



**Universidade de Brasília**

Instituto de Ciências Biológicas  
Pós-Graduação em Biologia Molecular

**VITAMINA A NO LEITE MATERNO: INFLUÊNCIA DO  
ESTADO NUTRICIONAL DE LACTANTES E DA  
COMPOSIÇÃO DO LEITE**

**Adriana Medeiros Fustinoni**

**2008**



**Universidade de Brasília**

**Instituto de Ciências Biológicas  
Pós-Graduação em Biologia Molecular**

**Adriana Medeiros Fustinoni**

**VITAMINA A NO LEITE MATERNO: INFLUÊNCIA DO  
ESTADO NUTRICIONAL DE LACTANTES E DA  
COMPOSIÇÃO DO LEITE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Loreny Gimenes Giugliano

BRASÍLIA-DF

BRASIL

2008



**Universidade de Brasília**

**Instituto de Ciências Biológicas  
Pós-Graduação em Biologia Molecular**

**Adriana Medeiros Fustinoni**

**VITAMINA A NO LEITE MATERNO: INFLUÊNCIA DO  
ESTADO NUTRICIONAL DE LACTANTES E DA  
COMPOSIÇÃO DO LEITE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Banca Examinadora:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Loreny Gimenes Giugliano – UnB  
(Orientadora)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elizabeth Maria Talá de Souza – UnB  
(Membro Interno)

Prof. Dr. Rodolfo Giugliano – UCB  
(Membro Externo)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Fernandes Arruda – UnB  
(Membro Suplente)

BRASÍLIA-DF

BRASIL

2008

A Deus, princípio e fim de tudo.

A todo ser humano, por seu valor e dignidade.

Ao meu pai e a minha mãe,  
pelo sim que deram um dia um ao outro e  
todos os dias a nós, seus filhos.

Ao Chico, por tudo o que começamos a construir juntos.  
A minha tia Náíade, ao Fabiano, Renata, cunhada(o) e  
aos frutos destes amores.

A todos os meus parentes e amigos.

## Agradecimentos

A Deus por nos ter criado e nos amar tanto.

Aos meus pais, por terem me dado a vida, a educação, o apoio em meus sonhos, o carinho, o amor, a graça de ser sua filha e por tudo mais que me faz amá-los com minha vida.

A Prof<sup>a</sup>. Loreny Gimenes Giugliano, por sua orientação, atenção, carinho e apoio pessoal e profissional. Por me fazer acreditar quando não conseguia enxergar muita coisa.

A Prof<sup>a</sup>. Egle Machado de Almeida Siqueira pela orientação nas análises do leite, por seu apoio e sábios conselhos.

Ao prof. Rodolfo Giugliano.

A equipe do Laboratório de Biofísica da UnB que me ajudaram de forma muito presente, especialmente a Prof<sup>a</sup>. Sandra Fernandes Arruda, ao prof. Fernando Fortes Valencia e Juliana Frossard.

A Prof<sup>a</sup>. Tereza Helena Macedo da Costa, pela ajuda, conselhos e por ter realizado os ajustes dos dados dos inquéritos dietéticos.

Ao prof. Luiz Fernando Zara pela parceria nas análises de minerais do leite.

Ao prof. Eduardo Freitas do Departamento de Estatística da UnB, pela realização das análises de regressão múltipla dos dados.

Ao prof. Lúcio J. Vivaldi do Departamento de Estatística da UnB pela ajuda nos ajustes dos dados dos inquéritos dietéticos.

A Universidade de Brasília e a Universidade Católica de Brasília

As pessoas que trabalharam no Pró-leite em algumas de suas etapas

Aos meus tios Náide e Marcelo e a seus filhos por me acolherem em sua casa, me dando muito mais que o essencial.

As pessoas que me ajudaram diretamente na realização deste trabalho, desde as análises até a apresentação, principalmente Lara, Igor, Tatiana, Juliana Carvalho, Náide e Francisco Augusto.

Ao CNPq e a CAPES pelo financiamento e pela bolsa.

As lactantes e suas famílias por cederam as amostras de leite.

Ao Chico, por seu carinho, presença, sinceridade, entusiasmo e apoio.

Aos meus amigos por me apoiarem e me amarem mesmo em minha ausência.

A todos os que me apoiaram e de alguma forma me ajudaram.

“Criaste-nos para Vós e o nosso coração vive inquieto enquanto não repousa em Vós.”  
Confissões, St. Agostinho.

## Resumo

O leite materno é a única fonte de vitamina A para crianças que são amamentadas de forma exclusiva em seus primeiros meses de vida. Níveis adequados de vitamina A no leite são fundamentais, pois as crianças ao nascerem possuem um estoque hepático baixo desta vitamina. A presença deste nutriente no leite tem sido utilizada como um indicador do estado nutricional desta vitamina em lactantes e lactentes. Alguns fatores maternos podem estar relacionados ao estado nutricional de vitamina A em mulheres que amamentam. O objetivo do presente trabalho foi verificar se fatores ligados a mãe como a ingestão habitual de vitamina A, o índice de massa corporal (IMC), a gordura periférica, a gordura central e alguns compostos do leite, como a gordura, a proteína, o zinco e o ferro, estão associados aos teores de vitamina A presentes no leite. A pesquisa foi realizada em 92 lactantes, entre a terceira e quarta semana pós-parto, que deram a luz no Hospital Regional de Taguatinga e Hospital Universitário de Brasília entre maio de 2004 e novembro de 2005. Foram realizadas medidas antropométricas e dois inquéritos dietéticos de 24 horas. As dosagens de gordura, proteínas totais, zinco, ferro e vitamina A foram feitas nas amostras de leite destas mães. Uma alta porcentagem das lactantes estudadas, 37%, apresentaram estado nutricional deficientes em vitamina A. As análises demonstraram que quando a ingestão habitual desta vitamina era superior a Média de Requerimento Estimada para Grupos (EAR), a dieta influenciava diretamente as concentrações de vitamina A presente no leite ( $p= 0,05$ ), o que não acontecia quando a ingestão habitual era inferior a EAR ( $p= 0,41$ ), indicando que vitamina A ingerida supre prioritariamente as necessidades do organismo materno. O IMC mostrou uma tendência a influenciar positivamente nos níveis de vitamina A no leite ( $p= 0,06$ ), sugerindo que o acúmulo de gordura corporal que ocorre no último trimestre de gestação é importante para a manutenção do estado nutricional de vitamina A da lactante. Fatores como a gordura central e a gordura periférica das mães, proteínas totais e zinco no leite não influenciaram de forma significativa os teores de vitamina A no leite. A vitamina A presente no leite foi fortemente influenciada pelos níveis de gordura encontrados no leite ( $p< 0,001$ ), o que pode ser consequência da lipossolubilidade e do processo de secreção dessa vitamina no mesmo. Constatou-se uma estreita associação entre os níveis de vitamina A e ferro no leite, indicando que a adequação dos níveis de ferro e vitamina A no leite são interdependentes.

## **Abstract**

The milk is the only source of vitamin A to children who are only breastfed in its first months of life. Adequate levels of vitamin A in milk are important because children born with low level of it in the liver. The presence of this nutrient in milk has been used as an indicator of nutritional status of this vitamin in infants and mothers. Some factors may be related to mothers' nutritional status of vitamin A in these women who breastfeed. The objective of this work was to check whether factors associated with mother as the habitual intake of vitamin A, the body mass index (BMI), peripheral fat, central fat and some compound of milk, such as fat, protein, zinc and iron, are associated with levels of vitamin A in milk. The research was conducted in 92 breastfeeding mothers, between the third and fourth week after birth at the Regional Hospital of Taguatinga and University of Brasilia Hospital between May 2004 and November 2005. Anthropometric measurements and 24 hours diet recalls were conducted. The fat, protein, zinc, iron and vitamin A levels were taken from the milk samples of mothers. A high number of studied mothers, 37% of them, had poor nutritional status in vitamin A. The analyses showed that when the usual dietary intake of vitamin A was above the Average for the Application Estimated Groups (EAR), the diet has a direct influence the concentrations of vitamin A in milk ( $p= 0.05$ ). The same did not happen in the case the usual dietary intake was below normal ( $p= 0.41$ ). This is a sign that vitamin A intake is priority used for the mother's body need. The BMI showed a tendency to influence in a very important manner the levels of vitamin A in milk ( $p= 0.06$ ). The accumulation of body fat in the last trimester of pregnancy is important for maintaining the nutritional status of vitamin A of in the mother. Some factors such as central fat and peripheral fat, total protein and zinc in the milk did not influence significantly the levels of vitamin A. Vitamin A present in the milk was strongly influenced by levels of fat found in milk ( $p< 0,001$ ), which may be a consequence of fat solubility and the process of secretion of this vitamin in it. Furthermore, there is a close association between levels of vitamin A and iron in milk. That indicates that the adequacy levels of iron and vitamin A in milk are interdependent.

## Lista de Figuras

Figura 1. Diagrama dos alvéolos mamários e das células epiteliais alveolares, mostrando o processo de formação e secreção do leite. (a) As setas azuis indicam o caminho de secreção do leite pelos alvéolos mamários. (b) caminho I descreve a secreção da água de alguns minerais, de lactose e de proteínas sintetizadas pelas células alveolares; caminho II demonstra a secreção dos glóbulos de gordura do leite; caminho III indica o processo de secreção de alguns minerais e pequenas moléculas vindas do plasma; caminho IV, secreção de proteínas e imunoglobulinas vindas da circulação sanguínea; e caminho V indica o transporte paracelular de compostos plasmáticos e leucócitos. Abreviações: VS, vesículas secretoras; RER, retículo endoplasmático rugoso; MB, membrana basal; N, núcleo; GG, glóbulos de gordura; CJ, complexo juncional; JG, junções do tipo Gap; CM, células mioepiteliais; ADG, Adipócitos depletados de gordura. Adaptado de McManaman e Neville (2003). ....	22
Figura 2. Estrutura química da vitamina A. Adaptado de Musib (2000).....	26
Figura 3. Estrutura do todo-trans-retinol. Adaptado de Senoo (2004).....	27
Figura 4. Palmitato de retinil, o éster de retinil mais freqüente nos animais. Adaptado de Senoo (2004). ....	27
Figura 5. Esquema do 11-cis-retinal existente na retina e ligado a rodopsina. Adaptado de Senoo (2004). ...	27
Figura 6. Principais isoformas do ácido retinóico. Adaptado de Musib (2000). ....	29
Figura 7. Anel de $\beta$ -ionona (círculo vermelho) de alguns dos carotenóides presente na dieta. Adaptado de Palace <i>et al.</i> (1998). ....	29
Figura 8. Absorção do $\beta$ -caroteno e do retinol pelos enterócitos. O $\beta$ -caroteno absorvido pode ser clivado a retinol. O retinol é esterificado a éster de retinil, sendo incorporado aos quilomícrons e transportado por meio da corrente sanguínea para os diversos tecidos do organismo. Adaptado de Senoo (2004). ....	33
Figura 9. Ação nos tecidos extra-hepáticos e armazenamento no fígado da vitamina A adquirida na dieta. A vitamina A atua principalmente como um hormônio nuclear, na forma de ácido retinóico. No fígado a vitamina A é estocada no interior das células estreladas na forma de éster de retinil, até que seja transportada ao restante do organismo ligada a proteína ligante de retinol (RBP) como retinol. Adaptado de Senoo (2004).....	34
Figura 10. Incorporação e armazenamento do retinol ligado a Proteína Ligante de Retinol (RBP) pelas células estreladas. (a) Incorporação da RBP ligada a retinol pelas células estreladas. Nas células estreladas, a vitamina A pode seguir dois caminhos principais: o de serem (b) armazenadas no interior das gotículas de gordura citoplasmática na forma de éster de retinil até serem (c) exportadas para o plasma quando requeridas pelo organismo e o de (d) agirem na expressão de alguns genes no núcleo celular. Abreviações: CMV, corpúsculo multi-vesicular; GC, gotículas de gordura citoplasmática; N, núcleo celular; RER, retículo endoplasmático rugoso; G, complexo de Golgi; VS, vesícula secretora. Adaptados de Senoo (2004).....	35
Figura 11. Incorporação, pela célula alveolar da glândula mamária, da vitamina A advinda dos quilomícrons pós-prandiais e dos estoques hepáticos. Os quilomícrons que transportam a vitamina A na forma de éster de retinil vinda da dieta, sofre a ação da Lipase Lipoproteica, proporcionando a incorporação desta vitamina pelas células alveolares. O fígado é o principal órgão responsável por manter os níveis de vitamina A constantes no plasma. As células da glândula mamária absorvem e esterificam a vitamina A que será secretada no leite. Adaptado de Ross <i>et al.</i> , (2004a). ....	36
Figura 12. Distribuição das concentrações de vitamina A no leite de 92 lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005 (Teste de normalidade $p < 0,05$ ). ....	48
Figura 13. Distribuição do IMC de 92 lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005. ....	51

## Lista de Tabelas

Tabela 1. Valor central, mínimo e máximo das concentrações de vitamina A no leite de 92 lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005. ....	48
Tabela 2. Modelo de Regressão Linear Múltipla para fatores que poderiam estar influenciando na concentração de vitamina A no leite.....	49
Tabela 3. Correlação entre a ingestão habitual de vitamina A inferior e superior a recomendação da EAR para vitamina A em relação a concentração de vitamina A no leite de lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005.....	50
Tabela 4. Valores centrais e intervalos do IMC, da gordura periférica <sup>a</sup> e da gordura central <sup>b</sup> de lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005. ....	51
Tabela 5. Comparação das concentrações de vitamina A no leite de lactantes com IMC $\leq$ 25 Kg/m <sup>2</sup> e IMC $>$ 25 Kg/m <sup>2</sup> que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005. ....	52
Tabela 6. Descrição de dados analisados no leite de lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005. ....	52
Tabela 7. Comparação entre os valores centrais das concentrações de vitamina A no leite de lactantes com secreção inferior e superior a média obtida de estudos populacionais (NAS, 2005).....	53
Tabela 8. Mediana das concentrações de vitamina A no leite de lactantes com secreção de Fe inferior e superior ao valor médio proposto pela NAS (2001), em mulheres que deram a luz no HUB e no HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005.....	54
Tabela 9. Mediana das concentrações de Fe no leite de lactantes com estado nutricional de vitamina A <sup>a</sup> adequado em comparação com Fe no leite de mulheres com estado nutricional deficiente em vitamina A que deram a luz no HUB e no HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005.....	54

## Lista de Abreviações

AA ou ARA	Ácido Aracdônico
ADG	Adipócitos Depletados de Gordura
AI	Ingestão Adequada ( <i>Adequate Intake</i> )
AR	Ácido Retinóico
ARAT	Acil Coenzima A: <i>Retinol Acil Transferase</i>
CDF	Família Facilitadores de Difusão de Cátions
CJ	Complexo Juncional
CM	Células Mioepiteliais
CMV	Corpúsculo Multi-vesicular
CNPq	Conselho Nacional de Pesquisa
COH	Grupo funcional do aldeído
COOH	Grupo Funcional do Ácido Carboxílico
CRBP II	Proteína Celular Ligante de Retinol do tipo II ( <i>Cellular Retinol Binding Protein II</i> )
CRBP III	Proteína Celular Ligante de Retinol do tipo III ( <i>Cellular Retinol Binding Protein III</i> )
CRBP	Proteína Celular Ligante de Retinol ( <i>Cellular Retinol Binding Protein</i> )
CRBP	Proteína Celular Ligante de Retinol ( <i>Cellular Retinol Binding Protein</i> )
DF	Distrito Federal (Brasil)
DHA	Ácido Docosaexaenóico
DMT1	Proteína Transportadora de Metais Divalentes 1 ( <i>Divalent Metal Transporter 1</i> )
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
DRIs	Referências de Ingestão Dietética ( <i>Dietary Reference Intakes</i> )
EAR	Média de Requerimento Estimada para Grupos ( <i>Estimated Average Requirements for Groups</i> )
ER	Éster de Retinil
Fe	Ferro

Fig.	Figura
<i>fSC</i>	Componente Secretor Livre
G	Complexo de Golgi
GC	Gotícula de Gordura Citoplasmática
GG	Glóbulos de Gordura
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência ( <i>High Performance Liquid Chromatography</i> )
HRT	Hospital Regional de Taguatinga
HUB	Hospital Universitário de Brasília
hZIP	Transportadores Intestinais de Zinco em Humanos ( <i>Human Intestinal Zinc Transporters</i> )
IMC	Índice de Massa Corporal
IVACG	Grupo de Consulta Internacional em Vitamina A ( <i>International Vitamin A Consultative Group</i> )
JG	Junções do tipo Gap
KOH-HOH	Solução Aquosa de Hidróxido de Potássio
LD	Limite de Detecção
LPL	Lipase Lipoproteica ( <i>Lipoprotein Lipase</i> )
LQ	Limite de Quantificação
LRAT	Lecitina: Retinol Acil Transferase ( <i>Lecithin: Retinol Acyltransferase</i> )
MB	Membrana Basal
MDIS	Sistema de Informação de Deficiência de Micronutrientes ( <i>Micronutrient Deficiency Information System</i> )
N	Núcleo celular
NAP	Academia de Imprensa Nacional ( <i>National Academy Press</i> )
NAS	Academia Nacional de Ciência ( <i>National Academy of Sciences</i> )
ICP- OES	Espectrômetro de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado ( <i>Inductive Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy</i> )
OH	Hidroxila
PA	Pureza Absoluta
pH	Potencial Hidrogeniônico
QI	Coefficiente de Inteligência
QM	Quilomícron

QMR	Quilomícron Remanescente
RAE	Atividade Equivalente de Retinol ( <i>Retinol Activity Equivalent</i> )
RAR	Receptor de todo-trans-ácido retinóico
RARE	Elementos Responsivos de Ácido Retinóico
RBP	Proteína Ligante de Retinol ( <i>Retinol Binding Protein</i> )
RBPR	Receptor Específico para RBP ( <i>Retinol Binding Protein Receptor</i> )
RDR	Teste de Dose Resposta
RER	Retículo Endoplasmático Rugoso
RNA	Ácido Ribonucleico
ROH	Retinol
RXR	Receptor de ácido retinóico do tipo X
RXRE	Elementos Responsivos de Ácido Retinóico do tipo X
<i>sIgA</i>	Imunoglobulina A secretória
Tab.	Tabela
TG	Triglicerídeo
UCB	Universidade Católica de Brasília
UL	Níveis Máximos de Ingestão Toleráveis ( <i>Tolerable Upper Intake Levels</i> )
UnB	Universidade de Brasília
VA	Vitamina A
VS	Vesículas Secretoras
WHO	Organização Mundial de Saúde ( <i>World Health Organization</i> )
ZIP1	Transportador Intestinais de Zinco em Humanos do Tipo 1 ( <i>Human Intestinal Zinc Transporter 1</i> )
ZIP4	Transportador Intestinais de Zinco em Humanos do Tipo 4 ( <i>Human Intestinal Zinc Transporter 4</i> )
Zn	Zinco
ZnT	Proteína Transportadora de Zinco ( <i>Zinc Transporter</i> )
ZnT-2	Proteína Transportadora de Zinco do Tipo 2 ( <i>Zinc Transporter 2</i> )
ZnT-4	Proteína Transportadora de Zinco do Tipo 4 ( <i>Zinc Transporter 4</i> )

# Sumário

1	Introdução.....	16
2	Revisão Bibliográfica.....	17
2.1	O Leite Materno.....	17
2.1.1	Importância do Leite Materno.....	17
2.1.2	Composição do Leite Materno.....	18
2.1.2.1	Variações na composição do Leite.....	19
2.1.3	Secreção do Leite pela Glândula Mamária.....	20
2.2	A vitamina A e o Leite Materno.....	21
2.2.1	A deficiência de Vitamina A.....	22
2.2.1.1	Diagnóstico Laboratorial da Hipovitaminose A.....	24
2.2.1.1.1	Dosagem plasmática.....	24
2.2.1.1.2	Teste de Dose Resposta.....	24
2.2.1.1.3	Dosagem de Vitamina A no Leite.....	25
2.2.2	Estrutura Bioquímica e o Papel Metabólico da Vitamina A.....	26
2.2.2.1	Retinol.....	26
2.2.2.2	Éster de Retinil.....	27
2.2.2.3	Retinal.....	27
2.2.2.4	Ácido Retinóico.....	28
2.2.3	Os Pró-vitamínicos A.....	28
2.2.4	O Consumo de Vitamina A e seus Precursores na Dieta.....	30
2.2.4.1	Biodisponibilidade da vitamina A e pró-vitamínicos A nos alimentos.....	30
2.2.4.2	A recomendação de ingestão da vitamina A.....	31
2.2.5	Metabolismo da Vitamina A.....	31
2.2.5.1	Absorção.....	31
2.2.5.1.1	Absorção dos carotenóides pró-vitamínicos A.....	32
2.2.5.1.2	Absorção da Vitamina A.....	32
2.2.5.2	Transporte dos Enterócitos para os Diversos Tecidos.....	32
2.2.5.3	Armazenamento.....	33
2.2.5.4	Mobilização da Vitamina A.....	35
2.2.5.5	Incorporação da Vitamina A pela Glândula Mamária.....	36
2.3	Interação entre minerais e a vitamina A.....	37
2.3.1	O Zinco.....	37
2.3.1.1	Interação entre o zinco e a vitamina A.....	37
2.3.2	O Ferro.....	38
2.3.2.1	Metabolismo do Fe.....	38
2.3.2.2	O Ferro e a vitamina A.....	39
3	Objetivos.....	41
3.1	Objetivo geral.....	41
3.2	Objetivos específicos.....	41
4	Material e métodos.....	42
4.1	Sujeitos.....	42
4.2	Coleta do Leite.....	42
4.3	Inquéritos Dietéticos.....	43
4.4	Dados Antropométricos.....	44
4.5	Dosagem de Vitamina A do Leite.....	44
4.6	Dosagem de Gordura no Leite.....	46
4.7	Dosagem de Proteínas do Leite.....	46
4.8	Dosagem de Minerais no Leite.....	46
4.9	Análise Estatística.....	47
5	Resultados.....	48
5.1	Teores de Vitamina A no Leite.....	48
5.2	A concentração de Vitamina A no Leite e a Ingestão Habitual de Vitamina A.....	49
5.3	A concentração de Vitamina A no Leite, o IMC, a gordura periférica e a central.....	50
5.4	A concentração de Vitamina A no Leite e a Gordura, Proteínas, Zinco e Ferro presentes no Leite.....	52
6	Discussão.....	55
6.1	A concentração de Vitamina A no Leite e a Ingestão Habitual de Vitamina A.....	55
6.2	Os teores de Vitamina A no Leite em relação ao IMC, a gordura periférica e a gordura central.....	57

6.3	Relação entre a concentração de Vitamina A no Leite e Gordura, Proteínas, Zinco e Ferro presentes no Leite.....	58
7	Conclusões.....	62
7.1	Referências Bibliográficas.....	63

# 1 Introdução

A deficiência de vitamina A é um problema mundial de saúde e os principais grupos de risco são crianças em idade pré-escolar, gestantes e lactantes. A Organização Mundial de Saúde (*World Health Organization - WHO*), estimou que cerca de 251 milhões de crianças em idade pré-escolar possuíam a saúde e a sobrevivência comprometidas pela deficiência desta vitamina (WHO, 1996a).

A deficiência de vitamina A pode causar cegueira noturna e xerofthalmia (Fiore *et al.*, 2004; Tanumihardjo, 1996), anemia (Bloem, 1995), descamação da pele e depressão do sistema imunológico, problemas que contribuem para o aumento da morbidade e mortalidade (Souza e Vilas Boas, 2002; Fawzi *et al.*, 1994; Sommer *et al.* 1984).

Cerca de 2,8 milhões de crianças correm o risco de ficarem cegas em virtude da ingestão inadequada de vitamina A (WHO, 1996a). Em 2002 a WHO relatou que cerca de 5% das mulheres sofrem de cegueira noturna durante a gestação, pois neste período, assim como durante a lactação, ocorre um aumento da demanda deste nutriente para o desenvolvimento do embrião e feto, e posteriormente para a secreção do leite.

No Brasil, existem poucas informações sobre óbito e incapacitação causados pela deficiência de vitamina A, existindo dados esparsos sobre este problema, devido ao tamanho e diversidade da população brasileira (Souza e Vilas Boas, 2002).

As crianças ao nascerem possuem uma baixa reserva hepática de vitamina A, e o leite materno é a única fonte desta vitamina para as que recebem amamentação exclusiva, por isso, sua presença em níveis adequados no leite materno é muito importante (Allen, 2005; WHO, 1996a; Davila *et al.*, 1985; Takahashi *et al.*, 1975). As lactantes precisam ingerí-la em quantidades adequadas para suprirem suas próprias reservas e também as necessidades de seus filhos que estão em pleno desenvolvimento físico e mental. Deste modo, o estudo da vitamina A no leite é essencial por fornecer informações tanto sobre o estado nutricional da lactante como do lactente (Calil e Falcão, 2003; Stoltzfus e Underwood, 1995).

A vitamina A não pode ser produzida pelo organismo humano, mas apenas transformada quando ingerida na forma de pró-vitâmicos A (Blomhoff *et al.*, 1990; Olson, 1989), desta forma, a presença desta vitamina no leite depende de dois fatores principais: do estoque de vitamina A hepático (Ross *et al.* 2004a; Green *et al.*, 2001a) e, da ingestão recente deste micronutriente (Ross *et al.* 2004a).

Outros fatores, no entanto, poderiam influenciar no metabolismo e conseqüentemente na concentração da vitamina A no leite, como a composição corporal (Badman e Flier, 2007; Graham *et al.*, 2006) e a atividade de alguns minerais na glândula mamária (Kelleher e Lönnnerdal, 2001).

O presente trabalho além de ter investigado o estado nutricional de vitamina A em lactantes no Distrito Federal e a composição de seus leites em relação a este nutriente, investigou ainda a influência de fatores que poderiam estar associados aos teores de vitamina A no leite, tais como a ingestão de vitamina A, o índice de massa corporal das lactantes, gordura periférica, gordura central, e também outros nutrientes presentes no leite como a gordura, o ferro e o zinco, visando ampliar o entendimento sobre os fatores que influenciam no estado nutricional de vitamina A. Estes resultados poderão fornecer informações importantes para os profissionais da área de saúde no que se refere a prevenção da deficiência de vitamina A em lactantes e seus filhos.

## **2 Revisão Bibliográfica**

### **2.1 O Leite Materno**

#### **2.1.1 Importância do Leite Materno**

O leite materno oferece inúmeros benefícios tanto para o bebê quanto para as lactantes e por isso é considerado o alimento mais completo para o recém-nascido (Calil e Falcão, 2003).

Dentre os principais benefícios que o leite materno oferece ao lactente destacam-se: o suprimento de suas necessidades nutricionais, o fornecimento de defesa imunológica (Fonseca *et al.*, 1996), provendo anticorpos e imunomoduladores que promovem o desenvolvimento da defesa pelo próprio bebê (Brandtzaeg, 2003; Oliveira *et al.*, 2001; Araújo e Giugliano, 2000; Montagne *et al.*, 1999), além de propiciar o seu contato com a mãe, que é muito importante para o seu desenvolvimento psico-social (Calil e Falcão, 2003).

Vários estudos têm comprovado estas vantagens (Oliveira *et al.*, 2001; Fonseca *et al.*, 1996; Dewey *et al.*, 1995). Anderson e colaboradores em sua meta-análise (1999), destacaram que crianças amamentadas com leite materno quando comparadas a crianças que receberam aleitamento artificial, adquiriram uma maturação mais rápida, tanto em sua função visual quanto no desenvolvimento de sua função motora, além de apresentarem

uma diminuição na incidência de problemas emocionais e de comportamento. Estudos demonstram também uma diminuição na ocorrência de infecções respiratórias (Fonseca *et al.*, 1996) e de diarreia (Dewer *et al.*, 1996).

Crianças que foram amamentadas com leite materno demonstram ter também um maior quociente de inteligência (QI) e uma maior taxa de aumento nas funções cerebrais quando comparadas a crianças que se alimentaram com fórmulas infantis (Caspi *et al.* 2007; Anderson *et al.* 1999), devido as quantidades substanciais de ácidos graxos poli-insaturados presentes no leite materno, como o ácido docosaenóico (DHA;22:6n-3) e o ácido aracdônico (AA ou ARA; 20:4n-6) que são acumulados no sistema nervoso central durante os primeiros meses de vida (Caspi *et al.* 2007). A amamentação oferece também vantagens para as mães, como a diminuição da incidência de câncer de ovário e de mama (Bernstein, 2002; WHO,1995).

### **2.1.2 Composição do Leite Materno**

O leite materno é composto aproximadamente por 88% de água (Nascimento e Isser, 2003), sendo isotônico em relação ao plasma (Nascimento e Isser, 2003), além de conter compostos como vitaminas, minerais, carboidratos, lipídeos, nucleotídeos (Coppa *et al.*, 2006), proteínas, imunoglobulinas (Brandtzaeg, 2003; Montagne *et al.*, 1999) e leucócitos (Petitjean *et al.*, 2007, Brandtzaeg, 2003).

Os carboidratos presentes no leite apresentam-se em sua maioria na forma de lactose (Nascimento e Isser, 2003) que é um dissacarídeo constituído de galactose unido por ligação  $\beta$  a uma glicose (NAP, 1991). Sua concentração no leite materno é de aproximadamente 70 g/L (NAP, 1991).

As concentrações de proteínas presentes no leite materno variam de 0,8 a 0,9 g/dL (Nascimento e Isser, 2003). As principais proteínas do leite são  $\alpha$ -lactoalbumina, lactoferrina, lisozima, imunoglobulinas A e soroalbumina (Montagne *et al.*, 2000).

Várias funções importantes já foram descritas para essas proteínas. A  $\alpha$ -lactoalbumina e a  $\beta$ -caseína fornecem a maior parte dos aminoácidos aos lactentes, apresentando com isso um alto valor nutricional (Montagne *et al.*, 2000). A lactoferrina é importante no processo de absorção do ferro, no crescimento dos bebês, além de atuar como bactericida e como imunomodulador (Coppa *et al.*, 2006; Montagne *et al.*, 2000). A lisozima hidrolisa os peptídeoglicanos da parede celular dos procariotos, funcionando também como um bactericida. A imunoglobulina A do mesmo modo que a lisozima e a

lactoferrina estão envolvidas na proteção dos bebês contra infecções (Oliveira *et al.*, 2001; Montagne *et al.*, 2000).

A gordura presente no leite materno é a maior fonte de energia para os lactentes e apresenta-se principalmente na forma de triacilgliceróis e fosfolídeos, mas também como colesterol, diacilgliceróis, monoacilgliceróis, glicolídeos, ésteres de colesterol e ácidos graxos livres (Mather e Keenan, 1998).

### **2.1.2.1 Variações na composição do Leite**

A composição do leite materno pode variar de acordo com o período pós-parto (Montagne *et al.*, 2000; Jensen, 1996; Dewey *et al.*, 1984), período de jejum, fatores nutricionais maternos (Nascimento e Isser, 2003; Ruel *et al.*, 1997; Chappell *et al.*, 1985), tempo gestacional do bebê (Nascimento e Isser, 2003; Ruel *et al.*, 1997), hora do dia em que é secretado (Jensen, 1996) e aspectos individuais de cada mãe (Nascimento e Isser, 2003; Ruel *et al.*, 1997).

De acordo com o período pós-parto, o leite materno pode ser classificado como colostro, leite de transição e leite maduro (Nascimento e Isser, 2003; NAP, 1991).

O colostro é um fluido amarelado de alta densidade e de pequeno volume, secretado no período entre o parto e o 7º dia (Nascimento e Isser, 2003; NAP, 1991). Sua coloração amarela se deve a alta concentração de carotenóides e de vitamina A (NAP, 1991). O colostro também é rico em outras vitaminas, minerais, proteínas e fatores de defesa como, as imunoglobulinas e os leucócitos, além de possuir uma baixa concentração de lipídeo e lactose (Nascimento e Isser, 2003; NAP, 1991).

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

O leite maduro é uma mistura homogênea constituída de três frações: a solução aquosa com a maioria das proteínas, oligossacarídeos e nutrientes como a lactose, citrato, fosfato e cálcio (McManaman e Neville, 2003); uma fase suspensa, constituída por micelas de caseína em suspensão; e a emulsão, formada pelos glóbulos de gordura, que são gotículas de gorduras envoltas por fosfolídeos (Mather e Keenan, 1998), algumas proteínas e vitaminas lipossolúveis (McManaman e Neville, 2003).

A ingestão recente de nutrientes pode também influenciar na composição do leite (Ross *et al.*, 2001a; Chappell *et al.*, 1985) com exceção de alguns componentes, como os

carboidratos, cuja concentração no leite parece não ter ligação com a dieta materna (NAP, 1991).

Embora existam trabalhos demonstrando que a quantidade total de gordura no leite não varia com a alimentação da lactante (NAP, 1991), Chappell *et al.* (1985) e Jensen (1996), demonstraram que o tipo de gordura secretado no leite materno pode variar de acordo com a dieta.

O estado nutricional da lactante também altera a composição do leite materno, principalmente em relação a compostos como o iodo, vitaminas do complexo B e vitamina A (Allen, 2005). No entanto, alguns trabalhos mostram que a presença de alguns minerais como o ferro, o zinco e o cobre no leite parece ser independente do estado nutricional materno (Domellöf *et al.* 2004).

Outro aspecto que indica que a secreção de nutrientes no leite está ligada ao estado nutricional materno é a influência do índice de massa corporal (IMC) na secreção de gordura no leite. Durante o último trimestre de gestação ocorre um aumento das reservas energéticas no organismo da mãe para atender a demanda calórica requerida pela secreção do leite. Esse acúmulo energético ocorre principalmente na forma de gordura periférica (Dorea, 1996) e visceral, que ocasiona a elevação do IMC. O IMC diminui notavelmente nos primeiros meses da lactação (Dorea, 1997). Chappell *et al.* (1985) demonstrou que quanto maior a perda de peso durante a lactação, maior a concentração de gordura trans secretado pelo leite. Desta forma, a secreção de gordura trans no leite parece ser influenciada pela taxa de diminuição do IMC (Chappell *et al.*, 1985) ou simplesmente pelo valor do IMC (Jensen, 1996).

A concentração de gordura no leite também pode variar ao longo do dia e durante a mamada. Por exemplo, o leite secretado no início do esvaziamento de uma mama cheia possui uma concentração menor de gordura do que o secretado por último (NAP, 1991), isso porque a água e os compostos hidrossolúveis tem uma maior facilidade de serem secretados do que a gordura, devido sua menor viscosidade.

### **2.1.3 Secreção do Leite pela Glândula Mamária**

A glândula mamária é composta por lóbulos alveolares, circundados por células mioepiteliais e tecido conjuntivo ricamente vascularizado contendo adipócitos e fibroblastos. As células mioepiteliais ao serem estimuladas pela oxitocina promovem a contração dos alvéolos promovendo a ejeção do leite (McManaman e Neville, 2003).

Para a secreção da grande variedade de componentes que constituem o leite, cada composto segue um caminho específico de absorção ou síntese, modificação e secreção realizado pelas células alveolares da glândula mamária. Devido à alta atividade secretora durante o período de lactação, essas células possuem numerosas mitocôndrias, uma intensa atividade no retículo endoplasmático, complexo de Golgi bem desenvolvido e inúmeras vesículas secretoras (McManaman e Neville, 2003).

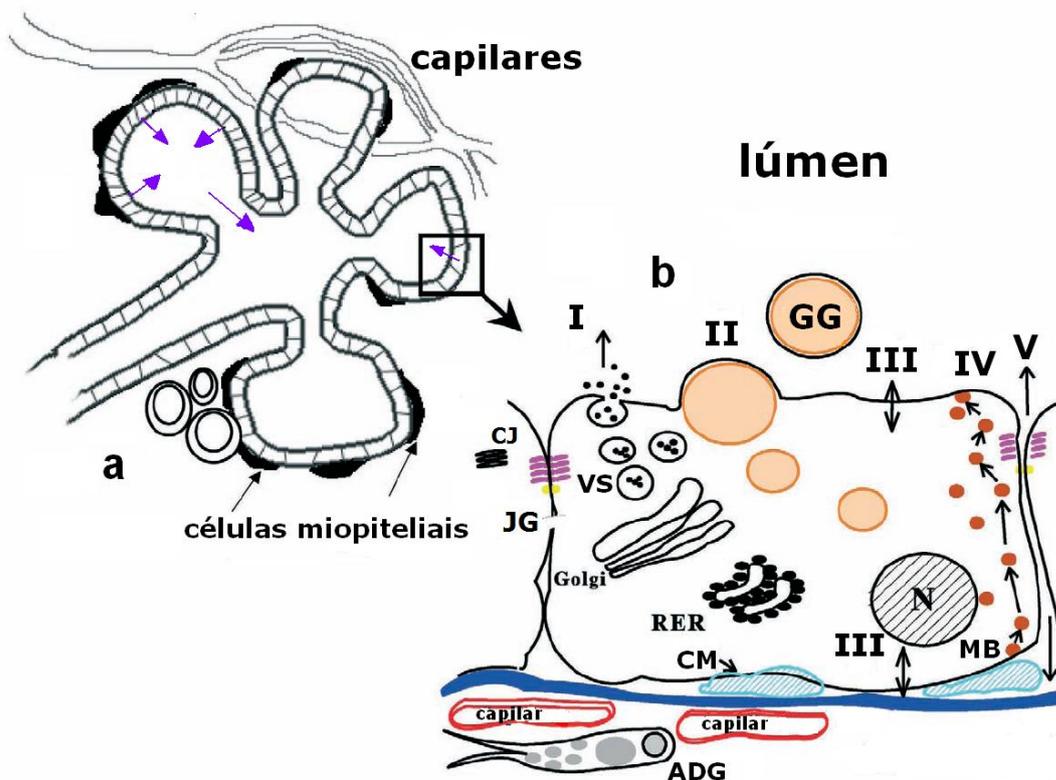
A água do leite é secretada seguindo um gradiente de concentração. Alguns minerais e pequenas moléculas, como a glicose e aminoácidos vindos do plasma, são transportados no citoplasma a partir da membrana basal por meio de transportadores específicos. A lactose é sintetizada a partir da glicose no complexo de Golgi das células epiteliais mamárias. As proteínas secretadas no leite podem ser sintetizadas pelas células alveolares, virem do espaço intersticial ou da circulação sanguínea e podem ser modificadas no citoplasma (Fig. 1). Estes compostos são secretados na membrana apical por meio de exocitose e constituem a fase aquosa e as micelas de caseína do leite (McManaman e Neville, 2003).

Os lipídeos são sintetizados no retículo endoplasmático liso, na região basal das células alveolares a partir de ácidos graxos e gliceróis (Mather e Keenan, 1998) e são estocados na forma de gotículas de gorduras citoplasmática envolvidas por algumas proteínas lipossolúveis. Estas gotículas de gordura migram para a região apical destas células e são então secretadas (Mather e Keenan, 1998; McManaman e Neville, 2003). No processo de secreção, as gotículas de gordura são envolvidas pela membrana plasmática e formam os glóbulos de gordura do leite (McManaman e Neville, 2003).

Alguns componentes plasmáticos e leucócitos podem ser encontrados no leite e chegam ao lúmen da glândula mamária através do transporte paracelular (McManaman e Neville, 2003).

## **2.2 A vitamina A e o Leite Materno**

Por fornecer todos os nutrientes necessários à saúde do bebê, o leite materno não poderia deixar de ser fonte de vitamina A, que é uma molécula fundamental para o funcionamento do processo visual (Nelson e Cox, 2000), na divisão e diferenciação celular (Brody, 1995), no metabolismo de ferro (Bloem, 1995) e no funcionamento adequado do sistema imunológico (Dancheck *et al*, 2005; Beaton, 1992).



**Figura 1.** Diagrama dos alvéolos mamários e das células epiteliais alveolares, mostrando o processo de formação e secreção do leite. (a) As setas azuis indicam o caminho de secreção do leite pelos alvéolos mamários. (b) caminho I descreve a secreção da água de alguns minerais, de lactose e de proteínas sintetizadas pelas células alveolares; caminho II demonstra a secreção dos glóbulos de gordura do leite; caminho III indica o processo de secreção de alguns minerais e pequenas moléculas vindas do plasma; caminho IV, secreção de proteínas e imunoglobulinas vindas da circulação sanguínea; e caminho V indica o transporte paracelular de compostos plasmáticos e leucócitos. Abreviações: VS, vesículas secretoras; RER, retículo endoplasmático rugoso; MB, membrana basal; N, núcleo; GG, glóbulos de gordura; CJ, complexo juncional; JG, junções do tipo Gap; CM, células mioepiteliais; ADG, Adipócitos depletados de gordura. Adaptado de McManaman e Neville (2003).

No leite materno a vitamina A se encontra principalmente na forma de palmitato de retinil, que é a forma éster desta vitamina. A secreção de vitamina A diminui no leite de transição em relação ao colostro, e se estabiliza no leite maduro ficando com as concentrações médias de 1,75 a 2,45  $\mu\text{mol/L}$  em populações bem nutridas (WHO, 1996a).

### 2.2.1 A deficiência de Vitamina A

A deficiência de vitamina A é um problema de saúde pública que tem se destacado no panorama mundial. A WHO inclui esta deficiência, juntamente com a anemia, como um dos fatores que oferecem maiores riscos à saúde humana (Bloem, 1995).

Os principais grupos de risco da deficiência de vitamina A são as crianças com idade menor que cinco anos (WHO, 1996a; Stoltzfus e Underwood, 1995), gestantes e

lactantes (WHO, 1996a). Segundo o Sistema de Informações de Deficiência de Micronutrientes (*Micronutrient Deficiency Information System- MDIS*) da WHO, publicado em 1995, cerca de 251 milhões de crianças em todo mundo com idade de zero a cinco anos, apresentavam deficiências severas ou moderadas desta vitamina ainda em estágio subclínico (WHO,1996a), ou seja, quando a deficiência só pode ser detectada por meio de testes bioquímicos. Dentre essas, aproximadamente três milhões de crianças com idade de 0 a 5 anos adquirem xerofthalmia (WHO,1996a), doença caracterizada por debilidades visuais em decorrência da deficiência de vitamina A.

No caso de gestantes, as estatísticas apontam que cerca de 5% sofrem de cegueira noturna durante a gravidez (WHO, 2002).

Devido ao tamanho e diversidade da população brasileira, a dimensão deste problema é pouco conhecida no Brasil, pois são poucas as informações disponíveis na literatura sobre óbito e incapacitações causadas pela falta de vitamina A (Souza e Vilas Boas, 2002).

O nordeste é conhecido como uma região com alto índice de ocorrência de deficiência desta vitamina. Simmons (1976) mostra que mais de 1000 crianças em idade pré-escolar apresentavam xerofthalmia no ano de 1973. Os problemas de falta de vitamina A também são demonstrados em outras regiões brasileiras, como apontam trabalhos como o feito com 103 crianças de 6 a 24 meses de idade em Ribeirão Preto (São Paulo, Brasil), dentre as quais 21,4% apresentavam deficiência desta vitamina (Ferraz *et al.*, 2000) e em um outro trabalho realizado no Distrito Federal (DF - Brasil) com 155 crianças de uma comunidade rural de Planaltina, que demonstrou que 43,5% apresentaram hipovitaminose A (Graebner *et al.*, 2007).

As enfermidades mais evidentes causadas pela deficiência de vitamina A estão associadas à visão. A cegueira noturna, causada pela diminuição da rodopsina nos bastonetes da retina, é uma delas, bem como as doenças ligadas a queratinização da conjuntiva e da córnea, como a ceratomalácea (Tanumihardjo, 2004), que é um tipo de cegueira irreversível causada pela cicatrização da córnea em uma região que compromete a passagem da luz para a retina. Essa cicatrização ou queratinização é resultado da inibição da diferenciação das células epiteliais basais causada pela depleção de vitamina A (Vauclair *et al.*, 2007).

Até o final da década de 70 a deficiência de vitamina A era unicamente associada a sintomas ou sinais clínicos como a descamação da pele e as doenças associadas à visão, no entanto, Sommer *et al.* (1984) demonstrou em um trabalho realizado com 4600 crianças,

uma relação entre o aumento na incidência de doenças respiratórias e diarreia naqueles que apresentavam doenças oculares.

A hipovitaminose A em estágio subclínico pode trazer graves problemas à saúde, aumentando a morbidade e mortalidade (Sommer *et al.*, 1984), motivo pelo qual, alguns testes bioquímicos foram desenvolvidos para o diagnóstico desta deficiência ainda neste estágio.

### **2.2.1.1 Diagnóstico Laboratorial da Hipovitaminose A**

A hipovitaminose A pode ser diagnosticada por meio de testes bioquímicos plasmáticos, pelo teste Relativo de Dose Resposta (RDR) e pela dosagem no leite materno.

#### **2.2.1.1.1 Dosagem plasmática**

A dosagem plasmática de vitamina A, embora já tenha sido muito usada, possui algumas limitações, pois o fígado, principal órgão que atua como reservatório de vitamina A, mantém os níveis deste micronutriente constantes no plasma de forma que seus níveis no sangue só declinam quando as reservas hepáticas já estão muito baixas (Davila *et al.*, 1985) ou seja quando o organismo já está muito depletado de vitamina A. Este fato é bem conhecido na literatura principalmente em estudos realizados com modelos animais. Em um trabalho feito com ratos depletados, a concentração de vitamina A plasmática ficou constante, de 1,7 a 2,0  $\mu\text{mol/L}$ , enquanto a vitamina A total do fígado variou de aproximadamente 20 a 300  $\mu\text{g/g}$  de tecido, ou seja, uma variação de até 15 vezes (Ross *et al.*, 2004a).

#### **2.2.1.1.2 Teste de Dose Resposta**

Outro teste bioquímico utilizado é o RDR. Este teste baseia-se nos níveis de estoque hepáticos de vitamina A (WHO, 1996a). Doses de vitamina A diluídas em óleos são oferecidas ao paciente. Neste teste amostras do plasma são coletadas no tempo 0 e 5 horas após a administração da dose, e são realizadas as dosagens de vitamina A plasmática e em seguida é feito o cálculo da porcentagem de vitamina pela seguinte fórmula  $\text{RDR} = (A_5 - A_0 / A_0) * 100$ , onde  $A_0$  representa a concentração de vitamina A plasmática no tempo 0 e  $A_5$  representa a concentração de vitamina A 5 horas após a ingestão da vitamina A (WHO, 1996a).

A Proteína Ligante de Retinol (*Retinol Binding Protein- RBP*), proteína sintetizada principalmente pelo fígado, é responsável pelo transporte da vitamina A hepática para os outros tecidos (Blomhoff *et al.*, 1990). Estudos em ratos demonstraram que os níveis

hepáticos de mRNA de RBP e sua tradução permanecem constantes mesmo em animais deficientes em vitamina A (Soprano, 1982). Sugerindo, com isso, que as apo-RBPs sintetizada em pessoas deficientes ficam acumulada no fígado. Com a repleção de altas doses de vitamina A ocorre um aumento dos níveis de vitamina A plasmático, permanecendo alto durante algumas horas. Este aumento se deve provavelmente a ligação da vitamina A a apo-RBP acumulada no fígado, formando a holo-RBP, que são então liberadas na circulação sanguínea. Se a  $A_5$  for alta, ou seja, se  $RDR \geq 20\%$ , indicará que o fígado está depletado ou com concentrações abaixo de  $0,07\mu\text{mol/g}$  (WHO, 1996a).

O RDR tem sido considerado adequado para avaliar o estado nutricional de vitamina A, embora a necessidade de duas coletas de amostras sanguíneas possa ser um problema quando se trata de crianças, ou de lactantes, pois é necessária sua permanência no local de coleta durante aproximadamente 5 horas (WHO, 1996a).

#### **2.2.1.1.3 Dosagem de Vitamina A no Leite**

Para a verificação do estado nutricional em vitamina A de mulheres, o leite materno possui uma capacidade mais responsiva do que o plasma (Stoltzfus e Underwood, 1995), e por este motivo foi recomendado pela WHO (1996a) como um indicador para se determinar o estado nutricional de vitamina A em lactantes. Alguns autores sugerem ainda que a vitamina A presente no leite possa ser um indicador tanto para lactantes como para lactentes (Calil e Falcão, 2003; Stoltzfus e Underwood, 1995), pois todas as crianças ao nascerem, mesmo as nascidas de mães bem nutridas, possuem um estoque de vitamina A hepático baixo e não podem contar com suas reservas logo após o nascimento, já que esta vitamina possui uma limitada capacidade de atravessar a placenta (Allen, 2005; Ross *et. al.*, 2004a; Davila *et. al.* 1985; Takahashi *et al.*, 1975). O leite materno é capaz de transferir até 60 vezes mais vitamina A para os bebês do que a placenta (Stoltzfus e Underwood, 1995), por esse motivo o estado nutricional de vitamina A destas crianças estará muito ligado a quantidade de vitamina A obtida no leite materno.

Atenção deve ser dada ao processo de dosagens da concentração de vitamina A no leite materno, já que a variação da secreção de lipídeo no processo de esvaziamento da glândula mamária também promove a variação da concentração de vitamina A no leite (Stoltzfus e Underwood, 1995). Para que este fator não prejudique a verificação do estado nutricional de vitamina A da lactante, deve-se estabelecer um horário para a última mamada na mama onde será feita a coleta, além disso, ela deve ser completamente esvaziada. Outros cuidados devem ser tomados para se evitar a oxidação da vitamina A no

leite, como o de se proteger as amostras de leite da luz e de mantê-las congeladas a  $\leq -20$  °C após a coleta (Stoltzfus e Underwood, 1995). As análises da concentração de vitamina A no leite materno podem ser feitas pelo sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (*high performance liquid chromatography*- HPLC) (Tanumihardjo, e Penniston, 2002)

Conforme as necessidades de ingestão de vitamina A dos lactentes, estabeleceu-se que o leite materno com concentração abaixo de 1,05  $\mu\text{mol/L}$  é insuficiente para suprir suas necessidades (WHO,1996a).

### 2.2.2 Estrutura Bioquímica e o Papel Metabólico da Vitamina A

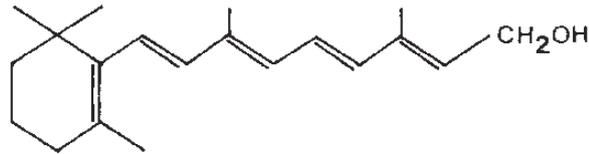
Embora o termo vitamina A possa ser utilizado para se referir a um composto químico específico, como o retinol ou seus ésteres, ele é mais empregado para designar a família dos retinóides, ou seja, para denominar compostos lipossolúveis que contenham um anel de  $\beta$ -ionona e uma cadeia de hidrocarboneto, com saturações alternadas, ligada a um grupo funcional que exibam as propriedades biológicas do retinol (Fig. 2) (Souza e Villas Boas, 2002). Assim o termo vitamina A inclui o éster de retinil, o retinol, o retinal e o ácido retinóico em suas diversas isoformas. A variação de um retinóide para outro está em suas diferentes formas de oxidação do grupo funcional.



**Figura 2.** Estrutura química da vitamina A. Adaptado de Musib (2000).

#### 2.2.2.1 Retinol

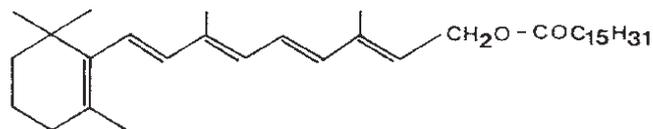
O retinol é a forma alcoólica da vitamina A, possuindo o grupo hidroxila (OH) ligado ao carbono 15 (Fig. 3). Ele é a principal forma de transporte da vitamina A pelo plasma, além de ser a molécula intermediária entre o éster de retinil e o retinal.



**Figura 3.** Estrutura do todo-trans-retinol. Adaptado de Senoo (2004).

#### 2.2.2.2 Éster de Retinil

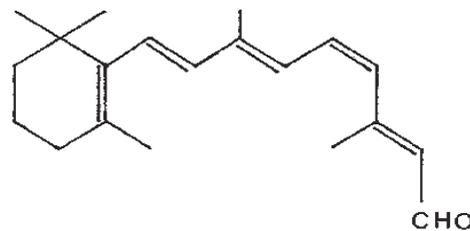
Os ésteres de retinil são as formas ésteres da vitamina A (Fig. 4) resultante da reação do retinol com ácidos graxos. Os ésteres de retinil são as principais formas da vitamina A presentes em alimentos de origem animal por serem o modo de armazenamento nos tecidos. Os ésteres de retinil são estocados juntamente com os lipídeos. Dentre suas várias isoformas, encontram-se principalmente o palmitato de retinil, o esteroato de retinil, o oleato de retinil e o linoleato de retinil (Piantedosi *et al.*, 2005).



**Figura 4.** Palmitato de retinil, o éster de retinil mais freqüente nos animais. Adaptado de Senoo (2004).

#### 2.2.2.3 Retinal

O retinal é fundamental no processo visual dos vertebrados, pois quando se liga a opsina forma a rodopsina, que é a proteína responsável pela captação luminosa e que está presente abundantemente nos bastonetes da retina. Cerca de 90% das proteínas totais destas células são rodopsinas. O retinal é a vitamina A cujo grupo funcional é um aldeído, ou seja, um  $-COH$  (Fig. 5).



**Figura 5.** Esquema do 11-cis-retinal existente na retina e ligado a rodopsina. Adaptado de Senoo (2004).

Na formação da imagem visual, o 11-*cis*-retinal da rodopsina, presente na retina em seu estado desativado, ao absorver a luz é convertido ao *todo-trans*-retinal. A rodopsina ativada provoca uma diferença de potencial nos neurônios que inervam o globo ocular, transmitindo o sinal visual ao cérebro (Nelson e Cox, 2000).

#### 2.2.2.4 *Ácido Retinóico*

O Ácido Retinóico é um potente hormônio que atua na expressão de centenas de genes (Mitro *et al.*, 2007; Ross, 2004b; Vogel *et al.*, 2002), como por exemplo nos responsáveis pela síntese de enzimas como a álcool desidrogenase e a transglutaminase, proteínas transportadoras de retinol, matriz extracelular (laminina), além de genes diretamente envolvidos na diferenciação celular e na inibição da proliferação celular (Vauclair *et al.*, 2007; Shils *et al.*, 1998).

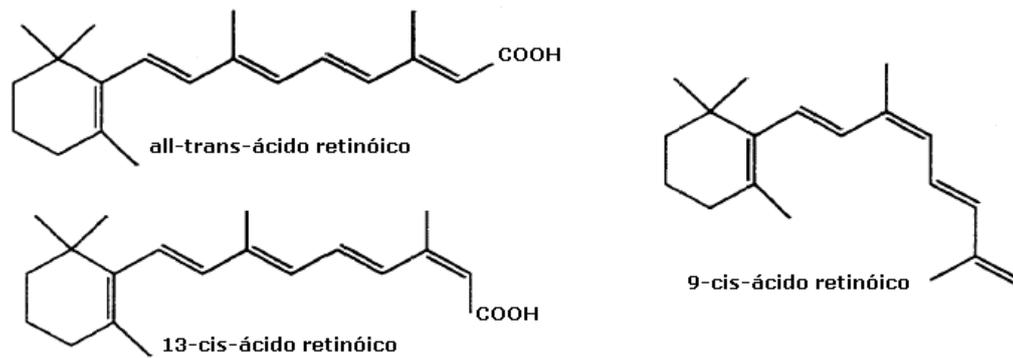
O ácido retinóico possui em sua estrutura o grupo COOH ligado ao carbono 15 e inclui várias isoformas como a *todo-trans*-ácido retinóico, o 13-*cis*-ácido retinóico e o 9-*cis*-ácido retinóico (Fig. 6). Estes retinóides são responsáveis por ativarem duas famílias de receptores hormonais nucleares, a família de receptores de *todo-trans*-ácido retinóico (RAR) e a família de receptores de ácido retinóico do tipo X (RXR). O *todo-trans*-ácido retinóico é capaz de se ligar com alta afinidade ao RAR $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , enquanto o 9-*cis*-ácido retinóico se liga com alta afinidade ao RXR $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . Quando ativadas pela vitamina A, estas proteínas se interagem formando dímeros como RAR/RXR ou RXR/RXR. Estes dímeros são capazes de se ligar a algumas regiões específicas do DNA chamadas de Elementos Responsivos de Ácido Retinóico (“RARE” ou “RXRE”) (Blomhoff *et al.*, 1990) localizadas na região 5' do gene, atuando desta forma em sua expressão (Ross, 2003).

### 2.2.3 Os Pró-vitamínicos A

A vitamina A presente no organismo humano precisa ser obtida através da dieta, pela ingestão da própria vitamina A dos alimentos de origem animal, ou pela ingestão de carotenóides pró-vitamínicos A presentes nos alimentos de origem vegetal que podem ser clivados a vitamina A.

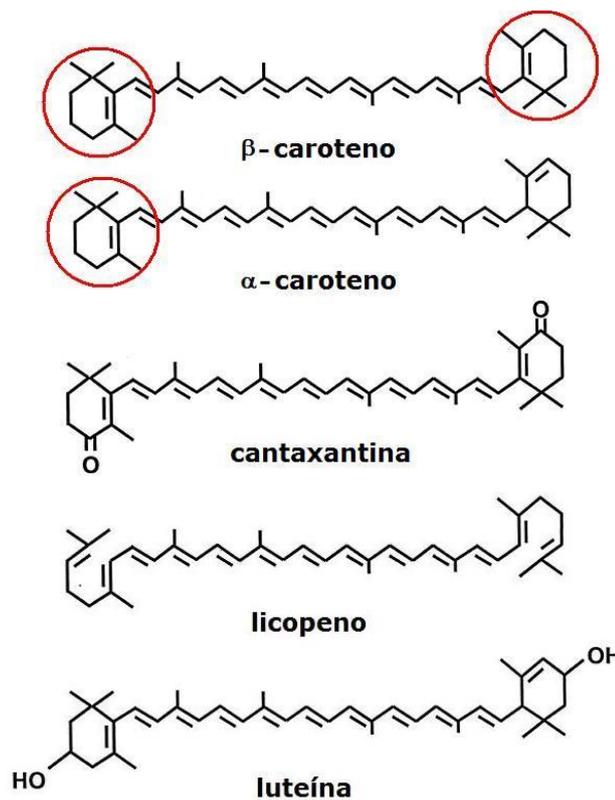
Dos mais de 600 carotenóides identificados na natureza (Stahl e Sies, 1996), apenas 50 possuem atividade pró-vitamina A (Olson, 1989).

A atividade pró-vitamina A de um carotenóide depende da presença do anel de  $\beta$ -ionona em sua estrutura. Carotenóides como o  $\beta$ -caroteno possuem dois anéis de  $\beta$ -ionona



**Figura 6.** Principais isoformas do ácido retinóico. Adaptado de Musib (2000).

e por isso, possuem a capacidade de gerar após sua clivagem dois retinóides. Já carotenóides como o  $\alpha$ -caroteno e a criptoxantina, possuem apenas um anel de  $\beta$ -ionona e podem gerar um retinóide (Fig. 7)



**Figura 7.** Anel de  $\beta$ -ionona (cículo vermelho) de alguns dos carotenóides presente na dieta. Adaptado de Palace *et al.* (1998).

Os carotenóides são responsáveis pela coloração de avermelhado á amarelado aos vegetais. Os carotenóides podem ser encontrados nos cromoplastos de diferentes tecidos vegetais e nos cloroplastos em vegetais de coloração verde escura, onde a coloração da

clorofila mascara sua presença. Os carotenóides são importantes pigmentos receptores de luz e podem transferir energia para a clorofila (Stahl e Sies, 1996).

No organismo animal os carotenóides pró-vitâmicos A adquiridos na dieta podem: ser armazenados em sua forma original, ser clivados em vitamina A ou ainda ser degradados pelos radicais livres, agindo como antioxidantes (Palace *et al.*, 1999; Stahl e Sies, 1996)

#### **2.2.4 O Consumo de Vitamina A e seus Precursores na Dieta**

O fígado, a gema de ovo, o óleo de peixe e o leite, dentre outros são alimentos fontes de vitamina A (Giugliani e Victora, 2000).

Os pró-vitâmicos A são obtidos de alimentos como tubérculos, hortaliças e frutas diversas, como a abóbora, a cenoura, o espinafre, a manga e o mamão (Giugliani e Victora, 2000).

Algumas das formas de utilização destes vegetais fontes de carotenóides é a ingestão *in natura*, a manufaturação de sucos, óleos e doces. Exemplos de utilizações destas fontes carotenogênicas no Brasil são: o óleo de dendê que contém cerca de 16400mg de Retinol Equivalente (*Retinol Ativity Equivalent- RAE*)/100g de produto (Campos e Rosado, 2005); e o doce de buriti que teve sua utilização sugerida como forma de se combater a deficiência de vitamina A em pré-escolares no Nordeste Brasileiro (Mariath *et al.*, 1989).

Algumas das formas de utilização destes vegetais fontes de carotenóides é a ingestão *in natura*, a manufaturação de sucos, óleos e doces. Exemplos de utilizações destas fontes carotenogênicas no Brasil são: o óleo de dendê que contém cerca de 16400mg de Retinol Equivalente (*Retinol Ativity Equivalent- RAE*)/100g de produto (Campos e Rosado, 2005); e o doce de buriti que teve sua utilização sugerida como forma de se combater a deficiência de vitamina A em pré-escolares no Nordeste Brasileiro (Mariath *et al.*, 1989).

Nas Américas, segundo a WHO (1995), cerca de 64% da vitamina A obtida na alimentação são originadas de carotenóides pró-vitâmicos A.

##### **2.2.4.1 Biodisponibilidade da vitamina A e pró-vitâmicos A nos alimentos**

Biodisponibilidade é definido como a fração de nutrientes ingeridos que são absorvidos pelo sistema digestório e assim se tornam disponíveis para serem utilizados em funções fisiológicas ou serem armazenados no organismo (Castanmiller *et al.* 1999).

Um fator muito importante no aumento da biodisponibilidade, tanto da vitamina A como dos carotenóides pró-vitamínicos A, é a presença de lipídeo na dieta (Jalal *et al.*, 1998). A absorção da vitamina A e dos carotenóides ocorre por difusão passiva, da mesma forma e conjuntamente à absorção do colesterol e de produtos da lipólise de triglicerídeos (Parker, 1996). Desta forma, quanto maior a concentração de gordura ingerida com a vitamina A, maior será sua capacidade de ser absorvida pelo intestino.

A vitamina A presente no leite materno, por exemplo, é altamente biodisponível por estar associada à gordura do leite. Assim, existe uma alta correlação entre o que a mãe secreta de vitamina A no leite materno e o que a criança absorve (Stoltzfus e Underwood, 1995).

No caso dos carotenóides a biodisponibilidade também é afetada pela matriz celular do alimento onde estes se encontram, por isso é importante o processo de mastigação e a ação de enzimas digestivas para promover a dissociação dos carotenóides das proteínas dos cromoplastos (Parker, 1996). Um estudo feito com cenouras, por exemplo, demonstrou que na ingestão de purê de cenoura há um aumento na absorção de  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno em cerca de duas vezes em relação à ingestão de cenoura apenas cozida (Campos e Rosado, 2005).

#### **2.2.4.2 A recomendação de ingestão da vitamina A**

A recomendação individual de vitamina A varia de acordo com a idade, gênero e o período reprodutivo do indivíduo. Por exemplo, lactantes com idade maior que 19 anos, segundo a Referência de Ingestão Dietética (*Dietary Referency Intakes- DRIs*) (NAS, 2001) necessitam de 900  $\mu$ g de RAE por dia.

Os fatores de conversão de carotenóides pró-vitamínicos A para vitamina A ainda não estão totalmente estabelecidos. Atualmente para o cálculo do valor de RAE de um alimento de origem vegetal, as DRIs (NAS, 2001) consideraram dois aspectos dos pró-vitamínicos A: a taxa de absorção desses carotenóides pelo intestino e a sua capacidade de gerarem retinol. Sendo assim, de acordo com esses novos fatores de conversão (DRI, 2001), 1 RAE equivale a ingestão de 1 mg de retinol ou a ingestão de 12 mg de  $\beta$ -caroteno ou ainda de 24 mg dos carotenóides pró-vitamínicos de uma forma geral (NAS, 2001).

### **2.2.5 Metabolismo da Vitamina A**

#### **2.2.5.1 Absorção**

Os carotenóides pró-vitamínicos A e a vitamina A são absorvidos pelas células da mucosa do intestino delgado (Blomhoff *et al.*, 1990) de forma passiva sendo determinado

pelo gradiente de concentração entre as micelas vindas da alimentação e a membrana plasmática (Parker, 1996).

#### **2.2.5.1.1 Absorção dos carotenóides pró-vitâmicos A**

Os carotenóides ingeridos geralmente são absorvidos em sua forma original, ou seja, não passam pelo processo de clivagem no trato digestório (Blomhoff *et al.*, 1990). Após a absorção passiva nos enterócitos, os carotenóides podem permanecer em sua forma original e serem transportados para o resto do organismo ou serem convertidos a ácido carotenóico ou ainda serem clivados à retinal por meio da enzima  $\beta$ -caroteno monoxigenase. Aproximadamente 43% do  $\beta$ -caroteno advindo da dieta são convertidos a retinal (Shils *et al.*, 1995).

#### **2.2.5.1.2 Absorção da Vitamina A**

Como dito anteriormente o éster de retinil é a principal forma da vitamina A presente nos alimentos de origem animal, por ser a forma de armazenamento da vitamina A nos tecidos. Essencialmente todo o éster de retinil presente na dieta é convertido em retinol ainda no lúmen intestinal (Blomhoff *et al.*, 1990).

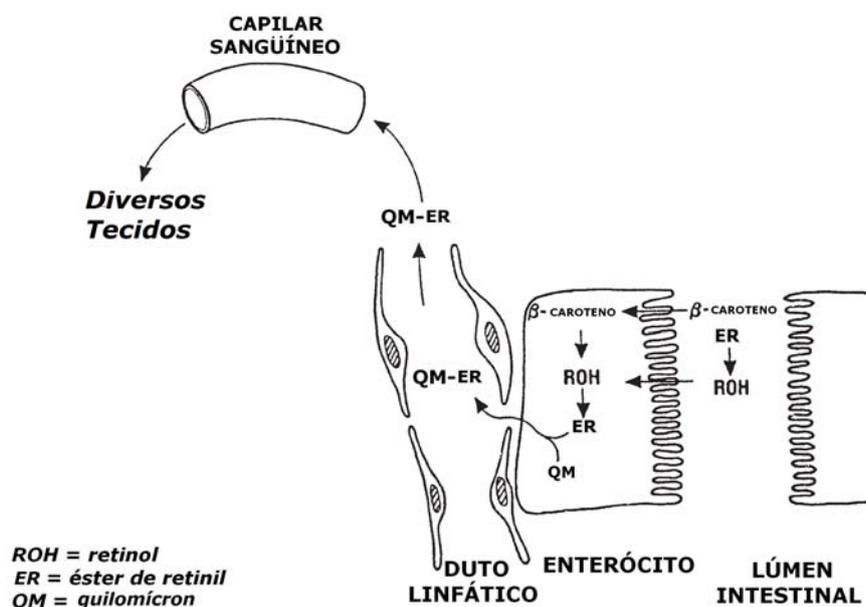
Ao ser absorvido pelo enterócito, o retinol pode permanecer livre ou ligar-se a proteína Celular Ligante de Retinol (*Cellular Retinol Binding Protein- CRBP*) do tipo II (Folli *et al.*, 2001), uma proteína monomérica, transmembrânica, de aproximadamente 15,5 KDa (Piantedosi *et al.*, 2005; Senoo, 2004), que está ligada ao processo de esterificação.

No enterócito, o retinol é convertido novamente a éster de retinil. Duas proteínas conhecidas são responsáveis pela esterificação do retinol: a Lecitina: Retinol Acil Transferase (Lecithin: *Retinol Acyltransferase-LRAT*), que esterifica o retinol ligado a CRBP II (Piantedosi *et al.*, 2005; Senoo, 2004); e a Acil Coenzima A: Retinol Acil Transferase (*Acyl CoA: Retinol Acyl Transferase- ARAT*), que esterifica tanto o retinol livre quanto ao retinol ligado a CRBP no citoplasma.

#### **2.2.5.2 Transporte dos Enterócitos para os Diversos Tecidos**

Nos enterócitos os ésteres de retinil recém esterificados, assim como os carotenóides, podem ser incorporados aos quilomícrons (Shils *et al.*, 1995; Parker, 1996). Os quilomícrons são agregados lipoprotéicos recobertos por fosfolípídeos, que são capazes de circular pela corrente sanguínea, sendo formados por triacilgliceróis, colesterol, apolipoproteínas, ésteres de colesterol e outras moléculas lipossolúveis oriundos da digestão e (Hultin e Olivecrona, 1998).

Os quilomícrons saem do enterócito para o meio extracelular e por meio do sistema linfático chegam à circulação sanguínea (Fig. 8).



**Figura 8.** Absorção do  $\beta$ -caroteno e do retinol pelos enterócitos. O  $\beta$ -caroteno absorvido pode ser clivado a retinol. O retinol é esterificado a éster de retinil, sendo incorporado aos quilomícrons e transportado por meio da corrente sanguínea para os diversos tecidos do organismo. Adaptado de Senoo (2004).

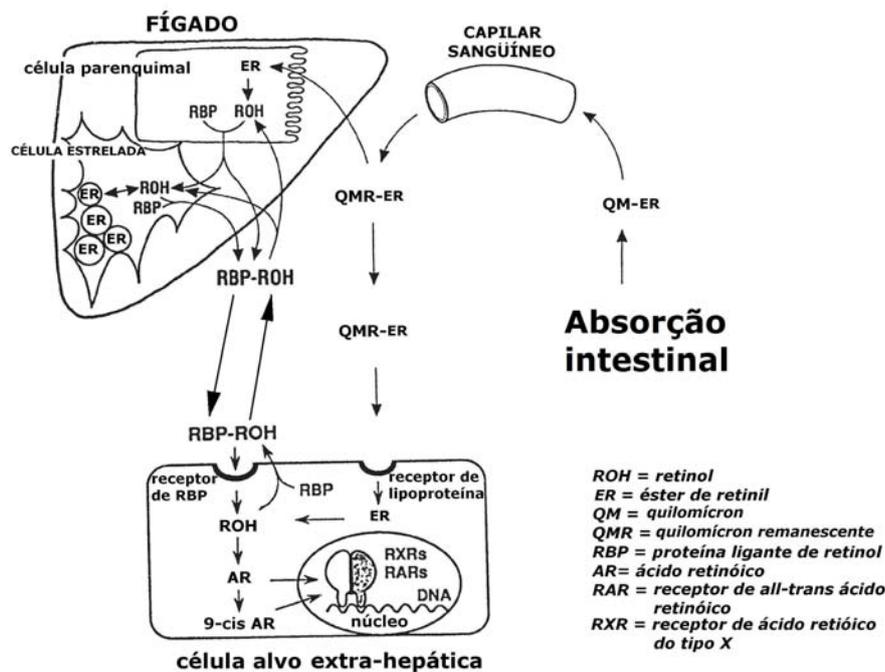
### 2.2.5.3 Armazenamento

Na corrente sanguínea, em locais como tecido adiposo (Blaner *et al.*, 1994), cardíacos, músculo esquelético e glândulas mamárias em lactação, os quilomícrons sofrem ação das Lipases Lipoproteicas (*Lipoprotein Lipase- LPL*), permitindo com isso a liberação de ácidos graxos, carotenóides e dos retinóides livres para estes tecidos (Nelson e Cox, 2000). Blaner *et al.*, (1994) demonstraram que a LPL é responsável por aumentar a absorção da vitamina A no tecido adiposo, e que além disso esta enzima, pode catalisar a hidrólise extracelular do éster de retinil a retinol que será transferido do plasma para a célula.

Os carotenóides resultantes dos quilomícrons são armazenados em todos os tecidos do corpo, mas estão presentes principalmente no fígado e, em sua grande maioria, no tecido adiposo, sendo responsável por sua coloração amarelada (Shils *et al.*, 1998).

Após sofrerem ação da lipase lipoproteica os quilomícrons resultantes são denominados quilomícrons remanescentes e são pobres em triacilglicerídeos, mas ainda contém colesterol, apolipoproteínas e alguns ésteres de retinil. Os quilomícrons

remanescentes ao chegarem ao fígado (Hultin e Olivecrona, 1998) liberam os ésteres de retinil restantes (Vogel *et al.*, 2002) os quais são incorporados às células parenquimais hepáticas (Fig.9). Nas células parenquimais os ésteres de retinil se ligam principalmente a CRBP-III onde, pela ação da LRAT, são oxidados a retinol (Senoo, 2004).

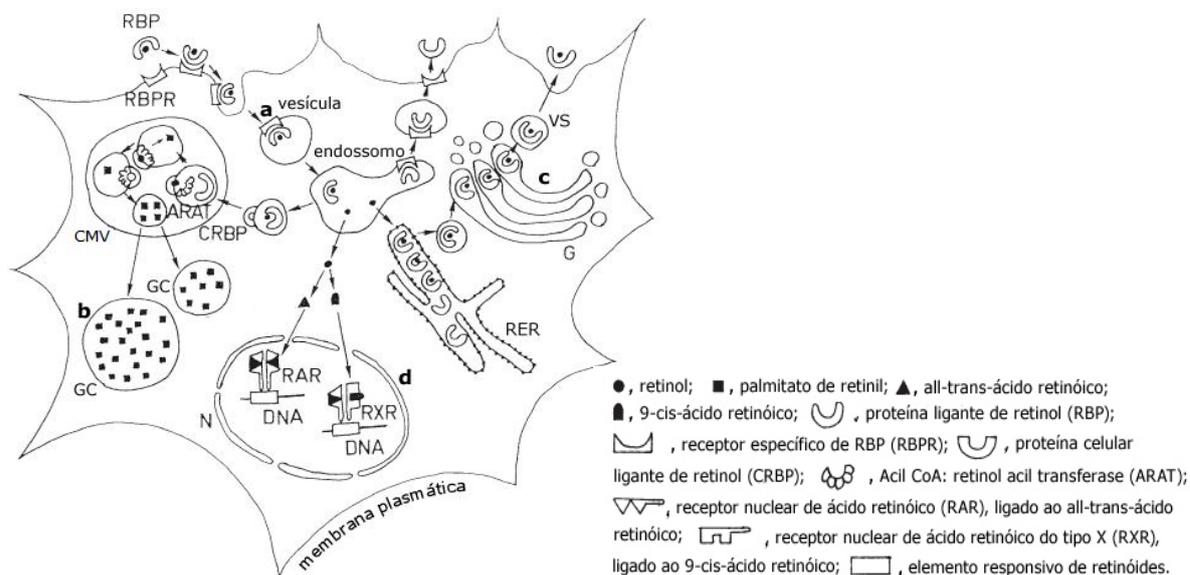


**Figura 9.** Ação nos tecidos extra-hepáticos e armazenamento no fígado da vitamina A adquirida na dieta. A vitamina A atua principalmente como um hormônio nuclear, na forma de ácido retinóico. No fígado a vitamina A é estocada no interior das células estreladas na forma de éster de retinil, até que seja transportada ao restante do organismo ligada a proteína ligante de retinol (RBP) como retinol. Adaptado de Senoo (2004).

As células parenquimais sintetizam a Proteína Ligante de Retinol (*Retinol Binding Protein*- RBP), uma proteína de 21,2 kDa responsável por transportar o retinol no plasma (Vogel *et al.*, 2002). A apo-RBP sintetizada pelos hepatócitos se ligam ao retinol recém convertido formando o complexo holo-RBP, que pode tanto transportar o retinol para outros tecidos como principalmente o transportar para as células estreladas hepáticas, onde a vitamina A será armazenado na forma de éster de retinil no interior de gotículas de gordura citoplasmática (Fig.10) (Senoo, 2004).

A incorporação do complexo holo-RBP pelas células estreladas ocorre da seguinte forma: ao chegarem à superfície das células estreladas os Receptores Específicos para RBP (*Retinol Binding Protein Receptor*- RBPR) se ligam a Retinol-RBP promovendo assim a incorporação deste complexo. Estudos sugerem que a RBPR interage com o sítio de entrada de retinol do RBP (Senoo, 2004), ajudando desta forma à transferência do retinol a

CRBP-III que se encontra na membrana do endossomo (Folli *et al.*, 2001; Sundaram *et al.*, 1998).



**Figura 10.** Incorporação e armazenamento do retinol ligado a Proteína Ligante de Retinol (RBP) pelas células estreladas. (a) Incorporação da RBP ligada a retinol pelas células estreladas. Nas células estreladas, a vitamina A pode seguir dois caminhos principais: o de serem (b) armazenadas no interior das gotículas de gordura citoplasmática na forma de éster de retinil até serem (c) exportadas para o plasma quando requeridas pelo organismo e o de (d) agirem na expressão de alguns genes no núcleo celular. Abreviações: CMV, corpúsculo multi-vesicular; GC, gotículas de gordura citoplasmática; N, núcleo celular; RER, retículo endoplasmático rugoso; G, complexo de Golgi; VS, vesícula secretora. Adaptados de Senoo (2004).

Nas células estreladas o retinol é novamente convertido a éster de retinil que são armazenados no interior de suas gotículas de gordura citoplasmáticas até serem transportados para outros tecidos. Cerca de 80% da vitamina A presentes no organismo são estocadas nas células estreladas na forma de palmitato de retinil (Senoo, 2004).

Tecidos extra-hepáticos, como a glândula mamária (Green *et al.*, 2001a) e os adipócitos (Blaner *et al.*, 1994; Tsutsumi *et al.*, 1992), podem armazenar a vitamina A advindos dos quilomícrons (Goodman *et al.*, 1965).

#### 2.2.5.4 Mobilização da Vitamina A

Antes de se ligar a RBP para ser transportado pelo sangue a diversos tecidos, o éster de retinil armazenado é oxidado a retinol por meio da Éster de Retinil Hidrolase. O retinol é transportado ao retículo endoplasmático rugoso onde se liga a RBP recém sintetizada, formando o complexo holo-RBP (Senoo, 2004).

Em estado de jejum mais de 95% da vitamina A presente na circulação está na forma de retinol ligado a RBP (Vogel *et al.*, 2002). A RBP tem um papel fundamental no controle da vitamina A no organismo, por ser responsável pela mobilização da vitamina A

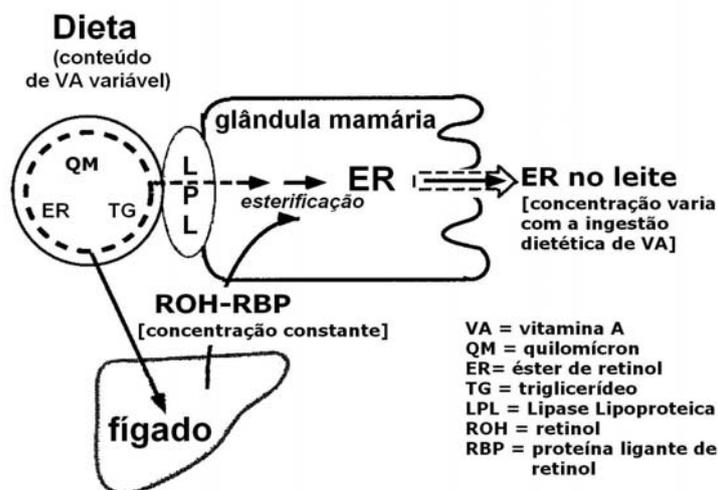
principalmente do fígado e dos outros tecidos em que se encontra armazenada (Tsutsumi *et al.*, 1992), quando requerido pelos resto do organismo.

A concentração de retinol-RBP plasmática permanece relativamente constante até que o fígado esteja muito depletado (Davila *et al.*, 1985). Em casos de estado nutricional de vitamina A normal, à medida que ocorre um declive desta vitamina A no plasma ocorre sua mobilização das células estreladas sendo que este estoque é novamente repostado pela vitamina A dietética.

#### 2.2.5.5 Incorporação da Vitamina A pela Glândula Mamária

Davila *et al.* (1985) em estudo com ratos demonstrou que a vitamina A estava presente no leite mesmo dos animais que receberam uma quantidade de vitamina A muito baixa na dieta, indicando a existência de um balanço na secreção deste nutriente no leite. Este balanço deve ocorrer devido a presença da holo-RBP advinda dos tecidos de reserva. O estudo de Davila *et al.* (1985) demonstra também um aumento na concentração de vitamina A no leite de ratas suplementadas. Segundo Ross *et al.* (2004a) esse aumento na secreção de vitamina A em animais suplementados é feito pelos quilomícrons que ao chegarem na glândula mamária sofrem a ação da LPL (Blaner *et al.*, 1994) cuja atividade é estimulada pela sucção (Ross *et al.*, 2004a).

Desta forma, a literatura indica que a vitamina A secretada no leite materno pode chegar à glândula mamária tanto ligada a RBP advinda dos tecidos de reservas desta vitamina, como por meio dos quilomícrons pós-prandiais (Fig. 11).



**Figura 11.** Incorporação, pela célula alveolar da glândula mamária, da vitamina A advinda dos quilomícrons pós-prandiais e dos estoques hepáticos. Os quilomícrons que transportam a vitamina A na forma de éster de retinil vinda da dieta, sofre a ação da Lipase Lipoproteica, proporcionando a incorporação desta vitamina pelas células alveolares. O fígado é o principal órgão responsável por manter os níveis de vitamina A constantes no plasma. As células da glândula mamária absorvem e esterificam a vitamina A que será secretada no leite. Adaptado de Ross *et al.*, (2004a).

## 2.3 Interação entre minerais e a vitamina A

### 2.3.1 O Zinco

A deficiência de zinco (Zn) está relacionada à inibição do crescimento, síndrome da má-absorção, doenças crônicas do fígado, doenças crônicas renais, diabetes, problemas reprodutivos e supressão do sistema imune (Shen *et al.*, 2008; Prasad, 2003; MacDonald, 2000).

O Zn é responsável por estabilizar a estrutura do DNA, RNA e ribossomos, pela síntese de DNA e expressão de genes, por estabilizar a estrutura tridimensional de inúmeras proteínas, além de atuarem como cofator de inúmeras enzimas (MacDonald, 2000). Mais de 2000 fatores de transcrição dependem do Zn e mais de 300 proteínas com atividade catalítica conhecidas o requerem como um componente funcional (Prasad, 2003).

Basicamente três famílias de proteínas conhecidas são as principais responsáveis pelo balanço de Zn da célula e do organismo: a família de Transportadores Intestinais de Zinco em Humanos (Human Intestinal Zinc Transporters – hZIP); as metalotioneínas; e a família de Facilitadores de Difusão de Cátions (CDF).

A absorção do Zn no intestino para o interior do enterócito ocorre por meio da hZIP e por meio da proteína Transportadora de Metais Divalentes 1 (*Divalent Metal Transporter 1*- DMT1), proteína que parece absorver o Zn e o Fe de forma antagônica (Kordas e Stoltzfus, 2004).

A metalotionina é uma família de proteínas intracelulares com baixo peso molecular que se ligam ao Zn, cuja função é promover a homeostase do Zn, além de proteger a célula contra danos eventuais que poderiam ser causado pelo excesso desse mineral (Shen *et al.*, 2008).

A proteína responsável pelo efluxo de Zn da célula são as pertencentes à família CDF, como a Transportadora de Zinco (*Zinc Transporter*- ZnT), que tanto bombeia o Zn do citoplasma para fora da célula como para o lúmen de organelas (Shen *et al.*, 2008).

Na glândula mamária a incorporação do Zn ocorre provavelmente por meio da ZIP1 ou ZIP4, que são membros da família hZIP. E sua secreção para o leite aparece regulada pela ZnT como a ZnT-2 e a ZnT-4 (Domellöf *et al.*, 2004).

#### 2.3.1.1 Interação entre o zinco e a vitamina A

A influência do Zn na mediação da síntese de proteínas transportadoras de vitamina A é o mecanismo mais citado na literatura para se explicar a interação entre esse dois nutrientes. A deficiência de Zn promove a depressão na síntese de RBP pelo fígado,

fazendo com que ocorra uma diminuição da quantidade de retinol ligado a RBP presente no plasma e um aumento no acúmulo de vitamina A no fígado (Kelleher e Lönnnerdal, 2001; Christian e West Jr, 1998).

O Zn também participa da constituição de outras proteínas responsáveis pelo metabolismo de vitamina A, como a enzima desidrogenase, importante na formação da imagem visual na retina do olho por oxidar retinol a retinal, (Christian e West Jr, 1998).

### **2.3.2 O Ferro**

O ferro (Fe) é um elemento essencial para os seres vivos, por fazer parte da estrutura de algumas proteínas e atuar em vários processos, como crescimento e diferenciação das células, transferências de elétrons na cadeia respiratória, ciclo celular, síntese de DNA e transporte de oxigênio (Orine e Watanabe, 2007; Harrison e Arosio, 1996).

Apesar de ser um mineral abundante na crosta terrestre, a deficiência de Fe é a desordem nutricional mais comum e afeta mais de dois milhões de pessoas em todo o mundo segundo dados da WHO em 2001. A anemia ferropriva é uma das principais doenças comumente associadas à deficiência de Fe no organismo, na qual ocorre uma diminuição dos níveis de hemoglobina no plasma.

#### ***2.3.2.1 Metabolismo do Fe***

O metabolismo de Fe é mediado por uma série de proteínas responsáveis por sua absorção, transporte e armazenamento (Kelleher e Lönnnerdal, 2005). A absorção deste metal acontece principalmente no duodeno e no jejuno (Bloem, 1995).

O Fe presente na dieta encontra-se predominantemente na forma Férrica, Fe(III), que é reduzido antes de ser absorvido para sua forma ferrosa, Fe(II), pela ação do citocromo b duodenal (Frazer e Anderson, 2003).

A DMT1 facilita a absorção do Fe para o interior do enterócito. O Fe absorvido é então exportado pela membrana basolateral do enterócito para o plasma mediado pela Ferroportina (Kelleher e Lönnnerdal, 2005; Frazer e Anderson, 2003).

O Fe, associado à Transferrina, é transportado através da circulação para os demais tecidos do organismo, como fígado e glândula mamária. O Fe é armazenado principalmente no fígado (Kelleher e Lönnnerdal, 2005; Frazer e Anderson, 2003; Bloem, 1995).

Tanto no fígado, como nas glândulas mamárias, a absorção do Fe pela célula é facilitada pela presença de uma proteína transmembrânica denominada Receptora de Transferrina. O complexo Transferrina-Receptor de Transferrina, é internalizado por meio de clatrininas formando os endossomos (Ponka, 2000).

Os endossomos possuem o pH ácido, devido a presença de bombas de prótons dependentes de ATP em sua membrana. O pH baixo no interior dos endossomos propicia a liberação do Fe do complexo Transferrina-Receptor de Transferrina, que é liberado e bombeado para o citoplasma por meio da proteína DMT1 (Kelleher e Lönnerdal, 2005).

No citoplasma o Fe pode ser estocado na Ferritina, proteína com uma cavidade de 80 Å, capaz de armazenar Fe no interior da célula (Harrison e Arosio, 1996). O Fe que não ficar estocado poderá participar da constituição de algumas proteínas sintetizadas no retículo endoplasmático ou pode ser exportado para fora da célula por meio da membrana basolateral.

A Ferroportina é a principal proteína conhecida que participa do processo de secreção do Fe pela membrana basolateral e parece estar relacionado também ao processo de transporte do Fe para o interior das vesículas antes de serem exportadas. Essas proteínas são reguladas pelo estado nutricional de Fe no organismo, por meio da Hepicidina, que é expressa principalmente pelo fígado (Kelleher e Lönnerdal, 2005).

Na glândula mamária a DMT1, devido a sua localização, parece exercer papel similar ao que ocorre no fígado, no processo de exportação do Fe do endossomo para o citoplasma (Kelleher e Lönnerdal, 2005).

A Ferroportina na glândula mamária está localizada na membrana intracelular e na membrana plasmática. Isso sugere que a Ferroportina contribui tanto para secreção direta, como indireta do Fe pela glândula mamária (Kelleher e Lönnerdal, 2005).

O Fe no leite se encontra ligado a Lactoferrina, proteína que está associada tanto a caseína, como a fração de gordura do leite, que são secretadas por meio das vesículas do Retículo Endoplasmático e do Complexo de Golgi (Kelleher e Lönnerdal, 2005).-

### **2.3.2.2 O Ferro e a vitamina A**

Estudos tem demonstrado que a deficiência de vitamina A pode estar associada à anemia (Ettyang *et al.*, 2003; Bloem, 1995). Hodges e colaboradores (1978), ao analisarem alguns estudos feitos em pessoas cuja ingestão de vitamina A era baixa e a ingestão de Fe era adequada, encontraram uma correlação positiva entre os níveis de hemoglobina e os níveis de vitamina A no sangue, enquanto não foi observado relação entre os níveis de

hemoglobina e a ingestão de Fe. Além disso, a suplementação de vitamina A demonstraram aumentar os níveis de hemoglobina e ferritina no plasma (Zimmermann *et al.*, 2006; Semba *et al.*, 1992). A suplementação simultânea de vitamina A e de Fe apresentaram uma melhor resposta no aumento da taxa de hemoglobina do que a suplementação separada destes dois nutrientes (Mwanri *et al.*, 2000).

A diminuição das concentrações de Fe e de hemoglobina no sangue causados pela deficiência em vitamina A parece estar ligada ao acúmulo deste mineral em alguns tecidos, como no baço e fígado, no entanto esses mecanismos de acúmulo ainda estão sendo investigados (Arruda *et al.*, 2008).

A interação entre a vitamina A e o Fe parece ocorrer também na glândula mamária de ratos, pois animais depletados em vitamina A tiveram uma redução nas concentrações de Fe no leite. Análises moleculares observaram que esta redução ocorreu devido à diminuição da expressão de proteínas ligadas ao metabolismo de Fe (Kelleher e Lönnnerdal, 2005).

Além do efeito que a vitamina A exerce sobre o processo de absorção, armazenamento, transporte e utilização do Fe no organismo, este parece também atuar sobre o estado nutricional de vitamina A (Ameny *et al.*, 2002). A redução da ingestão de Fe resultou em uma redução nas concentrações de vitamina A plasmática (Rosales *et al.*, 1999), enquanto que a suplementação com altas doses de Fe, em caso de gestantes, demonstrou exercer um efeito similar sobre o estado nutricional de vitamina A quando comparado a mulheres que foram suplementadas apenas com vitamina A (Shatrugna *et al.*, 1997). A suplementação em conjunto de Fe e vitamina A, também demonstra um aumento significativo das concentrações de vitamina A plasmático, quando comparado a suplementação isolada da vitamina A (Ameny *et al.*, 2002). Segundo Ameny *et al.*, (2002) o efeito que o Fe exerce sobre os níveis de vitamina A plasmático, se deve ao aumento de mobilização de vitamina A e RBP no fígado, provocado pela elevação das concentrações de Fe neste órgão. Existe, porém, a necessidade de mais estudos para se melhor entender esta interação (Ameny *et al.*, 2002).

## **3 Objetivos**

### **3.1 Objetivo geral**

Este trabalho teve como objetivo investigar a composição de vitamina A no leite de lactantes e sua possível relação com o estado nutricional de mães atendidas em hospitais da rede pública no Distrito Federal (DF – Brasil).

### **3.2 Objetivos específicos**

Determinar a concentração de vitamina A no leite de lactantes;

Avaliar a influência da dieta habitual de vitamina A em relação à presença deste nutriente no leite;

Estudar a influência da composição corporal materna sobre a presença da vitamina A no leite materno e conseqüentemente sobre o estado nutricional deste nutriente em lactantes;

Avaliar a influência dos teores de gordura, proteínas, Zn e Fe no leite sobre os teores de vitamina A no leite.

## **4 Material e métodos**

Este trabalho faz parte do projeto “*Estudo da Relação entre os níveis de Vitamina A e os fatores de proteção do leite materno: componente secretor livre (fSC) e imunoglobulina A secretória (sIgA)*”, coordenado pela professora Dra. Loreny Gimenes Giugliano, financiado pelo CNPq e aprovado pelo comitê de ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (UnB) (CEP-FM 003/2005) e contou com a participação de equipes de vários laboratórios, como: Laboratório de Biofísica da UnB, Laboratório de Microbiologia da UnB, Laboratório de Bioquímica Nutricional da UnB, Laboratório de Avaliação Nutricional da Universidade Católica de Brasília (UCB) e Laboratório de Espectrometria Atômica do Hospital da UCB (HUCB).

### **4.1 Sujeitos**

O trabalho foi desenvolvido com lactantes que deram a luz no Hospital Regional de Taguatinga (HRT) e no Hospital Universitário de Brasília (HUB) no período entre maio de 2004 e novembro de 2005. Tais hospitais atendem pessoas de baixa renda. As puérperas foram visitadas no hospital, após o nascimento das crianças, por uma equipe de nutricionistas. As mães que atendiam aos critérios de inclusão, como: idade entre 19 e 41 anos, parto a termo, a não ocorrência de patologia durante a gestação e puerpério, a não realização de cirurgia plástica mamária, e a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, foram agendadas e convidadas a retornarem ao hospital no período entre a terceira e quarta semanas após o parto.

Das 800 lactantes entrevistadas, apenas 130 retornaram para fazerem a coleta das amostras de leite, mensuração antropométrica, análise da composição corporal e participação nos inquéritos dietéticos. Destas, em apenas 92 todas as análises foram realizadas com sucesso.

### **4.2 Coleta do Leite**

As mães foram orientadas a não oferecer uma das mamas ao bebê por pelo menos duas horas antes da coleta do leite. A ordenha foi feita manualmente até o esvaziamento completo da mama. As amostras foram levadas ao laboratório de Microbiologia da UnB, onde foram divididas em alíquotas de aproximadamente 3 mL, em frascos de vidros para as várias análises bioquímicas.

As alíquotas do leite utilizadas para as dosagens de proteínas totais, lipídeos, Zn e Fe, ficaram armazenadas em freezer a - 20° C até a data da análise. As alíquotas que foram utilizadas para análise de vitamina A foram estocadas em frascos cor âmbar e mantidas em freezer - 70°C.

Os frascos usados para a estocagem do leite utilizado na análise de minerais foram previamente lavados com solução de Ácido Clorídrico 10% para evitar contaminação das amostras.

### 4.3 Inquéritos Dietéticos

Os dados da dieta foram obtidos por meio de inquérito de recordatório alimentar de 24 horas, em duas diferentes ocasiões. O primeiro recordatório foi feito no dia da coleta do leite e o segundo foi feito por telefone, uma semana após a realização do primeiro.

Para a determinação da ingestão de vitamina A, os dados de cada um dos inquéritos dietéticos foram analisados utilizando-se o programa Nutrisurvey.

Os dados da ingestão de vitamina A foram ajustado segundo Slater *et al.* (2004), NAS (2000) e Hoffmann *et al.*, (2002) para a diminuição das variações intrapessoais e interpessoais e obtenção da ingestão habitual deste nutriente de cada lactante. Para o cálculo da porcentagem de inadequação da ingestão habitual de vitamina A da amostra estudada foi calculado o valor  $z$  pela seguinte equação:  $z = (EAR - x) / dp$ , onde  $x$  representa a média da amostra estudada e  $dp$ , o desvio padrão da amostra estudada. A EAR representa a Média de Requerimento Estimada para Grupos (*Estimated Average Requirements for Groups – EAR*) das DRIs, que é de 900 µg/dia para lactantes com idade entre 19 e 50 anos (NAS, 2002; NAS, 2000). Após encontrado o valor  $z$ , foi consultada a tabela do teste  $z$  para obtenção da porcentagem de inadequação da amostra estudada.

O preenchimento dos inquéritos dietéticos e a análise de dados para obtenção dos dados de consumo de vitamina A foram realizados por nutricionistas do Laboratório de Bioquímica Nutricional da UnB. O ajuste dos dados e o cálculo da porcentagem de inadequação da ingestão de vitamina A da amostra estudada foram realizados em conjunto com professores do Laboratório de Bioquímica Nutricional e do Departamento de Estatística da UnB.

## 4.4 Dados Antropométricos

Os dados antropométricos foram obtidos pela equipe do Laboratório de Avaliação Nutricional da UCB, que mensurou a altura e o peso das lactantes com os pés descalços e trajando roupas leves.

Foi utilizada uma trena metálica fixa com precisão de 0,1 cm marca Sanny (Kirchnner & Wilhelm, Medizintechnik, Germany) para a medição das estaturas, em posição ereta e pés juntos. Os calcanhares, nádegas, costas e parte posterior da cabeça foram posicionados em contato com a escala, os pulmões em inspiração máxima e a cabeça orientada no plano aurículo-orbitário (plano de Frankfurt). As medidas foram obtidas em centímetros.

O peso corporal foi obtido em uma balança digital marca Filizola (Industrias Filizola S/A Brasil) com capacidade de 0-150 kg/100g, regularmente avaliada quanto à sua precisão.

Com base na altura e no peso corporal, foram calculados os Índices de Massa Corporal (IMC), através da fórmula:  $IMC = \text{peso} / \text{estatura}^2$  (kg/m<sup>2</sup>).

As dobras cutâneas tricipital, subescapular e da coxa, foram medidas em triplicata utilizando-se um adipômetro marca Lange (Beta Technology Incorporated- Maryland USA), segundo padrões internacionais (Cuppari, 2006). A soma das médias das três dobras foi utilizada como indicador indireto de gordura periférica localizada no tecido adiposo subcutâneo (Heyward e Stolarczyk, 2000).

O perímetro da cintura foi medido com uma fita métrica no ponto médio entre o bordo costal e a crista ilíaca. Sua medida foi utilizada como indicador indireto da gordura central ou visceral (Sampaio e Figueiredo, 2005).

## 4.5 Dosagem de Vitamina A do Leite

As dosagens de vitamina A no leite foram realizadas no laboratório de Biofísica da UnB.

Todo processo de análise foi realizado a meia luz. Alíquotas de 500 µL de leite descongelado e homogeneizado foram colocadas em tubo Corex 25 mL. As amostras foram suspensas em 750 µL de butilato hidroxitolueno (BHT) / Etanol (PA) 0,1% e homogeneizadas por 15 segundos, em seguida foi acrescentado 1 mL de solução 50:50 de KOH-H<sub>2</sub>O e homogeneizado por mais 15 segundos. A solução foi saponificada em banho-maria a 50 °C, durante 60 minutos, sendo que a cada 15 minutos as amostras eram agitadas

por 15 segundos em Vortex. Após a saponificação, o retinol foi extraído três vezes com hexano pureza HPLC (Tanumihardjo e Penniston, 2002).

O processo de extração consistiu na adição de 4,5 mL de hexano, homogeneização por 30 segundos e centrifugação por 3 minutos, para a separação completa das fases. A fase menos densa, que continha hexano, foi colocada em um tubo limpo e então transferida quantitativamente para um microtubo, onde o hexano foi evaporado com nitrogênio gasoso (Tanumihardjo e Penniston, 2002). O extrato foi guardado com nitrogênio gasoso em freezer – 70 °C e com microtubos protegido da luz, para evitar oxidação, até análise.

As dosagens foram feitas utilizando-se o sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (*high performance liquid chromatography*- HPLC) da marca Shimadzu (Sinc do Brasil Instrumentação Científica Ltda), coluna CLC-ODS (M), com detecção em 325 nm para o retinol e fluxo de 1 mL/min de metanol/ água (95:5) como fase móvel. Para a obtenção da área do pico de retinol de cada amostra de leite, o extrato foi diluído em 100 µL de etanol pureza HPLC e após filtração, 20 µL foi injetado na coluna pelo injetor manual. As análises foram feitas em duplicata, calculando-se a média dos dois resultados e o desvio padrão. Quando o desvio padrão foi superior a 20% realizou-se uma terceira análise da amostra, descartando-se o resultado que mais se afastava da média.

Para cálculo da análise no HPLC construí-se uma curva padrão a partir de todo-trans-retinol sintético (95%-HPLC) diluído em etanol. A concentração desta solução foi calculada a partir da absorbância obtida a 325 nm em espectrofotômetro (Pharmacia Biotech, Brasil). A solução foi então diluída 0, 2, 5, 4 e 10 vezes ficando nas concentrações de 0, 4,2 µg/mL, 10,4 µg/mL, 16,9 µg/mL e 42,3 µg/mL, respectivamente. Estas soluções foram aplicada no HPLC pelo injetor manual (20 µL) e eluídas com fluxo de 1 mL/min de metanol/água (95:5). Tendo como base a concentração de retinol e a área do pico fornecida pelo HPLC para cada diluição, obteve-se a seguinte equação:  $y = 9 \cdot 10^{-6} \cdot x$  ( $b = - 0,0084$ ;  $R^2 = 0,9994$ ), que foi utilizada para os cálculo das concentrações de retinol dos extratos dos leites (Fig.12).

Foi utilizada solução de todo-trans-retinol sintético como padrão interno para teste de recuperação, cujo resultado foi de 85%.

As dosagens foram realizadas em duplicata, tomando-se a média das duas dosagens como concentração da vitamina A no leite da lactante. Para a classificação de lactantes como sendo deficientes, foi utilizado o ponto de corte sugerido pela WHO (1996a) que considera leite com concentrações inferiores a 1,05 µmol/L como sendo deficientes.

## 4.6 Dosagem de Gordura no Leite

As dosagens de gordura no leite foi feita por meio de crematócrito (Lucas *et al.*, 1978), realizado no Laboratório de Microbiologia da UnB.

Para a verificação da adequação da quantidade de gordura do leite das lactantes, foi utilizado o valor de 40 g/L, que é uma média de resultados obtidos de vários estudos em populações eutróficas em diferentes países em que foram dosados os teores de gordura em leites maternos. Esta média foi utilizada pela DRIs como base para o cálculo da Ingestão Adequada (*Adequate Intake- AI*) de crianças com idade de 0 a 6 meses (NAS, 2005).

## 4.7 Dosagem de Proteínas do Leite

A determinação da concentração de proteína foi obtida segundo o método *Bradford* (Lönnerdal *et al.*, 1987; Bradford, 1976) pela equipe do Laboratório de Microbiologia da UnB.

O ponto de corte utilizado para o cálculo da porcentagem de adequação de proteínas totais no leite materno foi de 11,7 g/L, que foi também utilizado pela DRIs para o cálculo da AI para crianças com idade entre 0 e 6 meses (NAS, 2005).

## 4.8 Dosagem de Minerais no Leite

Toda a vidraria utilizada para a análise de minerais foi lavada com HNO<sub>3</sub> (5%), deixadas de molho, por no mínimo 2 horas, e enxaguadas três vezes com água milliQ. As alíquotas de leite foram homogeneizadas em um agitador (Vortex). 0,5 mL de amostra do leite foi colocada em um tubo limpo e 4,2 mL de água milliQ a 37 °C foram acrescentados, a solução foi então homogeneizada. Em seguida foi acrescentada 50 µL de solução 10% de Triton X-100 (McKinstry *et al.*, 1999), sendo novamente homogeneizadas. As amostras foram mantidas refrigeradas até sua análise no dia seguinte em espectrômetro de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (*inductive coupled plasma optical emission spectroscopy- ICP-OES/ Configuração radial/ Marca Varian/ modelo Liberty II*), seguindo as seguintes condições: potência = 1,0 kW, fluxo do plasma = 15,0 L/min, fluxo do gás auxiliar = 1,5 L/min, pressão de nebulização = 250 kPa, tensão do tubo foto-multiplicador = 750 V e gás argônio ultra-puro (99,9%). Momentos antes das dosagens, as amostras eram aquecidas em banho-maria a 37 °C e homogeneizadas. As médias dos limites de quantificação (LQ) e limites de detecção (LD) dos diferentes dias de análise foram de 0,88 e 0,26 para o Fe, enquanto que para o Zn foram de 5,48 e 1,64, respectivamente. O LQ e o

LD foram calculados segundo proposto pela resolução RE nº899, de 29 de maio de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

As dosagens foram feitas em triplicata, tomando-se a média dos três resultados como o teor do mineral do leite.

A preparação das amostras foi realizada no Laboratório de Biofísica da UnB enquanto que as dosagens foram realizadas no laboratório de espectrometria atômica do Hospital da Universidade Católica de Brasília (HUCB). As análises foram feitas em triplicatas, calculando-se a média dos três resultados.

Os pontos de corte utilizados para a verificação da porcentagem de adequação das concentrações de Zn e Fe no leite foram de 2,5 mg/L e 0,35 mg/L, respectivamente. Estes valores foram médias de resultados obtidos de vários estudos de populações eutróficas, que foram utilizadas para o cálculo da AI para crianças com idade entre 0 e 6 meses de vida (NAS, 2002).

## **4.9 Análise Estatística**

Após a análise descritiva dos dados foi realizado o teste Mann-Whitney, tomando-se a concentração de retinol no leite como a variável dependente. A correlação bivariada de Pearson foi calculada entre a ingestão habitual de vitamina A e os teores de vitamina A no leite.

No caso do Fe, também foi realizado o teste Mann-Whitney em relação a vitamina A, tomando-se este mineral como variável dependente. As análises estatísticas descritivas e bivariadas foram feitas usando-se o programa SPSS para Windows, versão 12.0.

A análise de regressão linear múltipla foi feita utilizando-se o seguinte modelo: vitamina A no leite como variável dependente e, a ingestão habitual de vitamina A, o IMC, a gordura periférica, a gordura central das lactantes, as proteínas totais, o Zn e o Fe do leite como variáveis independente. A análise de regressão múltipla foi feita com o programa SAS versão 9.1.

O nível de significância ( $\alpha$ ) considerado foi de 0,05.

A análise de regressão linear múltipla foi realizada em conjunto com o professor Eduardo Freitas do Departamento de Estatística da UnB.

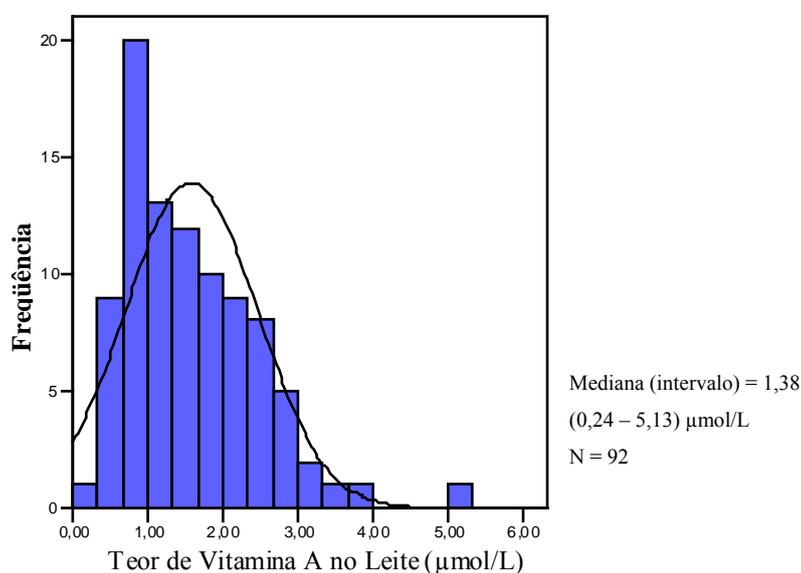
## 5 Resultados

### 5.1 Teores de Vitamina A no Leite

A medida central das concentrações de vitamina A no leite das lactantes estudadas foi de 1,38  $\mu\text{mol/L}$ , sendo encontradas grandes variações entre as amostras de leite (0,24 a 5,13  $\mu\text{mol/L}$ ) (Tab.1). A distribuição da concentração da vitamina A na amostra foi uma distribuição normal ( $p < 0,05$ ) (Fig. 12).

**Tabela 1.** Valor central, mínimo e máximo das concentrações de vitamina A no leite de 92 lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005.

	Vitamina A no Leite ( $\mu\text{mol/L}$ )
Mediana	1,38
Valor Mínimo	0,24
Valor Maximo	5,13



**Figura 12.** Distribuição das concentrações de vitamina A no leite de 92 lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005 (Teste de normalidade  $p < 0,05$ ).

Das 92 lactantes estudadas, 37% apresentaram deficiência de vitamina A no leite segundo ponto de corte de 1,05  $\mu\text{mol/L}$ , sugerido pela WHO (1996a). Isso significa que 34

dessas mães possuem estado nutricional deficiente em vitamina A, secretando vitamina A em quantidade insuficiente para proverem as necessidades nutricionais de bebês com amamentação exclusiva.

Vários fatores maternos poderiam influenciar a concentração de vitamina A no leite. A análise de regressão linear múltipla mostrou que fatores como a ingestão habitual de vitamina A pelas lactantes, o IMC, a gordura periférica, a gordura central e compostos do leite como a gordura, a proteína total, o Zn e o Fe ao serem considerados juntos, possuem um poder de predição de 64% sobre a vitamina A presente no leite materno. Desta forma, estes fatores juntos exercem uma influência relativamente alta sobre o estado nutricional em vitamina A destas lactantes. No entanto, somente algumas destas variáveis (concentração de gordura e Fe no leite) consideradas de forma isolada na análise múltipla, mostram uma influência significativa na concentração de vitamina A do leite (Tab. 2).

**Tabela 2.** Modelo de Regressão Linear Múltipla para fatores que poderiam estar influenciando na concentração de vitamina A no leite.

Característica	$\beta$ (DP)	p
Ingestão Habitual de Vitamina A ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ )	0,000 (0,000)	0,46
IMC ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ )	0,055 (0,029)	0,06
Gordura Periférica (cm)	-0,008 (0,005)	0,09
Gordura Central (cm)	-0,011 (0,009)	0,27
Gordura no Leite (g/L)	0,030 (0,004)	< 0,001
Proteína no Leite (mg/mL)	0,026 (0,029)	0,37
Zn no Leite (mg/ L)	-0,009 (0,060)	0,88
Fe no Leite (mg/L)	0,684 (0,290)	0,02

$R^2 = 0,64$

$\beta$  = Coeficiente de regressão

DP = Desvio padrão

## 5.2 A concentração de Vitamina A no Leite e a Ingestão Habitual de Vitamina A

Com base nos recordatórios dietéticos verificou-se uma elevada variação na ingestão de vitamina A na dieta, tanto entre as lactantes como entre os dois inquéritos dietéticos de uma mesma lactante. A mãe que apresentou uma menor taxa de ingestão habitual de vitamina A possui uma ingestão de 408,7  $\mu\text{g}/\text{dia}$ , ou seja, bem abaixo da EAR

que é de 900 µg/dia para lactantes desta faixa etária (NAS, 2002; NAS, 2000), enquanto que a lactante com maior quantidade de vitamina A na dieta apresentou uma ingestão habitual de 2381,3 µg/dia (NAS, 2001). Das mulheres estudadas, 41% apresentaram ingestão habitual inadequada em vitamina A segundo a EAR.

Embora toda vitamina A presente no leite materno tenha sua origem na dieta (Vogel et al., 2002) da mãe, no presente trabalho, não foi encontrado evidência para se afirmar que a ingestão habitual de vitamina A influencie na concentração de vitamina A do leite como demonstrou a análise múltipla (p= 0,46) (Tab.2).

No entanto, quando se considera apenas as mulheres com ingestão habitual acima da EAR para vitamina A, foi encontrada uma correlação significativa e positiva entre a dieta e a secreção de vitamina A no leite (p= 0,05; R= 0,28) (Tab. 3).

**Tabela 3.** Correlação entre a ingestão habitual de vitamina A inferior e superior a recomendação da EAR para vitamina A em relação a concentração de vitamina A no leite de lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005.

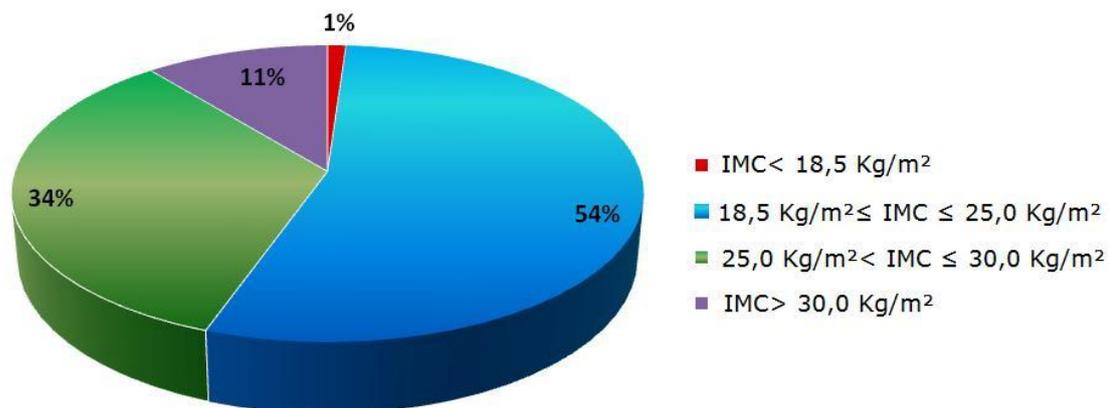
Ingestão Habitual de		Mediana (Intervalo) <i>µg/dia</i>	Vitamina A no Leite	
Vitamina A	N		R <sup>b</sup>	p <sup>b</sup>
Inferior <sup>a</sup> EAR	43	736,2 (408,7 – 884,4)	0,13	0,41
Superior <sup>a</sup> EAR	49	1098,8 (906,3 – 2381,3)	0,28	0,05

a. Segundo a Média de Requerimento Estimada para Grupos (*Estimated Average Requirements for Groups – EAR*) para lactantes com idade entre 19 e 50 anos, 900 µg/dia (NAS, 2002)

b. R e p segundo correlação de Pearson

### 5.3 A concentração de Vitamina A no Leite, o IMC, a gordura periférica e a central

Não existem padrões internacionais para a classificação do IMC de lactantes. Das 92 mulheres estudadas, somente uma (1%) apresentou IMC inferior a 18,5 kg/m<sup>2</sup>, o que representaria uma pessoa de baixo peso segundo padrões internacionais para a classificação do IMC de pessoas não lactantes adultas, enquanto que 31 (34%) apresentaram IMC superior a 25,0 kg/m<sup>2</sup> e igual ou inferior a 30,0 kg/m<sup>2</sup>, o que representaria pessoas adultas com sobrepeso que estejam fora do período de lactação e 10 (11%) apresentaram IMC correspondentes ao IMC de adultos obesos que não estejam amamentando (IMC > 30,0 kg/m<sup>2</sup>) (Cuppari, 2006) (Fig. 13). Desta forma, 45% (41) das lactantes apresentaram IMC acima de 25,0 kg/m<sup>2</sup>.



**Figura 13.** Distribuição do IMC de 92 lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005.

A mediana do IMC das lactantes estudadas foi de 24,8 kg/m<sup>2</sup>, sendo que tal índice variou de 18,0 kg/m<sup>2</sup> a 38,5 kg/m<sup>2</sup> entre as mulheres estudadas (Tab. 4).

**Tabela 4.** Valores centrais e intervalos do IMC, da gordura periférica<sup>a</sup> e da gordura central<sup>b</sup> de lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005.

Característica <sup>c</sup>	Mediana	Intervalo
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	24,8	18,0 – 38,5
Gordura Periférica (cm)	64,0	33,2 – 112,3
Gordura Central (cm)	79,3	68,0 – 127,3

- a. gordura periférica obtida pela somatória das dobras cutâneas triceptal, subescapular e da coxa
- b. gordura central representando o perímetro da cintura
- c. fatores com distribuição não-normal ( $p < 0,05$ )

O IMC mostrou uma tendência a influenciar positivamente na concentração de vitamina A no leite ( $\beta = 0,05$ ;  $p = 0,06$ ) (Tab. 2). O que foi reforçado quando se comparou a mediana das concentrações de vitamina A no leite de lactantes com IMC inferior ou igual a 25 kg/m<sup>2</sup> (1,20  $\mu\text{mol/L}$ ), com a mediana obtida no leite de lactantes com IMC superior a 25 kg/m<sup>2</sup> (1,72  $\mu\text{mol/L}$ ) ( $p < 0,05$ ) (Tab.5).

A mediana, o valor mínimo e máximo foi de 64 cm (33,2 cm – 112,3 cm) para a somatória das dobras cutâneas e 79 cm (68,0 cm – 127,3 cm) para o perímetro da cintura (Tab.4). As análises mostraram que tanto a somatória das dobras cutâneas, indicando a gordura periférica, como o perímetro da cintura, indicando a gordura central, não

exerceram influência significativa na concentração de vitamina A no leite ( $p = 0,09$  e  $p = 0,27$ , respectivamente) (Tab.2).

**Tabela 5.** Comparação das concentrações de vitamina A no leite de lactantes com  $IMC \leq 25 \text{ Kg/m}^2$  e  $IMC > 25 \text{ Kg/m}^2$  que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005.

IMC	N (%)	Vitamina A no leite	
		Mediana (Intervalo)	$p^a$
		<i><math>\mu\text{mol/L}</math></i>	
$\leq 25 \text{ Kg/m}^2$	51 (55)	1,20 (0,24 – 3,82)	0,02
$> 25 \text{ Kg/m}^2$	41 (44)	1,72 (0,46 – 5,13)	

a. Valor de p segundo Teste MannWhitney

#### 5.4 A concentração de Vitamina A no Leite e a Gordura, Proteínas, Zinco e Ferro presentes no Leite

A média da concentração de gordura no leite foi de 41,4 g/L. A lactante com menor quantidade de gordura no leite apresentou concentração de 11,1 g/L enquanto que a lactante com maior secreção deste nutriente apresentou 97,4 g de gordura por litro de leite. (Tab.6).

**Tabela 6.** Descrição de dados analisados no leite de lactantes que deram a luz no HUB e HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005.

Característica	Média $\pm$ DP <sup>a</sup> /Mediana <sup>b</sup>	Intervalo
Gordura no Leite (g/L)	41,4 $\pm$ 18,1 <sup>a</sup>	11,1 – 97,4
Proteína no Leite (mg/mL)	12,7 <sup>b</sup>	8,5 – 22,5
Zn no Leite (mg/L)	3,0 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	0,9 – 6,3
Fe no Leite (mg/L)	0,2 <sup>b</sup>	0,3 – 1,6

a. distribuição normal ( $p < 0,05$ )

b. distribuição não-normal ( $P > 0,05$ )

Considerando-se o ponto de corte de 40 g/ L resultante de estudos populacionais (NAS, 2005), 51% (47) das lactantes do presente trabalho apresentaram concentrações de gordura no leite abaixo deste valor.

Foi encontrado uma forte relação entre a quantidade de gordura secretada na glândula mamária e a concentração de vitamina A no leite ( $\beta= 0,03$ ,  $p< 0,001$ ) (Tab.2), sendo dentre os fatores estudados o que mais influenciou na concentração de vitamina A do leite. Desta forma, pôde-se observar que as concentrações de vitamina A no leite de lactantes que tiveram os teores de gordura no leite superiores a 40 g/L (NAS, 2002), é significativamente superior as concentrações de vitamina A no leite materno de lactantes que apresentaram teores de gordura no leite inferior a esse ponto de corte (Tab. 7).

**Tabela 7.** Comparação entre os valores centrais das concentrações de vitamina A no leite de lactantes com secreção inferior e superior a média obtida de estudos populacionais (NAS, 2005).

Gordura no Leite	N (%)	Vitamina A no Leite	
		Mediana (Intervalo)	p <sup>b</sup>
Inferior a 40g/L <sup>a</sup>	47 (51)	1,00 (0,24 – 2,37)	<0,001
Superior 40g/L <sup>a</sup>	45 (48)	2,14 (0,46 – 5,13)	

a. O ponto de corte estabelecido é a média de estudos populacionais considerado para cálculo da AI de crianças entre 0 a 6 meses com amamentação exclusiva (NAS, 2005);

b. valor de p segundo teste Mann-Whitney.

A mediana das concentrações de proteínas totais presente no leite foi de 12,7 mg/mL, a quantidade de proteínas totais secretadas no leite das lactantes variou de 8,5 mg/mL a 22,5 mg/mL (Tab. 6). Cerca de 32% (29) das mães apresentaram concentrações de proteínas no leite inferiores a média de estudos populacionais considerada pelo NAS (2002), que é de 11,7 g/L.

A análise linear múltipla mostrou que a quantidade de proteína total no leite não exerce influência significativa na concentração de vitamina A no leite ( $p= 0,37$ ) (Tab. 2).

Com base no ponto de corte de 2,5 mg/L proposta pela NAS (2002), 56% (51) das lactantes do presente trabalho mostraram concentrações de Zn no leite abaixo desta média. A análise multivariada mostrou que a concentração deste mineral presente no leite, não influencia significativamente nos teores de vitamina A do leite ( $p= 0,88$ ) (Tab. 2).

A mediana da concentração de Fe na amostra estudada foi de 0,2 mg/L. A distribuição de lactantes em relação ao valor de 0,35 mg/L, adotado pela NAS (2002), mostrou que 76% (70) das lactantes estudadas apresentaram concentrações de Fe no leite abaixo deste ponto de corte.

A comparação da concentração de vitamina A no leite entre as lactantes que apresentaram teores de Fe inferiores e superiores ao ponto de corte adotado, mostrou uma diferença altamente significativa entre esses dois grupos, de forma que os leites com maiores concentrações de Fe apresentaram maior concentração de vitamina A (Tab.8). Esta influência positiva do Fe sobre a vitamina A no leite foi comprovada pela análise de regressão múltipla ( $p= 0,02$ ), demonstrando ainda um alto coeficiente de regressão ( $\beta= 0,68$ ) (Tab. 2).

**Tabela 8.** Mediana das concentrações de vitamina A no leite de lactantes com secreção de Fe inferior e superior ao valor médio proposto pela NAS (2001), em mulheres que deram a luz no HUB e no HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005.

Fe no Leite	N (%)	Vitamina A no Leite	
		Mediana (Intervalo)	$p^b$
Inferior a 0,35 mg/L <sup>a</sup>	70 (76)	1,13 (0,24 – 3,25)	< 0,001
Superior a 0,35 mg/L <sup>a</sup>	22 (23)	2,16 (0,86 – 5,13)	

a. Média de estudos populacionais considerado para cálculo da AI pela NAS (2002);

b. valor de p segundo teste Mann-Whitney

Por outro lado, ao serem consideradas as lactantes com estado nutricional de vitamina A adequado foi verificado que a mediana das concentrações de Fe no leite destas mulheres era maior do que a mediana das concentrações do leite de mulheres deficientes em vitamina A (Tab.9).

**Tabela 9.** Mediana das concentrações de Fe no leite de lactantes com estado nutricional de vitamina A<sup>a</sup> adequado em comparação com Fe no leite de mulheres com estado nutricional deficiente em vitamina A que deram a luz no HUB e no HRT entre maio de 2004 e novembro de 2005.

Estado Nutricional de Vitamina A	N	Fe no Leite	
		Mediana (Intervalo)	$p^b$
Deficiente	34	0,12 (0 – 0,84)	< 0,001
Adequado	58	0,27 (0 – 1,57)	
Total	92	0,20 (0 – 1,57)	

a. Estado nutricional de vitamina A obtido por meio das dosagens de vitamina A no leite materno segundo ponto de corte proposto pela WHO (1996a): 1,05  $\mu\text{mol/L}$ .

c.. Valor de p segundo teste Mann-Whitney.

## **6 Discussão**

A porcentagem de lactantes deficientes em vitamina A no presente trabalho foi alta, o que somado a resultados de outros estudos brasileiros como o de Meneses e Trugo (2005) e de Azeredo e Trugo (2008) apontam um alto índice de lactantes deficientes em vitamina A no Brasil. Esses resultados indicam ainda a necessidade de uma maior atenção na situação do estado nutricional deste nutriente neste período reprodutivo, já que a deficiência da vitamina A nesta etapa implica em sérios riscos a saúde das lactantes e de seus lactentes.

O valor central da concentração de vitamina A encontrado, 1,38  $\mu\text{mol/L}$ , foi condizente com o valor médio encontrado em estudos de populações com deficiência em vitamina A que é de 1,40  $\mu\text{mol/L}$  (WHO, 1996a).

O leite materno secretado por mães com estado nutricional inadequado em vitamina A, é capaz de suprir apenas as necessidades metabólicas do organismo dos bebês, não sendo suficientes para permitir o acúmulo desta vitamina no organismo (Stoltzfus e Underwood, 1995), de forma que crianças que se amamentam exclusivamente de leite materno com concentrações baixas de vitamina A, aos 6 meses, serão subclínicamente deficientes, podendo apresentar manifestações clínicas desta deficiência, caso a introdução da nova dieta não tenha quantidades suficientes de vitamina A. Uma evidência neste sentido pode ser notada quando se analisa a idade em que normalmente se inicia a manifestação clínica de deficiência de vitamina A em crianças, a qual foi observada ocorrer a partir dos 6 meses de idade (Stoltzfus e Underwood, 1995).

### **6.1 A concentração de Vitamina A no Leite e a Ingestão Habitual de Vitamina A**

A ampla variação da quantidade de vitamina A ingerida na dieta intrapessoal e interpessoal é bem conhecida na literatura (DRI, 2001). Isso é comum no caso de nutrientes como a vitamina A e pró-vitamínicos A que estão presentes em altas concentrações em alguns tipos de alimentos, enquanto que em outros, seus teores são muito baixos. Além disso, variações sazonais, no cultivo, no processamento, no armazenamento e no preparo do alimento implicam em mudanças na ingestão diária (Campos e Rosado, 2005).

Zeintlin e colaboradores (1992) observaram em um estudo realizado em Bangladesh que o índice de escolaridade e o nível sócio-econômico das mães podem

influenciar a taxa de ingestão de vitamina A, o que poderiam estar explicando a alta porcentagem de inadequação da ingestão de vitamina A das mulheres da amostra do presente trabalho, já que este estudo foi realizado em pacientes de hospitais da rede pública do DF que normalmente atendem pessoas de baixa renda. No entanto, análises da renda das lactantes estudadas deveriam ser realizadas para se afirmar com maior precisão sobre as causas da alta porcentagem de inadequação da ingestão deste nutriente.

A influência da ingestão habitual de vitamina A sobre os teores de vitamina A no leite podem variar de acordo com a quantidade de vitamina A ingerida. Quando a ingestão de vitamina A apresentou uma alta probabilidade de adequação, ou seja, quando a ingestão habitual ficou acima da recomendação para grupo, EAR, a dieta demonstrou influenciar de forma significativamente positiva nos teores da vitamina A no leite, enquanto que dietas com alta probabilidade de inadequação demonstraram não influenciar sobre os teores desta vitamina no leite. Esta influência positiva da ingestão de vitamina A em relação aos teores desta vitamina no leite também pôde ser verificada em trabalhos com animais e lactantes suplementados, já que neste caso estes receberam doses altas de vitamina A na dieta (Bhaskaram *et al.*, 2000; Davila *et. al.* 1985).

A vitamina A secretada no leite chega a glândula mamária por meio da holo-RBP plasmática (Davila *et al.*, 1985), vinda das reservas do próprio organismo, e por meio dos quilomícrons pós-prandiais adquiridos na dieta recente (Ross. *et. al.* 2004a). As concentrações de holo-RBP permanecem constantes no organismo até que os estoques do organismo estejam muito baixos (Davila *et al.*, 1985). Assim, a contribuição da vitamina A estocada no organismo na concentração de vitamina A do leite é praticamente constante, já que existem evidências de que a vitamina A ligada a RBP no sangue não aumenta com a suplementação (Green *et al.*, 2001a), enquanto que a contribuição dos quilomícrons pós-prandiais sobre os teores de vitamina A presente no leite materno pode variar de acordo com a quantidade ingerida (Ross. *et. al.* 2004a).

Desta forma, tendo em base estes estudos feitos com animais (Ross. *et. al.* 2004a; Green *et al.*, 2001b, 2001b ; Davila *et al.*, 1985) e os presentes resultados pode-se sugerir que a contribuição da vitamina A vinda da dieta varia de acordo com os estoques do organismo em lactantes, já que se o organismo estiver ingerindo vitamina A em baixa quantidade, a vitamina A pós-prandial parece satisfazer preferencialmente as necessidades do organismo materno.

## 6.2 Os teores de Vitamina A no Leite em relação ao IMC, a gordura periférica e a gordura central

Devido às transitórias e intensas alterações metabólicas pelas quais o organismo materno passa durante o período de lactação, não é aconselhável a utilização dos padrões internacionais de classificação de IMC de pessoas em lactantes. Por isso, foram utilizados os pontos destes padrões apenas como forma de se descrever o comportamento do IMC das lactantes estudadas.

Durante o último trimestre da gestação é natural que ocorra um aumento do acúmulo de reservas energéticas na mãe (Dorea, 1997), o que pode explicar o elevado número de lactantes com alto IMC encontrado no presente estudo, pois quase 50% das lactantes apresentaram IMC acima de 25Kg/m<sup>2</sup>. Estudos vêm mostrando que a obesidade em gestantes tem aumentado em todo o mundo (Walsh, 2007). Na Suécia, a prevalência de sobrepeso e obesidade em mulheres gestantes aumentou de 25% a 36% entre os anos de 1992 a 2001 e, no Reino Unido, entre 1990 e 2004, a média do IMC de gestantes aumentou em 1,4 unidades, sendo que a prevalência da obesidade dobrou (Walsh, 2007).

A correlação entre o IMC e a concentração de vitamina A no leite foi observado também em outros trabalhos como no de Meneses e Trugo (2005) realizado em lactantes do Rio de Janeiro.

Embora o fígado seja o órgão mais importante responsável pelo estoque de vitamina A (Tsutsumi *et al.*, 1992), tecidos extra-hepáticos também participam do processo de estocagem da vitamina A, como é o caso do tecido adiposo (Blaner *et al.*, 1994; Goodman *et al.*, 1965).

O trabalho de Tsutsumi e colaboradores (1992), realizado em ratos demonstrou que o tecido adiposo exerce um importante papel no metabolismo de vitamina A já que este tecido expressa tanto CRBP, que é uma proteína envolvida no processo de armazenamento de vitamina A na célula, como RBP, que é proteína que transporta vitamina A no plasma. A contribuição de RBP plasmático advindo dos adipócitos parece ser uma contribuição relativamente alta, pois foi observado que os níveis de RBP presente nos adipócitos correspondem a 25% dos níveis presentes nos hepatócitos (Tsutsumi *et al.*, 1992).

Os trabalhos de Badman e Flier (2007) e Graham *et al.* (2006) mostraram uma correlação positiva entre os teores sanguíneos de RBP do tipo 4 (RBP4), proteína secretada pelos adipócitos e pelo fígado em humanos (Graham *et al.*, 2006), em relação a gordura corporal, a gordura periférica e o IMC. Além disso, em pessoas obesas a concentração de

RBP4 sérica apresentou ser de 2 a 3 vezes maior do que em pessoas não obesas (Klötting *et al.* 2007), sendo que os níveis de RBP séricos diminuem com a perda de peso (Badman e Flier, 2007).

A provável associação do IMC com a concentração de vitamina A no leite poderia ser explicada por alterações no RBP sérico destas lactantes, posto que a glândula mamária é capaz de obter vitamina A ligado a RBP (Davila *et al.*, 1985) e que os níveis de vitamina A plasmático em jejum se correlacionam com os níveis de vitamina A no leite materno (Meneses e Trugo, 2005). Entretanto a realização de estudos mais aprofundados para a determinação da concentração de RBP no plasma seria necessária para melhor avaliar o papel da RBP proveniente do tecido adiposo sobre a concentração de vitamina A no leite.

Trabalhos recentes têm ainda indicado que os níveis de RBP4 plasmático estão altamente associados à gordura central. Graham *et al.* (2006) trabalhando com adultos de ambos os sexos encontraram uma correlação mais alta entre os níveis de RBP4 em relação a razão cintura/quadril do que entre os níveis de RBP4 em relação ao IMC, sugerindo uma associação específica entre os níveis de RBP4 plasmático e a obesidade abdominal. Corroborando esses achados Klötting *et al.* (2007) mostraram que a RBP4 é expressa preferencialmente na gordura visceral quando comparada a gordura periférica. No entanto, no presente trabalho não foi encontrada correlação entre a vitamina A presente no leite nem com a gordura periférica e nem com a gordura central das lactantes estudadas.

A ausência de correlação entre a gordura central e periférica com os teores de vitamina A no leite poderia estar sendo causada pela elevada prevalência de deficiência de vitamina A na amostra estudada. No entanto, mais estudos do papel dos diferentes locais de acúmulo de gordura corporal sobre a concentração de RBP plasmáticos necessitam ser realizados, principalmente no caso de lactantes, já que neste período ocorrem alterações metabólicas devido a mudanças hormonais e a alta atividade secretora da glândula mamária.

### **6.3 Relação entre a concentração de Vitamina A no Leite e Gordura, Proteínas, Zinco e Ferro presentes no Leite**

Pouco se sabe sobre o processo de secreção de vitamina A no leite materno. No entanto, sabe-se que a CRBP I e LRAT, que são proteínas ligadas ao processo de esterificação da vitamina A, são expressas na glândula mamária durante o período de lactação (Piantedosi *et al.*, 2005), além disso, a maior parte da vitamina A presente no leite

se encontra como palmitato de retinil (Stoltzfus e Underwood, 1995), que é também a principal forma de estocagem da vitamina A no interior das gotículas de gordura citoplasmática das células estreladas (Senoo, 2004).

Deste modo, baseado na literatura e no presente resultado, que mostraram uma alta correlação entre a concentração de vitamina A e os teores de gordura no leite, pode-se sugerir que o processo de estocagem da vitamina A nas células alveolares da glândula mamária ocorra no interior das gotículas de gordura citoplasmática de forma semelhante ao processo de estocagem desta vitamina nas células estreladas. Assim, quando as gotículas de gordura citoplasmática migram para a membrana celular para serem secretadas (McManaman, 2003; Mather e Keenan, 1998) a vitamina A que não foi oxidada ou não foi utilizada pela célula e que está presente em seu interior, também será secretada.

Em um trabalho com ratos Kelleher e Lönnerdal (2001) demonstraram a expressão nas células da glândula mamária de RBP que eram secretadas no leite, demonstrando que a vitamina A também pode ser secretada na forma de retinol ligada a RBP. Os resultados de Kelleher e Lönnerdal (2001) podem indicar que semelhante situação possa ocorrer na glândula mamária humana devido à similaridade metabólica do organismo de ratos com o organismo humano. No entanto, trabalhos em humanos precisam ser realizados para se comprovar tal indicação. De qualquer forma, mesmo se a vitamina A atuar sobre a expressão de RBP e de algumas outras proteínas na glândula mamária humana, a taxa de secreção destas proteínas não deve alterar o teor de proteínas totais presente no leite, já que o leite é muito rico neste nutriente. Isso poderia explicar a ausência de correlação significativa entre a concentração de vitamina A e os teores de proteínas totais presentes no leite.

A média das concentrações de Zn no leite de 3,0 mg/L coincidiu com a média encontrada no estudo de Krebs *et al.* (1995), realizado com 71 lactantes. No entanto, grande parte das amostras dos leites estudados, 56%, apresentaram concentrações de Zn inferiores a média de 2,5 mg/L utilizadas pela NAS (2002) o que merece ser melhor estudado para se entender o que poderia estar influenciando nestes baixos teores de Zn no leite.

A deficiência severa de Zn não é comumente encontrada em populações humanas embora possa ocorrer a ingestão marginal de Zn tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento (Kelleher e Lönnerdal, 2001). Entretanto a ingestão de Zn e a concentração plasmática de Zn demonstram ser independentes entre si e ambas

demonstram não alterar a concentração de Zn secretado no leite materno (Domellöf *et al.*, 2004; Dijkhuizen *et al.*, 2004; Kelleher e Lönnerdal, 2001).

No entanto, sabe-se que o estado nutricional de Zn no organismo pode afetar o metabolismo de vitamina A por atuar diretamente na síntese de proteínas como é o caso da RBP (Kelleher e Lönnerdal, 2001; Christian e West Jr, 1998). Kelleher e Lönnerdal, (2001) em seu trabalho observaram que em ratos com dieta deficiente em Zn houve uma diminuição da concentração de RBP no leite, embora a concentração total de vitamina A não tenha sido alterada significativamente. Entretanto, como grande parte da vitamina A secretada no leite parece ocorrer ligada a gordura, alterações na expressão da possível RBP da glândula mamária humana, não alteraria significativamente a quantidade de vitamina A secretada no leite, como foi encontrado no presente trabalho.

A NAS (2002), embora tenha utilizado a média de 0,35mg/L de Fe no leite para calcular a AI de crianças com idade entre 0 e 6 meses de vida, afirma que tal concentração pode não ser suficiente para satisfazer as necessidades dos bebês. Da mesma forma, a WHO (1989, 1996b) considera que as concentrações de Fe no leite materno são baixas e insuficientes para manterem as necessidades do bebê, recomendando a suplementação deste mineral após os 6 meses de amamentação exclusiva. No presente estudo, apesar das lactantes terem sido suplementadas com Fe durante a gestação, grande parte das amostras de leite analisadas (76%) apresentou teores de Fe inferiores à média proposta pela NAS (2002) indicando a necessidade de ampliação de estudos sobre a adequação da concentração de Fe no leite de lactantes nesta região e a necessidade de maior atenção sobre o estado nutricional de Fe em crianças com amamentação exclusiva.

Estudos realizados com suplementação de vitamina A e/ou Fe mostram que existe uma correlação positiva entre esse dois nutrientes no plasma (Shatrugna *et al.*, 1997) e no leite (Kelleher e Lönnerdal, 2005). Recentemente Kelleher e Lönnerdal (2005) investigaram as causas pelas quais a suplementação de vitamina A em ratos aumenta a concentração de Fe no leite e observaram alterações no metabolismo e expressão de proteínas ligadas a secreção de Fe pela glândula mamária. Neste estudo os ratos com dietas deficientes em vitamina A diminuíram a expressão de DMT1, Receptor de Transferrina, Ferroportina e Ferritina na glândula mamária (Kelleher e Lönnerdal, 2005).

Assim se os eventos em humanos forem semelhantes aos demonstrados em animais, pode-se sugerir que uma provável causa da forte correlação encontrada entre os teores de vitamina A sobre o Fe do presente estudo, poderia ser a elevação da expressão de

proteínas responsáveis pela secreção de Fe provocado pelo aumento da vitamina A na glândula mamária.

Foi observado que o estado nutricional do Fe de mães durante o período de lactação, medido pelas taxas de hemoglobina e receptor de transferrina plasmática, parece não afetar significativamente a concentração deste mineral secretado pela glândula mamária (Domellöf *et al.*, 2004). Essas observações consideradas em conjunto aos resultados encontrados no presente trabalho indicam que a vitamina A provavelmente influencie de forma mais efetiva na concentração de Fe no leite do que a ingestão de Fe.

O IMC apresentou uma tendência a influenciar positivamente as concentrações da vitamina A no leite, indicando que o aumento de peso que ocorre durante a gestação é importante para lactantes e lactentes no que se refere a vitamina A.

Os profissionais da área de saúde e os profissionais que atuam nas políticas nacionais de saúde devem orientar as lactantes a manterem, tanto na gestação como na lactação, uma ingestão habitual de vitamina A adequada, com o objetivo de manter o bom estado nutricional das mães, promovendo com isso um aumento da secreção de vitamina A no leite, o que está relacionado ao aumento dos teores de Fe no leite. Essa interação entre o Fe e a vitamina A no leite é importante por combater dois dos maiores problemas de saúde pública no mundo, a hipovitaminose A e a anemia (Kelleher e Lönnerdal, 2005).

Para que mães possam ser bem orientadas em relação à ingestão de vitamina A é muito importante que durante o período de lactação elas sejam acompanhadas por profissionais especializados da área de saúde, pois neste período, é comum que as atenções sejam direcionadas aos bebês, não se considerando que a saúde do bebê ainda está diretamente ligada a saúde da mãe.

Finalmente é importante ressaltar a importância da amamentação, apesar das possíveis inadequações de alguns de seus nutrientes, pois dentre outras vantagens o leite materno é capaz de prover todos os nutrientes necessários a proteção contra as doenças infecciosas. Além disso, mesmo no leite de lactantes com hipovitaminose A são encontrados concentrações de vitamina A suficientes para suprirem as necessidades destes nutrientes em bebês de zero a seis meses, não fornecendo, no entanto, quantidades suficientes para que ocorra o seu acúmulo. O leite materno de mães deficientes em vitamina A também continuará a ser boa fonte desta vitamina para os lactentes mesmo após o sexto mês de lactação, por ser uma fonte certa, ainda que baixa, desta vitamina (Stoltzfus e Underwood, 1995).

## 7 Conclusões

Os resultados deste estudo permitiram concluir que:

Um número elevado de lactantes estudadas apresentaram estado nutricional deficiente em vitamina A e ingestão habitual em vitamina A inadequada. Indicando a necessidade de mais atenção na orientação nutricional de lactantes com ênfase na ingestão de vitamina A.

Em mulheres que apresentaram uma ingestão habitual em vitamina A com maior probabilidade de adequação, a ingestão dietética de vitamina A influenciou de forma positiva a concentração deste nutriente no leite.

Não houve influência significativa entre a ingestão habitual de vitamina A e a secreção deste nutriente no leite em mulheres que apresentaram ingestão habitual em vitamina A com maior probabilidade de inadequação, sugerindo que a vitamina ingerida satisfaça neste caso prioritariamente as necessidades do organismo materno.

O IMC materno apresentou uma tendência a influenciar positivamente os teores de vitamina A no leite.

A concentração de vitamina A presente no leite foi altamente influenciada pela quantidade de gordura presente no leite.

A quantidade de proteínas totais e Zn presentes no leite materno, não exerceram influência significativa sobre os níveis de vitamina A no leite.

Houve uma forte inter-relação entre os teores de vitamina A e Fe no leite.

Das amostras de leite estudadas grande parte apresentou concentrações de gordura, Zn e Fe no leite inferior aos valores de referencia sugerido.

## 7.1 Referências Bibliográficas

ALLEN, L. H, Multiple Micronutrients in Pregnancy and Lactation: an Overview, The American Journal Clinical Nutrition, 2005, 81(S): 1206S-1212S.

ANDERSON, J. W., JOHNSTONE, B.M. and REMLEY, D.T., Breast-feeding and cognitive development: a meta-analysis, The American Journal of Clinical Nutrition, 1999, 70: 525-535

AMENY, M. A., RAILA, J., WALZEL, E. and SCHWEIGERT, F. J., Effect of Iron and/or Vitamin A Re-supplementation on Vitamin A and Iron Status of Rats After a Dietary Deficiency of Both Components, Journal of Trace Elements, 2002, 16: 175 – 178.

ARAÚJO, A. N. and GIUGLIANO, L. G., Human Milk Fractions Inhibit the Adherence of Diffusely Adherent *Escherichia coli* (DAEC) and Enteroaggregative *E. coli* (EAEC) to HeLa Cells, FEMS Microbiology Letters, 2000, 184: 91 – 94.

ARRUDA, S. F., SIQUEIRA, E. M. A. and VALÊNCIA, F. F., Vitamin A Deficiency Increases Hepcidin Expression and Oxidative Stress by Iron Tissues Overload, 2008, Trabalho Submetido a Publicação.

AZEREDO, V. B. and TRUGO, N. M. F., Retinol, Carotenoids, and Tocopherols in the Milk of Lactating Adolescents and Relationships with Plasma Concentrations, Nutrition, 2008, 24: 133 – 139.

BADMAN, M. K. and FLIER, J. S., The Adipocyte as an Active Participant in Energy Balance and Metabolism, Gastroenterology, 2007, 132: 2103 – 2115.

BEATON G.H. Effectiveness of Vitamin A Supplementation in the Control of Young Child Morbidity and Mortality in Developing Countries, Universidade de Toronto, 1992, 62 – 65.

BERNSTEIN, L., Epidemiology of Endocrine-Related Risk Factors for Breast Cancer, *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2002, 7 (1): 3 – 15.

BHASKARAM, P., BALAKRISHNA, N., NAIR, K. M. and SIVAKUMAR, B., Vitamin A Deficiency in Infants: Effects of Postnatal Maternal Vitamin A Supplementation on the Growth and Vitamin A Status, *Nutrition Research*, 2000, 20: 769 – 778.

BLANER, W. S., OBUNIKE, J. C., KURLANDSKY, S. B., AL-HAIDERI, M., PIANTEDOSI, R., DECKELBAUM, R. J. and GOLDBERG, I. J., Lipoprotein Lipase Hydrolysis of Retinyl Ester/ Possible Implications For Retinoid Uptake By Cells, *The Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269 (24): 16559 – 16565.

BLOEM, M. W., Interdependence of Vitamin A and Iron: An Important Association for Programmes of Anemia Control, *Proceedings of the Nutrition Society*, 1995, 54: 501-508

BLOMHOFF, R.; GREEN, M. H.; BERG, T.; NORUM, K. R., Transport and Storage of Vitamin A, *Science*, 1990, 250: 399 – 404.

BRADFORD, M. M., A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye, *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248 – 254.

BRANDTZAEG, P., Mucosal Immunity: Integration Between Mother and Breast-Fed Infant, *Vaccine*, 2003, 21: 3382 – 3388.

CALIL, V. M. L. T. and FALCÃO, M. C., Human Milk Composition: The Ideal Nutrition for Infants, *Revista de Medicina de São Paulo*, 2003, 82 (1-4): 1 – 10.

CAMPOS, F. M. and ROSADO, G. P., Novos Fatores de Conversão de Carotenóides Provitamínicos A, *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, 2005, 25 (3): 571 – 578.

CASPI, A., WILLIAMS, B., KIM-COHEN, J., CRAIG, I. W., MILNE, B. J., POULTON, R., SCHALKWYK, L. C., TAYLOR, A., WERTS, H. and MOFFITT, T. E., Moderation

of Breastfeeding Effects on the IQ by Genetic Variation in Fatty Acid Metabolism, PNAS, 2007, 104 (47): 18860 – 18865.

CASTENMILLER, J. J. M.; WEST, C. E.; LINSSEN, J. P. H.; VAN HET HOF, K. H.; VORANGEN, A.G. J. The Food Matrix of Spinach is a Limitating Factor in Determining the Bioavailability of  $\beta$ -Carotene and to a Lesser Extent of Lutein in Human. The Journal of Nutrition, 1999, 129: 349 – 355.

CHRISTIAN, P. and WEST Jr, K. P., Interactions Between Zinc and Vitamin A: an Update, The American Journal Clinical of Nutrition, 1998, 68: 435S-441S.

CHAPPELL, J. E., CLANDININ, M. T. and KEARNEY-VOLPE, C., Trans Fatty Acids in Human Milk Lipids: Influence of Maternal Diet and Weight Loss, The American Journal of Clinical Nutrition, 1985, 42: 49 – 56.

COPPA, G.V., ZAMPINI, L., GALEAZZI, T. and GABRIELLI, O., Prebiotics in Human Milk: a Review, Digestive and Liver Disease, 2006, 32 (S2): S291 - S294.

CUPPARI, L., Guias de Medicina Ambulatorial e Hospital Unifesp- Escola Paulista de Medicina/ Nutrição Clínica no Adulto, 2006, 2ª Edição.

DANCHECK, B., NUSSENBLATT, V., RICKS, M. O., KUMWENDA, N., NEVILLE, M. C., MONCRIEF, D. T., TAHA, T. E. and SEMBA, R. D., Breast Milk Retinol Concentrations Are Not Associated with Systemic Inflammation among Breast-Feeding Women in Malawi, The Journal of Nutrition, 2005, 135 (2): 223 – 226.

DAVILA, M.E., NORRIS, L., CLEARY, M.P. and ROSS, A.C., 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, 1985, 115: 1033-1041

DEWEY, K.G., HEINING, M.J. and NOMMSEN-RIVERS, L.A., Differences in morbidity between breast-fed and formula-fed infants, The Journal of Pediatrics, 1995, 126 (5): 696-702.

DEWEY, K. G., FINLEY, D. A. and LÖNNERDAL, B., Breast Milk Volume and Composition During Late Lactation (7-20 Months>), *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, 1984, 3 (5): 713-720. Abstracts.

DIJKHUIZEN, M. A., WIERINGA, F. T., WEST, C. E. and MUHILAL, Zinc Plus  $\beta$ -Carotene Supplementation of Pregnant Women is Superior to  $\beta$ -Carotene Supplementation Alone in Improving Vitamin A Status in Both Mothers and Infants, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 80: 1299 – 1307.

DOMELLÖF, M., LÖNNERDAL, B., DEWEY, K.G., COHEN, R. J. and HERNELL, O., Iron, Zinc, and Cooper Concentration in Breast Milk are Independent of Maternal Mineral Status, *American Journal Clinical Nutrition*, 2004, 79: 111 – 115.

DOREA, J. G., Changes in Body Weight and Adiposity During Lactation, *Nutrition Research*, 1997, 17 (2): 379 – 389.

ETTYANG, G.A., LICHTENBELT, W.D., VAN, M., OLOO, A. and SARIS, W.H.M., Serum Retinol, Iron Status and Body Composition of Lactating Women in Nandi, Kenya, *Annals of Nutrition & Metabolism*, 2003, 47: 276 – 283.

FAWZI, WAFAYE W., HERRERA, M.G., WILLETT, W.C., NESTEL, P., Dietary Vitamin A Intake and the Risk of Mortality Among Children, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1994, 59 (2): 401 – 408.

FERRAZ, I. S., DANELUZZI, J. C. and VANNUCCHI, H., Vitamin A Deficiency in Children Aged 6 to 24 Months in São Paulo State, Brazil, *Nutrition Research*, 2000, 20 (6): 757-768.

FIGLIORE, P., MARCO, R. D., SACCO, O. and PRIOLO, E., Nightblindness, Xerophthalmia, and Severe Loss of Visual Acuity Due to Unnecessary Dietary Restriction, *International Ward Rounds in Clinical Nutrition*, 2004, 20: 477.

FOLLI, C., CALDERONE, V., OTTONELLO, S., BOLCHI, A., ZANOTTI, G., STOPPINI, M., Identification, Retinol Binding, and X-Ray Analysis of a Human Retinol-Binding Protein, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98: 3710-3715.

FONSECA, W., KIRKWOOD, B.R., VICTORA, C.G., FUNCHS, S.R., FLORES, J.A. and MISAGO, C., Risk Factors for Childhood Pneumonia Among the Urban Poor in Fortaleza, Brazil: a Case-Control Study, *Bulletin of the World Health Organization*, 1996, 76 (2): 199 – 208.

FRAZER, D. M. and ANDERSON, G. J., The Orchestration of Body Iron Intake: How and Where do Enterocytes Receive their Cues?, *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 2003, 30: 288 – 297.

GIUGLIANI, E. R. J. and VICTORA, C. G., Complementary feeding, *Jornal de Pediatria*, 2000, 76 (S-3): S253 - S262.

GOODMAN, D. S., HUANG, H. S. and SHIRATORI, T., Tissue Distribution and Metabolism of Newly Absorbed Vitamin A in Rat, *Journal of Lipid Research*, 1965, 6: 390 – 396.

GRAEBNER, I. T., SAITO, C. H. and SOUZA, E. M. T., Biochemical Assessment of Vitamin A in Schoolchildren from a Rural Community, *Jornal de Pediatria*, 2007, 83 (3): 247 – 252.

GRAHAM, T. E., YANG, Q., BLUHER, M., HAMMARSTEDT, A., CIARALDI, T. P., HENRY, R. R., WASON, C. J., OBERBACH, A., JANSSON, P.-A., SMITH, U. and KAHN, B., Retinol-Binding Protein 4 and Insulin Resistance in Lean, Obese, and Diabetic Subjects, *The New England Journal of Medicine*, 2006, 354 (24): 2552 – 2563.

GREEN, M.H., GREEN, J.B., SNYDER, R.W., AKOHOUE, S.A. and KELLEY, S.K., Vitamin A Intake Affects the Contribution of Chylomicrons vs. Retinol-Binding Protein to Milk Vitamin A in Lactating Rats, *The Journal of Nutrition*, 2001a, 131: 1279 - 1282.

GREEN, M.H., SNYDER, R.W., AKOHOUE, S.A., and GREEN, J.B., Increased Rat Mammary Tissue Vitamin A Associated with Increased Vitamin A Intake during Lactation Is Maintained after Lactation, *The Journal of Nutrition*, 2001b, 131: 1544 - 1547.

HARRISON, P. M. and AROSIO, P., The Ferritins: Molecular Properties, Iron Storage Function and Cellular Regulation, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1996: 161 – 203.

HEYWARD, V. H. and STOLARCZYK, *Avaliação da Composição Corporal*, Editora Manole, 1ª Edição Brasileira, 2000, cap. 2: 23 – 46.

HODGES, R. E., SAUBERLICH, H. E., CANHAM, J. E., WALLACE, D. L., RUCKER, R. B., MEJIA, L. A. and MOHANRAM, M., Hematopoietic Studies in Vitamin A Deficiency, *The American Journal of Nutrition*, 1978, 31: 876 – 885.

HOFFMANN, K, BOEING, H., DUFOUR, A., VOLATIER, J. L., TELMAN, J., VIRTANEN, M., BECKER, W. and HENAUW S. D., Estimating the Distribution of Usual Dietary Intake by Short-Term Measurements, *European Journal of Clinical Nutrition*, 2002, 56 (S2): S53 – S62.

HULTIN, M. and OLIVECRONA, T., Conversion of Chylomicrons into Remnants, *Artherosclerosis*, 1998, 141: (S1) S25-S29.

KAMOA, M., TSUGAWA, N., SUHARA, Y., WADA, A., MORI, T., MURATA, K., NISHINO, R., UKITA, T., UENISHI, K., TANAKA, K. and OKANO, T., Quantification of Fat-Soluble Vitamins in Human Breast Milk by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 2007, 859: 192-200.

KELLEHER, S. L. and LÖNNERDAL, B., Low Vitamin A Intake Affects Milk Iron Level and Iron Transporters in Rat Mammary Gland and Liver, *The Journal of Nutrition*, 2005, 135: 27-32.

KELLEHER, S. L. and LÖNNERDAL, B., Long-Term Marginal Intakes of Zinc and Retinol Affect Retinol Homeostasis without Compromising Circulating Levels During Lactation in Rats, *The Journal of Nutrition*, 2001, 131: 3237-3242.

KLÖTING, N., GRAHAM, T. E., BERNDT, J., KRALISCH, S., KOVACS, P., WASON, C. J., FASSHAUER, M., SCHÖN, M., STUMVOLL, M., BLÜHER, M. and KAHN, B. B., Serum Retinol-Binding Protein is More Highly Expressed in Visceral than in Subcutaneous Adipose Tissue and is a Marker of Intra-abdominal Fat Mass, *Cell Metabolism*, 2007, 6 (1): 79-87, Abstract.

KORDAS, K. and STOLTZFUS, R. J., New Evidence of Iron and Zinc Interplay at the Enterocyte and Neural Tissues, *The Journal of Nutrition*, 2004, 134: 1295 – 1298.

KREBS, N. F., REIDINGER, C. J., HARTLEY, S., ROBERTSON, A. D and HAMBIDGE, Zinc Supplementation During Lactation: Effects on Maternal Status and Milk Zinc Concentrations, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1995, 61:1030 – 1036.

JALAL, F., NESHEIM, M. C., AGUS, Z., SANJUR, D. and HABICHT, J. P., Serum Retinol Concentrations in Children are Affected by Food Source of  $\beta$ -carotene, Fat Intake, and Anthelmintic Drug Treatment, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1998, 68: 623 – 629.

JENSEN, R. G., The Lipids in Human Milk, *Progress in Lipid Research*, 1996, 35 (1): 53 – 92.

LÖNNERDAL, B., WOODHOUSE, L. R. and GLAZIER, C., Compartmentalization and Quantitation of Protein in Human Milk, *American Institute of Nutrition*, 1987, 1385- 1395.

LUCAS, A., GIBBS, J. and BAUM, J.D., Craematocrit: Simple Clinical Technique for Estimating Fat Concentration and Energy Value of Human Milk, *British Medical Journal*, 1978, 1:1018 – 1020.

MACDONALD, R. S., The Role of Zinc in Growth and Cell Proliferation, *The Journal of Nutrition*, 2000, 130 (S): 1500S – 1508S.

MARIATH, J.G.R, Lima, M.C.C. and SANTOS, L.M.P., Vitamin A Activity of Buriti (*Mauritia vinifera* Mart) and its Effectiveness in the Treatment and Prevention of Xerophthalmia, American Journal Clinical Nutrition, 1989; 49: 849 – 853.

MATHER, I.H. and KEENAN, T.W., Origin and Secretion of Milk Lipids, Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 1998, 3 (3): 259 – 273.

MCKINSTRY, P.J., INDYK, H.E. and KIM, N.D., The Determination of Major and Minor Elements in Milk and Infant Formula by Slurry Nebulisation and Inductively Couple Plasma– Optical Emission Spectrometry (ICP-OES), Food Chemistry, 1999, 65: 245 – 252.

MCMANAMAN, J.L. and NEVILLE, M.C., Mammary Physiology and Milk Secretion, Advanced Drug Delivery Reviews, 2003, 55: 629 – 641.

MENESES, F. and TRUGO, N. M. F., Retinol,  $\beta$ -carotene, and Lutein + Zeaxanthin in Milk of Brazilian Nursing Women: Associations with Plasma Concentration and Influences of Maternal Characteristics, Nutrition Research, 2005, 25: 443 – 451.

MITRO, N., MAK, P. A., VARGAS, L., GODIO, C., HAMPTON, E., MOLTENI, V., ANDREAS, K. and SAEZ, E., The Nuclear Receptor LXR is a glucose sensor, Nature, 2007, 445: 219 – 223.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS/Brasil). Organização Pan Americana de Saúde, Guia Alimentar para Crianças menores de 2 Anos, Série A. Normas e Manuais Técnicos, n. 107, Editora MS, 2002, p16-45

MONTAGNE, P.M., CUILLIÈRE, M.L., MOLÉ, C.M., BÉNÉ, M.C. and FAURE, G.C., Dynamics of the Main Immunologically and Nutritionally Available Proteins of Human Milk during Lactation, Journal of Food Composition and Analysis, 2000, 13: 127-137.

MUSIB, L.C., The absorption mechanism of retinoic acids in the intestinal epithelium. Minneapolis-MN, Thesis (Doctor of Philosophy) - Graduate School, University of Minnesota, 2000. 205 p.

MWANRI, L., WORSLEY, A., RYAN, P. and MASIKA, J., Supplemental Vitamin A Improves Anemia and Growth in Anemic School Children in Tanzania, *The Journal of Nutrition*, 2000, 130: 2691 – 2696.

NASCIMENTO, M.B.R. and ISSLER, H., Breastfeeding: Making the difference in the Desenvolvimento, Health and Nutrition of Term and Preterm Newborns, *Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo*, 2003, 58(1): 49 – 60.

NELSON, D. L. and COX, M. M., *Lehninger Principles of Biochemistry*, New York: Worth, 2000, 3ª Edição, cap. 10: 343 – 368.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (NAS), Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, Dietary Reference Intake for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients), 2005, cap. 4: 82 – 161; e cap 9: 290 – 393. Disponível em: <[http://fnic.nal.usda.gov/nal\\_display/index.php?info\\_center=4&tax\\_level=2&tax\\_subject=256&topic\\_id=1342](http://fnic.nal.usda.gov/nal_display/index.php?info_center=4&tax_level=2&tax_subject=256&topic_id=1342)>, Acesso em 20 de maio de 2008.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE (NAS), Dietary Reference Intakes: Estimated Average Requirements for Groups, National Academies, Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, 2002, Disponível em: <[http://fnic.nal.usda.gov/nal\\_display/index.php?info\\_center=4&tax\\_level=2&tax\\_subject=256&topic\\_id=1342](http://fnic.nal.usda.gov/nal_display/index.php?info_center=4&tax_level=2&tax_subject=256&topic_id=1342)>, Acessado em 13 de dezembro de 2007

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (NAS), Institute of Medicine, 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, 2001, cap. 4: 82 – 161; e cap 9: 290 – 393. Disponível em: <[http://fnic.nal.usda.gov/nal\\_display/index.php?info\\_center=4&tax\\_level=2&tax\\_subject=256&topic\\_id=1342](http://fnic.nal.usda.gov/nal_display/index.php?info_center=4&tax_level=2&tax_subject=256&topic_id=1342)>, Acessado em 10 de junho de 2007

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE (NAS), Dietary Reference Intakes: Applications in Dietary Assessment, Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, 2000. Disponível

em:<[http://fnic.nal.usda.gov/nal\\_display/index.php?info\\_center=4&tax\\_level=2&tax\\_subject=256&topic\\_id=1342](http://fnic.nal.usda.gov/nal_display/index.php?info_center=4&tax_level=2&tax_subject=256&topic_id=1342)>, Acessado em 10 de dezembro de 2007.

NATIONAL ACADEMY PRESS (NAP), Nutrition During Lactation, Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, 1991: 115-125, Disponível em: <[http://books.nap.edu/openbook.php?record\\_id=1577](http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=1577)>, Acessado em 26 de junho de 2008

ORINE, K. and WATANABE, K., Molecular, Physiological and Clinical Aspects of the Iron Storage Protein Ferritin, The Veterinary Journal, Disponibilizado online em agosto de 2007, em fase de correção e impressão. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleListURL&\\_method=list&\\_ArticleListID=760481165&\\_sort=d&view=c&\\_acct=C000037918&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=687355&md5=655d1c59d8f4ce9edfaa46ec54d9acbd](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=760481165&_sort=d&view=c&_acct=C000037918&_version=1&_urlVersion=0&_userid=687355&md5=655d1c59d8f4ce9edfaa46ec54d9acbd)>, Acessado em 28 de junho de 2008.

OLIVEIRA, I. R., ARAÚJO, A. N., BAO, S. N. and GIUGLIANO, L. G., Binding of Lactoferrin and Free Secretory Component to Enterotoxigenic *Escherichai coli*, FEMS Microbiology Letters, 2001, 203: 29 – 33.

OLSON, J. A., Provitamin A Function of Carotenoids: The Conversion of  $\beta$ -Carotene into Vitamin A, American Journal of Nutrition, 1989, 119: 105-108.

PALACE, V.P., KHAPER, N., QIN, Q. and SINGAL, P.K., Antioxidant Potential of Vitamin A and Carotenoids ans Their Relevance to Heart Disease, Free Radical Biology & Medicine, 1999, 26: 746-761.

PARKER, R.S, Absorption, metabolism, and transport of carotenoids, Serial Reviews, 1996: 542-551.

PETITJEAN, G., BECQUART, P., TUAILLON, E., TABAA, Y.A., VALEA, D., HUGUET, M.-F., MEDA, N., PERRE, P.V., VENDRELL, J.-P., Isolation and Characterization of HIV-1-infected Resting CD4+ T Lymphocytes in Breast Milk, Journal of Clinical Virology, 2007, 39: 1 – 8.

PIANTEDOSI, R., GHYSELINCKS, N., BLANER, W.S., VOGEL, S., Cellular Retinol-binding Protein Type III Is Needed for Retinoid Incorporation into Milk, *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280 (24): 24286 – 24292.

PONKA, Iron Metabolism: Physiology and Pathophysiology, *The Journal Trace Elements in Experimental Medicine*, 2000, 13: 73-83.

PRASAD, A. S., Zinc Deficiency, *British Medical Journal*, 2003, 326: 409 – 410.

ROSALES, F. J., JANG, J.-T., PIÑERO, D. J., ERIKSON, K. M., BEARD, J. L. and ROSS, A. C., Iron Deficiency in Young Rats Alters the Distribution of Vitamin A Between Plasma and Liver and Between Hepatic Retinol and Retinyl Esters, *The Journal of Nutrition*, 1999, 129: 1223 – 1228.

ROSS, A.C., Retinoid Production and Catabolism: Role of Diet in Regulating Retinol Esterification and Retinoic Acid Oxidation, *American Society for Nutritional Sciences*, 2003, 291S - 296S.

ROSS, A.C., PASATIEMPO, A.M., GREEN, M.H., Chylomicron Margination, Lipolysis, and Vitamin A Uptake in the Lactating Rat Mammary Gland: Implications for Milk Retinoid Content, *Society for Experimental Biology and Medicine*, 2004a, 229: 46 – 55.

ROSS, A.C. and ZOLFAGHARI, R., Regulation of Hepatic Retinol Metabolism: Perspectives from Studies on Vitamin A Status, *American Society for Nutritional Sciences*, 2004b, 269S - 275S.

ROSS, A.C., Retinoid Production and Catabolism: Role of Diet in Regulating Retinol Esterification and Retinoic Acid Oxidation, *American Society of Nutritional Sciences*, 2003, 291S - 296S.

RUEL, M. T., DEWEY, K. G., MARTÍNEZ, C., FLORES, R. and BROWN, K. H., Validation of Single Daytime Samples of Human Milk to Estimate the 24-h Concentration of Lipids in Urban Guatemalan Mothers, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1997, 65: 439 - 444.

SAMPAIO, L. R. e FIGUEIREDO, V. C., Correlação entre o Índice de Massa Corporal e os Indicadores Antropométricos de Distribuição de Gordura Corporal em Adultos e Idosos, *Revista de Nutrição*, 2005, 18 (1): 53 – 61.

SEMBA, R. D., MUHILAL, WEST, K. P., WINGET, M., NATADISASTRA, G., SCOTT, A. and SOMMER, A., Impact of Vitamin A Supplementation on Hematological Indicators of Iron Metabolism and Protein Status in Children, 1992, 12 (4-5): 469 – 478, Abstractr..

SENOO, H., Structure and Function of Hepatic Stellate Cells, *Medicin Electron Microscopy*, 2004, 37: 3 – 15.

SHATRUGNA, V., RAMAN, L., UMA K. and SUJATHA, T., Interaction Between Vitamin A and Iron: Effects of Supplements in Pregnancy, *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 1997, 67 (3): 145 – 148, Abstractr.

SHEN, H., QIN, H. and GUO, J., Cooperation of Metallothionein and Zinc Transporters for Regulating Zinc Homeostasis in Human Intestinal Caco-2 Cells, *Nutrition Research*, 2008, 28: 406 – 413.

SHILS, M. E., OLSON, J.A., SHIKE, M., ROSS, A.C., *Modern Nutrition in Health and Disease*, Lippincott Williams & Wilkins, 1998, 9ª Edição.

SIMMONS, W. K., Xerophthalmia and Blindness in Northeast Brazil, *The American Journal of Clinical Nutrtrion*, 1976, 29: 116 – 122.

SLATER, B., MARCHIONI, D. L. and FISBERG, R. M., Esimating Prevalence of Inadequate Nutrient Intake, *Revista de Saúde Pública*, 2004, 38 (4): 599 – 605.

SOMMER, A., KATZ, J. and TARWOTJO, I., Increased Risk of Respiratory Disease and Diarrhea in Children with Preexisting mild Vitamin A Deficiency, *The Journal of Clinical Nutrition*, 1984, 40: 1090 – 1095.

SOUZA, W.A. and VILAS BOAS, O.M.G.C., A deficiência de vitamina A no Brasil: um panorama, *Pan American Journal of Public Health*, 2002, 12(3): 173 – 179.

STOLTZFUS, R.J. and UNDERWOOD, B.A., Breast-milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants, *Bulletin of the World Health Organization*, 1995, 73 (5): 703 – 711.

STAHL, W. and SIES, H., Perspectives in Biochemistry and Biophysics, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1996, 336 (1): 1 – 9.

SUNDARAM, M., SIVAPRASADARAO, A., DESOUSA, M.M. and FINDLAY, J.B.C., The Transfer of Retinol from Serum Retinol-binding Protein to Cellular Retinol-binding Protein Is Mediated by a Membrane Receptor, *The Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273 (6): 3336 – 3342.

TAKAHASHI, Y.I., SMITH, J.E., WINICK, M. and GOODMAN, D.S., Vitamin A Deficiency and Fetal Growth and Desenvolviment in the Rat, *Journal of Nutrition*, 1975; 105: 1299 – 1310.

TANUMIHARDJO, S. H. Assessing Vitamin A Status: Past, Present and Future, *The Journal of Nutrition*, 2004; 134 (1): 290S - 293S.

TANUMIHARDJO, S. H. and PENNISTON K. L., Simplified Methodology to Determine Breast Milk Retinol Concentration, *The Journal of Lipid Research*, 2002; 43: 350 – 355.

TSUTSUMI, C., OKUNO, M., TANNOUS, L., PIANTEDOSI, R. and ALLAN, M., Retinoids and Retinoid-binding Protein Expression in Rat Adipocytes, *The Journal of Biological Chemistry*, 1992, 267 (3): 1805 – 1810.

VAUCLAIR, S., MAJO, F., DURHAM, A.-D., GHYSELINCK, N. B., BARRANDON, Y. and RADTKE, F., Corneal Epithelial Cell Fate is Maintained During Repair by Notch 1 Signaling Via the Regulation of Vitamin A Metabolism, *Developmental Cell*, 2007, 13: 242 – 253.

VOGEL, S., PIANTEDOSI, R., O'BYRNE, S. M., KAKO, Y., QUADRO, L., GOTTESMAN, M. E., GOLDBERG, I. J. and BLANER, W. S., Retinol-Binding Protein-Deficient Mice: Biochemical Basis for Impaired Vision, *Biochemistry*, 2002, 41: 15360 – 15368.

WALSH, S. W., Obesity: A Risk Factor for Preeclampsia, *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2007, 18 (10): 365 – 370.

World Health Organization – Reducing Risks, Promoting Healthy Life. *World Health Report*, Geneva, 2002, p 56.

World Health Organization, Global Prevalence of Vitamin A Deficiency, Iron Deficiency Anaemia: Assessment, Prevention and Control. A guide for Programme Managers. Geneva, World Health Organization, 2001, Disponível em: [http://www.who.int/nutrition/publications/en/ida\\_assessment\\_prevention\\_control.pdf](http://www.who.int/nutrition/publications/en/ida_assessment_prevention_control.pdf). Acessado em 20 de novembro de 2007

World Health Organization, Indicators for Assessing Vitamin A Deficiency and their Application in Monitoring and Evaluating Intervention Programmes, *World Health Report*, Geneva, 1996a.

World Health Organization, Guidelines for The Control of Iron Deficiency in Countries of The Eastern Mediterranean Middle East and North Africa, *World Health Report*, Geneva, 1996b.

World Health Organization, Bridging the Gaps. *World Health Report*, Geneva, 1995.

World Health Organization, Preventing and Controlling Iron Deficiency Anaemia Through Primary Health Care. A Guide for Health Administrators and Programme Managers, *World Health Report*, Geneva, 1989.

ZEITLIN, M. F., MEGAWANGI, R., KRAMER, E. M. and ARMSTRONG, H. C., Mothers' and Children's Intakes of Vitamin A in Rural Bangladesh, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1992, 56: 136 – 147.

ZIMMERMANN, M. B., BIEBINGER, R., ROHNER, F., DIB, A., ZEDER, C., HURRELL, R. and CHAOUKI, N., Vitamin A Supplementation in Children with Poor Vitamin A and Iron Status Increase Erythropoietin and Hemoglobin Concentrations without Changing Total Body Iron, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, 84: 580 – 586.