% (HUSSEY; KLEIN, 1990).

As doenças infecciosas deprimem o retinol circulante e contribuem para o esgotamento da vitamina A. Infecções entéricas podem alterar a superfície de absorção, competir pelos sítios de ligação e aumentar a perda urinária (ALVAREZ, 1995; FEACHEM, 1987). Infecções sistêmicas febris também aumentam a perda urinária (STEPHENSON et al., 1994; THURNHAM; SINGKAMANI, 1991) e as taxas de utilização metabólicas e podem reduzir aparentemente os estoques de retinol se a febre ocorrer freqüentemente (CAMPOS et al., 1987). A infecção pelo vírus do sarampo é especialmente devastadora para o metabolismo da vitamina A, interferindo negativamente tanto com a eficiência da conservação como a utilização (SOMMER; WEST, 1996). Grave desnutrição protéico-energética afeta muitos aspectos do metabolismo da vitamina A, e mesmo quando alguns estoques de ésteres de retinila ainda estão presentes, a desnutrição, muitas vezes associada à infecção, pode impedir a síntese de proteínas de transporte, resultando na imobilização dos estoques existentes de vitamina A (SEMBA, 1999).

Estudos experimentais prévios mostram que a deficiência de vitamina A está associada com uma redução no número de linfócitos (SIJTSMAN et al., 1991), diminuição na concentração de imunoglobulinas, diminuição da resposta dos anticorpos a antígenos virais e bacterianos (FRIEDMAN; SKLAN, 1989; PASATIEMPO et al., 1990), comprometimento da função das células T *in vivo* e *in vitro* (CHANDRA, 1981) e a produção anormal de citocinas (WIEDERMANN et al., 1993). Portanto, a deficiência de vitamina A leva a supressão de algumas das funções efetoras do sistema imune e conseqüentemente a um estado de imunodeficiência (WIEDERMANN et al., 1996).

A falta de vitamina A pode afetar o metabolismo do ferro, quando as deficiências de ambos os nutrientes coexistirem e particularmente em ambientes que favoreçam infecções freqüentes (IVACG, 1998), contudo a resposta máxima da hemoglobina ao tratamento ocorre somente quando as deficiências de ferro e de vitamina A são corrigidas em conjunto (SUHARNO et al., 1993).

1.5.3 Distribuição geográfica

A baixa concentração de retinol sérico ($< 0,70 \mu\text{mol /L}$ ou $20 \mu\text{g}/100 \text{mL}$), que caracteriza DVA bioquímica, afeta cerca de 190 milhões de crianças em idade pré-escolar e 19,1 milhões de mulheres grávidas a nível mundial. Isso corresponde a 33,3% da população de crianças em idade pré-escolar e 15,3% das mulheres grávidas em todo o mundo. As estimativas mostram que a África e o Sudeste Asiático contêm as maiores proporções de crianças em idade pré-escolar com DVA bioquímico, com o Sudeste asiático possuindo o maior número de crianças e mulheres grávidas afetadas (WHO, 2009).

A organização mundial de saúde estima que a maior proporção de crianças em idade pré-escolar afetada por cegueira noturna esteja na África (20%), correspondendo quase à metade das crianças afetadas a nível mundial. A proporção comparável e elevada de mulheres grávidas afetadas por cegueira noturna está na África (9,8%) e Sudeste Asiático (9,9%), estimando que mais de 3 milhões ou um terço das mulheres grávidas são afetadas a nível mundial (WHO, 2009).

1.5.4 Um problema de saúde pública

A prevalência de cegueira noturna é um problema de saúde pública de importância moderada a grave em 45 países para crianças em idade pré-escolar e em 66 países para mulheres grávidas. Segundo as estimativas atuais, 122 países são classificados como tendo um problema de saúde pública moderada a grave baseada na DVA bioquímica em crianças em idade pré-escolar, enquanto 88 países são classificados como tendo um problema de saúde de importância moderada a grave em relação a DVA bioquímica em mulheres grávidas (WHO, 2009). O nível do problema de saúde pública para a DVA bioquímica em crianças em idade pré-escolar entre os países é ilustrado na figura 9.

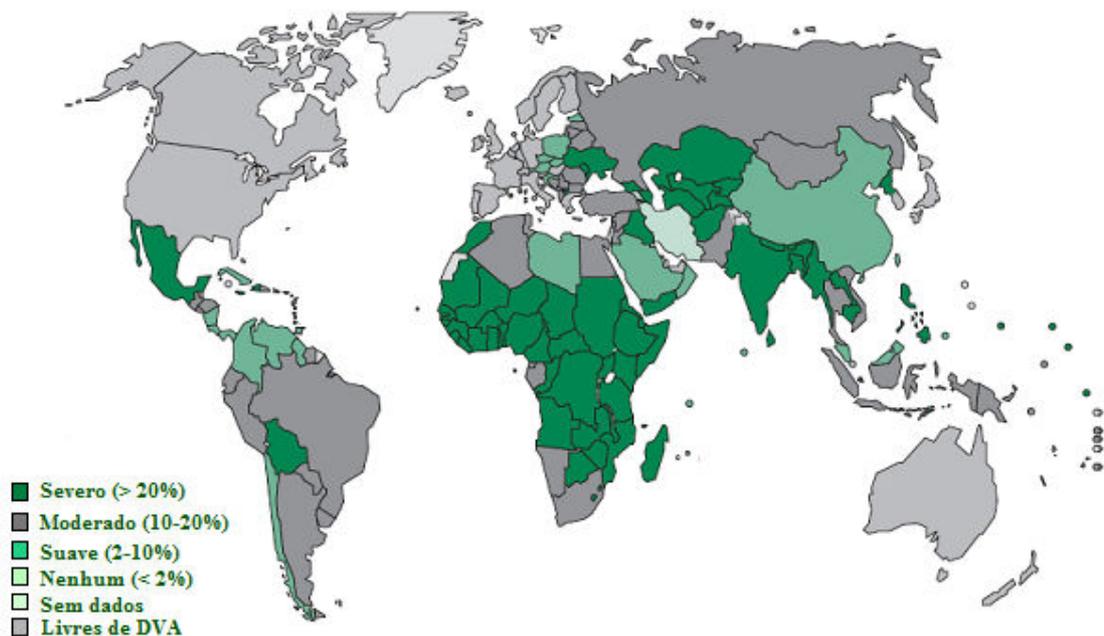


Figura 9. Deficiência bioquímica de vitamina A como um problema de saúde pública em crianças em idade pré-escolar entre os países (1995-2005). Fonte: adaptado de WHO, 2009.

Na região das Américas encontram-se 4% dos casos, e no Brasil estima-se que 167,2 mil mulheres tenham DVA (níveis séricos de retinol < 0,70 $\mu\text{mol/L}$ ou 20 $\mu\text{g/dL}$). Na população mundial de crianças em idade pré-escolar, estima-se que na região das Américas 8,2 milhões de crianças são acometidas por DVA, merecendo destaque o Brasil, onde é estimado que se concentre cerca de 30% dos casos de xeroftalmia desta região (WEST, 2002). Em relação ao indicador funcional (cegueira noturna), na região das Américas, cerca de 6% das mulheres são acometidas. Não existem dados de âmbito nacional sobre a prevalência da cegueira noturna gestacional no Brasil. Estima-se, segundo dados baseados em estudos realizados com crianças pré-escolares no Nordeste (a região economicamente menos desenvolvida do País), publicados pela OMS, que o Brasil contribua com 33,2% da prevalência prevista para a região das Américas (WEST, 2002; WHO, 2009). A região nordeste, o Vale da Ribeira em São Paulo e o Vale do Jequitinhonha, do Mucuri e o norte do estado de Minas Gerais são consideradas áreas de risco de deficiência (BRASIL, 2004).

Diante da magnitude desta deficiência, percebe-se a importância de conhecer os indicadores do estado nutricional de vitamina A que podem ser utilizados no diagnóstico desta deficiência. De acordo com o UNICEF (2005), o uso dos indicadores como sinais clínicos (xeroftalmia, manchas de Bitot e cegueira noturna) e a avaliação bioquímica

fornecida pelos níveis de retinol no sangue podem determinar a DVA como problema de saúde pública. Os indicadores citológicos (impressão conjuntival) e os dietéticos (inquéritos qualitativos e quantitativos) também têm sido comumente empregados para detectar a carência de vitamina A (IVACG, 1989).

1.5.5 Diagnóstico de DVA

O diagnóstico clínico da xerofthalmia 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. Os níveis sanguíneos de retinol entre 0,35 e 0,70 $\mu\text{mol/L}$ (10 e 20 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$, respectivamente) são apropriados para caracterizar deficiência subclínica de vitamina A (WACHTMEISTER et al., 1988), mas esta deficiência pode ainda estar presente em níveis entre 0,70 e 1,05 $\mu\text{mol/L}$ (20 e 30 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$, respectivamente) (FLORES et al., 1984). Uma concentração sérica de retinol abaixo de 1,05 $\mu\text{mol/L}$ (30 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$) tem sido proposta como ponto de corte para mulheres grávidas e lactantes, pois reflete um estado nutricional pobre em vitamina A entre esse grupo de risco para a deficiência (WEST, 2002). Segundo a organização mundial de saúde (WHO, 2009) uma prevalência de DVA em gestantes e lactantes acima de 20% é considerada como um grave problema de saúde pública.

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 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 (BEATON et al, 1996).

1.5.6 Controle da deficiência de vitamina A

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

No Brasil, a suplementação com vitamina A é realizada há 25 anos. Em 1994, foi implantado o Programa Nacional de Controle da Deficiência de Vitamina A, com aumento expressivo na distribuição de cápsulas de 100.000 UI para crianças de 6 meses de idade e de 200.000UI para crianças entre 1 a 5 anos de idade residentes nas áreas consideradas de risco de deficiência. Em 2001, o programa foi ampliado para puérperas no pós-parto imediato, com administração de dose única de 200.000UI via oral (BRASIL, 2009). As cápsulas fornecidas pelo Ministério da Saúde contêm em sua composição, além de vitamina A, vitamina E na forma sintética (49,4 mg) com função de proteção antioxidante dos compostos lipídicos.

A suplementação de vitamina A em mães tem várias vantagens sobre a suplementação de lactentes jovens. Ela melhora o estado de vitamina A das mães, muitas das quais se encontram deficientes (NEWMAN, 1993) bem como das crianças, sem aparentes efeitos colaterais adversos (STOLTZFUS et al, 1993), entretanto a suplementação com altas doses de vitamina A não é dada depois de 8 semanas pós-parto, para evitar efeitos teratogênicos sobre uma possível gravidez subsequente (WHO/UNICEF/IVACG, 1997). Outro benefício potencial da suplementação materna de vitamina A durante a lactação é um possível aumento

dos fatores imunológicos do leite materno (FILTEAU et al, 1994; GOLDMAN, 1993). A vitamina A é conhecida por ser importante para a função imunológica (ROSS, 1992) e é concebível que o aumento do consumo deste micronutriente por mulheres lactantes teria efeitos benéficos sobre os fatores imunes no seu leite.

O RN é um hospedeiro suscetível às infecções, pois as suas barreiras naturais, como a pele são mais facilmente transponíveis, a sua resposta inflamatória é imatura, seu neutrófilo é disfuncional e o processo de fagocitose dos monócitos pode estar comprometido. Além disso, ele faz parte do grupo de risco para a DVA, o que o faz dependente do suporte imunológico e nutricional fornecido pela amamentação (SEGRE et al, 1995; STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995).

Um consumo adequado de vitamina A pela mãe durante a gestação e a lactação e no pós-parto, garantida pela suplementação, garante que ela tenha um bom estado nutricional em vitamina A. Isso é fundamental para a saúde infantil, porque mulheres que possuem boas reservas de retinol terão melhores condições de suprir o bebê através do leite materno (MELO-NETO et al, 2009). Nossa hipótese é de que as mulheres com maiores concentrações de retinol sérico possuirão maiores concentrações de retinol e de SIgA no colostro, beneficiando seus filhos através da amamentação.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a influência do estado nutricional materno, segundo retinol sérico, sobre os níveis de imunoglobulina A no colostro humano.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Dosar retinol sérico das parturientes e estabelecer o estado nutricional bioquímico em vitamina A das lactantes;
- Avaliar a concentração de retinol no colostro, em jejum e em condições de suplementação com 200.000 UI de palmitato de retinila;
- Avaliar a concentração de SIgA no colostro, antes e após a suplementação com 200.000 UI de palmitato de retinila;
- Investigar a relação entre a concentração de retinol sérico e a concentração de retinol no colostro das parturientes;
- Correlacionar a concentração do retinol presente no soro materno com a SIgA no colostro;
- Dosar a SIgA no colostro das parturientes no 1º e 2º dia pós-parto.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 SUJEITOS

O estudo foi do tipo transversal (os dados estudados foram coletados em dois momentos, antes da suplementação e após a suplementação) e do tipo intervenção (o efeito estudado foi provocado pelo pesquisador) (BORDALO, 2006). A amostragem foi obtida por conveniência, composta por parturientes 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 n° 284/09) (Apêndice A). As parturientes recrutadas foram esclarecidas sobre os objetivos da pesquisa e autorizaram sua inclusão no estudo ao assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndices B).

As 190 mulheres recrutadas para esse estudo foram divididas em 2 grupos, das quais 45 mães apresentavam níveis baixos de retinol no soro ($\leq 30 \mu\text{g/dL}$) e 145 apresentavam níveis séricos adequados deste micronutriente ($> 30 \mu\text{g/dL}$). Outro procedimento realizado no estudo foi a suplementação materna com uma megadose de 200000 UI (60 mg) de palmitato de retinila no pós-parto imediato, a fim de verificar o efeito da suplementação sobre os níveis de retinol e IgA no colostro. Os resultados obtidos foram comparados com os das mulheres cujo soro e colostro foram coletados antes da suplementação com a megadose de palmitato de retinila (n=190). As mulheres suplementadas tiveram seu colostro coletado após 24 horas da suplementação (n=118).

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 Controle 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 tratamento em relação ao controle, com nível de significância de 5%. Os cálculos foram feitos com base em dados empíricos obtidos em pesquisa similar (AYAH, 2007) na qual se observou um aumento relativo em torno de 90%

nos níveis de retinol. Assim, a amostra global ficou dimensionada em 190 parturientes, das quais 45 apresentavam níveis inadequados de retinol no soro ($\leq 30 \mu\text{g/dL}$) e 145 apresentavam níveis séricos adequados deste micronutriente. Foi considerada perda de continuação de 25% para situação de suplementação.

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

3.2 COLETA DE DADOS

Os dados do pré-natal e informações sobre o parto foram coletados no prontuário, no cartão de acompanhamento do pré-natal de cada parturiente e através de questionário aplicado pelos pesquisadores (Apêndice C). As informações adquiridas no cartão e no 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 e peso do recém-nascido. Os dados do pré-natal e informações sobre o parto foram coletados a partir do prontuário de cada parturiente.

3.3 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

Após esclarecimento dos objetivos da pesquisa e obtida a autorização através do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), para as mulheres sem suplementação, no 1º dia pós-parto foram coletados 5 mL de sangue e 2 mL do colostro em jejum. No 2º dia, a coleta de 2mL de colostro foi realizada novamente. Para as mulheres suplementadas, o procedimento

de coleta para sangue e colostro no 1º dia pós-parto foi realizado da mesma maneira, porém após a realização destas coletas foi administrada uma cápsula de 200000 UI (60 mg) de palmitato de retinila. No dia seguinte (2º dia pós-parto) foi realizada outra coleta de 2mL de colostro também em jejum (figura 10). A obtenção do colostro foi por expressão manual de uma única mama, no início e final da mamada, para evitar flutuações no teor de gordura.

As amostras foram armazenadas em tubo de polipropileno protegidas da luz e imediatamente 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 (500 x g) para separação e remoção do soro.

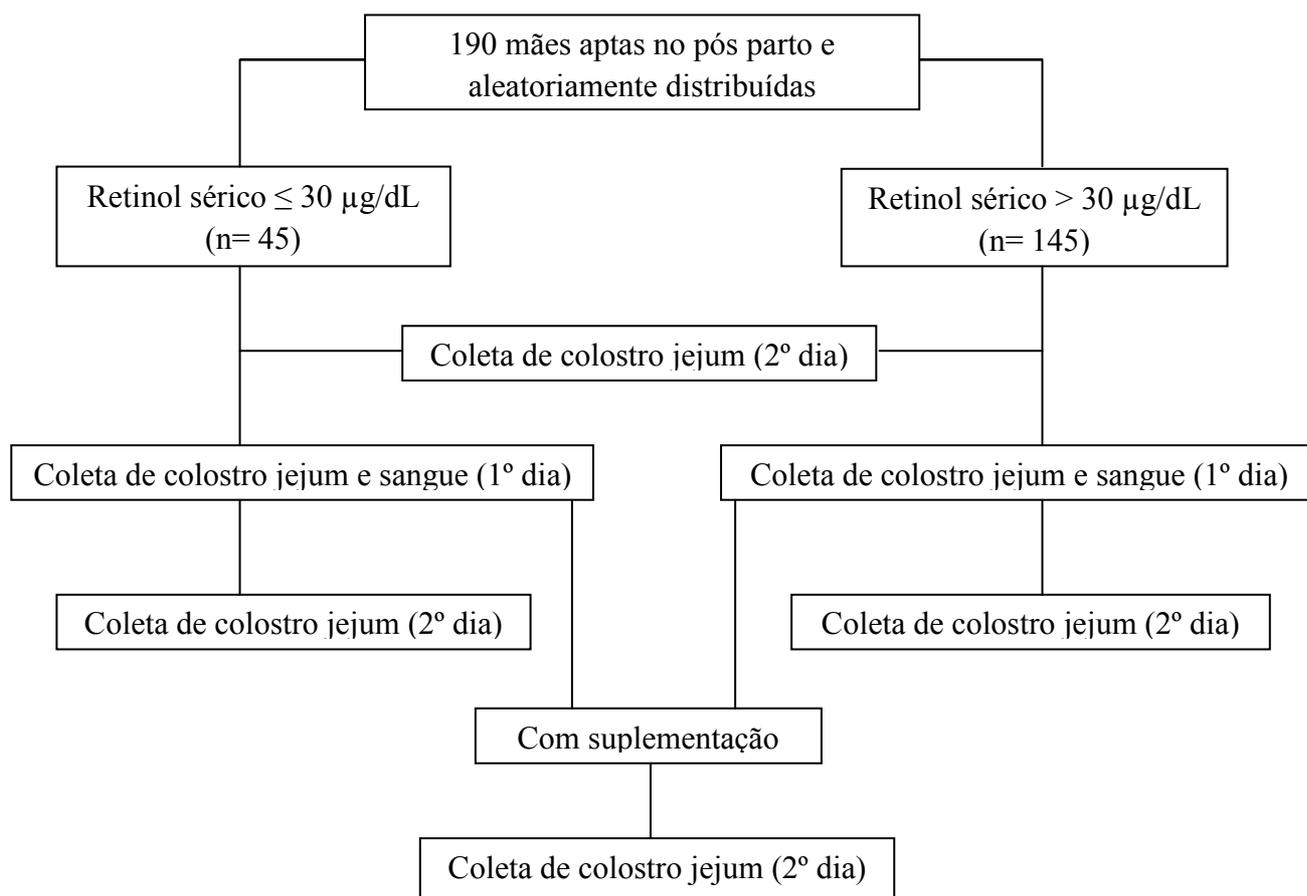


Figura 10. Fluxograma das coletas de material biológico dos grupos com retinol sérico $\leq 30 \mu\text{g/dL}$ e $> 30 \mu\text{g/dL}$.

3.4 QUANTIFICAÇÃO DO RETINOL NO SORO E LEITE MATERNOS

3.4.1 Hidrólise alcalina e extração do retinol no colostro

O retinol é transportado no soro associado à proteínas ligadoras de retinol (RBP). Para analisar o retinol sérico, a RBP é desnaturada com álcool para liberar o retinol para a extração com solventes orgânicos antes da análise. A vitamina A nos tecidos é estocada como ésteres, predominantemente palmitato de retinila. Embora os ésteres de retinila possam ser extraídos diretamente em solventes orgânicos, esta etapa é geralmente precedida pela precipitação das proteínas celulares e é seguida pela hidrólise dos ésteres para liberar retinol livre (DE LEENHEER et al., 1988; FURR, 2004).

As amostras de colostro foram extraídas segundo adaptação do método de Giuliano (GIULIANO, 1992) conforme descrito a seguir. Foram acrescentados nas amostras 1 mL hidróxido de potássio (KOH) 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, que aconteceu em banho-maria a 45°C por 2 horas. Em seguida, o retinol das amostras foi extraído com 2 mL de hexano (Merck, São Paulo, Brasil). Após cada adição de hexano, as amostras foram agitadas durante 1 minuto e centrifugadas (500 x g) por 10 minutos e a camada hexânica removida para outro tubo. Este processo foi repetido 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 grau HPLC (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e 20 µL foram aplicados no aparelho de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (figura 11).

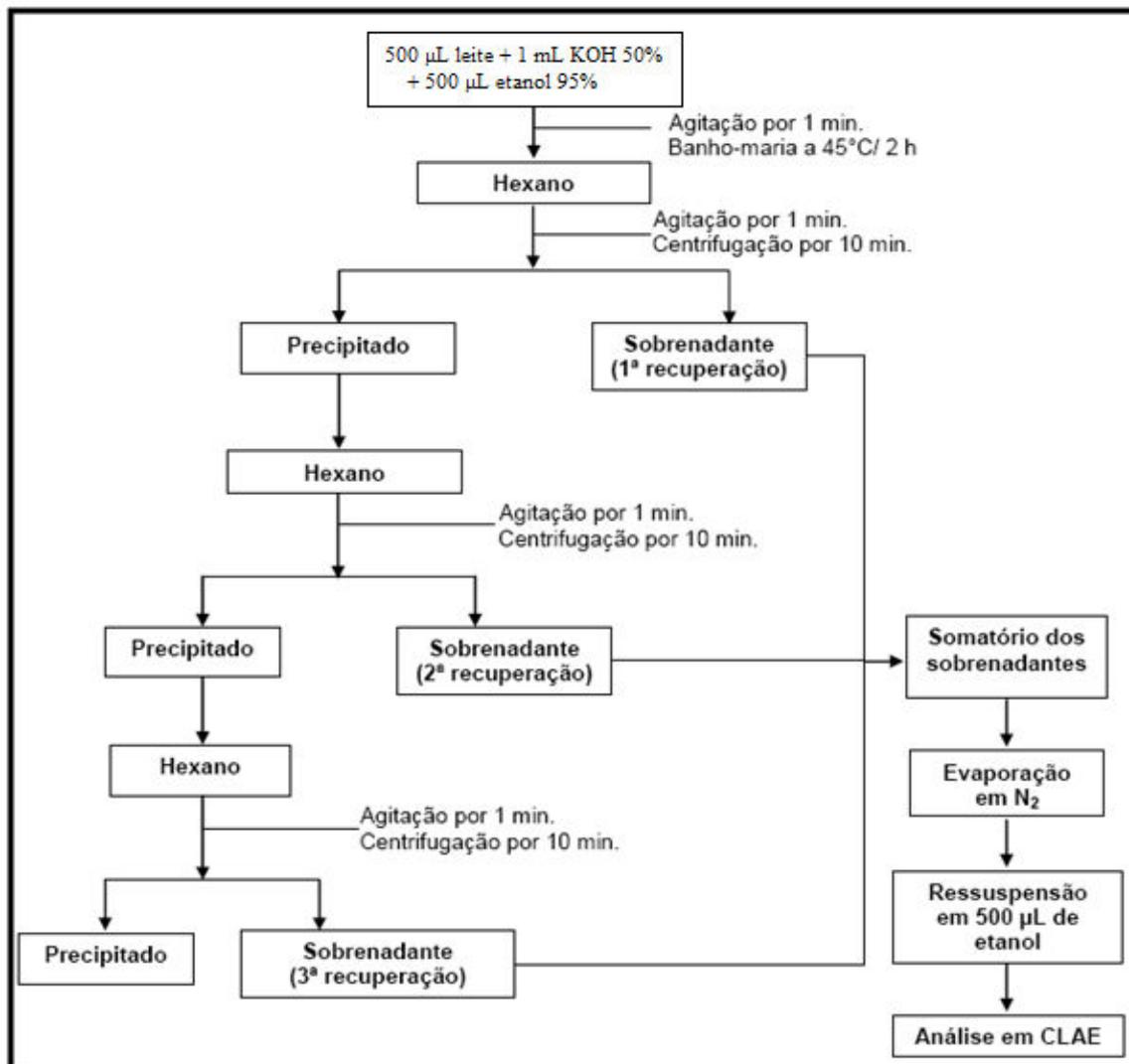


Figura 11. Esquema ilustrativo do processo de hidrólise alcalina e extração de retinol nas amostras de leite materno.

3.4.2. Extração do retinol no soro

A concentração de retinol nas amostras de soro foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com adaptação do método utilizado por Ortega (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 grau HPLC (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e 20 µL foram aplicados no aparelho CLAE.

3.4.3 Preparo do padrão de retinol

O padrão estoque de retinol foi preparado com 1 mg de retinol todo trans (Sigma) diluído em 1 mL de metanol absoluto e agitado por 60 segundos. Em seguida foram realizadas duas diluições, sendo a última submetida à leitura em espectrofotômetro 700 Plus (Femto, Brasil) a 325nm, em cubeta de quartzo com capacidade para 2 mL, para confirmar a real concentração do padrão. Utilizou-se também o coeficiente de extinção específico (ϵ 1%, 1cm = 1780) em etanol absoluto (Vetec) (MILNE; BOTNEN, 1986). A Figura 12 apresenta o esquema da diluição do padrão. A fórmula utilizada no cálculo para obtenção da real concentração do retinol nas amostras analisadas foi:

- $\text{Área do pico (HPLC)} \times \text{Fator do padrão} \times \text{Fator de correção} \times \text{Fator de diluição}/1000 \times 200 = \text{Concentração de ROH em } \mu\text{g/dL}.$

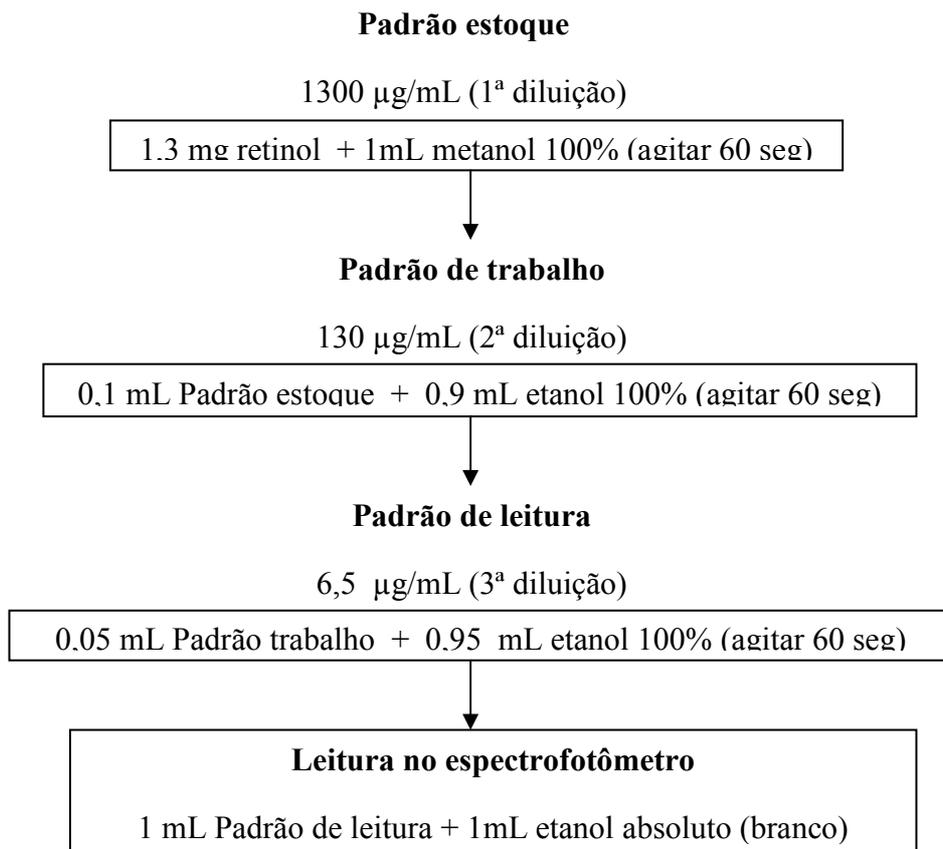


Figura 12. Diluições do padrão de retinol para leitura no espectrofotômetro.

3.4.4 Condições cromatográficas

A estrutura poliênica conjugada (duplas ligações) destes compostos lhe dá um espectro de absorção luminoso único e alta absorvidade molar. Historicamente, os retinóides têm sido medidos usando sua absorção ou propriedades fluorescentes. Mais recentemente, a cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa, ou CLAE, tem se tornado o método de escolha para analisar retinóides em tecidos biológicos. Durante a preparação da amostra e análise, as amostras devem ser protegidas do calor, luz e substâncias oxidantes (FURR, 2004).

A concentração de retinol no soro e leite maternos foi determinada em cromatógrafo da marca Shimadzu. O equipamento é 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, Japão) para processamento dos dados.

A fase móvel utilizada para a análise de retinol nas amostras de leite e soro foi metanol 100%, em sistema isocrático com fluxo de 1 mL/min e tempo de retenção de 3,2 minutos. O comprimento de onda adotado para monitoramento da absorbância foi de 325 nm.

A identificação e quantificação do retinol nas amostras foram estabelecidas por comparação da respectiva área do pico obtido no cromatograma com a área do padrão de retinol – SIGMA (St. Louis, USA) (figura 13a).

A exatidão do método (porcentagem de recuperação) foi determinada adicionando-se quantidades conhecidas do padrão de retinol acetato em cinco amostras de leite humano (figura 13b).

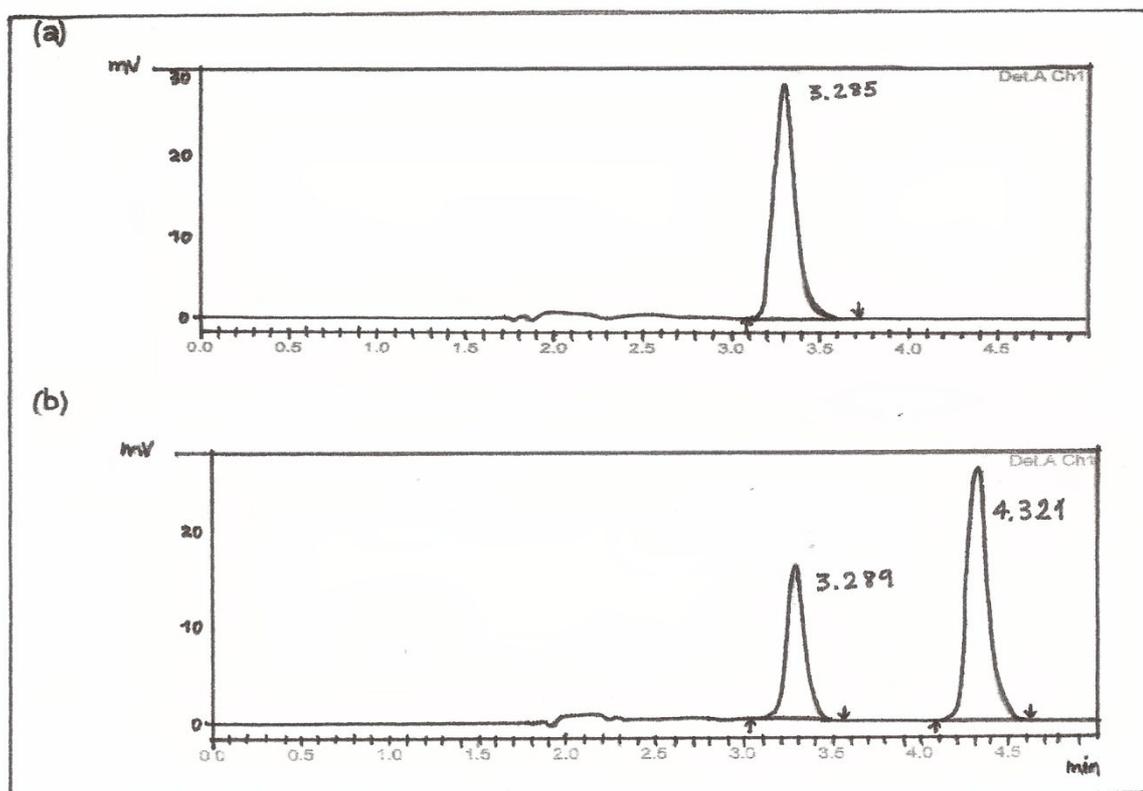


Figura 13. Cromatograma de retinol. (a) Padrão de referência para retinol, tempo de retenção de 3,2 minutos. (b) Identificação por CLAE do retinol (à esquerda) e padrão interno (acetato de retinol, 29,7 ng/ 20 μ l, à direita), em amostras de leite humano, tempo de retenção de 3,2 e 4,3 minutos, respectivamente.

3.4.5 Linearidade, exatidão e precisão dos métodos

As 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 e 126,08 ng/20 µl. A curva de calibração, obtida por regressão linear (área do pico *versus* concentração do padrão), utilizando-se seis pontos de concentração da solução padrão apresentou boa linearidade. Um coeficiente de correlação a cima de 0,990 foi obtido possibilitando desta forma a quantificação do retinol pelo método do padrão externo (figura 14).

A exatidão do método (porcentagem de recuperação) foi determinada adicionando-se quantidades conhecidas do padrão de retinol acetato (29,6 g/ 20 µl) em cinco amostras de leite humano. Foram adicionados 500 µL de etanol absoluto para precipitação das proteínas e às demais etapas propostas pelo método são as seguintes: três extrações com hexano (2 ml em cada extração), evaporação de uma alíquota de 3 mL do extrato hexânico a 37° C sob atmosfera de nitrogênio, diluição em 500 µl de etanol absoluto grau HPLC e dosagem do retinol por CLAE com metanol como sua fase móvel.

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%.

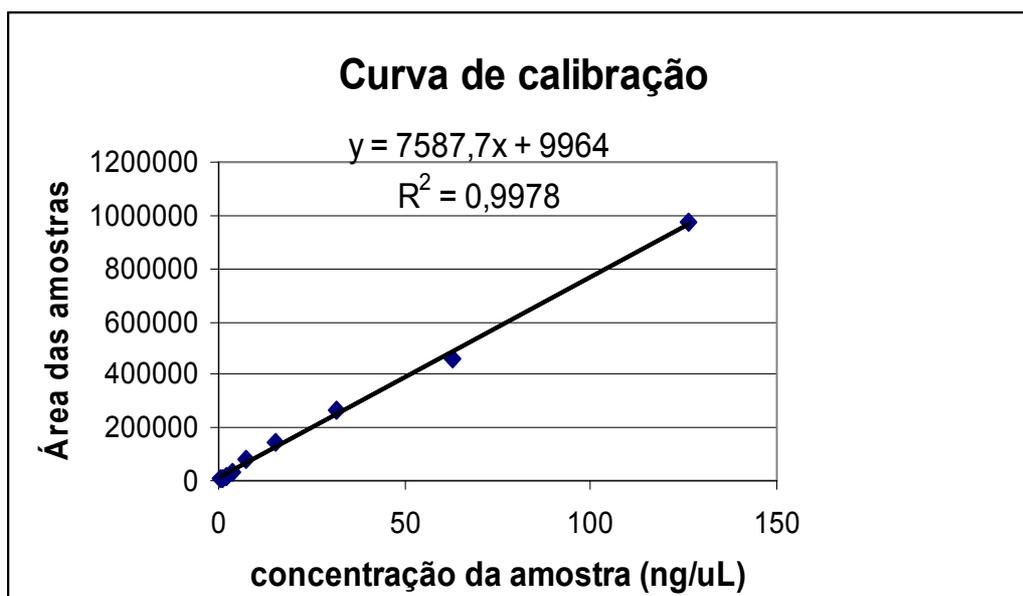


Figura 14. Curva de calibração dos padrões de retinol em diferentes concentrações (0,47 a 126,08 ng/20 µl). No centro, equação da reta e coeficiente de regressão linear.

3.5 ANÁLISE DA IMUNOGLOBULINA A SECRETORA NO COLOSTRO

A IgA secretora (SIgA) do leite foi avaliada através do método turbidimétrico, utilizando um kit comercial específico para determinação de imunoglobulina IgA (In vitro Diagnóstica, Itabira, Brasil). O método turbidimétrico baseia-se na reação entre as imunoglobulinas (como antígeno) e o antisoro específico (como anticorpo). Esta reação, que geralmente leva à formação de imunoprecipitados insolúveis, gera uma turbidez, que é medida fotometricamente a 340 nm.

Para a análise de SIgA, o colostro foi centrifugado (500 x g) por 10 minutos e seu soro foi coletado e refrigerado a -20° C, enquanto que a camada sólida e gordurosa deste leite foi descartada. Sabe-se que a SIgA está concentrada no soro do leite, apesar de uma pequena quantidade estar limitada aos seus glóbulos de gordura (SCHROTEN et al., 1999). Este soro do leite foi diluído previamente antes do teste, na proporção de 1:20 com salina de NaCl a 0,9%. Para a realização do teste foram retirados 20 µL do soro de leite previamente diluído e

adicionado a este 1000 μL do antisoro IgA (AS-A). A solução padrão também foi previamente diluída (1:20) e, a ela, também foi adicionada 1000 μL de AS-A. Os tubos foram homogeneizados cuidadosamente e as amostras de leite, juntamente com o padrão e o branco foram incubadas por 10 minutos a 37°C em banho-maria, a fim de que a reação entre a SIgA e o seu antisoro correspondente acontecesse. A turbidez gerada foi detectada em um espectrofotômetro (700 Plus, Femto, Brasil) (figura 16). A IgA é diretamente proporcional ao conteúdo de imunoglobulina na amostra e sua concentração é calculada usando-se o padrão de IgA (IgA Cat. 11002, Human GMBH, Alemanha), contido no kit. Seus resultados são expressos em mg/ dL.

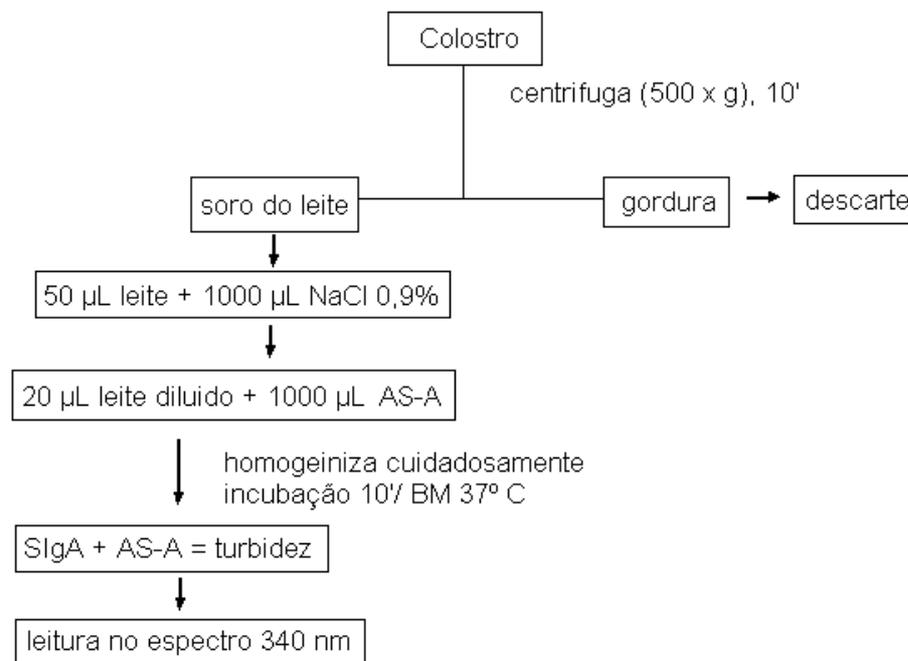


Figura 15. Esquema ilustrativo do processo de extração de IgA secretora nas amostras de leite materno.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na avaliação estatística foi utilizado o software Statistica 7.0. 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. A associação entre variáveis contínuas (concentração de nutrientes no soro e leite) foi determinada pela análise de correlação de Pearson. As diferenças foram consideradas significantes quando $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

Nas amostras de soro observou-se que a recuperação do retinol acetato foi de 95% e para o retinol nas amostras de leite humano as recuperações foram de 96%.

Foram coletadas amostras de 190 mulheres. As características gerais destas pacientes estudadas encontram-se na tabela 1. A maioria das mulheres é multípara (76%), teve parto cesárea (60%) e apresentou peso normal no último trimestre gestacional (52,6%).

Tabela 1. Características gerais das mães recrutadas para esse estudo na Maternidade Escola Januário Cicco, Natal-RN.

Características Maternas	Retinol sérico	Retinol sérico	Grupo
	≤ 30 µg/dL (n = 45)	> 30 µg/dL (n = 145)	Total (n = 190)
Idade (anos)	20,2 ± 7,3 ¹	24,4 ± 7,9 ¹	23,3 ± 7,6 ¹
Paridade (número de filhos)	1,8 ± 1,3 ¹	2,1 ± 1,8 ¹	2,0 ± 1,6 ¹
Tipo de parto			
Normal [n (%)]	21 (46,6)	55 (37,9)	76 (40,0)
Cesárea [n (%)]	24 (53,4)	90 (62,1)	114 (60,0)
Estado nutricional materno ²			
Baixo peso [n (%)]	2 (4,4)	7 (4,8)	9 (4,7)
Normal [n (%)]	23 (51,1)	77 (53,2)	100 (52,6)
Sobrepeso [n (%)]	20 (44,5)	61 (42,1)	81 (42,7)

¹ média ± desvio padrão; ² estado nutricional antropométrico referente aos dados referente a ultima consulta do pré-natal. Todas as pacientes tinham as informações de peso e altura registradas no cartão da gestante.

Avaliando-se o grupo total (190 parturientes) quanto ao estado nutricional bioquímico em vitamina A, segundo o retinol sérico, as mulheres apresentaram uma média de $44,6 \pm 17,6$ $\mu\text{g/dL}$, demonstrando valores normais de acordo com o ponto de corte estabelecido por West (2002) (≤ 30 $\mu\text{g/dL}$ ou > 30 $\mu\text{g/dL}$). Porém, nesse estudo, 23,7% (n= 45) das mães apresentavam-se deficientes em retinol sérico.

O valor de retinol no colostro das mães antes da suplementação (n= 190) foi de $72,7 \pm 24,9$ $\mu\text{g/dL}$ e após 24 horas da suplementação (n=118) foi de $119,7 \pm 15,4$ $\mu\text{g/dL}$, correspondendo a um aumento de 64,6% (p= 0,0009). Quando as mães sem suplementação foram divididas segundo o ponto de corte para soro (30 $\mu\text{g/dL}$), foi observada uma diferença estatisticamente significativa nos valores de retinol no colostro (p= 0,0017) entre estes grupos, sendo menor o retinol no colostro do grupo com menos retinol sérico. Após a suplementação, foi observado um aumento de 101,4% nos níveis de retinol no colostro das mães com retinol sérico ≤ 30 $\mu\text{g/dL}$ (a concentração de retinol no colostro antes da suplementação foi de $59,2 \pm 14,70$ $\mu\text{g/dL}$ e após a suplementação foi de $119,2 \pm 20,11$ $\mu\text{g/dL}$). Já as mães com retinol no soro > 30 $\mu\text{g/dL}$ apresentaram um aumento de 39,7% (antes da suplementação, a concentração de retinol no colostro foi de $86,1 \pm 25,47$ $\mu\text{g/dL}$, aumentando para $120,2 \pm 12,78$ $\mu\text{g/dL}$) (p= 0,0008). Não houve diferença estatisticamente significativa entre o colostro das mães com retinol sérico ≤ 30 $\mu\text{g/dL}$ e com retinol sérico > 30 $\mu\text{g/dL}$ após a suplementação (0,88) (Figura 16).

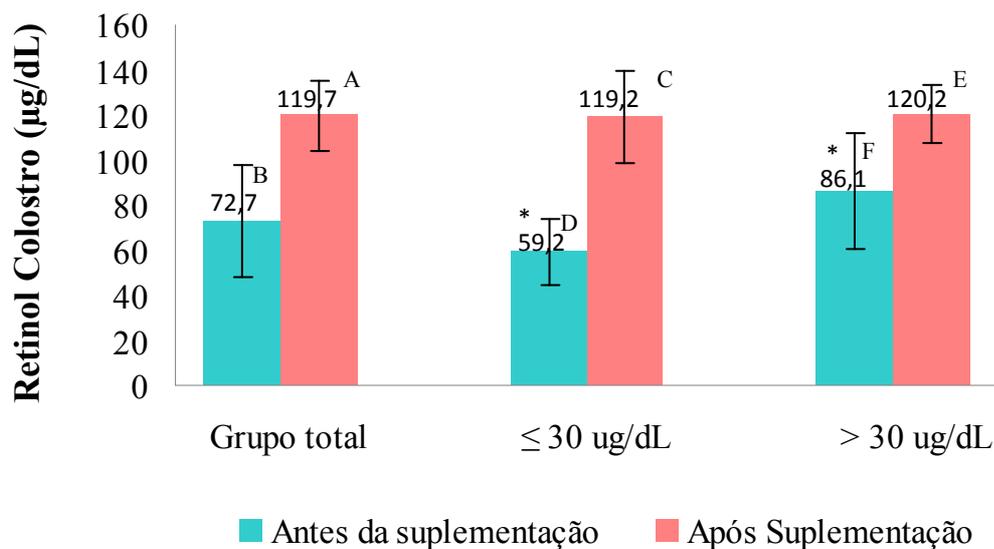


Figura 16. Efeito imediato da suplementação com vitamina A sobre os níveis de retinol do colostro. **AB**: Após a suplementação, os níveis de retinol no colostro aumentaram em 64,6% ($p=0,0009$, teste de t para amostras dependentes); **CD**: Mulheres com menos retinol no soro ($\leq 30 \mu\text{g/dL}$): aumento de 101,4%, $p=0,0016$; **EF**: Mulheres com mais retinol no soro ($> 30 \mu\text{g/dL}$): aumento de 39,7%, $p=0,0008$, (teste de t para amostras independentes). * Diferença estatisticamente significativa nos níveis de retinol no colostro de mães não suplementadas com retinol sérico $\leq 30 \mu\text{g/dL}$ e $> 30 \mu\text{g/dL}$ ($p=0,0017$).

A análise da influência do estado nutricional bioquímico de vitamina A das mães sobre o retinol no colostro antes e após a suplementação mostrou que os níveis de retinol sérico interferiam nas concentrações da vitamina no colostro, conforme demonstrado na tabela 2.

Tabela 2. Correlações entre o retinol sérico e os níveis de retinol no colostro de mães sem suplementação e suplementadas.

Variáveis	Sem suplementação		Suplementado	
	r	p	r	p
Retinol soro x retinol colostro ^a	0,20	0,010*	0,28	0,04*
Retinol soro \leq 30 μ g/dL x retinol colostro ^b	0,06	0,74	-0,70	0,018*
Retinol soro $>$ 30 μ g/dL x retinol colostro ^b	0,44	0,000*	0,42	0,006*

r= coeficiente de correlação; * valores de p estatisticamente significativos (p< 0,05).

a: n= 118 (numero de mulheres de cada grupo (sem suplementação e com suplementação), considerando o grupo total (n=190)); **b:** n= 45 (número de mães suplementadas e não suplementadas com retinol sérico \leq 30 μ g/dL e $>$ 30 μ g/dL).

No primeiro dia pós-parto, as mães sem suplementação apresentaram valores de SIgA no colostro de $822,6 \pm 347,1$ mg/dL e as suplementadas antes de receberem a megadose de palmitato de retinila foi de $827,3 \pm 249,8$ mg/dL (p=0,93). As mulheres suplementadas, 24 horas após terem recebido a megadose, apresentaram em seu colostro níveis de imunoglobulina A secretora superior ao detectado no colostro das mães que não foram suplementadas ($498,9 \pm 119,8$ mg/dL e $343,7 \pm 91,9$ mg/dL, respectivamente) (p= 0,00006) (figura 17). Quando as mães foram divididas segundo o ponto de corte para soro, foi observada uma diferença estatisticamente significante nos valores de SIgA no colostro (p= 0,043) de mulheres com retinol sérico \leq 30 μ g/dL e de mulheres com retinol no soro $>$ 30 μ g/dL ($781,9 \pm 202,1$ mg/dL e $898,4 \pm 201,9$ mg/dL, respectivamente). Após a suplementação, as concentrações de SIgA no colostro para o grupo de mães com menos retinol no soro ($443,4 \pm 64,7$ mg/dL) foi estatisticamente diferente dos níveis de SIgA detectados no colostro das mães com bom estado nutricional em retinol ($526,6 \pm 106,1$ mg/dL; p= 0,003), como mostrado na figura 18.

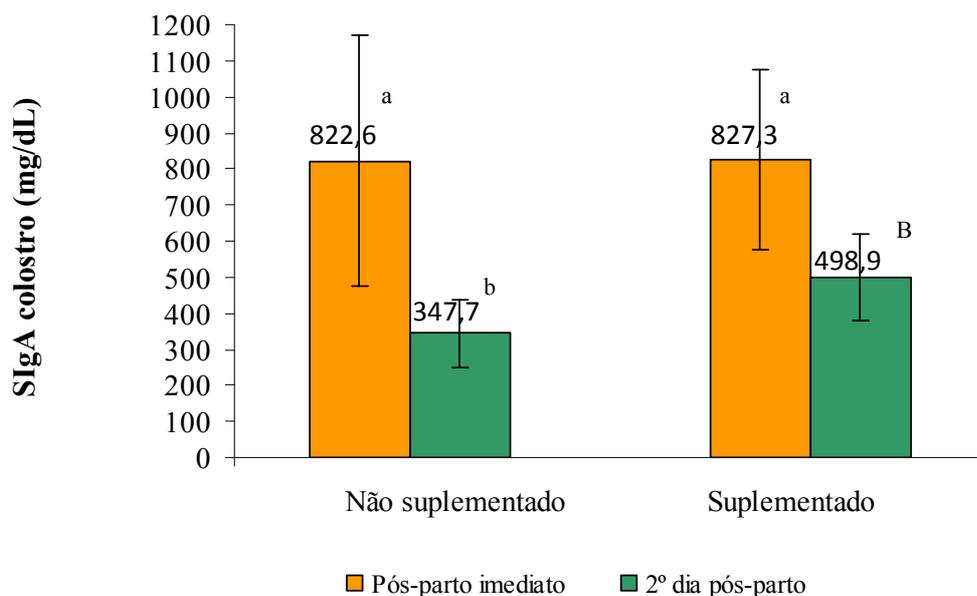


Figura 17. Efeito imediato da suplementação com vitamina A sobre os níveis de SIgA no colostro. **aa**: No primeiro dia pós-parto não houve diferença significativa nos níveis de SIgA no colostro ($p=0,93$); **bb**: após 24 horas pós-parto, as mães suplementadas apresentaram níveis de SIgA no colostro maiores que as mães que não receberam a suplementação ($p=0,00006$).

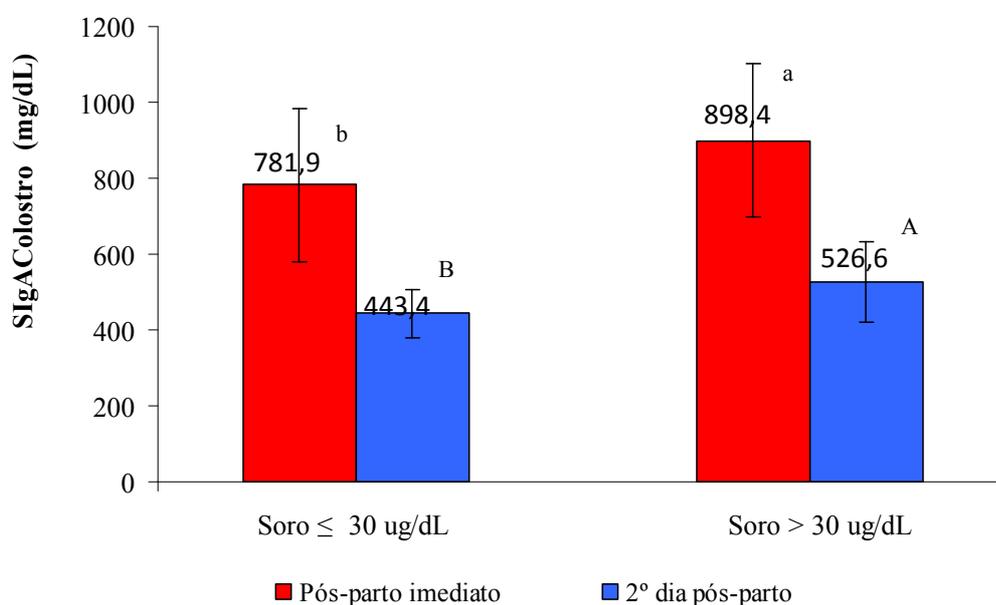


Figura 18. Níveis de SIgA no colostro de mães com retinol sérico $\leq 30\mu\text{g/dL}$ e $> 30\mu\text{g/dL}$ não suplementadas ($n=190$) e suplementadas ($n=118$) no primeiro e segundo dia pós parto. **ab**: Primeiro dia pós-parto, mulheres com retinol no soro $> 30\mu\text{g/dL}$ ($n=145$) tinham mais SIgA no colostro do que as mulheres que possuem retinol no soro $\leq 30\mu\text{g/dL}$ ($n=45$) ($p=0,043$); **AB**: Após 24 horas de suplementação, mulheres com retinol no soro $> 30\mu\text{g/dL}$ tinham mais SIgA no colostro ($p=0,003$) do que as mulheres que possuem retinol no soro $\leq 30\mu\text{g/dL}$ ($p=0,003$). Teste de t para amostras independentes.

As correlações entre o retinol sérico das mães e o retinol no colostro antes e após a suplementação mostrou que o estado nutricional bioquímico materno em vitamina A interferiam nas concentrações de imunoglobulina A secretora no colostro, conforme demonstrado na tabela 4.

Tabela 3. Correlações entre o retinol sérico e os níveis de IgA secretora no colostro de mães sem suplementação e suplementadas.

Variáveis	<u>Sem suplementação</u>		<u>Suplementado</u>	
	r	p	r	p
Retinol soro x SIgA colostro ^a	0,05	0,51	0,31	0,023*
Retinol soro \leq 30 μ g/dL x SIgA colostro ^b	0,03	0,85	0,53	0,095
Retinol soro $>$ 30 μ g/dL x SIgA colostro ^b	0,30	0,005*	0,44	0,004*

r= coeficiente de correlação; * valores de p estatisticamente significativos (p< 0,05).

a: n= 118 (numero de mulheres de cada grupo (sem suplementação e com suplementação), considerando o grupo total (n=190)); **b:** n= 45 (número de mães suplementadas e não suplementadas com retinol sérico \leq 30 μ g/dL e $>$ 30 μ g/dL).

5 DISCUSSÃO

As recuperações obtidas para o retinol nas amostras de leite humano estavam na faixa de 92 a 105% (média: 96%), 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%), com variações das amostras entre 91 e 99,9%.

Com relação às mulheres arroladas para o estudo, o grupo era composto por parturientes adultas e em sua maioria, múltíparas. Destas 4,7% tiveram baixo peso, 52,6% peso normal e 42,7% sobrepeso. As características das puérperas deste estudo eram semelhantes às populações estudadas em Bangladesh (RICE et al., 2000), Tailândia (PAPANISH et al., 2002) e Brasil (MENESES; TRUGO, 2005; LOPES et al., 2006). O perfil encontrado também foi similar ao verificado por Dimenstein et al. (2003) na mesma localidade brasileira.

Nesse estudo, o retinol sérico foi um dos indicadores utilizados para o diagnóstico do estado de vitamina A das parturientes. Ele reflete o estado nutricional bioquímico em retinol da mãe nos últimos três meses de gestação (WHO, 2009). Os valores médios de retinol no soro das mulheres estudadas ($44,6 \pm 17,6 \mu\text{g/dL}$) estão de acordo com o encontrado por Schulz et al (2007) na Alemanha ($49,3 \mu\text{g/dL}$), Ortega et al (1997) na Espanha ($47,5 \mu\text{g/dL}$), Rice et al (2000) em Bangladesh ($48,0 \mu\text{g/dL}$), inferiores aos níveis encontrados por Menezes e Trugo (2005) em mulheres da região Sudeste do Brasil ($71,6 \mu\text{g/dL}$); e superiores aos achados por Etyyanga et al (2003) em lactantes do Quênia ($25,0 \mu\text{g/dL}$) e por Semba et al (2000) em mulheres africanas ($17,4 \mu\text{g/dL}$).

O retinol sérico pode refletir os estoques individuais de vitamina A particularmente quando as reservas corporais desta vitamina são limitadas, uma vez que a concentração de retinol sérico é homeostaticamente controlada pelo fígado e não declina até os estoques hepáticos estarem significativamente comprometidos (OLSON, 1996). O leite materno secretado pelas mães com estado nutricional inadequado em vitamina A, é capaz de suprir 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 da nova dieta não tenha quantidades suficientes de vitamina A (STOLTZFUS; UNDERWOOD, 1995).

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 gravidez, lactação e primeira infância (UNDERWOOD, 1994). Nesse contexto é importante avaliar a extensão da deficiência de vitamina A em mulheres lactantes, principalmente em regiões consideradas de risco ao desenvolvimento da deficiência.

Nesse estudo, 23,7% das mães (n= 45) apresentaram retinol sérico abaixo do ponto de corte adotado (30 µg/dL) para gestantes e lactantes (WEST, 2002), apesar dos valores médios de retinol no soro da maioria das mães estarem dentro da normalidade. A prevalência de retinol sérico baixo encontrada em mulheres brasileiras, independente do ponto de corte utilizado (20 ou 30 µg/dL) é de 25% em Recife-PE (LOPES et al., 2006), 22-24% no Rio de Janeiro (SAUNDERS et al., 2005; RAMALHO et al., 2006), 12% em São Paulo (RONDÓ, VILLAR; TOMKINS, 1999) e 30% em Natal (DIMENSTEIN et al., 2006). Uma prevalência acima de 20%, de acordo com a WHO (WHO, 2009), é considerada um problema de saúde pública grave para grávidas e lactantes, que fazem parte do grupo de risco para DVA e os baixos níveis de retinol nesses períodos podem trazer conseqüências adversas para a mãe e para o lactente após o nascimento. Quando foi considerado o ponto de corte de 20 µg/dL essa prevalência diminuiu para 4%, sendo esta prevalência ainda considerada um problema de saúde pública (uma prevalência entre 2 e 10% é considerada um problema de saúde pública suave) (WHO, 2009).

A prevalência de DVA encontrada nesse estudo denuncia que a população estudada é considerada de risco para o desenvolvimento da deficiência de vitamina A, situação encoberta pela aparente normalidade da média de retinol no soro. Sendo assim, é justificável o uso da megadose de vitamina A no pós-parto imediato como medida de intervenção para evitar o desenvolvimento da deficiência (ROSS; PASSATIEMPO; GREEN, 2004). A suplementação materna com vitamina A nas primeiras 24 horas pós-parto é uma estratégia potencialmente

eficaz para simultaneamente melhorar o status da vitamina A das mulheres e dos seus infantes (STOLTZFUS et al, 1993; WHO, 1998).

O Instituto de Medicina (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001) recomenda para crianças a termo de zero a seis meses de idade um consumo diário de vitamina A (ou retinol equivalente - RE) de 400 µg e para crianças prematuras nestas mesmas condições, de 420 µg/dia. Segundo Ross e Harvey (2003) o consumo médio diário de leite nas primeiras semanas de vida é 500 mL, portanto a concentração de retinol no colostro das mulheres do grupo total e do grupo de mulheres com retinol sérico ≤ 30 µg/dL, no primeiro dia pós-parto, não atende as necessidades do RN, fornecendo apenas 345 µg e 341 µg de retinol/dia, respectivamente (86,3% e 85,3% da ingestão adequada de vitamina A recomendada, respectivamente). Entretanto, os níveis de retinol no colostro de mães com retinol sérico > 30 µg/dL condiz com as recomendações de ingestão adequada de vitamina A para os RNs, pois fornece 557,5 µg de retinol/ dia, ou seja, cerca de 39% a mais desta necessidade.

Avaliando o efeito imediato da suplementação de vitamina A no leite materno sobre o retinol, foi observado um aumento de 64,6% após 24 h de suplementação. Aumento semelhante foi observado por Garcia (2009) na mesma localidade brasileira. Ao dividirmos as mulheres segundo ponto de corte para soro (30 µg/dL), nós observamos que as puérperas com retinol sérico ≤ 30 µg/dL respondiam melhor a suplementação (aumento de 101,4%) do que as mulheres que apresentavam níveis adequados de vitamina A sérica (aumento de 39,7%) (figura 16). As análises de correlação também mostraram que na condição onde o retinol sérico era ≤ 30 µg/dL, quanto menor fosse os níveis de retinol no soro, maior seria o efeito da suplementação (tabela 3).

Dávila et al (1985), em estudos com ratos, demonstraram que a vitamina A estava presente no leite de animais que recebiam pouca vitamina A na dieta, indicando a presença de um balanço na secreção deste nutriente no leite. Este balanço supostamente ocorre devido à presença da holo-RBP advinda dos tecidos de reserva. Em nosso estudo foi observado que as mães com baixo estado nutricional em retinol sérico respondiam melhor a suplementação quando comparadas às mães com um bom estado nutricional bioquímico em vitamina A. Uma explicação para essa situação pode ser devido à saturação dos receptores para holo-RBP que ocorre em condições de maior disponibilidade de retinol. Por outro lado, em mães com baixos níveis séricos de retinol, os receptores não estão plenamente saturados e durante a

suplementação ocorre uma maior avidéz da holo-RBP pelos receptores na glândula mamária, ocorrendo assim uma maior resposta ao retinol fornecido pela suplementação.

O leite materno contém alguns elementos de defesa, entre eles a imunoglobulina A secretora (SIgA). As concentrações de SIgA são muito elevadas no colostro, constituindo a maior parte do conteúdo de proteína desta secreção, atingindo mais de 90% do *pool* de proteínas durante o primeiro dia de lactação, decrescendo nos dias seguintes. A SIgA protege a mucosa intestinal do recém-nascido contra microorganismos estranhos (AAP, 1997; XANTOU, 1998; KUNZS et al, 1999). Durante a infecção, o SIgA inibe os patógenos de aderirem às mucosas, intervém na mobilidade bacteriana, e neutraliza produtos tóxicos. Outros mecanismos incluem a eliminação de antígenos e vírus intracelulares por transcitose (RUSSEL; MESTECKY, 2002; EGMOND et al, 2001). A ação da SIgA contra infecções, principalmente diarreias e colites é essencial para a proteção imunológica do RN (ARAUJO et al., 2005).

Esse estudo é o primeiro a analisar a influência do estado nutricional materno em vitamina A, segundo retinol sérico, sobre os níveis de SIgA no colostro nos dois primeiros dias pós-parto, período em que não há síntese de SIgA pelo RN. Portanto é de grande importância a transmissão de IgA secretora através do leite materno, pois tal secreção tem o poder de evitar a morte desnecessária em crianças, principalmente por doenças diarreicas.

As concentrações de SIgA no colostro no 1º dia pós-parto foram respectivamente de 822,6 mg/dL e 827,3 mg/dL para as mães sem suplementação e as mães suplementadas, antes de receberem a megadose de palmitato de retinila. Um estudo realizado numa mesma localidade (ARAUJO et al., 2005) analisou o colostro do 1º dia pós-parto por imunodifusão radial e encontrou valores médios de SIgA de 2806,1 mg/dL. Porém esta técnica é inviável, pois o tempo gasto para a realização do teste (em média 72 horas para a leitura do halo) e a apresentação dos resultados são fatores limitantes da técnica. A técnica de turbidimetria, utilizada nesse estudo, é uma técnica precisa, rápida e de baixo custo, podendo ser utilizada como método rotineiro para analisar a transferência de imunidade materna, pois seus resultados podem ser conhecidos em cerca de uma hora (STRUFALDI, 1987). Os valores de SIgA no colostro das mulheres, no segundo dia pós-parto, que não receberam a suplementação foi de $343,7 \pm 183,6$ e para as mães suplementadas foi de $498,9 \pm 119,8$ mg/dL.

Estudos semelhantes, porém determinando a concentração de SIgA no leite humano maduro por ELISA, encontraram valores que variavam 250 a 710,0 mg/dL. Weaver et al

(1998) em um estudo realizado em mulheres gambianas encontrou valores de SIgA de 708,0 mg/dL. Groer et al. (2004), analisou o leite maduro de mães americanas e encontrou valores de SIgA de 497,3 mg/dL. Filteau et al. (1999) verificou que a SIgA no leite maduro de mulheres asiáticas foi de 115,0 mg/dL. Já Nathavitharana et al. (1994) ao analisar o leite colostro do 6º ao 8º dia pós-parto em mulheres brancas do Reino Unido encontrou valores na faixa de 250,0 mg/dL.

A concentração de SIgA no colostro decresce de forma significativa nos primeiros dias pós-parto (RÄIHÄ, 1989). Foi observado que a concentração de SIgA no colostro das mulheres do nosso estudo, no 1º dia pós-parto, é aproximadamente 2 vezes maior que a concentração dessa imunoglobulina no colostro do 2º dia. Chandra (1978) assegura que, embora ocorra uma diminuição das concentrações de SIgA durante o período de lactação, a quantidade total desta imunoglobulina ingerida pela criança permanece praticamente inalterada durante os primeiros dois a três meses de vida devido a um aumento no volume de leite.

Embora aconteça esta diminuição nos níveis de SIgA no colostro, foi visto que as mães que receberam a suplementação de palmitato de retinila no pós-parto imediato apresentavam níveis maiores desta imunoglobulina no 2º dia pós-parto, quando comparadas às mães que não foram suplementadas ($p= 0,00006$). Ao dividirmos as mulheres segundo ponto de corte para soro ($30 \mu\text{g/dL}$), nós observamos que as puérperas com mais retinol sérico possuíam mais SIgA no colostro do que as mulheres com retinol sérico $\leq 30 \mu\text{g/dL}$, antes e após a suplementação (figura 18).

Uma medida indireta do potencial efeito da suplementação de vitamina A na função das células B é a produção de anticorpos. Este efeito indireto provavelmente acontece pela influência da vitamina A sobre as células apresentadoras de antígenos (APC), cuja função é apresentar o antígeno ao linfócito B, favorecendo a síntese de imunoglobulinas (DE CICCIO et al., 2001; HOANG et al., 2002; ABBAS; LICHTMAN, 2003).

Esses achados foram reforçados pela análise de correlação ao investigar a influência do retinol sérico sobre os níveis de SIgA no colostro e foi observado que as puérperas do grupo total quando suplementadas continham mais SIgA em seu leite que as não suplementadas ($p= 0,023$). Quando a correlação foi realizada entre o grupo com maior concentração de retinol sérico ($> 30 \mu\text{g/dL}$) e a SIgA do colostro (mães sem suplementação e suplementadas) o valor de r foi maior na condição suplementada ($r= 0,30$ vs $r= 0,44$,

respectivamente) (Tabela 3), demonstrado um aumento da força de correlação nas mães que receberam a megadose de vitamina A. Tal situação evidencia a importância de um bom estado nutricional em vitamina A, reforçada pela suplementação, como condição ideal para uma maior concentração de SIgA no colostro.

6 CONCLUSÕES

- A concentração de retinol sérico mostrou que o estado nutricional em relação à vitamina A das lactantes estava adequado.
- Mulheres com mais retinol sérico possuem mais retinol e SIgA no colostro.
- Mulheres com menores níveis de retinol sérico respondem melhor a suplementação com palmitato de retinila
- A suplementação com vitamina A no pós-parto imediato influencia positivamente os níveis de retinol e SIgA no colostro.
- Os níveis de SIgA no 1º dia pós-parto são superiores aos níveis de SIgA no 2º dia pós-parto.

7 REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K; LICHTMAN, A. H. **Imunologia celular e Molecular**. 4 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2003.

ABU, J. et al. Retinoic acid and retinoid receptor: potential chemopreventive and therapeutic role in cervical cancer. **Lancet Oncol**; n. 6, p. 712-720, 2005.

ACHKAR, C. C. et al. 4-Oxoretinol, a new natural ligand and transactivator of the retinoic acid receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**; n. 93, p. 4879–4884, 1996.

ADVISORY COMMITTEE ON TECHNOLOGY INNOVATIONS. **Buriti palm**. In: Underexploited tropical plants with promising economic value. Report of an Ad Hoc Panel of the Advisory Committee on Technology Innovations, Board on Science and Technology for International Development, Commission on International Relations. Washington, DC, National Academy of Sciences; p. 133–137, 1975.

ALENCAR, N. M. N. et al. Estudo das diferenças nutricionais do leite humano maduro no início e final da mamada. **Rev Bras Análises Clínicas**; n. 34, v. 2, p. 67–9, 2002.

ALLEN, L. H.; HASKELL, M. Estimating the potential for vitamin A toxicity in women and young children. **J Nutr**; n. 132, v. 9, p. 2907S-2919S, 2002.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; PENTEADO, M. D. V. C. **Vitamin A**. In: PENTEADO MDVC. Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. Barueri: Manole, 2003; cap 2, 56-57.

ALVAREZ, J. O. et al. Urinary excretion of retinol in children with acute diarrhea. **American Journal of Clinical Nutrition**; n. 61, p. 1273–1276, 1995.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICAS (AAP) – Work group on breastfeeding. Breastfeeding and the use of human milk. **Pediatrics**; n. 100, p.1035-9, 1997.

AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION. Nomenclature policy: generic descriptions and trivial names for vitamins and related compounds. **J Nutr**; n. 120, p. 12-19, 1990.

ARAÚJO, E. et al. Evaluation of the secretory Immunoglobulin A levels in the colostrum and milk of mothers of term and pre-term newborn. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**; n. 9, v. 5, p. 357-362, 2005.

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

AZAIS-BRAESCO, V.; PASCAL, G. Vitamin A in pregnancy: requirements and safety limits. **Am J Clin Nutr**; n. 71, v. 5, p. S1325- S1333, 2000.

BALABAN, G.; SILVA, G. A. Efeito protetor do aleitamento materno contra obesidade infantil. **J Pediatr (Rio J)**; n. 80, p. 7-16, 2004.

BARON, J.M. et al. Retinoic acid and its 4-oxo metabolites are functionally active in human skin cells in vitro. **Journal of Investigative Dermatology**; n. 125, p. 143–153, 2005.

BARRETO, M. L. et al. Effect of vitamin A supplementation on diarrhoea and acute lower-respiratory-tract infections in young children in Brazil. **Lancet**; n. 344, p. 228–231, 1994.

BEATON, G. H. et al. **Effectiveness of vitamin A supplementation in the control of young child morbidity and mortality in developing countries**. Geneva, United Nations Administrative Committee on Coordination/Subcommittee on Nutrition (ACC/SCN State-of-the-art Series, Nutrition Policy Discussion Paper No. 13), 1993.

BERNT, K. M.; WALKER, W.A. Human milk as a carrier of biochemical messages. **Acta Paediatr Suppl**; n. 430, p. 27-41, 1999.

BHANDARI, N. et al. Impact of massive dose of vitamin A given to preschool children with acute-diarrhoea on subsequent respiratory and diarrhoeal morbidity. **British Medical Journal**; n. 309, p. 1404– 1407, 1994.

BLOMHOFF, R. Vitamin A and carotenoids toxicity. **Food Nutr Bull**; n. 22, v. 3, p. 320-344, 2001.

BLOMHOFF, R. et al. Transport and storage of vitamin A. **Science**; n. 250, p. 399-404, 1994.

BOOTH, S. L. et al. Natural food sources of vitamin A and provitamin A. **UNU Food and Nutrition Bulletin**; n. 14, p. 6–19, 1992.

BORDALO, A. A. Estudo transversal e/ou longitudinal. **Rev Para Med**; v.20, n.4, p.5-5, 2006.

BRANDTZAEG, P. induction of secretory immunity and memory at mucosal surfaces. **Vaccine**; n. 25, p. 5467-5484, 2007.

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

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

BUCK, J. et al. Intracellular signaling by 14-hydroxy-4,14-retro-retinol. **Science**; n. 254, p. 1654–1656, 1991.

CALICH, V.; VAZ, C. **Imunologia**. 1 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2001.

CAMPOS, F. A. C. S. et al. Effect of an infection on vitamin A status of children as measured by the relative dose response (RDR). **American Journal of Clinical Nutrition**; n. 46, p. 91–94, 1987.

CASTENMILLER, J.; WEST, C. E. Bioavailability and bioconversion of carotenoids. **Annu Rev Nutr**; n. 18, p. 19-38, 1998.

CHANDRA, R. K. Immunological aspects of human milk. **Nutr Rev**; n. 36, p. 265-272, 1978.

CHANDRA, R. K.; AU, B. Single nutrient deficiency and cell-mediated immune response. **Nutr Rev**; n. 1, p. 181-185, 1981.

CHIRICO, G. Development of the immune system in neonates. **J Arab Neonatal forum**; n. 2, p. 5-11, 2005.

CHRISTIAN, P. et al. Night blindness of pregnancy in rural Nepal – nutritional and health risks. **International Journal of Epidemiology**; n. 27, p. 231–237, 1998.

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

DÁVILA, M. E. 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. **Journal of Nutrition**; n. 115, p. 1033-1041, 1985.

DAWSON, M.J.; OKAMURA, W. H (eds). **Chemistry and Biology of Synthetic Retinoids**. Boca raton, FL: CRC Press; 1990.

DAWSON, M. I; ZHANG, X. K. Discovery and design of retinoic acid receptor and retinoid X receptor class- and subtype-selective synthetic analogs of all-trans-retinoic acid and 9-cis-retinoic acid. **Curr Med Chem**; n. 9, p. 623-637, 2002.

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

DE CICCIO, K. L. et al. All-trans-retinoic acid and polyriboinosinic:polyribocytidylic acid in combination potentiate specific antibody production and cell-mediated immunity. **Immunology**; n. 104, p. 341–348, 2001.

DE LEENHEER, A. P. et al. Chromatography of fat-soluble vitamins in clinical chemistry. **J Chromatogr Biomed Applic**; n. 429, p. 3-58, 1988.

DE LUCA, L. M. Retinoids and their receptors in differentiation, embryogenesis and neoplasia. **FASEB journal**; n. 5, p. 2924-2933, 1991.

DERGUINI, F. et al. Intracellular signaling activity of synthetic (14R)-, (14S)-, and (14RS)-14-hydroxy-4,14-retro-retinol. **Biochemistry**; n. 33, p. 623–628, 1994.

DIJKHUIZEN, M. A. et al. Concurrent micronutrient deficiencies in lactating mothers and their infants in Indonesia. **Am J Clin Nutr**; n. 73, p. 786-91, 2001.

DIMENSTEIN, R. et al. Retinol levels in human colostrum: influence of Child, maternal and socioeconomic variables. **J Pediatr (Rio J)**; n. 79, p. 513-8, 2003.

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

DINIZ, A. S.; SANTOS, L. M. P. Hipovitaminose A e xeroftalmia. **J Ped**; n. 76, p. 311-322, 2000.

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

DUESTER, G. Families of retinoid dehydrogenases regulating vitamin A function: production of visual pigment and retinoic acid. **Eur J Biochem**; n. 267, p. 4315-4324, 2000.

EGMOND, M. V. et al. IgA and IgA Fc receptor. **Trends Immunol**; n. 22, p. 205-11, 2001.

ETTYANGA, G. A. et al. Annals Serum Retinol, Iron Status and Body Composition of Lactating Women in Nandi, Kenya. **Ann Nutr Metab**; n. 47, p. 276-283, 2003.

EUCLYDES, M. P. **Aleitamento Materno**. Em: EUCLYDES MP. Nutrição do lactente: base científica para uma alimentação adequada. 2 ed., Minas Gerais: Metha, 2000.

EVANS, T. Regulation of hematopoiesis by retinoid signaling. **Exp Hematol**; n. 33, p. 1055-1061, 2005.

FALLGREEN-GEBAUER, E. et al. The covalent linkage of secretory component to IgA. Structure of sIgA. **Biol Chem Hoppe Seyler**; n. 374, p. 1023–1028, 1993.

FARAROFF, A. A. et al. Incidence, presenting features, risk factors and significance of late onset septicemia in very low birth weight infants. The National Institute of child health and human Development Neonatal Research Network. **Pediatr Infect Dis J**; n. 17, p. 593-598, 1998.

FEACHEM, R. G. Vitamin A deficiency and diarrhoea: a review of interrelationships and their implications for the control of xerophthalmia and diarrhoea. **Tropical Disease Bulletin**; n. 84, p. R1–R16, 1987.

FERREIRA, T. R. B. et al. Imunologia do leite materno. **Rev Perspectivas Médicas**; n. 9, p. 22-8, 1998.

FILTEAU, S.; TOMKINS, A. **Infant feeding and infectious disease**. In: WALKER AF, ROLLS BA (eds). *Infant nutrition*. London: Chapman and Hall:143–62, 1994.

FILTEAU, S. M. et al. Breast milk immune factors in bangladesh women supplemented postpartum with retinol or β -carotene. **Am J Clin Nutr**. n. 69, p. 953-8, 1999.

FLORES, H. et al. Assessment of marginal vitamin A deficiency in Brazilian children using the relative dose response procedure. **American Journal of Clinical Nutrition**; n. 40, p. 1281–1289, 1984.

FOOD AND 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.

FRIEDMAN, A.; SKLAN, D. Antigen-specific immune response impairment in the chick as influenced by dietary vitamin A. **J Nutr**; n. 119, p. 790-795, 1989.

FROLIK, C. A. **Metabolism of retinoids**. In: SPORN MB, ROBERTS AB, GOODMAN DS (eds). The retinoids. Orlando: Academic Press; 177-208, 1984. Vol 2.

FURR, H. C. Analysis of retinoids and carotenoids: problems resolved and unsolved. **J Nutr**; n. 134, p. 281S-285S, 2004.

GAETANI, S. et al. Hepatic synthesis, maturation and complex formation between retinol-binding protein and transthyretin. **Clin Chem Lab Med**; n. 40, p. 1211-1220, 2002.

GARBE, A. et al. Retinoids are important cofactors in T cell activation. **J Exp Med**; v. 176, p. 109-17, 1992.

GARCIA, L. R. S. **Avaliação da suplementação materna com megadose de vitamina A sobre os níveis de retinol e alfa-tocoferol no colostro**. Dissertação de mestrado em Bioquímica. Departamento de Bioquímica; UFRN. Brasil, 2009.

GASPARONI, A. et al. *IgG* subclasses compared in maternal e cord serum and breast milk. **Arch dis child**; n. 67, p. 41-43, 1992.

GAVRILOV, V. et al. Urinary excretion of retinol in patients with multiple myeloma: a preliminary study. **Am J Hematol**; n. 74, p. 202-204, 2003.

GAVRILOV, V. et al. Urinary excretion of vitamin A in critically ill patients complicated with acute renal failure. **Ren Fail**; n. 26, p. 589-590, 2004.

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

GOLDMAN, A. S. The immune system of human milk: antimicrobial, antiinflammatory and immunomodulating properties. **Pediatr Infect Dis J**; n. 12, p. 664-71, 1993.

GOLDMAN, A.S.; GOLDBLUM, R. M. Human Milk: Immunologic-nutritional relationships. **An N.Y. Acad Sc**; p. 236-245, 1991.

GOLDMAN, A. S.; OGRA, P. L. **Anti-infectious and infectious agents in human milk**. In: Ogra PL, Mestecki J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J & McGhee JR, eds. *Mucosal Immunology*. 2 ed. Academic Press; p. 1511- 521, 1999.

GOMES, M. M. et al. Papel da vitamina A na prevenção do estresse oxidativo em recém-nascidos. **Rev Bras Saúde Matern Infant**; n. 5, v. 3, p. 275-282, 2005.

GORDON, D.B. **Spectroscopic Techniques**. In WILSON K & WALKER J (Eds). Principles and Techniques in Practical Biochemistry. Cambridge University Press, Cambridge; 324-344, 1995.

GROER, M. et al. Associations between human milk SigA and maternal immune, infectious, endocrine, and stress variables. **J Hum Lact**. n. 20, v. 2, p. 153-158, 2004.

GROSS, R. et al. Moderate zinc and vitamin A deficiency in breast milk of mothers from East-Jakarta. **Eur J Clin Nutr**; n. 52, p. 884-90, 1998.

GUYTON, H. **Tratado de Fisiologia Médica**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2002.

HANSON, L. A. Breastfeeding provides passive and likely long-lasting active immunity. **Ann Allergy Asthma Immunol**; n. 81, p. 523-537, 1998.

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

HASCHKE, F.; VANT'HOF, M. A. Influência da nutrição inicial para o crescimento. **Nestlé-Programa Pediátrico**; n. 47p. 9-12, 2000.

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

HOAG, K. A. et al. Retinoic acid enhances the T helper 2 cell development that is essential for robust antibody responses through its action on antigen-presenting cells. **Journal of Nutrition**; n. 132, p. 3736–3739, 2002.

HONORIO-FRANÇA, A. C. et al. Colostral mononuclear phagocytes are able to kill enteropathogenic Escherichia coli opsonized with colostral IgA. **Scand J Immunol**; n. 46, p. 59-66, 1997.

HUSSEY, G. D.; KLEIN M. A randomized controlled trial of vitamin A in children with severe measles. **New England Journal of Medicine**; n. 323, p. 160–164, 1990.

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.

INTERNATIONAL VITAMIN A CONSULTATIVE GROUP (IVACG). **Statement on vitamin A and iron interactions**. Washington, DC, International Vitamin A Consultative Group, ILSI Human Nutrition Institute, 1998.

INSTITUTE OF MEDICINE. national academy of sciences. **Nutrition during lactation**. Washington, D.C.: National Academy Press, 1991.

IWATA, M. et al. Retinoic acids exert direct effects on T cells to suppress Th1 development and enhance Th2 development via retinoic acid receptors. **International Immunology**; n. 15, p. 1017–1025, 2003.

JANEWAY, C. A. Jr. et al. **Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença**. 6ª Ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2007.

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

KOFLER, M.; RUBIN, S. H. Physiochemical assay of vitamin A and related compounds. **Vitam Horm**; n. 18, p. 315-339, 1960.

KUNZS, C. et al. Nutritional and biochemical properties of human milk, Part II: Lipids, micronutrients and bioactive factors. **Clin Perinatol**; n. 26, p. 335-60, 1999.

LA PINE, T. R.; HILL, H. R. **Host defense mechanisms against bacteria**. In: POLIN RA, FOX WW, ABMAN SH (Eds). Fetal and Neonatal Physiology. Philadelphia: Saunders; 3rd ed, p. 1475-1486, 2004.

LABBOK, M. H. D. C. et al. Breastfeeding: maintaining an irreplaceable immunological resource. **Nat. Rev. Immunol.** n. 4, p. 565–572, 2004.

LEWIS, D. B.; TU, W. **The physiologic immunodeficiency of immaturity**. In: Stiehm ER, Ochs HD, Winkelstein JA (Eds). Immunologic disorders in infants and children. Philadelphia: Elsevier Saunders Company, 5th Edition; p. 687-760, 2004.

LEWIS, D. B.; WILSON, C. B. **Developmental immunology and role of host defenses in fetal and neonatal susceptibility to infection**. In: Remington JS, Klein JO (eds). Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. Philadelphia: WB Saunders Company, 5th Edition; p. 25-138, 2001.

LOERCH, J. D. et al. Response of plasma levels of vitamin A to a dose of vitamin A as an indicator of hepatic vitamin A reserves in rats. **J Nutr**; p. 778-788, 1979.

LOPES, R. E et al. Prevalência de anemia e hipovitaminose A em puérperas do Centro de Atenção à mulher do Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, IMIP: Um estudo piloto. **Rev Bras Saúde Matern Infant**; n. 6, v 1, p. S63-S68, 2006.

MACHLIN, L. J (Ed). **Handbook of vitamins**. Maercel Dekker, Inc; p. 1-57, 1990.

MACLAREN, D. S, FRIGG, M. **Manual de ver y vivir sobre los transtornos por deficiência de vitamina A (VADD)**. Washington: Organization Panamericana de la salud, 2002.

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

MAJKOWSKA-SKROBEK, G. et al. Assessment of IgA subclasses synthesis in children with selective and partial IgA deficiency. **Centr Eur J Immunol**; n. 28, v. 3, p. 110-118, 2003.

MARTINS, G. A. **Acitretina na psoríase**. Consenso Brasileiro de Psoríase. Sociedade Brasileira de Dermatologia; p. 69-74, 2009.

MELLO-NETO, J. et al. The influence of maternal factors on the concentration of vitamin A in mature breast milk. **Clin Nutr**; n. 28, p. 178-181, 2009.

MENESES, F.; TRUGO, N. M. F. Retinol, β -carotene, and lutein + Zeaxanthin in the milk of brasilian nursing women: associations with plasma concentrations and influences of maternal characteristics. **Nutr. Research**; n. 25, p. 443-451, 2005.

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

MITRA, A. K et al. Urinary retinol excretion and kidney function in children with shigellosis. **Am J Clin Nutr**; n. 68, p: 1095–1103, 1998.

MITRA, A. K. et al. Urinary retinol excretion in children with acute watery diarrhea. **J Health Popul Nutr**; n. 20, p. 12-17, 2002.

MOISE, A. R. et al. Metabolism and transactivation activity of 13,14-dihydroretinoic acid. **Journal of Biological Chemistry**; n. 280, p. 27815-27825, 2005.

MOSTOV, K. E. et al. The receptor for transcellular transport of IgA and IgM contains multiple immunoglobulin-like domains. **Nature**; n. 308, p. 37-43, 1984.

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

NAPPOLI, J. L. A gene Knockout corroborates the integrap function of cellular retinol-binding protein in retinoid metabolism. **Nutr Rev**; n. 58, p. 230-235, 2000.

NATHAVITHARANA, K. A. et al. IgA antibodies in huiman milk: epidemiological markeres of previous infections?. **Arch. Dis. Child**; n. 71, p. F192-F197, 1994.

NEWBURG, D. S. Innate immunity and human milk. **J Nutr**; n. 135, p. 1308-1312, 2005.

NEWMAN, V. **Vitamin A and breastfeeding: a comparison of data from developed and developing countries**. San Diego: Wellstart International, 1993.

NEWMAN, J. How Breast Milk Protects Newborns. **Scientific American**; n. 4, p. 76-79, 1995.

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

NOTARANGELO, L. D. et al. Activity of classical and alternative pathways of complement in preterm and small for gestacional age infants. **Pediatr Rev**; n. 18, p. 281-285, 1984.

O'BYRNE, S. M.; BLANER, W. S. **Introduction to retinoids**. In: PACKER L, KRAEMER K, OBERMUELLER U, SIES H (Eds): Carotenoids and Retinoids. AOCS Press, Champaingn, 2005.

O'CONNELL, M. J. et al. Retro-retinoids in regulated cell growth and death. **Journal of Experimental Medicine**; n. 184, p. 549–555, 1996.

OLSON, J. A. **Formation and function of vitamin A**. In: PORTER JW, SPURGERON SL (Eds). Biosynthesis of isoprenoid compounds; Vol 2. New York: John Wiley & Sons; 371-412, 1983.

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

OLSON, J. A. Carotenoids and human health. **Arch Latinoam Nutr**; n. 49, p. 7S-11S, 1999.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Vitamina A na gestação e na lactação: recomendações e relatórios de uma consultoria**. Recife: A organização, 2001. (série Micronutrientes. WHO/NUT/98.4).

ORTEGA, R. M. 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**; n. 66, p. 564-568, 1997.

PAPANISH, R. Serum and breast milk vitamin A in women during lactation in rural Chiang Mai, Thailand. **Annals of Tropical Paediatrics**; n. 22, p. 321-324, 2002.

PARHAM, P. **O Sistema Imune**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2001.

PARKER, R. S. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. **FASEB J**; n. 10; p. 542-51, 1996.

PASATIEMPO, A. M. et al. Antibody production in vitamin A-depleted rats is impaired after immunization with bacterial polysaccharide or protein antigens. **FASEB J**; n. 4, p. 2518-2527, 1990.

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

PINTO, G. M. F.; JARDIM, I. C. S. F. Use of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for the determination of triazine residues in water: validation of the method. **J Chromatography A**; n. 869, p. 463-469, 2000.

RAGHU, P.; SIVAKUMAR, B. Interactions amongst plasma retinol-binding protein, transthyretin and their ligands: implications in vitamin A homeostasis and transthyretin amyloidosis. **Biochim Biophys Acta**; n. 1703, p. 1-9, 2004.

RAILA, J. et al. Excretion of vitamin A in urine of women during normal pregnancy and pregnancy complications. **Ann Nutr Metab**; n. 48, p. 357-364, 2004.

RÄIHÄ, N. C. R. Milk protein quantity and quality and protein requirements during development. **Adv pediatr**; n. 36, p. 347-368, 1989.

RAMALHO, R. A. et al. Vitamin A status in mother and newborn pairs from two health facilities in Rio de Janeiro, Brazil. **Arch Latinoam Nutr**; n. 4, p. 318-21, 1999.

RAMALHO, R. A.; SAUNDERS, C. Vitamina A: aspectos fisiopatológicos, diagnóstico e medidas de intervenção. **Rev Metab Nutr**; n. 7, p. 10-9, 2003.

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

RIBEIRO, K. D. S et al. Efeito do processamento do leite humano sobre os níveis de retinol. **J Pediatr**; v. 81, p.61-64, 2005.

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

REED, R. et al. **Practical Skills in Biomolecular Sciences**. Ed. Prentice Hall, 1998.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. **Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods**. Arlington, VA, John Snow and Opportunities for Micronutrient Interventions Project, 1997 (<http://www.mostproject.org/carrots2.pdf>, Acessado em 12 de dezembro de 2009).

RONDO, P. H. C. 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.

RONDÓ, P. H. C. et al.. Vitamin A status of pregnant women assessed by a biochemical indicador and a simplified food frequency questionnaire. **ALAN**; v. 49, n. 4, p. 322-325, 1999.

ROSALES, F. J.; 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**; n. 128, p. 1681-1687, 1998.

ROSS, C. A. Vitamin A status: relationship to immunity and the antibody response. **Proc Soc Exp Biol Med**; n. 200, p. 303–20, 1992.

ROSS, A. C. et al. 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.

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

RÜHL, R. et al. Modulation of cytokine production by low and high retinoid diets in ovalbumin-sensitized mice. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**; n. 74, p. 279–284, 2004.

RUPULO, B. S. et al. Deficiência de IgA. **J Pediatría**, p. 433-440, 1998.

RUSSEL, M. W.; MESTECKY, J. Humoral immune responses to microbial infections in the genital tract. **Microbes Infect**; n. 4, p. 667-77, 2002.

SAUNDERS, C. et al. Estado nutricional de vitamina A no grupo materno-infantil. **Rev Bras Saúde Matern Infant**; n. 1, p. 21-9, 2001.

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

SALVIANO, S. **Leite materno é saúde**. Nutrição em Pauta [revista eletrônica]. 2004 jul/ago [citado em 18 de março de 2010]. Disponível em: <http://www.nutricaoempauta.com.br>

SCHROTEN, M. et al. Secretory immunoglobulin A is a component of the human milk fat globule membrane. **Pediatr Res**; n. 45, p. 82-86, 1999.

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

SEGRE, C. A. M.; ARMELLINI, P. A. **Sistema imune no RN**. Em: MARINO WT. RN. São Paulo: Sarvier, 1995.

SEMBA, R. D. The role of vitamina A and related retinoids in immune function. **Nutrition Reviews**; n. 56, p. S38-S48, 1998.

SEMBA, R. D. Vitamina A and immunity to viral, bacterial and protozoan infections. **Proceedings of the nutrition society**; n. 58, p. 719-727, 1999.

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

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

SINGER, K. L.; MOSTOV, K. E. Dimerization of the polymeric immunoglobulin receptor controls its transcytotic trafficking. **Mol Biol Cell**; n. 9, p. 901-915, 1998.

SIJTSMA, S. R. et al. Changes in lymphoid organs and blood lymphocytes induced by vitamin A deficiency and Newcastle disease virus infections in chicks. **Dev Comp immunol**; n. 15, p. 349-356, 1991.

SNOECK, V. et al. The IgA system: a comparison of structure and function in different species. **Vet Res**; n. 37, p. 455-467, 2006.

SOLOMONS, N. W. **Vitamin A**. In: BOWMAN BA, RUSSEL RM. Present Knowledge in Nutrition. 9th ed. ILSI, 2006. Vol 1.

SOMMER, A. **Vitamin A deficiency and its consequences: a field guide to detection and control**. 3 ed. Geneva, World Health Organization, 1994.

SOMMER, A.; WEST, K. P. Jr. **Vitamin A deficiency: Health, survival, and vision**. New York, Oxford University Press, 1996.

STEPHENSON, C. B. et al. Vitamin A is excreted in the urine during acute infection. **American Journal of Clinical Nutrition**; n. 60, p. 388–392, 1994.

STEPHENSON, C. B. et al. Vitamin A enhances in vitro Th2 development via retinoid X receptor pathway. **Journal of Immunology**; n. 168, p. 4495–4503, 2002.

STOLTZFUS, R. J. et al. High dose vitamin A supplementation of breast-feeding Indonesian mothers: effects on the vitamin A status of mother and infant. **J Nutr**; n. 123, p. 666–75, 1993.

STOLTZFUS, R. J.; UNDERWOOD, B. A. Breast-milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. **Bull World Health Organ**; n. 73, p. 701-11, 1995.

STRUFALDI, B. **Prática de bioquímica clínica**. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 1987. 399p.

SUHARNO, D. et al. Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anaemia in pregnant women in West Java, Indonesia. **Lancet**; n. 342, p. 1325–1328, 1993.

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**; n. 78, p. 259-266, 2003.

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

THURNHAM, D. I.; SINGKAMANI, R. The acute phase response and vitamin A status in malaria. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**; n. 85, p. 194–199, 1991.

TOMASI, T. B. Jr.; CHODIRKER, W. B. Gamma-globulins: quantitative relationships in human serum and nonvascular fluids. **Science**; n. 142, p. 1080-1081, 1963.

UGAZIO, A. G. et al. **Immunity and infection in term and preterm newborns**. In: XANTOU, M.; BRACCI, R. (eds). Neonatal haematology and immunology. Amsterdam: Elsevier Science Publishers: 219-226, 1990.

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

UNDERWOOD, B. A. Maternal vitamin A status and its importance in infancy and early childhood. **Am J Clin Nutr**; n. 59, p. S517-S24, 1994.

UNICEF. Archana Dwivedi. **Eliminating Vitamin A deficiency** [acessado em 10 de outubro de 2009], 2005. Disponível em: http://www.unicef.org/nutrition/23963_vitaminadeficiency.html

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

XANTOU, M. Immune protection of human milk. **Biol Neonat**; n. 74, p. 121-33, 1998.

WACHTMEISTER, L. *et al.* Attempts to define the minimal serum level of vitamin A required for normal visual function in a patient with severe fat malabsorption. **Acta Ophthalmologica**; n. 66, p. 341-348, 1988.

WEAVER, L. T. *et al.* Human milk IgA concentrations during the first year of lactation. **Arch. Dis. Child**; n. 78, p. 235-239, 1998.

WEST, K. P. Jr. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. **Journal of nutrition**; n. 132, p. 2857S-66S, 2002.

WEST, K. P. Jr. et al. **Vitamin A in nutritional anemia**. In: Kraemer K, Zimmermann MB (Eds). Nutritional anemia. Basel, Sight and Life Press: 133–153, 2007.

WIEDERMANN, U. Et al. Aberrant T cell function *in vitro* and impaired T cell dependent antibody responses *in vivo* in vitamin A deficient rats. **Immunology**; n. 80, p. 581-586, 1993.

WIEDERMANN, U. et al. Vitamin A deficiency predisposes to *Staphylococcus aureus* infection. **Infection and immunity**; n. 64, v. 1, p. 209-214, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application for monitoring and evaluating interventions programmes: Micronutrient Series, 10**. Geneva: WHO/UNICEF. 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Randomised trial to assess benefits and safety of vitamin A supplementation linked to immunisation in early infancy. WHO/CHD Immunisation-Linked Vitamin A Supplementation Study Group. **Lancet**; n. 352, v. 9136, p. 1257-1263, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005: WHO global database on vitamin A deficiency**. Geneva, World Health Organization, 2009.

WHO/UNICEF/IVACG Task Force. **Vitamin A supplements: a guide to their use in the prevention of vitamin A deficiency and xerophthalmia.** 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1997.

ZANOTTI, G.; BERNI, R. Plasma retinol-binding protein: structure and interactions with retinol, retinoids and transthyretin. **Vitam Horm**; n. 69, p. 271-295, 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**; n. 125, p. 2064-2073, 1995.

APÊNDICES

APÊNDICE A: COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



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: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE N° _____
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA DOS ALIMENTOS

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 PARA MÃES ADULTAS

INQUÉRITO PARA MÃES ADULTAS

Nº _____

DADOS PESSOAIS

Nome _____

Endereço _____

Telefone _____ Data de nascimento _____ Idade _____

DADOS DA CONSULTA (Pré-Natal/Cartão da gestante)

D.U.M. ____/____/____ Paridade _____

Altura _____ Peso _____ Data ____/____/____ IG _____

Estado nutricional materno ()Baixo peso ()Normal ()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 1º _____

2º _____

ANÁLISE LABORATORIAL

Retinol 1º _____ SlgA 1º _____

2º _____ 2º _____

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](#)