

KARLA VANESSA DO NASCIMENTO SILVA

**RETINOL, CAROTENOIDES E TOCOFERÓIS DO LEITE HUMANO E  
ASPECTOS ANTROPOMÉTRICOS, BIOQUÍMICOS E DIETÉTICOS DE  
NUTRIZES ADOLESCENTES E ADULTAS**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Ciência da  
Nutrição, para obtenção do título  
*Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S586r  
2014

Silva, Karla Vanessa do Nascimento, 1989-  
Retinol, carotenoides e tocoferóis do leite humano e  
aspectos antropométricos, bioquímicos e dietéticos de nutrizes  
adolescentes e adultas / Karla Vanessa do Nascimento Silva. –  
Viçosa, MG, 2014.  
xvii, 160f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Inclui apêndices.

Orientador: Juliana Farias de Novaes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Leite humano. 2. Leite materno - Valor nutritivo.  
3. Retinol. 4. Tocoferóis. 5. Carotenoides. 6. Características  
maternas. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Nutrição e Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciência da  
Nutrição. II. Título.

CDD 22. ed. 649.3

KARLA VANESSA DO NASCIMENTO SILVA

**COMPOSIÇÃO DE RETINOL, CAROTENOIDES E TOCOFERÓIS DO LEITE HUMANO E ASPECTOS ANTROPOMÉTRICOS, BIOQUÍMICOS E DIETÉTICOS DE NUTRIZES ADOLESCENTES E ADULTAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título *Magister Scientiae*.

APROVADA: 21 de fevereiro de 2014.

---

Cristiane Gonçalves de Oliveira Fialho

---

Helena Maria Pinheiro Sant'Ana  
(Coorientadora)

---

Juliana Farias de Novaes  
(Orientadora)

*"O homem nunca sabe do que é capaz, até que o  
tenta".*

*(Charles Dickens)*

## AGRADECIMENTOS

À Deus por se fazer presente em todos os momentos da minha vida, me guiando e protegendo. À Ele devo tudo o que sou e o que conquistei.

À minha querida mãe, meu exemplo de vida, e ao meu pai, por terem batalhado tanto para que eu chegasse até aqui. Agradeço a confiança, os ensinamentos e o amor incondicional.

Ao meu irmão, Israel, pelo companheirismo e suporte técnico.

Aos meus avós e padrinhos, meus anjos da guarda, pelas orações e cuidado.

À toda família pelo apoio.

Ao amado Daniel, meu porto seguro, pela dedicação e incentivo, nunca me deixando fraquejar. Agradeço por estar presente, me oferecendo segurança, conforto e amor. Obrigada pela paciência, pela força e por sempre acreditar na minha capacidade.

À Maria Alcina e toda sua família, pelo carinho.

À professora Juliana Farias de Novaes pela orientação e oportunidade de desenvolver minhas habilidades e este maravilhoso projeto.

À professora Helena Maria Pinheiro Sant'Ana, por, gentilmente, ter aberto as portas para que eu pudesse desenvolver com sucesso este trabalho.

À professora Giana Zarbato Longo por ser integrante do nosso grupo de trabalho.

À professora Maria do Carmo Gouveia Peluzio, pela atenção e espaço cedido para que as análises fossem possíveis.

À professora Sylvia do Carmo Castro Franceschini, pela consideração, direcionamentos e apoio oferecidos desde a graduação.

Ao professor Pedro Paulo do Prado Júnior e seus alunos, pelo auxílio durante as coletas.

Aos demais professores do Departamento de Nutrição e Saúde pela imensa contribuição em minha formação.

À Rita Stampini pelas gentilezas e toda ajuda ao longo desse período.

À Luiza por compartilhar todos os momentos dessa árdua coleta de dados, pelo companheirismo e dedicação.

À Marina pelo empenho, suporte e experiências compartilhadas.

À Rafaela por ser meu braço direito, pela determinação e, principalmente, pela amizade construída e solidificada nesses quase dois anos.

À toda equipe do Laboratório de Análise de Vitaminas, pela atenção e suporte oferecidos. Ao Carlos, pelas palavras de ânimo e incentivo. E, em especial, agradeço ao Leandro, por todos os ensinamentos, conselhos e paciência.

À Flávia, pela sabedoria compartilhada, dedicação e palavras de conforto nos momentos mais turbulentos.

Às companheiras de Viçosa, em especial Thanise, Jacqueline, Cássia, Lílian, Aline, Keila e Luciana Gontijo, que se fizeram presentes nos momentos de alegria, tristeza e desespero, pela solidariedade e amizade.

Às amigas de república e agregados, especialmente Meiri, Maris's, Claudinha, Luciana e Binas's, por serem como irmãs e compartilharem momentos únicos em minha vida. Agradeço pela cumplicidade e por serem degustadoras oficiais da nossa futura fábrica de chocolates!

Aos amigos de longa data, representados por Malu, Karine e Grazi, pela torcida e amizade sincera.

Aos voluntários pela disponibilidade e por possibilitaram a realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa pela realização de análises bioquímicas.

À BioClin<sup>®</sup> e Matern Milk<sup>®</sup> pela concessão de kits para análise de perfil lipídico e bombas elétricas para ordenha de leite materno, respectivamente.

À Universidade Federal de Viçosa por me proporcionar uma formação profissional de excelência.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

**O caminho até aqui não seria possível sem vocês! Muito obrigada!**

## **BIOGRAFIA**

Karla Vanessa do Nascimento Silva, filha de Carlos Roberto Silva e Neusa do Nascimento Silva, nasceu em 8 de maio de 1989, no município de Ipatinga, Minas Gerais.

Iniciou o curso de graduação em março de 2007 e graduou-se pela, Universidade Federal de Viçosa, em janeiro de 2012.

Em março deste mesmo ano ingressou no mestrado em Ciência da Nutrição pela Universidade Federal de Viçosa.

Defendeu sua dissertação em fevereiro de 2014.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE QUADROS.....</b>	<b>xi</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xvi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>1</b>
1.1. Referências Bibliográficas .....	3
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>5</b>
2.1. Leite Humano.....	5
2.1.1. Introdução .....	5
2.1.2. Importância para Saúde .....	5
2.1.3. Fisiologia da lactação .....	8
2.2. Composição do leite humano .....	9
2.2.1. Macronutrientes.....	11
2.2.2. Micronutrientes.....	13
2.3. Variação das concentrações de vitaminas lipossolúveis e carotenoides no leite.....	22
2.4. Gravidez na adolescência .....	23
2.5. Referências Bibliográficas .....	27
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>35</b>
3.1. Geral.....	35
3.2 Específicos.....	35
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>36</b>
4.1. Apresentação.....	36
4.2. População do estudo .....	36
4.3. Desenho do estudo.....	37
4.4. Entrevista estruturada.....	38
4.5. Avaliação antropométrica e da composição corporal .....	39
4.6. Avaliação dietética.....	42
4.7. Análises bioquímicas .....	44
4.7.1. Coleta e preparo das amostras .....	44
4.7.2. Hemograma completo .....	44

4.7.3. Perfil lipídico .....	45
4.7.4. Determinação do retinol, carotenoides e tocoferóis .....	45
4.8. Análises estatísticas .....	48
4.9. Retorno às voluntárias .....	49
4.10. Referências.....	50
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>53</b>
5.1. Caracterização da população .....	53
5.2. Artigo de Revisão.....	67
5.1. Artigo Original 1.....	89
5.2. Artigo Original 2.....	114
<b>6. CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>136</b>
<b>7. APÊNDICES.....</b>	<b>137</b>
APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido .....	137
APÊNDICE B – Questionário estruturado (1º e 2º encontros).....	138
APÊNDICE C – Recordatório alimentar de 24 horas.....	142
APÊNDICE D – Questionário de frequência de consumo alimentar.....	143
APÊNDICE F – Folhetos de orientação para as nutrizes .....	151
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>156</b>
ANEXO A – Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos .....	156
ANEXO B - Critério de Classificação Econômica .....	157

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%GC	Percentual de gordura corporal
%	Percentual
$\bar{X}$	Média
~	Aproximadamente
±	Mais ou menos
α-TTP	Proteína transportadora de α-tocoferol
µg	Micrograma
µL	Microlitro
Mm	Micrômetro
µmol	Micromol
8-oxodG	8-hidroxi-2-deoxiguanosina
ABEP	Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
AIG	Adequado para idade gestacional
AME	Aleitamento materno exclusivo
ANOVA	Análise de Variância
ARAT	<i>Acyl CoA: Retinol Acyltransferase</i>
BAP	<i>Biological Antioxidant Potential</i>
BHT	Butilhidroxitolueno
BVS	Biblioteca Virtual em Saúde Pública
CAT	Capacidade antioxidante total
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
Cm	Centímetros
CRBP	<i>Cellular Retinol Binding Protein</i>
CT	Colesterol Total
DAD	Arranjo de diodos
DCB	Dobra cutânea bicipital
DCSE	Dobra cutânea subescapular
DCSI	Dobra cutânea suprailíaca
DCT	Dobra cutânea tricípital
DeCS	Descritores em Ciências da Saúde
dL	Decilitro
DP	Desvio-padrão
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
DRI's	<i>Dietary Reference Intakes</i>
DVA	Deficiência de vitamina A
EAR	Necessidade média estimada
EDTA	Polipropileno contendo ácido etilenodiamino tetra-acético
ESF	Estratégias de Saúde da Família
ESR	<i>Electron spin resonance</i>
FOS	Fruto-oligossacarídeos
FRAP	<i>Ferric reducing antioxidant power</i>
G	Gramas
G	Força centrífuga relativa
GIG	Grande para idade gestacional
GLC	Cromatografia líquida-gasosa
GOS	Galato-oligossacarídeos
GSH	Glutathiona

HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
HSS	Hospital São Sebastião
IEO	Índice de estresse oxidativo
IMC	Índice de massa corporal
kcal	Quilocaloria
kg	Quilograma
L	Litro
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Leite humano
<i>LILACS</i>	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
LPL	Lipases Lipoprotéicas
LRAT	<i>Lecithin: Retinol Acyltransferase</i>
m	Metro
m <sup>2</sup>	Metros quadrados
MDA	Malonaldeído
<i>MEDLINE</i>	<i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
mg	Miligrama
MG	Minas Gerais
Min	Minutos
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mmHg	Milímetros de Mercúrio
mmol	Milimol
n	Amostra
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
nm	Nanômetros
O <sup>2</sup>	Oxigênio
°C	Graus celsius
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORAC	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>
o-Tyr	orto-tirosina
P	Nível de significância estatística
PB	Perímetro do braquial
Phe	fenilalanina
PIG	Pequenos para idade gestacional
PT	Peróxido total
QFCA	Questionário de frequência de consumo alimentar
R24H	Recordatórios de 24 horas
RBP	<i>Retinol Binding Protein</i>
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TG	Triglicerídeos
TTP	<i>Tocopherol-Transfer Protein</i>
UFV	Universidade Federal de Viçosa
VCM	Volume corpuscular médio
VLDL-c	Lipoproteína de muito baixa densidade
vs	<i>Versus</i>
WHO	World Health Organization
2 dG	2'-deoxiguanosina

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1** - Estrutura química do retinol. **14**
- Figura 2** - Estrutura dos carotenoides pró-vitamina A e não pró-vitamina A. **17**
- Figura 3** - Estrutura química das diferentes formas de Vitamina E. **20**

### MATERIAIS E MÉTODOS

- Figura 1** - Fluxograma de recrutamento das participantes do estudo. **37**
- Figura 2** - Procedimentos adotados para a coleta de dados. **38**

### RESULTADOS

#### Caracterização da população

- Figura 1** - Percentuais médios de consumo de macronutrientes em relação ao valor energético total, segundo recordatório alimentar de 24 horas das nutrizes segundo idade, do município de Viçosa-MG, 2013. **61**

#### Artigo de Revisão

- Figura 1** - Etapas do processo de revisão sistemática. **71**

#### Artigo Original 1

- Figura 1** - Fluxograma de recrutamento das participantes do estudo. **93**

### APÊNDICES

- Figura 1** - Perfis cromatográficos do retinol no leite humano (A) e plasma materno (B), e padrão de retinol (C), por cromatografia líquida de alta eficiência. **146**
- Figura 2** - Perfis cromatográficos dos carotenoides no leite humano (A) e plasma materno (B), e padrão de luteína (C), por cromatografia líquida de alta eficiência. **147**
- Figura 3** - Perfis cromatográficos do padrão de  $\alpha$ -caroteno (A) e padrão de  $\beta$ -caroteno (B), por cromatografia líquida de alta eficiência. **148**
- Figura 4** - Perfis cromatográficos dos tocoferóis no leite humano (A) e plasma materno (B), e padrão de  $\delta$ -tocoferol (C), por cromatografia líquida de alta eficiência. **149**
- Figura 5** - Perfis cromatográficos do padrão de  $\alpha$ -tocoferol (A) e padrão de  $\gamma$ -tocoferol (B), por cromatografia líquida de alta eficiência. **150**

## LISTA DE QUADROS

### MATERIAIS E MÉTODOS

<b>Quadro 1</b> - Classificação do índice de massa corporal (IMC) e ganho de peso esperado para gestantes.	<b>39</b>
<b>Quadro 2</b> - Pontos de corte e classificação do estado nutricional segundo o índice de massa corporal (IMC).	<b>40</b>
<b>Quadro 3</b> - Estado nutricional segundo o perímetro braquial	<b>40</b>
<b>Quadro 4</b> - Valores de referência para o perfil lipídico de adolescentes e adultas.	<b>48</b>
<b>Quadro 5</b> - Pontos de corte para as concentrações de carotenoides no sangue.	<b>48</b>

### RESULTADOS

#### Artigo de Revisão

<b>Quadro 1</b> - Síntese dos estudos selecionados sobre o conteúdo antioxidante do leite humano.	<b>73</b>
<b>Quadro 2</b> - Métodos analíticos e especificações dos estudos selecionados para a revisão.	<b>80</b>

## LISTA DE TABELAS

### RESULTADOS

#### Caracterização da população

<b>Tabela 1</b> - Características das nutrizes e dos recém-nascidos do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>54</b>
<b>Tabela 2</b> - Condições de nascimento dos lactentes, estado nutricional pré-gestacional e ganho de peso gestacional das nutrizes do município de Viçosa-MG.	<b>55</b>
<b>Tabela 3</b> - Caracterização demográfica, socioeconômica e sanitária das nutrizes e de seus domicílios no município de Viçosa-MG, 2013.	<b>56</b>
<b>Tabela 4</b> - Distribuição média das medidas antropométricas e de composição corporal das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>57</b>
<b>Tabela 5</b> - Avaliação antropométrica das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>58</b>
<b>Tabela 6</b> - Exames bioquímicos das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>59</b>
<b>Tabela 7</b> - Composição de retinol, tocoferóis e carotenoides do leite humano de nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>60</b>
<b>Tabela 8</b> - Composição de retinol, tocoferóis e carotenoides do plasma de nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>60</b>
<b>Tabela 9</b> - Ingestão de macronutrientes e energia, de acordo com recordatório alimentar de 24 horas das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>61</b>
<b>Tabela 10</b> - Ingestão dietética das vitaminas A e E, e carotenoides, de acordo com recordatório alimentar de 24 horas e questionário de frequência de consumo alimentar das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>62</b>
<b>Tabela 11</b> - Correlações entre as vitaminas A, E e carotenoides do leite humano e plasma de nutrizes adolescentes e adultas do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>63</b>
<b>Tabela 12</b> - Correlações entre as vitaminas A, E e carotenoides do leite humano e da ingestão dietética (recordatório alimentar de 24 horas e questionário de frequência de consumo alimentar), de nutrizes adolescentes e adultas do município de Viçosa-MG, 2013..	<b>64</b>
<b>Tabela 13</b> - Correlações entre as vitaminas A, E e carotenoides do plasma e da ingestão dietética (recordatório alimentar de 24 horas e questionário de frequência de consumo alimentar), de nutrizes adolescentes e adultas do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>64</b>
<b>Tabela 14</b> - Correlações significativas entre os nutrientes do leite e do plasma de nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>65</b>
<b>Tabela 15</b> - Correlações significativas entre os nutrientes do leite e plasma das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>66</b>

#### Artigo de Revisão

<b>Tabela 1</b> - Combinações dos descritores e número de publicações identificadas.	<b>70</b>
--	-----------

<b>Artigo Original 1</b>	
<b>Tabela 1</b> - Características das nutrizes e dos recém-nascidos do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>98</b>
<b>Tabela 2</b> - Ingestão dietética das vitaminas A, E e carotenoides, de acordo com recordatório alimentar de 24 horas e questionário de frequência de consumo alimentar das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>99</b>
<b>Tabela 3</b> - Concentração de retinol, carotenoides e tocoferóis do leite humano de nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>100</b>
<b>Tabela 4</b> - Correlações significativas entre os nutrientes do leite e do plasma de nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>101</b>
<b>Artigo Original 2</b>	
<b>Tabela 1</b> - Características gerais das nutrizes e dos recém-nascidos, do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>123</b>
<b>Tabela 2</b> - Concentrações de retinol e carotenoides no leite humano segundo variáveis socioeconômicas, bioquímicas e nutricionais de nutrizes adolescentes, do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>125</b>
<b>Tabela 3</b> - Concentrações de retinol e carotenoides no leite humano segundo variáveis socioeconômicas, bioquímicas e nutricionais de nutrizes adultas, do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>126</b>
<b>Tabela 4</b> - Concentrações de tocoferóis no leite humano segundo variáveis socioeconômicas, bioquímicas e nutricionais de nutrizes adolescentes e adultas, do município de Viçosa-MG, 2013.	<b>127</b>

## RESUMO

SILVA, Karla Vanessa do Nascimento, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2014. **Retinol, carotenoides e tocoferóis do leite humano e aspectos antropométricos, bioquímicos e dietéticos de nutrizes adolescentes e adultas.** Orientadora: Juliana Farias de Novaes. Coorientadoras: Helena Maria Pinheiro Sant'Ana e Giana Zarbato Longo.

O leite humano é a fonte nutricional recomendada para promoção da saúde das crianças, capaz de fornecer todos os nutrientes essenciais para garantir o adequado crescimento e desenvolvimento. Dentre os constituintes do leite, destacam-se as vitaminas A e E, e carotenoides por apresentarem um importante potencial antioxidante e contribuírem para o fortalecimento do sistema imunológico dos lactentes. A idade materna é um dos fatores que pode influenciar o conteúdo de nutrientes do leite, aumentando os riscos de deficiências nutricionais para o bebê. O objetivo do presente estudo foi analisar a composição de retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano e plasma materno, bem como os aspectos antropométricos, bioquímicos e dietéticos de nutrizes adolescentes e adultas do município de Viçosa, Minas Gerais. Trata-se de um estudo transversal com nutrizes e seus respectivos lactentes com idade entre 30 e 180 dias. Procedeu-se com aplicação de questionário estruturado e de inquéritos dietéticos, avaliação antropométrica e de composição corporal, e análises bioquímicas do leite humano e plasma materno. A amostra foi composta por 30 nutrizes adolescentes ( $17,5 \pm 1,5$  anos) e 30 adultas ( $27,4 \pm 5,0$  anos), segundo idade pós-parto e condição socioeconômica. Em comparação ao grupo das adultas, nutrizes adolescentes apresentaram valores inferiores para escolaridade, renda familiar *per capita*, idade ginecológica, número de gestações, número de consultas pré-natal, IMC pré-gestacional ( $P < 0,05$ ). Pelos recordatórios alimentares de 24 horas houve consumo inferior de lipídios totais, vitamina A,  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno pelas adolescentes ( $P < 0,05$ ), e 100% de prevalência de ingestões inadequadas de vitaminas, por ambos os grupos. Pelo questionário de frequência de consumo alimentar, adolescentes também apresentaram menor consumo de  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno. Nutrizes adultas apresentaram valores médios superiores de IMC, dobras cutâneas tricipital, subescapular e supraílica, gordura central, percentual de gordura corporal e perímetro braquial ( $P < 0,05$ ). Foi identificado maior percentual de baixo peso

entre as nutrizes adolescentes em oposição a maior proporção de sobrepeso e obesidade no grupo das adultas ( $P < 0,05$ ). As medidas antropométricas dos lactentes não diferiram entre os dois grupos. A análise bioquímica indicou valores inferiores de colesterol total, lipoproteína de alta densidade, retinol,  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno no sangue das nutrizes adolescentes ( $P < 0,05$ ). Para adolescentes e adultas, respectivamente, as concentrações de retinol ( $1,31 \pm 0,96$  vs  $1,12 \pm 0,56$   $\mu\text{mol/L}$ ),  $\alpha$ -caroteno ( $0,002 \pm 0,003$  vs  $0,003 \pm 0,003$   $\mu\text{mol/L}$ ),  $\beta$ -caroteno ( $0,16 \pm 0,06$  vs  $0,16 \pm 0,04$   $\mu\text{mol/L}$ ), luteína+zeaxantina ( $0,30 \pm 0,16$  vs  $0,27 \pm 0,14$   $\mu\text{mol/L}$ ),  $\alpha$ -tocoferol ( $3,80 \pm 1,14$  vs  $3,65 \pm 1,10$   $\mu\text{mol/L}$ ) e  $\gamma$ -tocoferol ( $1,01 \pm 0,42$  vs  $0,85 \pm 0,45$   $\mu\text{mol/L}$ ) no leite humano não apresentaram diferença estatística ( $P < 0,05$ ). O  $\gamma$ -tocoferol do leite foi o único nutriente que se correlacionou positivamente com as concentrações plasmáticas. Nenhuma correlação foi encontrada entre os nutrientes do leite e a ingestão dietética das nutrizes. Em contrapartida, retinol,  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina plasmáticos associaram-se positivamente ao consumo alimentar, calculado por ambos os inquéritos. Diversas correlações foram identificadas entre as concentrações dos nutrientes no leite e no plasma, para adolescentes e adultas. Concluiu-se que as concentrações de nutrientes do leite independem de fatores como a idade, estado nutricional e ingestão alimentar materna. O aconselhamento dietético faz-se necessário para promover melhoria dos hábitos alimentares e do estado nutricional das nutrizes, principalmente de adolescentes.

## ABSTRACT

SILVA, Karla Vanessa do Nascimento, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2014. **Retinol, carotenoids and tocopherols in human milk and anthropometric, biochemical and dietary aspects of lactating adolescent and adult.** Advisor: Juliana Farias de Novaes. Co-advisors: Helena Maria Pinheiro Sant'Ana and Giana Zarbato Longo.

Human milk is the recommended nutritional source for the promotion of infant's health, able to provide all the essential nutrients to adequately promote growth and development. Among the components of milk, there is vitamin A and E, and carotenoids that presents an important antioxidant potential and contribute to strengthening the infant's immune system. Maternal age is a factor that can influence the milk's nutritional content, increasing the risk of nutritional deficiencies for the baby. The objective of this study was to analyze the composition of retinol, carotenoids and tocopherols in human milk as well as anthropometric, biochemical and dietary aspects of lactating adolescent and adult the municipality of Viçosa. This is a cross-sectional study with lactating mothers and their infants aged in between 30 and 180 days. The assessment included a structured questionnaire, dietary surveys, anthropometric and body composition, and biochemical analyze of human milk and maternal plasma. The sample consisting of 30 lactating adolescents ( $17.5 \pm 1.5$  years) and 30 lactating adults ( $27.4 \pm 5.0$  years), matched according to time postpartum and socioeconomic status. Compared to the group of adults, lactating adolescents showed lower levels of education, family income, gynecological age, number of pregnancies, number of prenatal visits, and pre-pregnancy body mass index ( $P < 0.05$ ). Dietary intake assessed according to the 24-hour dietary recalls showed lower consumption of total fat, vitamin A,  $\alpha$  and  $\beta$ -carotene by adolescents ( $P < 0.05$ ). Both groups presented 100% inadequate intake of vitamins. Adult lactating women had higher mean values of body mass index, triceps, subscapular and suprailiac skinfolds, central fat, body fat percentage and mid-arm circumference. Overall, a high percentage of lactating teenage mothers were underweight while lactating adults had a higher amount of overweight and obesity ( $P < 0,05$ ). Anthropometric measurements of infants didn't differ statistically between the two groups. Biochemical analysis indicated lower levels of total cholesterol, high-density lipoprotein, retinol,  $\alpha$ -tocopherol

and  $\beta$ -carotene in the blood of lactating adolescents ( $P < 0.05$ ). For adolescents and adults, respectively, the concentrations of retinol ( $1.31 \pm 0.96$  vs  $1.12 \pm 0.56$   $\mu\text{mol/L}$ ),  $\alpha$ -carotene ( $0.002 \pm 0.003$  vs  $0.003 \pm 0.003$   $\mu\text{mol/L}$ ),  $\beta$ -carotene ( $0.16 \pm 0.06$  vs.  $0.16 \pm 0.04$   $\mu\text{mol/L}$ ), lutein + zeaxanthin ( $0.30 \pm 0.16$  vs.  $0.27 \pm 0.14$   $\mu\text{mol/L}$ ),  $\alpha$ -tocopherol ( $3.80 \pm 1.14$  vs.  $3.65 \pm 1.10$   $\mu\text{mol/L}$ ) and  $\gamma$ -tocopherol ( $1.01 \pm 0.42$  vs.  $0.85 \pm 0.45$   $\mu\text{mol/L}$ ) were similar in human milk ( $P < 0,05$ ). The  $\gamma$ -tocopherol in milk was the only nutrient that was positively correlated with plasma concentrations. No association was found between nutrients and dietary intake in the milk of lactating mothers. In contrast, retinol,  $\beta$ -carotene and lutein + zeaxanthin plasma were positively associated with dietary intake, calculated by both surveys. Various correlations were found between the concentrations of nutrients in milk and plasma, for adolescents and adult. The results suggested that the nutrients in milk do not depend on factors such as age or nutritional status in relation to maternal nutrition and dietary intake. However, dietary counseling should be promoted for the sake of developing better dietary habits for the mothers, especially among teenage mothers.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O leite humano é o único alimento capaz de atender, de maneira adequada, todas as peculiaridades fisiológicas do metabolismo dos lactentes, devendo ser oferecido exclusivamente até o 6º mês de vida<sup>1,2</sup>. Além dos nutrientes necessários para suprir as demandas nutricionais do recém-nascido, fornece diversos fatores de defesa que irão contribuir para o fortalecimento do sistema imunológico<sup>3</sup>. Somam-se aos benefícios do aleitamento materno a consolidação do vínculo emocional entre mãe e filho<sup>2</sup>.

A composição do leite materno é extremamente complexa, sendo constituída predominantemente por uma fração aquosa, e em menores proporções, aparecem as emulsões lipídicas, as dispersões coloidais de moléculas de caseína, as membranas dos glóbulos de gordura e células vivas<sup>4</sup>.

O leite materno apresenta intensa atividade antioxidante pela presença de compostos bioativos com capacidades variadas de neutralizar radicais livres e espécies reativas de oxigênio<sup>5,6</sup>. Dentre os componentes que desempenham esta função encontram-se as vitaminas lipossolúveis A e E, e os carotenoides<sup>5-7</sup>.

A vitamina A desempenha várias funções no organismo, sendo importante para a visão, expressão gênica, proliferação celular, reprodução e imunidade<sup>8,9</sup>. Alguns carotenoides têm despertado interesse de pesquisadores por exercerem atividade pró-vitamínica A e atividade antioxidante<sup>10,11</sup>. A vitamina E é reconhecida como o principal antioxidante lipossolúvel, mas atua também na inibição da proliferação celular, agregação plaquetária e adesão de monócitos<sup>8,10,11</sup>.

Vários fatores podem afetar a concentração de vitaminas do leite humano, sendo considerados os mais importantes a ingestão materna e estado nutricional em relação aos nutrientes<sup>1,4,12</sup>. Variações na composição do leite também podem ser atribuídas a fase da lactação, horário do dia, esvaziamento da mama, hábitos alimentares, idade materna, paridade, composição corporal e fatores socioeconômicos<sup>1,4,12-15</sup>.

Nutrizas adolescentes compõem um grupo mais susceptível a complicações clínicas e nutricionais, devido ao seu processo de crescimento e imaturidade biológica<sup>16</sup>. A gravidez na adolescência é identificada como um dos

grandes problemas de saúde pública e cuidados pela maior probabilidade de repercussões negativas sobre a mãe e o conceito<sup>16-20</sup>.

Hábitos alimentares inadequados comuns a adolescentes, caracterizados pela elevada ingestão energética e baixo consumo de micronutrientes, também contribuem para o aumento dos riscos nutricionais inerentes ao grupo materno infantil<sup>19,21</sup>.

Apesar da escassez de pesquisas sobre as concentrações de vitaminas e carotenoides no leite de lactantes adolescentes, alguns estudos demonstraram concentrações inferiores desses nutrientes no leite destas mulheres<sup>22,23</sup>. Diante disso, reconhece-se a importância da obtenção de maiores informações a respeito das possíveis diferenças existentes entre as concentrações de vitaminas e carotenoides no leite de nutrizes adolescentes e adultas.

## 1.1. Referências Bibliográficas

1. INSTITUTE OF MEDICINE. **Nutrition during lactation**. Washington, DC: National Academy Press, 1996.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Cadernos de Atenção Básica: **Carências de Micronutrientes**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2007.
3. JACKSON, K.M.; NAZAR, A.M. Breastfeeding, the immune response, and long-term health. **The Journal of the American Osteopathic Association**, v.106, n.4, p.203-207, 2006.
4. PICCIANO, M.F. Nutrient Composition of Human Milk. **Pediatric Clinics of North America**, v.48, n.1, p.53-67, 2001.
5. SHOJI, H. et.al. Suppressive effects of breast milk on oxidative DNA damage in very low birthweight infants. **Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition**, v.89, n.2, p.136-138, 2004.
6. FIELD, C.F. The Immunological Components of Human Milk and Their Effect on Immune Development in Infants. **Journal of Nutrition**, v.135, n.1, p.1-4, 2005.
7. KASAPOVIĆ, J. et al. Superoxide dismutase activity in colostrum, transitional and mature human milk. **The Turkish Journal of Pediatrics**, v.47, n.4, p.343-347, 2005.
8. PENTEADO, M.V.C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2003.
9. RUCKER, R.B. et al. **Handbook of vitamins**. 3. ed. New York: Marcel Dekker Inc, 2001.
10. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press, 2000.
11. COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 3. Ed. Barueri, SP: Manole, 2011.
12. JENSEN, R.G. **Handbook of milk composition**. Washington, DC: National Academy Press, 1995.
13. WORTHINGTON-ROBERTS, B.S; WILLIAMS, S.R. **Nutrition in pregnancy and lactation**. 6. ed. St.Louis: Mosby, 1993.
14. SOUZA, G. et al. Concentração de vitamina A no leite humano maduro. **Jornal de Pediatria**, v.88, n.6, p.496-502, 2012.

15. MELLO NETO J. et al. The influence of maternal factors on the concentration of vitamin A in mature breast milk. **Clinical Nutrition**, v.28, n.2, p.178-181, 2009.
16. DIMENSTEIN, R. et al. Concentração de alfa-tocoferol no soro e colostro materno de adolescentes e adultas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.32, n.6, p.267-272, 2010.
17. VIELLAS, O.E F.; GAMA, S.G.N.; SILVA, C.M.F.P. Gravidez na adolescência e outros fatores de risco para mortalidade fetal e infantil no Município do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.26, n.3, p.567-578, 2010.
18. AZEVEDO, G.D. et al. Efeito da Idade Materna sobre os Resultados Perinatais. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.24, n.3, p.181-185, 2002.
19. PRIORE, S.E. et al. **Nutrição e saúde na adolescência**. 1. ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2010.
20. FARIA, C.E. et al. Características das mães adolescentes e de seus recém-nascidos e fatores de risco para a gravidez na adolescência em Campinas, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.6, n.4, p.419-426, 2006.
21. BARROS, D.C. et al. O consumo alimentar de gestantes adolescentes no Município do Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, v.20, n.1. p.121-129, 2004.
22. PRESTA, F.M.P. **Composição do leite materno em vitamina A, carotenóides e vitamina E: relação com o estado nutricional e características maternas**. 2001. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2001.
23. AZEREDO, V.B.; TRUGO, N.M. Retinol, carotenoids, and tocopherols in the milk of lactating adolescents and relationships with plasma concentrations. **Nutrition**, v.24, n.2, p.133-139, 2008.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Leite Humano**

#### **2.1.1. Introdução**

O leite materno é um fluido biológico de coloração esbranquiçada, altamente complexo, que contém todos os nutrientes essenciais para o crescimento e desenvolvimento do recém-nascido<sup>1-4</sup>.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o aleitamento materno exclusivo (AME) nos primeiros 6 meses de vida do lactente, devendo, a partir desta idade, receber alimentos complementares, mas mantendo o aleitamento materno até os dois anos<sup>2</sup>.

Apesar das evidências científicas comprovarem a superioridade da amamentação quando comparada às demais formas de alimentação da criança como fórmulas infantis ou outros tipos de leite, as taxas de AME no Brasil ainda estão muito inferiores ao desejado<sup>3</sup>.

O Ministério da Saúde realizou, em 2008, a “II Pesquisa de Prevalência de Aleitamento Materno nas Capitais Brasileiras e Distrito Federal”, com o objetivo de verificar a situação da amamentação e alimentação complementar no Brasil<sup>4</sup>. Neste estudo, foi encontrada prevalência de 42% de AME em menores de 6 meses e a mediana de apenas 54,1 dias (1,8 meses)<sup>4</sup>.

Portanto, as práticas adequadas de alimentação, bem como o conhecimento dos benefícios do leite humano são de fundamental importância para a saúde e nutrição dos lactentes<sup>6</sup>.

#### **2.1.2. Importância para Saúde**

O leite materno apresenta vários benefícios para o binômio mãe-filho pois, além de proporcionar nutrientes indispensáveis nos primeiros meses de vida, ele contém componentes biológicos que contribuem para a proteção da saúde do lactente, como anticorpos, enzimas e hormônios, além de vantagens emocionais, dentárias, socioeconômicas e para a saúde da nutriz<sup>3,5-9</sup>.

### **2.1.2.1. Redução da morbidade e mortalidade infantil**

O sistema imunológico dos recém-nascidos é imaturo e as propriedades anti-infecciosas conferidas pelo leite materno favorecem a proteção contra infecções que comumente afetam essa faixa etária<sup>10,11</sup>. Além de anticorpos, outros componentes como as proteínas (lactoferrina, lisozima e caseína), lipídios, oligossacarídeos, enzimas, prostaglandinas, fatores de crescimento e hormônios auxiliam na modulação do sistema imunológico<sup>10,11</sup>.

Estudos em países desenvolvidos e em desenvolvimento fornecem fortes evidências da redução da incidência de um grande número de doenças como diarreia, otite, meningite bacteriana, infecções no trato gastrointestinal, respiratório e urinário, enterocolite necrosante, doença celíaca e dermatite atópica<sup>3,9,12</sup>.

Estimativas indicam que a amamentação exclusiva até o sexto mês de vida da criança poderia evitar cerca de 13% das mortes preveníveis em crianças menores de 5 anos em todo o mundo, sendo considerada a estratégia isolada com maior impacto neste sentido<sup>13</sup>.

### **2.1.2.2. Efeitos preventivos a longo prazo**

Investigações têm demonstrado a amamentação como fator de proteção contra determinadas doenças na infância e na vida adulta, como risco de obesidade, hipertensão arterial, dislipidemias, diabetes *mellitus* tipo 1 e 2, asma, linfoma e leucemia<sup>3,9,10,12,14</sup>.

A OMS publicou uma revisão sistemática englobando evidências sobre os efeitos a longo prazo do leite materno<sup>14</sup>. Os autores identificaram que indivíduos amamentados apresentaram valores inferiores para pressão sistólica (-1,21 mmHg) e diastólica (-0,59 mmHg), e para a concentração sanguínea de colesterol total (-0,18 mmol/L)<sup>14</sup>. O mesmo estudo sugeriu que a amamentação pode ter um pequeno efeito protetor sobre o risco de diabetes *mellitus* tipo 2 e prevalência de obesidade, e pode ainda favorecer o desenvolvimento cognitivo<sup>14</sup>.

### **2.1.2.3. Vantagens para saúde bucal**

Os movimentos que o bebê realiza durante a sucção têm efeitos positivos na saúde fonoaudiológica, proporcionando um melhor desenvolvimento craniofacial e motor-oral do recém-nascido<sup>3,15</sup>. Como consequência, o desmame precoce pode prejudicar as funções de mastigação, deglutição, respiração e articulação dos sons da fala, e ainda ocasionar má-oclusão dentária<sup>15</sup>.

### **2.1.2.4. Benefícios para a nutriz**

Os benefícios para a mulher incluem a diminuição do sangramento pós-parto e involução uterina mais rápida, atribuídos ao aumento das concentrações de ocitocina<sup>9,10,12</sup>.

Stuebe e colaboradores<sup>16</sup> descreveram uma melhor homeostase da glicose em nutriz, e associação inversa entre a duração do aleitamento e incidência de diabetes tipo 2 em mulheres norte-americanas jovens e de meia idade.

Pesquisas indicam riscos mais elevados de câncer de mama e de ovário em mulheres que não amamentaram, e os mesmos se associam inversamente com a duração da prática<sup>10,17,18</sup>. Estima-se que o risco de contrair a primeira doença diminua cerca de 4,3% a cada 12 meses de duração do aleitamento, independente da etnia, paridade e estado menopausal<sup>17,18</sup>.

### **2.1.2.5. Vínculo afetivo entre mãe e filho**

A amamentação traz benefícios psicológicos para a mãe e o bebê, o contato contínuo entre ambos provavelmente fortalece os laços afetivos<sup>3</sup>. O ato oportuniza intimidade, sentimento de segurança para a criança, autoconfiança e realização da mulher<sup>3</sup>.

### **2.1.2.6. Menores custos financeiros**

Além dos benefícios para a saúde do lactente e da nutriz, vantagens econômicas, familiares e ambientais têm sido descritas<sup>9,12</sup>. Estes benefícios incluem redução dos custos anuais com os cuidados com a saúde e programas de saúde pública, absenteísmo e perda associada à renda familiar<sup>9,12</sup>. Também há diminuição concomitante da carga ambiental, pelo menor descarte de embalagens de papinhas e mamadeiras, e menores gastos com o transporte da alimentação infantil<sup>12</sup>.

Em 2004, no Brasil, uma pesquisa indicou que o gasto médio mensal destinado a compra de leite para alimentar bebês nos 6 primeiros meses variou entre 38% e 133% do salário mínimo vigente na época, dependendo da marca do produto<sup>3</sup>. Quando acrescidos os gastos com mamadeiras, bicos e gás de cozinha, a prática de não amamentar pode significar sacrifícios para uma família com baixo nível socioeconômico<sup>3</sup>.

### **2.1.3. Fisiologia da lactação**

A glândula mamária consiste em células produtoras de leite e um sistema condutor incorporado ao tecido conjuntivo e adiposo<sup>18</sup>. Em mulheres adultas cada mama possui entre 15 e 20 lobos mamários, e dentro de cada um, há lóbulos com conjuntos de alvéolos, circundados por células mioepiteliais que se contraem em resposta à liberação da ocitocina<sup>10</sup>. O leite produzido nos alvéolos passa para os seios lactíferos até ser expelido da mama<sup>3,10</sup>.

A mamogênese inicia-se ainda na fase fetal, se estende até a puberdade e é retomada no início da gravidez<sup>18,19</sup>. Em recém-nascidos as glândulas mamárias desenvolvem-se o suficiente para aparecer como distintas elevações<sup>19</sup>. Com o início da puberdade e durante a adolescência os ductos mamários alongam-se e ocorre proliferação celular do epitélio, acompanhados pelo crescimento do tecido fibroso e adiposo periductal<sup>18,19</sup>. Neste momento a aréola e o mamilo também crescem e se tornam pigmentados<sup>18</sup>.

Durante a gravidez, a mama é preparada para amamentação sob ação de diferentes hormônios, destacando-se a atuação do estrogênio, progesterona e prolactina placentária, além de outros fatores de crescimento que também

são responsáveis pela fase final do crescimento e maturação da glândula mamária<sup>20,21</sup>.

A produção e secreção do leite dão-se pelo processo de lactogênese, o qual é dividido em dois estágios<sup>20</sup>. O primeiro compreende o preparo para a amamentação durante o segundo trimestre da gestação, com desenvolvimento das ramificações dos ductos lactíferos, hipertrofia e hiperplasia da mama, aumento do tecido adiposo e vascularização, e estímulo para a produção do colostro<sup>18-20</sup>. O leite não é produzido e secretado nesse período pela ação das altas concentrações de progesterona<sup>18-20</sup>. O segundo estágio ocorre logo após o nascimento do bebê e a expulsão da placenta, com a redução das concentrações de progesterona e aumento de prolactina<sup>18-20</sup>.

O volume de leite secretado nas primeiras horas é muito pequeno, e o incentivo da lactação desde os primeiros momentos após o parto é fundamental para o estabelecimento da oferta adequada para o lactente<sup>18</sup>. O bom desempenho da lactação depende de fatores como o posicionamento correto da criança, frequência e quantidade das mamadas, e cuidados com a mama<sup>21</sup>.

Outras características infantis como peso ao nascer, força para sugar, idade gestacional, presença de enfermidades e características maternas como idade, paridade, estado psicológico, uso de substâncias e estado nutricional, podem afetar a produção e o volume do leite humano<sup>21</sup>.

## **2.2. Composição do leite humano**

O leite humano é um fluido biológico altamente complexo, constituído por uma fase aquosa (87%), emulsões de glóbulos de gordura (4%), dispersões coloidais de moléculas de caseína (0,3%), membranas de glóbulos de gordura e células vivas<sup>22</sup>.

Modificações na composição do leite ao longo da lactação são mais acentuadas nas primeiras semanas de lactação<sup>21</sup>. O colostro é o fluido secretado imediatamente após o parto e apresenta coloração amarelada indicando elevada concentração de carotenoides (aproximadamente de 10 vezes mais em relação ao leite maduro)<sup>18,21</sup>. Sua secreção dura entre 4 a 7

dias, durante os quais ocorrem rápidas mudanças em sua composição, como o aumento de gordura e lactose e redução de proteínas e minerais<sup>3,18,21</sup>.

O leite que o sucede é o de transição (entre 7 e 21 dias pós-parto), quando as modificações prosseguem mais lentamente<sup>21</sup>. A partir do 21º, o leite é considerado maduro e ainda apresenta variabilidade, mas em menor intensidade em relação ao início da lactação, tem coloração mais esbranquiçada e aspecto mais consistente<sup>21</sup>.

Os constituintes do leite maduro podem ser divididos nas seguintes categorias: proteínas, compostos nitrogenados não proteicos, carboidratos, lipídios, vitaminas hidrossolúveis e lipossolúveis, minerais e células<sup>21,22</sup>.

Para a secreção dos diversos constituintes do leite, cada composto ou grupo segue um caminho específico de absorção ou síntese, e secreção, regulados por fatores hormonais, de desenvolvimento e fisiológicos<sup>23</sup>.

Existem 5 processos descritos para a síntese e secreção dos componentes nas células alveolares para a produção do leite, sendo 4 deles transcelulares (exocitose, síntese e secreção de lipídios, via transcitótica e de transporte pela membrana apical) e 1 paracelular<sup>21,23</sup>.

A **exocitose** é o principal mecanismo para a secreção de proteínas, água, lactose, oligossacarídeos, fosfato, cálcio e citrato, pelas células alveolares<sup>18,23,24</sup>. Essas substâncias são embaladas em vesículas secretadas pelo complexo de Golgi e transportadas para região apical das células, onde se fundem com a membrana plasmática e liberam o conteúdo dentro do espaço extracelular<sup>18,23,24</sup>.

A **síntese e secreção lipídica** ocorre pela capacidade de síntese, armazenamento e secreção de gorduras que as células epiteliais mamárias possuem<sup>18,23,24</sup>. Ácidos graxos e glicerol provenientes do sangue ou sintetizados pelas próprias células são utilizados como substratos para a produção principalmente de triglicerídeos e fosfolipídios no retículo endoplasmático liso<sup>18,23,24</sup>. Essas moléculas se aglutinam e deslocam em direção ao ápice da célula, onde são envoltas por uma membrana e secretadas por um processo de brotamento<sup>18,23,24</sup>. Como as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e os carotenoides encontram-se associados a estes glóbulos de gordura no leite, esses nutrientes também são secretados no por meio desta via<sup>25</sup>.

A **via transcitótica** envolve captação endocítica de substâncias na membrana basal, formação e maturação de endossomos e posterior transporte até a membrana apical da célula<sup>18,23,24</sup>. As imunoglobulinas são os componentes provenientes desse tipo de transporte melhor compreendidos, atribuído a receptores na membrana basolateral específicos<sup>18,25</sup>. Outras proteínas também podem ser secretadas por essa via, como insulina, prolactina e fatores de crescimento<sup>23,25</sup>.

A **via de transporte pela membrana apical** compreende a secreção de água, íons monovalentes como sódio, cálcio, potássio e cloreto, e moléculas polivalentes, como glicose e aminoácidos<sup>18,23,24</sup>. Apesar dos mecanismos não ser bem compreendido, sabe-se que a membrana apical das células mamárias é permeável a essas moléculas e a transferência intracelular é mediada por transportadores específicos<sup>24,25</sup>.

A **via de transporte paracelular** permite a troca direta, extracelular e bidirecional, transportando tanto substâncias de baixo peso molecular quanto macromoléculas entre a luz do alvéolo e o espaço intersticial<sup>23</sup>. Durante a lactação essa via é impedida pelas junções oclusivas formadas entre as células<sup>18,23</sup>. Durante a gestação, involução da mama ou em caso de mastite, estas junções encontram-se alargadas e permitem as trocas dos constituintes do sangue e leite<sup>18,25</sup>.

## **2.2.1. Macronutrientes**

### **2.2.1.1. Carboidratos**

O principal carboidrato do leite é a lactose (~70 mg/L), um dissacarídeo formado por uma molécula de glicose e outra de galactose<sup>21</sup>. É um dos constituintes mais estáveis e sua concentração é muito semelhante entre as mulheres, contribuindo, desta maneira, para manutenção da pressão osmótica do leite<sup>1,22</sup>.

A glicose também está presente no leite humano, mas em quantidades inferiores as da lactose, além de açúcares de nucleotídeos, glicolipídios, glicoproteínas e oligossacarídeos<sup>21,22</sup>. Alguns oligossacarídeos tais como os galato-oligossacarídeos (GOS) e os fruto-oligossacarídeos (FOS), podem

apresentar importantes atividades biológicas nos lactentes, como a inibição da ligação de agentes patogênicos aos seus receptores, e promoção e crescimento de diversas espécies de bifitobactérias no intestino<sup>22</sup>.

#### **2.2.1.2. Proteínas**

O conteúdo de proteínas diminui gradativamente do colostro ao leite maduro, e são geralmente classificadas em dois grupos: caseínas e proteínas do soro<sup>21,22</sup>.

As caseínas ocorrem somente no leite e formam micelas ao se combinarem com cálcio, fosfato e magnésio, potencializando o transporte desses íons<sup>22</sup>. As proteínas do soro, como  $\alpha$ -lactoalbumina e lactoferrina, são sintetizadas na própria glândula mamária, enquanto outras, tais como albumina, enzimas, imunoglobulinas e hormônios, são transportadas a partir do plasma<sup>21,22</sup>.

Outros compostos nitrogenados não proteicos, tais como aminoácidos livres, peptídeos, glicoconjugados, nucleotídeos, poliaminas, ureia, creatinina, taurina, dentre muitos outros, também estão presentes no leite e desempenham funções específicas e relevantes para o desenvolvimento do recém-nascido<sup>21</sup>.

#### **2.2.1.3. Lipídios**

Estão presentes dentro de glóbulos de gordura e correspondem a principal fonte de energia do leite (entre 45 e 55%)<sup>22</sup>. O núcleo destas aglomerações lipídicas é formado predominantemente por triglicerídeos e envolvidas por uma membrana composta principalmente por fosfolipídios, colesterol e proteínas<sup>21</sup>.

Os lipídios são os nutrientes mais afetados por variações intra e interindividuais, e além de fornecer energia desempenha importantes papéis fisiológicos, estruturais e são veículos para secreção das vitaminas lipossolúveis no leite<sup>25</sup>.

## 2.2.2. Micronutrientes

Os minerais são classificados em macromelementos, como sódio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo, entre outros, e microelementos ou elementos traço, como o cobalto, cobre, iodo, flúor, molibdênio, selênio, cromo, ferro, zinco e outros<sup>26</sup>. Concentrações mais elevadas são encontradas no colostro, reduzindo-se com o estabelecimento da lactação<sup>26</sup>. A elevada biodisponibilidade de alguns minerais e a interação com outros nutrientes podem interferir na absorção, metabolismo e excreção desses compostos no leite<sup>22</sup>.

Todas as vitaminas são fornecidas pelo leite materno, mas suas concentrações podem variar amplamente entre as nutrizes<sup>27</sup>. As vitaminas hidrossolúveis são consideradas mais sensíveis e variáveis no leite, entretanto as concentrações das vitaminas lipossolúveis também podem ser afetadas por fatores biológicos e ambientais<sup>21</sup>. As maiores variações na composição do leite são observadas entre diferentes mulheres, embora possam também ser encontradas em diferentes amostras obtidas de uma mesma mulher<sup>21</sup>.

Dentre os diversos fatores de defesa presentes no leite humano, que contribuem para o fortalecimento do sistema imunológico, destacam-se a atuação de algumas vitaminas, como A e E, e carotenoides<sup>11,28,29</sup>.

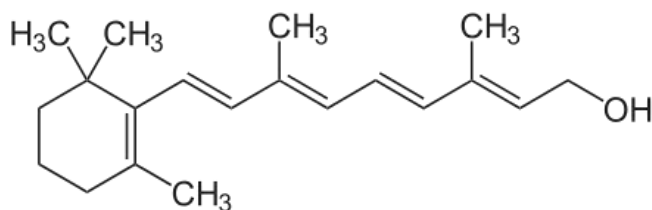
Embora o papel das vitaminas e carotenoides para a saúde do grupo materno infantil seja incontestável<sup>30,31</sup>, os mecanismos envolvidos na transferência destas moléculas a partir do plasma sanguíneo para a glândula mamária ainda não estão bem estabelecidos<sup>1,18,21,32,33</sup>.

### 2.2.2.1. Vitamina A

O termo “vitamina A” é utilizado para designar qualquer composto que possui atividade biológica de retinol todo-*trans* ou que estejam conjugados a ele<sup>30</sup>. O termo “retinoides” inclui os compostos que ocorrem naturalmente na forma de vitamina A e os análogos sintéticos de retinol, com ou sem atividade biológica<sup>34</sup>.

A estrutura geral da vitamina A contém um anel hidrofóbico  $\beta$ -ionona ligado a uma cadeia lateral de hidrocarboneto contendo um grupo polar na sua

extremidade (Figura 1)<sup>30</sup>. Pode ser encontrada em tecidos animais nas formas de retinol, retinal, ácido retinóico e ésteres de retinila<sup>33</sup>.



**Figura 1** - Estrutura química do retinol.  
Fonte: Adaptado de Penteadó (2003)<sup>30</sup>.

As principais fontes de vitamina A são os produtos lácteos, fígado, ovos e óleos de peixe, e alguns produtos de origem vegetal, ricos em pró-vitamina A<sup>33</sup>.

Trata-se de um potente antioxidante e que desempenha importantes funções no metabolismo humano, relacionadas a reprodução, diferenciação e proliferação celular, adequado funcionamento do sistema visual, sistema imunológico e, crescimento e desenvolvimento físico<sup>30,34,35</sup>. Destaque deve ser dado a esta vitamina nos períodos da gestação e lactação, pelas elevadas demandas materna, fetal e do lactente<sup>36</sup>.

A vitamina A ocorre na forma de éster de retinol, principalmente palmitato de retinol, e se localiza na fração lipídica do leite, entretanto sua transferência para esse fluido ainda não foi completamente esclarecida<sup>25,37</sup>.

O retinol é transportado principalmente pela Proteína Ligante de Retinol (*Retinol Binding Protein* – RBP), que sofre reesterificação na glândula mamária<sup>37,38</sup>. Uma pequena porção é proveniente dos ésteres presentes das lipoproteínas séricas, portanto, por esse motivo, o mecanismo de secreção pode ser quantitativamente importante após uma refeição rica desse nutriente<sup>38</sup>.

A absorção da vitamina A é realizada pelas células da mucosa do intestino delgado, passivamente, dependendo do gradiente de concentração entre as micelas provenientes da refeição e a membrana plasmática<sup>38</sup>. Os ésteres de retinil (principal forma nos alimentos de origem animal) são convertidos a retinol no lúmen intestinal e, ao serem absorvidos pelos enterócitos, podem ligar-se a Proteína Celular Ligante de Retinol (*Cellular Retinol Binding Protein* – CRBP) tipo II, uma facilitadora do processo de esterificação<sup>39</sup>.

Nos enterócitos, o retinol é novamente convertido a ésteres de retinil e incorporado aos quilomícrons, as principais lipoproteínas intestinais<sup>39</sup>. As duas enzimas que participam do processo de esterificação são a Lecitina: Retinol Aciltransferase (*Lecithin: Retinol Acyltransferase* – LRAT), envolvida na esterificação do retinol ligado a CRBP II, e a Acil Coenzima A: Retinol Aciltransferase (*Acyl CoA: Retinol Acyltransferase* – ARAT), que esterifica o retinol livre e o ligado a CRBP II no citoplasma<sup>38,39</sup>.

Os quilomícrons saem dos enterócitos por meio do sistema linfático e em seguida movem-se para corrente sanguínea, onde sofrem ação das lipases lipoprotéicas (LPL), e liberam ácidos graxos, carotenoides e retinoides para locais como o tecido adiposo, muscular e glândulas mamárias em lactação<sup>38,39</sup>. Os quilomícrons resultantes, nomeados quilomícrons remanescentes, ainda contêm alguns ésteres de retinil, que seguem para serem armazenados no fígado<sup>40</sup>. Nas células hepáticas os ésteres se ligam a CRBP tipo III e são oxidados a retinol pela ação da LRAT<sup>40</sup>.

O retinol recém convertido liga-se a RBP, também sintetizada no fígado, formando um complexo holo-RBP, que será armazenado no tecido hepático como reserva, ou transportado para os tecidos extra-hepáticos<sup>40</sup>. Acredita-se que, em estado de jejum, aproximadamente 95% da vitamina A circulante encontra-se ligada a RBP, e é captada pela glândula mamária por mecanismos mediados por receptores celulares específicos<sup>1,38,40</sup>.

A concentração de vitamina A é muito elevada no colostro e na fase de transição, e torna-se mais estável no leite maduro<sup>36</sup>. Recém-nascidos dependem da quantidade de retinol do leite materno para acumular e manter os estoques adequados até a introdução da alimentação complementar<sup>41</sup>.

O leite maduro de nutrízes saudáveis contém cerca de 2,3 µmol/L de retinol, com elevada biodisponibilidade e de fácil absorção pelo organismo do bebê<sup>37</sup>. O leite secretado por nutrízes com estado nutricional inadequado em relação a esta vitamina conseguem suprir as necessidade metabólicas do lactente, mas não são suficientes para permitir o acúmulo do nutriente pelo organismo<sup>37</sup>.

A concentração de retinol no leite humano é considerada um excelente indicador de deficiência de vitamina A (DVA), por fornecer informações relacionadas tanto com a saúde materna, quanto infantil<sup>37,43</sup>. Concentração

inferior a  $1,05 \mu\text{mol/L}$  é um indicativo do quadro de hipovitaminose A<sup>43</sup>. A dosagem do nutriente no leite apresenta como vantagem a facilidade para coleta do material, é uma técnica simples, rápida e não invasiva<sup>43</sup>. Prevalência de DVA igual ou superior a 25% pode ser considerada um grave problema de saúde pública<sup>38,43</sup>.

No Brasil, estudos nas regiões Nordeste e Sudeste, têm demonstrado elevadas prevalências de DVA a partir da análise do retinol no leite<sup>32,38,46,47</sup>. A DVA também prejudica o estado de ferro do organismo, aumenta a suscetibilidade a infecções e diarreias, e aumenta a morbidade e mortalidade<sup>48</sup>.

Um estudo realizado com 150 nutrizes com idade entre 15 e 41 anos, encontrou prevalência de DVA, pela análise do leite, de 49,6%<sup>46</sup>. Um grupo de pesquisa do Rio de Janeiro encontrou prevalência de 42% em amostra composta por 46 mulheres<sup>47</sup> e 87% em amostra de 72 nutrizes adolescentes<sup>32</sup>.

Juntamente com a determinação de retinol no leite, outro indicador do estado de vitamina A é a dosagem de retinol sérico/plasmático<sup>41</sup>. A OMS adotou como ponto de corte para detecção dos casos de DVA ainda em estágio subclínico ou marginal, valor igual ao postulado para o leite, inferior a  $1,05 \mu\text{mol/L}$ <sup>49</sup>.

As concentrações nesses dois fluidos são semelhantes, no entanto o nível sanguíneo é estreitamente regulado pelo fígado e reflete as reservas corporais apenas quanto o corpo encontra-se em situações extremas (estoques muito baixos ou muito altos), sendo o leite materno o melhor indicador para diagnóstico da DVA em nutrizes e lactentes<sup>41</sup>.

Diante do panorama geral da DVA no Brasil, no ano de 2005 foi instituído o Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A, com o objetivo de reduzir e controlar a deficiência nutricional de vitamina A em crianças de 6 a 59 meses de idade e puérperas no pós-parto imediato, residentes em áreas consideradas de risco, como a Região Nordeste e em alguns locais da Região Sudeste e Norte do país<sup>44</sup>. Para as puérperas, a suplementação deve proceder com megadoses únicas ainda na maternidade<sup>44</sup>.

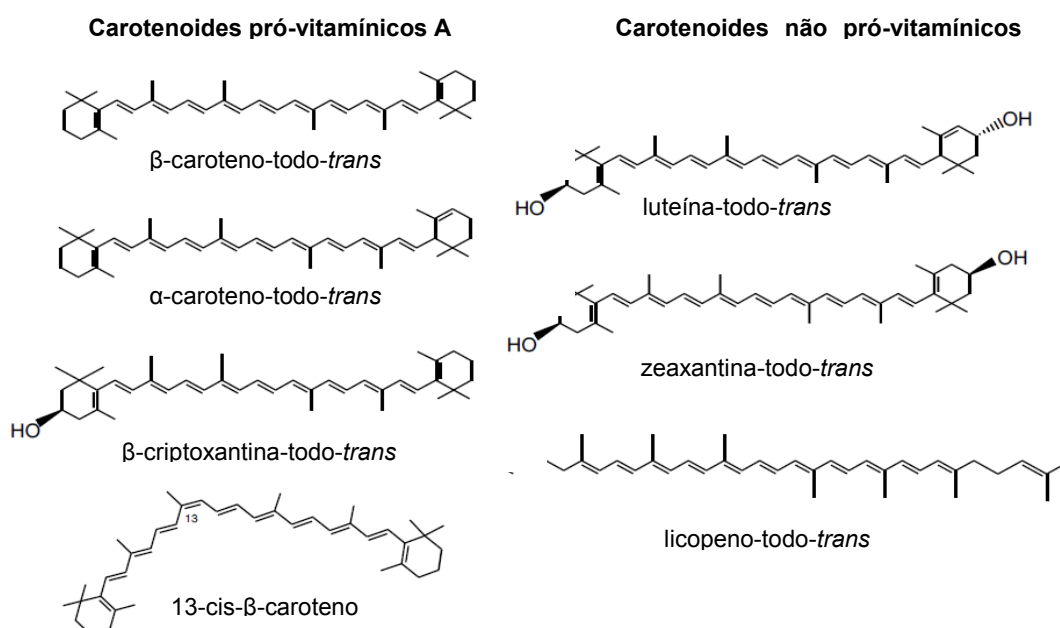
### 2.2.2.2. Carotenoides

Os carotenoides são pigmentos naturais lipossolúveis responsáveis pela coloração de muitos alimentos, exibindo cores que vão do amarelo ao vermelho<sup>30</sup>. Têm despertado interesse de pesquisadores por desempenharem importante papel nutricional como precursores da vitamina A, sendo também potenciais fontes dessa vitamina para o leite humano<sup>30,50,51</sup>.

Eles podem ser divididos em hidrocarbonetos, denominados carotenos, e em oxigenados, denominados xantofilas ou oxicarotenos<sup>30</sup>. Os carotenoides são derivados da estrutura acíclica C<sub>40</sub>H<sub>53</sub>, com um sistema de duplas ligações que constitui o grupo cromóforo, responsável pela cor que proporcionam aos alimentos<sup>30</sup>. Para apresentar atividade pró-vitáminica o carotenoide deve conter pelo menos um anel β-ionona em sua estrutura<sup>31</sup> (Figura 2).

Dos mais de 600 carotenoides que foram isolados na natureza, aproximadamente 50 apresentam atividade pró-vitáminica A, sendo o mais importante o β-caroteno-*todo-trans*<sup>31</sup>.

Tanto os carotenoides pró-vitáminicos A, como α-caroteno, β-caroteno e α-criptoxantina, quanto os não pró-vitáminicos, como luteína, zeaxantina e licopeno, dentre outros, têm se destacado pelo seu relevante papel como potencializadores do sistema imunológico e proteção contra o estresse oxidativo<sup>30,31,50,51</sup>.



**Figura 2** - Estrutura dos carotenoides pró-vitáminicos A e não pró-vitáminicos A.  
Fonte: Adaptado de Penteadó (2003)<sup>30</sup>

Estão amplamente distribuídos em alimentos de origem vegetal e variam de acordo com o grau de maturidade, variedade, armazenamento e métodos de preparo<sup>30</sup>. Os pró-vitamínicos também podem ser encontrados em produtos de origem animal, como leite e ovos<sup>30</sup>.

A absorção dos carotenoides é facilitada pela formação de micelas de gordura no estômago e, por isso, tem-se que a ingestão de lipídios na dieta aumenta a biodisponibilidade destes compostos<sup>30,54</sup>. A presença dos agregados lipídicos no intestino delgado estimula a secreção de ácidos biliares e lipases, favorecendo a solubilização e quebra em glóbulos menores<sup>30,55</sup>. Os carotenoides presentes nessas micelas geralmente atravessam a membrana glicoproteica passivamente<sup>40,52-54</sup>.

Nos enterócitos os carotenoides pró-vitamínicos A podem ser clivados a retinal pela enzima  $\beta$ -caroteno 15,15' dioxigenase, sendo esta a via predominante<sup>30,52,55</sup>. Uma segunda via envolve uma clivagem excêntrica entre os anéis  $\beta$ -ionona, na qual o retinal produzido pode ser reduzido a retinol ou oxidado a ácido retinóico<sup>30,52</sup>. Esses carotenoides seguem posteriormente o mesmo metabolismo da vitamina A<sup>30</sup>. Já aqueles que não possuem atividade vitamínica podem ser absorvidos em sua forma intacta<sup>52</sup>.

Depois de serem incorporados aos quilomícrons, os carotenoides e seus metabólitos são liberados nos vasos linfáticos e seguem para a corrente sanguínea<sup>52</sup>. Após a captação pelo fígado eles retornam à corrente sanguínea, transportados exclusivamente por lipoproteínas<sup>52</sup>. Em jejum, moléculas com menor polaridade como  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno, e licopeno são carreados, preferencialmente, por lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c), enquanto os mais polares, como luteína e zeaxantina são transportados por lipoproteína de alta densidade (HDL-c) e, em menor proporção, por lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-c) e LDL-c<sup>51,52</sup>.

Há poucas informações sobre os mecanismos de transferência de carotenoides do plasma para o leite humano<sup>25</sup>. Possivelmente, assim como ocorrem em outros tecidos extra-hepáticos, a entrega dos carotenoides pode ser realizada por meio de receptores de lipoproteínas ou liberação dos compostos pela ação da LPL<sup>52</sup>.

Normalmente as concentrações plasmáticas refletem a ingestão dietética de carotenoides, podendo ser utilizadas como biomarcadores de ingestão alimentar de frutas e hortaliças, suas principais fontes<sup>56</sup>.

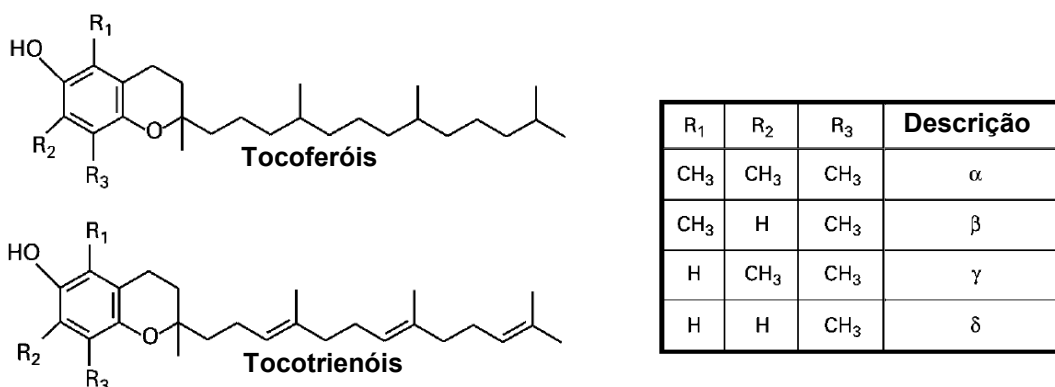
Diante do conhecimento de que os carotenoides são uma importante fonte de vitamina A no leite humano, e que seu conteúdo varia entre os países e dentro das populações, foi realizado um estudo multinacional com o objetivo de comparar as concentrações de cinco grandes grupos de carotenoides ( $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, luteína+zeaxantina e licopeno) no leite materno de mulheres saudáveis<sup>7</sup>.

O estudo envolveu Austrália, Reino Unido, Canadá, Chile, China, Japão, México, Filipinas, e Estados Unidos, com os resultados indicando grande variação entre os 9 países, sendo as maiores diferenças para  $\beta$ -criptoxantina (~ 9 vezes) e menor para  $\alpha$ -caroteno e licopeno (~ 3 vezes)<sup>7</sup>. Os autores concluíram que os padrões qualitativos identificados refletem o fornecimento de carotenoides da dieta, devendo-se considerar os dados encontrados para desenvolvimento de recomendações dietéticas internacionais para nutrízes e lactentes<sup>7</sup>.

### **2.2.2.3. Vitamina E**

“Vitamina E” é um termo utilizado genericamente para compostos que exibem, em diferentes graus, atividade biológica de  $\alpha$ -tocoferol<sup>30,34</sup>. São encontradas 8 formas na natureza:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ - tocoferol e  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ - tocotrienol<sup>55</sup>. Os primeiros possuem um anel hidroxilado e uma cadeia lateral saturada, e os segundos diferem pela presença de uma cadeia insaturada, com 3 duplas ligações<sup>34,55</sup> (Figura 3). A forma mais biologicamente ativa é a RRR- $\alpha$ -tocoferol<sup>34</sup>.

Trata-se do principal antioxidante lipossolúvel, e principal função é proteger os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa das membranas celulares e as lipoproteínas contra a oxidação<sup>55</sup>. Outras funções também têm sido atribuídas a essa vitamina, como a inibição da proliferação celular, agregação plaquetária e adesão de monócitos<sup>30,31,55</sup>.



**Figura 3** - Estrutura química das diferentes formas de Vitamina E.  
 Fonte: Adaptado de Penteadó (2003)<sup>30</sup>

Essa vitamina é de extremamente importância nos estágios iniciais de vida, desde a concepção até o desenvolvimento pós-natal da criança, por proteger o organismo contra a toxicidade do oxigênio<sup>55,57</sup>.

São fontes potenciais de vitamina E os óleos vegetais, uma vez que a mesma é sintetizada apenas por plantas<sup>30,55</sup>. Também está difundida nos tecidos das plantas e, em concentrações mais baixas, em alimentos de origem animal, como fígado, ovos e leite<sup>30</sup>.

O mecanismo de absorção da vitamina E ainda não é completamente esclarecido<sup>55</sup>. Acredita-se que apenas cerca de 20 a 40% α-tocoferol ingerido é absorvido, com seu aumento dependendo do consumo concomitante de lipídios na dieta<sup>30,34</sup>. O intestino delgado é o principal local de absorção de todos os isômeros da vitamina, havendo pouca ou nenhuma discriminação entre os homólogos durante esse processo<sup>55</sup>.

Nos lúmen do intestino a absorção depende da liberação dos sais biliares, formação das micelas de gorduras e quebra por parte das enzimas pancreáticas em partículas lipídicas menores, que irão atravessar passivamente as células intestinais e incorporada aos quilomícrons<sup>30,52,55</sup>. Os ésteres de tocoferol são hidrolisados antes de serem absorvidos<sup>34,55</sup>.

Pela ação da LPL parte dos tocoferóis presentes nos quilomícrons é captada pelos tecidos extra-hepáticos, e os quilomícrons remanescentes transportam o restante para o fígado<sup>30,31,34</sup>.

No fígado, uma proteína transportadora de α-tocoferol (α-TTP), seletivamente escolhe o α-tocoferol entre os demais para ser incorporado as VLDLs-c e distribuídas para os demais tecidos<sup>31,55</sup>. Esta biodiscriminação se dá

pelo grau de afinidade que esses compostos apresentam em relação a  $\alpha$ -TTP<sup>30</sup>.

As VLDLs-c são metabolizadas semelhantemente aos quilimícrons, pela ação da LPL, e parte do conteúdo de vitamina E é transferido para HDL-c e LDL-c, sendo transportada posteriormente para os tecidos periféricos<sup>30</sup>. A glândula mamária pode absorver a vitamina E através da hidrólise e liberação dos tocoferóis pela ação da LPL sobre as lipoproteínas, ou por meio das lipoproteínas captadas pelos receptores de superfície celular específicos, principalmente LDL-c<sup>31,58,59</sup>.

O  $\alpha$ -tocoferol representa aproximadamente 83% da concentração total de vitamina E do leite humano e em pequenas quantidades é possível encontrar  $\beta$ - e  $\gamma$ -tocoferóis<sup>21</sup>. Concentração mínima ou nula de  $\delta$ -tocoferóis permite a sua utilização como padrão interno em análises cromatográficas. As concentrações de tocoferóis são elevadas no colostro e diminuem gradativamente até se estabilizarem no leite maduro<sup>21</sup>.

O estado nutricional na nutriz em relação a vitamina E tem relação direta com as concentrações sanguíneas de  $\alpha$ -tocoferol do recém-nascido, devendo-se ressaltar que valores limítrofes ou baixos no plasma materno podem indicar deficiência tanto para mãe quanto para o bebê<sup>57</sup>. Valores de  $\alpha$ -tocoferol inferiores a 11,6  $\mu\text{mol/L}$  são indicativos de deficiência de vitamina E, e concentrações entre 11,6 e 16,2  $\mu\text{mol/L}$  indicam risco para a deficiência<sup>60</sup>.

Estudos nacionais, com metodologias semelhantes e realizados pelo mesmo grupo de pesquisa, revelaram concentração média de  $\alpha$ -tocoferol de 2,7  $\mu\text{mol/L}$  em 72 nutrizas adolescente<sup>32</sup>, mas valor muito inferior (0,7  $\mu\text{mol/L}$ ) foi identificado em um grupo com idade média de 26,6 $\pm$ 6,3 anos (n=46)<sup>47</sup>. Resultados similares foram encontrados em estudos internacionais<sup>61-63</sup>. Na Polônia, uma pesquisa com 49 nutrizas revelou concentração média de  $\alpha$ -tocoferol no leite maduro de 1,1  $\mu\text{g/mL}$  (~ 2,5  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>61</sup>. Em Cuba, o valor médio identificado em um grupo com 21 lactantes, foi de 2,7  $\mu\text{g/mL}$  (~ 6,3  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>62</sup>. Nutrizas de Bangladesh (n=61), com baixa condição socioeconômica, apresentaram valor médio de 2,0  $\mu\text{g/mL}$  (~ 4,6  $\mu\text{mol/L}$ ) no leite<sup>63</sup>.

### **2.3. Variação das concentrações de vitaminas lipossolúveis e carotenoides no leite**

A composição de nutrientes do leite humano é influenciada por diversos fatores, tais como, a fase da lactação, horário do dia, esvaziamento da mama, hábitos alimentares, idade materna, paridade e adiposidade<sup>1,18,21,22</sup>. Além disso, fatores socioeconômicos também são apontados como possíveis interferentes sobre o conteúdo de nutrientes do leite<sup>64,65</sup>. O estado nutricional materno em relação ao nutriente é considerado por muitos autores como o fator que mais afeta as concentrações de vitaminas e carotenoides<sup>1,21,22,50,66</sup>.

Sendo a fração lipídica a mais variável do leite humano, nutrientes associados a ela, como as vitaminas lipossolúveis e os carotenoides, podem sofrer interferências similares proporcionadas por determinados fatores<sup>22,53</sup>.

Com o progresso da lactação o conteúdo de vitaminas e carotenoides tende a diminuir drasticamente, quando se compara o colostro com o leite maduro<sup>1,33,61</sup>. Distintamente, há um aumento da concentração desses nutrientes no leite secretado ao final da mamada, ressaltando-se a importância do esvaziamento por completo de cada mama<sup>22,53</sup>.

Vários estudos têm demonstrado que as concentrações de vitamina A e E, e carotenoides no leite humano respondem a ingestão dietética materna e a suplementação desses compostos<sup>7,38,67-69</sup>. Em uma visão geral, quando a ingestão materna é baixa, as concentrações no leite também são inferiores e respondem mais rapidamente à suplementação, ao passo que, quando o consumo e conteúdo são mais altos, as concentrações mantem-se mais estáveis e são menos responsivas a suplementação<sup>1</sup>.

No Brasil, poucos são os estudos que investigaram a influência da idade materna sobre a composição do leite humano<sup>32,45,58</sup>. Mello Neto e colaboradores<sup>65</sup> realizaram uma pesquisa com amostras de leite de 136 doadoras de um Banco de Leite Humano da cidade de São Paulo, e encontraram associação positiva entre a idade da nutriz e a concentração de vitamina A, a partir da utilização de modelo de regressão multivariada. Outro estudo realizado no mesmo estado, com 74 nutrizas, comparou a concentração de retinol no leite maduro segundo faixa etária e nível socioeconômico, mas sem resultados significativas<sup>45</sup>. Dimenstein e colaboradores<sup>58</sup> também não

identificaram diferença entre a quantidade de  $\alpha$ -tocoferol no colostro de nutrizes adolescentes e adultas.

Estudos têm demonstrado que a paridade pode afetar diretamente as concentrações de micronutrientes no leite, com mulheres multíparas apresentando valores superiores de vitamina A<sup>47</sup> e carotenoides<sup>70</sup>, quando comparadas com as primíparas. Tais resultados sugerem que uma primeira lactação facilita o transporte de retinol e carotenoides em lactações subsequentes<sup>25,70</sup>. Outros estudos não encontravam correlação significativa entre a paridade e o conteúdo de  $\alpha$ -tocoferol no leite<sup>25,71,72</sup>.

Para produção do leite humano a mobilização de gordura do tecido adiposo encontra-se aumentada, sendo este um local de armazenamento de retinol, carotenoides e tocoferóis, podendo ocorrer também um aumento na mobilização desses compostos em nutrizes com maior nível de adiposidade<sup>25</sup>.

Indivíduos com baixo grau de escolaridade e condições socioeconômicas desfavoráveis tendem a apresentar pior estado nutricional, pela falta de conhecimento sobre assuntos relacionados a saúde<sup>73</sup>. Entretanto, apesar da literatura discorrer sobre possíveis interferências dos fatores socioeconômicos sobre a concentração de nutrientes no leite materno, os estudos são escassos e ainda controversos. Enquanto a renda esteve correlacionada positivamente com a concentração de retinol em nutrizes de Bangladesh<sup>63</sup>, Dimenstein e colaboradores<sup>74</sup> não encontraram influência das variáveis socioeconômicas sobre o nível desse nutriente em lactantes brasileiras.

O estado nutricional materno em vitaminas tem relação direta com as concentrações de nutrientes no leite, sendo este um determinante crítico para a saúde e desenvolvimento do lactente<sup>66,75</sup>. Estas associações tem sido reportadas em vários estudos<sup>32,47,65,76,77</sup>.

## **2.4. Gravidez na adolescência**

Cronologicamente, a adolescência compreende o período entre 10 e 19 anos, marcado por transformações físicas e psicológicas<sup>78</sup>. É caracterizado por um período de intensa atividade anabólica, ocorrendo aumento de peso e

estatura, alterações na composição corporal, com aumento do tecido muscular e modificações na distribuição e quantidade de gordura corporal<sup>79,80</sup>.

Entre os 10 e 14 anos de idade, geralmente, ocorre o estirão de crescimento e surgem as características sexuais secundárias, e entre os 15 e 19 anos, a finalização do crescimento e desenvolvimento morfológico<sup>79</sup>.

Os requerimentos nutricionais na adolescência tornam-se ainda mais elevadas em situações específicas, como a gestação e lactação, pelo somatório das necessidades para o crescimento da mãe e do bebê<sup>81</sup>. Durante o processo de lactação as demandas maternas estão fisiologicamente aumentadas, pela intensa atividade metabólica que irá garantir a produção adequada de leite<sup>21,79</sup>.

A gravidez na adolescência é considerada um grave problema de saúde pública e atinge principalmente famílias de baixo nível socioeconômico<sup>79,82</sup>. Sua etiologia envolvem aspectos fisiológicos, psicológicos, sociais, familiares e contraceptivos<sup>79,82,83</sup>.

A preocupação com a ocorrência de gravidez e maternidade pelas autoridades de saúde pública não se dá somente pelo número elevado de casos, mas também pelas repercussões negativas sobre a adolescente e seu conceito<sup>84,85</sup>. Nutrizes adolescentes estão mais susceptíveis a complicações clínicas e nutricionais durante a gestação e após o parto, pela maior vulnerabilidade e imaturidade biológica<sup>86</sup>.

Em nutrizes adolescentes foram observados maiores riscos de síndromes hipertensivas, anemia, desproporção feto-pélvica, desnutrição, deficiências vitamínicas, retardo do crescimento intrauterino e problemas decorrentes de abortos provocados sem assistência adequada<sup>79,87-89</sup>.

Vários autores relataram os eventos adversos para a saúde do recém-nascido de mães adolescentes, como a maior ocorrência de nascimentos prematuros, baixo peso ao nascer, desnutrição pós-natal e maior risco de morte no primeiro ano de vida<sup>79,87-89</sup>.

Adolescentes com idade ginecológica inferior a 2 anos e que ainda estejam no final do processo de crescimento e maturação óssea, podem apresentar o fenômeno do duplo anabolismo, no qual a gestante transfere menor proporção de nutrientes para o feto para priorizar o acúmulo de gordura corporal materno<sup>87,90</sup>.

Além das consequências negativas para a saúde do binômio mãe-filho, a interrupção dos estudos e da formação profissional é uma prática comum em decorrência da gravidez, dificultando a inserção no mercado de trabalho e perpetuando a tendência ao estado de pobreza<sup>89</sup>.

A falta de conhecimento sobre práticas alimentares saudáveis reflete em escolhas inadequadas, marcadas pela elevada ingestão energética e baixo consumo de micronutrientes<sup>79,88</sup>. A seleção de alimentos por gestantes e nutrizes adolescentes também pode ser afetada por fatores como o apetite aumentado, convívio social, influências culturais e familiares, e disponibilidade de alimentos<sup>88</sup>.

Paralelamente, a monotonia alimentar e a restrição dietética induzida pela busca a padrões estéticos de beleza são outros componentes capazes de comprometer o estado nutricional das adolescentes<sup>88</sup>.

Todas estas características da faixa etária podem afetar o conteúdo de nutrientes do leite materno, como citado anteriormente. Entretanto, existem poucos estudos sobre a produção e composição química do leite de mães adolescentes, principalmente em relação ao conteúdo de vitaminas lipossolúveis e carotenoides<sup>25,32,45,58,65</sup>.

Presta<sup>25</sup> verificou que as concentrações de  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol no leite maduro de nutrizes adolescentes eram menores que em nutrizes adultas, em uma amostra de 49 mulheres no Rio de Janeiro. Azeredo e Trugo<sup>32</sup> identificaram correlações positivas entre as concentrações de  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina do leite maduro e plasma, de 72 nutrizes adolescentes. Mello Neto e colaboradores<sup>65</sup> discorreram sobre a correlação positiva encontrada entre a idade materna e o conteúdo de vitamina A no leite maduro de 136 doadoras de um Banco de Leite Humano em São Paulo.

Em oposição, Vítolo e colaboradores<sup>45</sup>, em São Paulo, avaliaram a influência da idade sobre as concentrações de retinol no leite de maduro de 74 nutrizes e não encontraram diferença estatisticamente significativa entre as concentrações no leite de adolescentes e adultas. Dimenstein e colaboradores<sup>58</sup> investigaram 72 puérperas residentes no Rio Grande do Norte, e também não verificaram diferença entre as concentrações de  $\alpha$ -tocoferol no colostro de adolescentes e adultas.

Tem-se, portanto, que a abordagem integral à gestante e nutriz adolescente constitui uma medida de suporte para a promoção da saúde e prevenção de agravos ao estado nutricional da mãe e do bebê<sup>90</sup>.

## 2.5. Referências Bibliográficas

1. JENSEN, R.G. **Handbook of milk composition**. Washington, DC: National Academy Press, 1995.
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global strategy for infant and young child feeding**. Geneva: WHO; 2001.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Saúde da criança: nutrição infantil: aleitamento materno e alimentação complementar**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2009.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. **II Pesquisa de Prevalência de Aleitamento Materno nas Capitais Brasileiras e Distrito Federal**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2009.
5. DEWEY, K.G. Nutrition, growth, and complementary feeding of the breastfed infant. **Pediatric Clinics of North America**, v.48, n.1, p.87-104, 2001.
6. SILVA, A.P.; SOUZA, N. Prevalência do aleitamento materno. **Revista de Nutrição**, v.18, n.3, p.301-310, 2005.
7. CANFIELD, L.M. Multinational study of major breast milk carotenoids of healthy mothers. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.42, n.3, p.133-41, 2003.
8. ROMEU-NADAL, A.I. et al. Effect of pasteurisation on ascorbic acid, dehydroascorbic acid, tocopherols and fatty acids in pooled mature human milk. **Food Chemistry**, v.107, n.1, p.434-438, 2008.
9. GOLDMAN, A.S.; HOPKINSON, J.M.; RASSIN, DK. Benefits and risks of breastfeeding . **Advances in Pediatrics**, v.54, p.275-304, 2007.
10. ANNE EGLASH, A.; MONTGOMERY, A.; WOOD, J. Breastfeeding. **Disease-a-Month**, v.54, n.6, p.343-411, 2008.
11. JACKSON, K.M.; NAZAR, A.M. Breastfeeding, the immune response, and long-term health. **The Journal of the American Osteopathic Association**, v.106, n.4, p.203-207, 2006.
12. GARTNER, L.M. Breastfeeding and the use of human milk. **Pediatrics**, v. v.115, n.2, p.496-506, 2005.
13. JONES G. et al. How many child deaths can we prevent this year? **The Lancet**, v.362, n.9377, p.65-71, 2003.

14. HORTA, B.L. et al. **Evidence on the long-term effects of breastfeeding: systematic reviews and meta-analyses**. Geneva: WHO, 2007.
15. BRISQUE, N.F.C. Desmame precoce: implicações para o desenvolvimento motor-oral. **Jornal de Pediatria**, v.79, n.1, p.7-12, 2003.
16. STUEBE, A.M. et al. Duration of lactation and incidence of type 2 diabetes. **The Journal of The American Medical Association**, v.294, n.20, p.2601-2610, 2005.
17. COLLABORATIVE GROUP ON HORMONAL FACTORS IN BREAST CANCER. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. **The Lancet**, v. 360, p.187-95, 2002.
18. WORTHINGTON-ROBERTS, B.S; WILLIAMS, S.R. **Nutrition in pregnancy and lactation**. 6. ed. St.Louis: Mosby, 1993.
19. JONES, E.; SPENCER, S.A. The physiology of lactation. **Paediatrics and Child Health**, v.17, n.6, p.244-248, 2007.
20. ZEMBO C.T. Breastfeeding. **Obstetrics Gynecology Clinics North America**, v.29, n.1, p.51-76, 2002.
21. INSTITUTE OF MEDICINE. **Nutrition during lactation**. Washington, DC: National Academy Press, 1996.
22. PICCIANO, M.F. Nutrient Composition of Human Milk. **Pediatric Clinics of North America**, v.48, n.1, p.53-67, 2001.
23. MCMANAMAN, J.L., NEVILLE, M.C. Mammary physiology and milk secretion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.55, n.5, p.629-641.
24. NEVILLE M.C. Anatomy and physiology of lactation. **Pediatric Clinics of North America**, v.48, n.1, p.13-34, 2001.
25. PRESTA, F.M.P. **Composição do leite materno em vitamina A, carotenóides e vitamina E: relação com o estado nutricional e características maternas**. 2001. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2001.
26. MORGANO, M.A. et al. Composição mineral do leite materno de bancos de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.819-824, 2005.
27. OLAFSDOTTIR, A.S. et al. Fat-soluble vitamins in the maternal diet, influence of cod liver oil supplementation and impact of the maternal diet

- on human milk composition. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.45, n.6, p.265-72, 2001.
28. WOLD, A.E.; ADLERBERTH, I. Does breastfeeding affect the infant's immune responsiveness? **Acta Paediatrica**, v.87, n.1, p.19-22. 1998.
29. SHOJI, H. et al. Suppressive effects of breast milk on oxidative DNA damage in very low birthweight infants. **Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition**, v.89, n.2, p.136-138, 2004.
30. PENTEADO, M.V.C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2003.
31. RUCKER, R.B. et al. **Handbook of vitamins**. 3. ed. New York: Marcel Dekker Inc, 2001.
32. AZEREDO, V.B.; TRUGO, N.M. Retinol, carotenoids, and tocopherols in the milk of lactating adolescents and relationships with plasma concentrations. **Nutrition**, v.24, n.2, p.133-139, 2008.
33. SCHWEIGERT F.J. et al. Effect of the stage of lactation in humans on carotenoid levels in milk, blood plasma and plasma lipoprotein fractions. **European Journal of Nutrition**, v.43, n.21, p.39-44, 2004.
34. DEBIER, C.; LARONDELLE, Y. Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. **British Journal of Nutrition**, n.93, v.2 p.153-174, 2005.
35. ORTEGA, R.M. et al. Vitamin A status during the third trimester of pregnancy in Spanish women: influence on concentrations of vitamin A in breast milk. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.66, n.3, p.564-568, 1997.
36. OLIVEIRA, J.M.; OLIVEIRA, N.S.; BERGAMASCHI, D.P. Concentrações de vitamina A no leite humano e características socioeconômicas e nutricionais maternas: resultados de estudos brasileiros. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.9, n.1, p.11-20, 2009.
37. STOLTZFUS, R.J., 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**, v.75, n.5, p.703-711, 1995.
38. FUSTINONI, A.M. **Vitamina A no leite materno: influência do estado nutricional de lactantes e da composição do leite**. 2008. 77f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2008.
39. BLOMHOFF, R., GREEN, M.H., Berg, T., Norum, K.R. Transport and storage of vitamin A. **Science**, v.250, n.4979, p:399-404, 1990.

40. SENOO, H. Structure and function of hepatic stellate cells. **Medical Electron Microscopy**, v.37, n.1, p.3-15, 2004.
41. BRASIL. Ministério da Saúde. Cadernos de Atenção Básica: **Carências de Micronutrientes**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2007.
42. SILVA, L.S.V. Micronutrientes na gestação e lactação. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.7, n.3, p.237-244, 2007.
43. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Indicators for Assessing Vitamin A Deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes**. Geneva: WHO, 1996.
44. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 729/05: **Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2005.
45. VÍTOLO, M.R. et al. Níveis de vitamina A no leite maduro de nutrizes adolescentes e adultas de diferentes estratos socioeconômicos. **Revista de Ciências Médicas**, v.8, n.1, p.3-10, 1999.
46. MELLO NETO, J. **Influência de fatores nutricionais, obstétricos, socioeconômicos e demográficos nas concentrações de vitamina A, ferro, zinco e cobre no sangue e no leite maduro de doadores do banco de leite humano de Marília, SP**. 2005. 88f. Tese (Doutorado em Nutrição) – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
47. MENESES, F.; TRUGO, N.M.F. Retinol,  $\beta$ -carotene, and lutein + zeaxanthin in the milk of Brazilian nursing women: associations with plasma concentrations and influences of maternal characteristics. **Nutrition Research**, v. 25, n.5, p.443–451, 2005.
48. ORTEGA, R.M. et al. P Andrés, R M Martínez, and A M López-Sobaler. Vitamin A status during the third trimester of pregnancy in Spanish women: influence on concentrations of vitamin A in breast milk. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.66, n.3, p.564-568, 1997.
49. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005**. Geneva: WHO, 2009.
50. JACKSON, J.G. et al. Major carotenoids in mature human milk: Longitudinal and diurnal patterns. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.9, n.1, p.2–7, 1998.
51. JACKSON, J.G.; ZIMMERB, J.P. Lutein and zeaxanthin in human milk independently and significantly differ among women from Japan, Mexico, and the United Kingdom. **Nutrition Research**, v.27, n.8, p.449–453, 2007.

52. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press, 2000.
53. GIULIANO, A.R. et al. Quantitation of and inter/intraindividual variability in major carotenoids of mature human milk. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.5, n.11, p.551–556, 1994.
54. ROMANCHIK, J.E.; MOREL, D.W.; HARRISON, E.H. Distributions of carotenoids and alpha-tocopherol among lipoproteins do not change when human plasma is incubated in vitro. **Journal of Nutrition**, v.125, n.10, p.2610-2617, 1995.
55. COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 3. Ed. Barueri, SP: Manole, 2011.
56. AL-DELAIMY, W.K., et al. Plasma levels of six carotenoids in nine European countries: report from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). **Public Health Nutrition**, v.7, n.6, p.713-22, 2004.
57. SOARES, F.B; RIBEIRO, K.D.S.; DIMENSTEIN, R. Análise do retinol sérico em puérperas atendidas em uma maternidade pública de Natal/RN. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.40, n.2, p.129-131, 2008.
58. DIMENSTEIN, R. Concentração de alfa-tocoferol no soro e colostro materno de adolescentes e adultas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.32, n.6, p.267-272, 2010.
59. VERGROESEN, A.J.; CRAWFORD, M. **The role of fats in human nutrition**. 3. ed. Washington, DC: National Academy Press, 1995.
60. Laboratory Assessment of Nutritional Status. **American Journal of Public Health**, v.63, n.11, p.28-37, 1973.
61. SZLAGATYS-SIDORKIEWICZ, A. Longitudinal study of vitamins A, E and lipid oxidative damage in human milk throughout lactation. **Early Human Development**, v.88, n.6, p421-422, 2012.
62. MACIAS, C.; SCHWEIGERT, F.J. Changes in the Concentration of Carotenoids, Vitamin A, Alpha-Tocopherol and Total Lipids in Human Milk throughout Early Lactation. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.45, n.2, p:82-85, 2001.
63. BARUA, S. et al. Retinol and alpha-tocopherol content in breast milk of Bangladeshi mothers under low socio-economic status. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.48, n.1, p.13-18, 1997.

64. SOUZA, G. et al. Concentração de vitamina A no leite humano maduro. **Jornal de Pediatria**, v.88, n.6, p.496-502, 2012.
65. MELLO NETO J. et al. The influence of maternal factors on the concentration of vitamin A in mature breast milk. **Clinical Nutrition**, v.28, n.2, p.178-181, 2009.
66. LIRA, L.Q. et al. Níveis de alfa-tocoferol no soro e colostro de lactantes e associação com variáveis maternas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.34, n.8, p.362-368, 2012.
67. RICE A.L. et al. Maternal Vitamin A or  $\beta$ -Carotene Supplementation in Lactating Bangladeshi Women Benefits Mothers and Infants but Does Not Prevent Subclinical Deficiency. **Journal of Nutrition**, v.129, n.2, p.356-365, 1999.
68. STOLTZFUS, R.J. et al. High dose vitamin A supplementation of breast-feeding Indonesian mothers: effects on the vitamin A status of mother and infant. **Journal of Nutrition**, v. 123, n.4, p.666-75, 1993.
69. OLAFSDOTTIR A.S. et al. Fat-soluble vitamins in the maternal diet, influence of cod liver oil supplementation and impact of the maternal diet on human milk composition. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.45, n.6, p.265-572.
70. PATTON, S. et al. Carotenoids of human colostrum. **Lipids**. v.25, n.3, p.159-65, 1990.
71. IBADIN, O.M.; OSUBOR, C.C.; ONOBERHIE, P.A. Alpha-tocopherol levels in milk of exclusively breast-feeding mothers in Benin City, Nigeria. **African Journal of Reproductive Health**, v.13, n.2, p.55-60, 2009.
72. AHMED, L. Antioxidant micronutrient profile (vitamin E, C, A, copper, zinc, iron) of colostrum: association with maternal characteristics. **Journal of Tropical Pediatrics**, v.50, n.6, p.357-358, 2004.
73. SANTOS, E.N.; VELARDE, L.G.C.; FERREIRA, V.A. Associação entre deficiência de vitamina A e variáveis socioeconômicas, nutricionais e obstétricas de gestantes. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.15. n.1, p.1021-1030, 2010.
74. DIMENSTEIN, R. et al. Influência de variáveis socioeconômicas e de saúde materno-infantil sobre os níveis de retinol no colostro humano. **Jornal de Pediatria**, v.79, n.6, p.513-518, 2003.
75. GARCIA, L.R.S. et al. Níveis de alfa-tocoferol no soro e leite materno de puérperas atendidas em maternidade pública de Natal, Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.9, n.4, p.423-428, 2009.

76. GROSS R. et al. Moderate zinc and vitamin A deficiency in breast milk of mothers from East-Jakarta. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.52, n.12, p. 884-890, 1998.
77. DIJKHUIZEN, M.A. et al. Concurrent micronutrient deficiencies in lactating mothers and their infants in Indonesia. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, n.4, p.786-7791, 2001.
78. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Report of a WHO Expert Committee. Technical Report Series n.854. Geneva: WHO, 1995.
79. PRIORE, S.E. et al. **Nutrição e saúde na adolescência**. 1. ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2010.
80. TANNER, J.M. Growth and Maturation during Adolescence. **Nutrition Reviews**, v.39, n.2, p.43-55, 1981.
81. PRESTA, F. M. P. **Influência da gestação e lactação sobre o metabolismo e estado de ácidos graxos em adolescentes e sua relação com a composição do leite**. 2005. 118 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.
82. VIEIRA, M.L.F.; SILVA, J.L.C.P.; BARROS FILHO, A.A. A amamentação e a alimentação complementar de filhos de mães adolescentes são diferentes das de filhos de mães adultas? **Jornal de Pediatria**, v.79, n.4, p.317-324, 2003
83. MELO, M.M. et al. O conhecimento de puérperas adolescentes sobre o cuidado com recém-nascidos. **Ciência, Cuidado e Saúde**, v.10, n.2, p.266-273, 2011.
84. OLIVEIRA, E.F.V.; GAMA, S.G.N.; SILVA, C.M.F.P. Gravidez na adolescência e outros fatores de risco para mortalidade fetal e infantil no Município do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v,26, n. 3, p.567-578, 2010.
85. AZEVEDO, G.D. et al. Efeito da Idade Materna sobre os Resultados Perinatais. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.24, n.3, p.181-185, 2002.
86. WORTHINGTON-ROBERTS, B.S; WILLIAMS, S.R. **Nutrition in pregnancy and lactation**. 6. ed. St.Louis: Mosby, 1993.
87. EISENSTEIN, E.; COELHO, K.S.C.; COELHO, S.C.; COELHO, M.A.S.C. Nutrição na adolescência. **Jornal de Pediatria**, v.76, n.3, p.263-274, 2000.

88. BARROS, D.C. O consumo alimentar de gestantes adolescentes no Município do Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, v.20, n.1, p.121-129, 2004.
89. FARIA, C.E. Características das mães adolescentes e de seus recém-nascidos e fatores de risco para a gravidez na adolescência em Campinas, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.6, n.4, p.419-426, 2006.
90. COSTA, M.C.O.; NETO, A.F.O. Abordagem nutricional de gestantes e nutrizes adolescentes: estratégia básica na prevenção de riscos. **Jornal de Pediatria**, v.75, n.3, p161-166, 1999.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Geral**

Analisar a composição de retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano, bem como os aspectos antropométricos, bioquímicos e dietéticos de nutrizes adolescentes e adultas do município de Viçosa, Minas Gerais.

#### **3.2 Específicos**

- Descrever características socioeconômicas, obstétricas, antropométricas, dietéticas e bioquímicas das nutrizes.
- Avaliar a influência das variáveis maternas sobre a composição de retinol, tocoferóis e carotenoides do leite humano e plasma materno.
- Investigar as concentrações de retinol, tocoferóis e carotenoides no leite humano e plasma de nutrizes adolescentes e adultas.
- Verificar diferenças entre as concentrações de retinol, tocoferóis e carotenoides no leite humano e plasma de nutrizes adolescentes e adultas.
- Determinar as correlações entre as concentrações de retinol, tocoferóis e carotenoides no leite humano, plasma e ingestão alimentar das nutrizes.
- Verificar diferenças entre a ingestão alimentar e as concentrações plasmáticas das vitaminas A e E, e carotenoides de nutrizes adolescentes e adultas.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. Apresentação**

Este trabalho é parte integrante do projeto intitulado “Leite Humano de Nutrizes Adolescentes e Adultas: há diferença na composição de ácidos graxos e antioxidantes?”, desenvolvido pelo Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFV sob o Of. Ref. nº 030/2012 de 16 de abril de 2012 (Anexo A).

Após esclarecimentos sobre os objetivos e metodologias da pesquisa, todas as participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). No caso de adolescentes com idade inferior a 18 anos, foi solicitada a assinatura de um responsável legal (Apêndice A).

### **4.2. População do estudo**

A população do estudo foi composta por nutrizes e seus respectivos bebês, residentes no município de Viçosa, Minas Gerais (MG), e que tiveram seu parto realizado no Hospital São Sebastião (HSS), única maternidade do município e micro região.

Segundo os dados disponibilizados pelo HSS, no período de maio de 2012 a abril de 2013, foram realizados 670 partos em Viçosa-MG, sendo que 13,7% das parturientes eram adolescentes.

A amostragem foi realizada por conveniência e as nutrizes foram contactadas por telefonema e/ou endereço residencial, fornecidos pelo próprio HSS ou pelas Estratégias de Saúde da Família (ESFs) do município.

As nutrizes adolescentes (10 – 19 anos) foram recrutadas considerando os seguintes critérios de inclusão: ausência de enfermidade crônica ou processos infecciosos atualmente ou durante a gestação, não ingestão anterior ou atual de suplementos que contivessem vitamina A, vitamina E ou carotenoides, idade gestacional entre 37 e 42 semanas e lactentes em aleitamento materno exclusivo ou predominante, com idade entre 30 e 180 dias pós-parto, para contemplar análise do leite maduro.

Foram excluídas nutrizes fumantes e etilistas, e aquelas cujos recém-nascidos permaneceram retidos na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal, portadores de anomalias congênitas e/ou que apresentaram baixo peso ao nascer (< 2500 gramas).

Das nutrizes adolescentes contactadas, 39 atenderam a todos os critérios de inclusão e exclusão do estudo, porém apenas 30 concluíram todas as etapas (Figura 1).

As nutrizes adultas (≥ 20 anos) foram selecionadas considerando os critérios citados anteriormente e pareadas segundo o tempo pós-parto e nível socioeconômico (Figura 1).

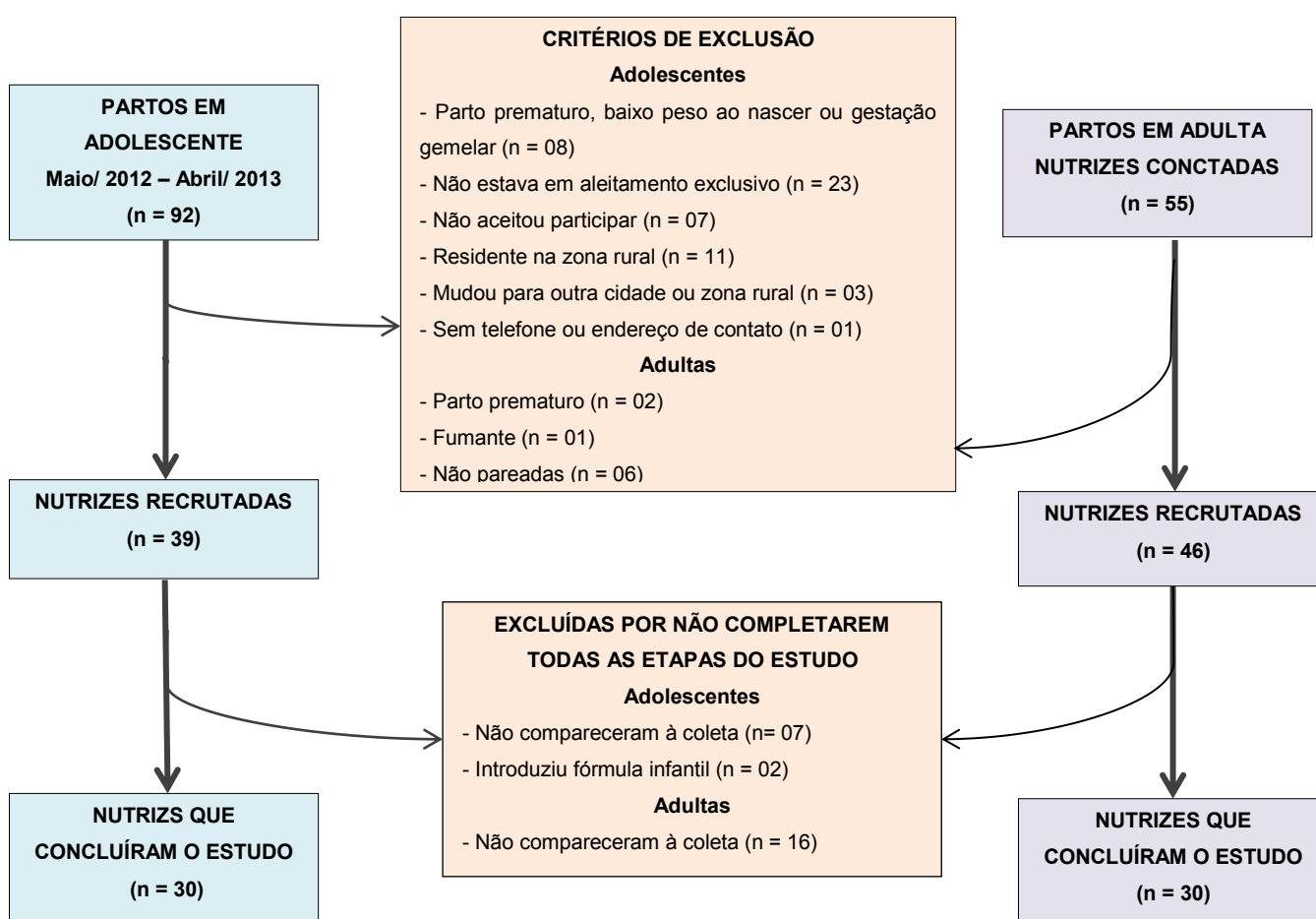


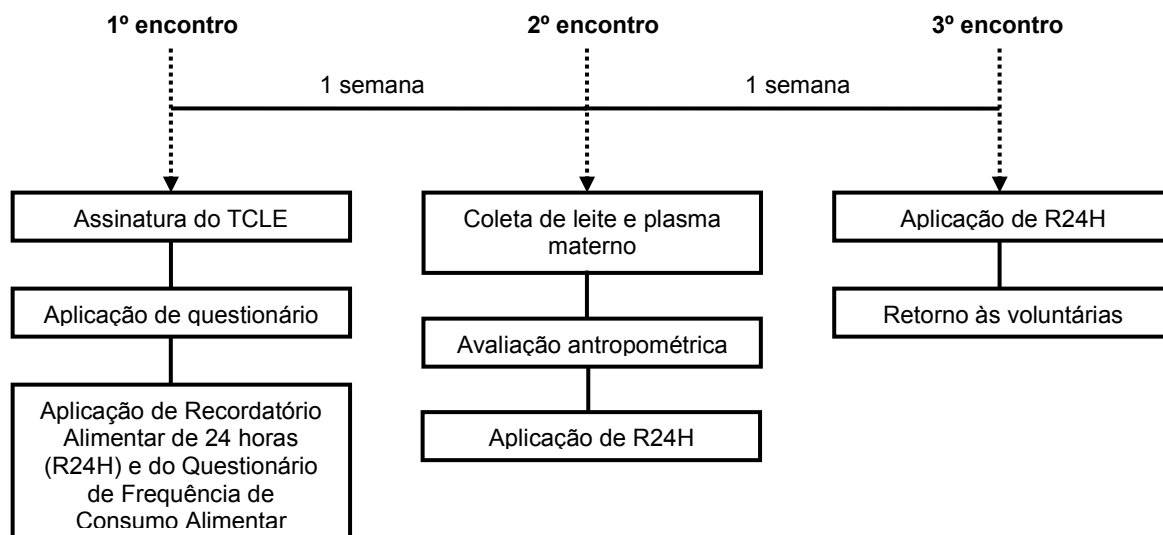
Figura 1 - Fluxograma de recrutamento das participantes do estudo.

### 4.3. Desenho do estudo

Trata-se de um estudo observacional, de corte transversal. A coleta de dados foi realizada entre maio de 2012 e abril de 2013. O recrutamento foi realizado no próprio domicílio. Os atendimentos e coleta de material foram

realizados na ESF mais próxima da residência da nutriz e na casa 7 da Vila Giannetti, localizada na UFV.

O procedimento para coleta de ambos os grupos ocorreu em 3 encontros, de acordo com a Figura 2.



**Figura 2** - Procedimentos adotados para a coleta de dados.

#### 4.4. Entrevista estruturada

Foi aplicado um questionário estruturado contemplando a identificação da nutriz, idade cronológica e da menarca, condições socioeconômicas, escolaridade, condições da habitação, dados obstétricos, uso de suplementos, dados gestacionais, peso e comprimento do lactente ao nascer e tipo de aleitamento (Apêndice B). Os questionários foram aplicados por profissionais previamente capacitados.

Para classificação do nível socioeconômico foi utilizado o Critério de Classificação Econômica, desenvolvido pela Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (Anexo B)<sup>1</sup>. Através do somatório de pontos as nutrizes foram enquadradas nas classes sociais A1, A2, B1, B2, C1, C2, D e E. Para as análises posteriores, as classes A1 e A2, foram agrupadas na categoria A; B1 e B2 na categoria B; C1 e C2 na categoria C; enquanto D e E foram agrupadas na categoria DE.

#### 4.5. Avaliação antropométrica e da composição corporal

Para avaliação antropométrica da nutriz, foram aferidos peso, estatura e perímetro braquial (PB), e do lactente as medidas de peso, comprimento e perímetros cefálico e torácico. A partir dos dados de peso e estatura da nutriz, construiu-se o índice de massa corporal (IMC). Para assegurar maior confiabilidade dos dados, todas as medidas foram realizadas por apenas um avaliador, previamente capacitado.

- **Peso da nutriz:** o peso pré-gestacional foi informado pela nutriz e o ganho de peso durante a gestação foi obtido no “Cartão da Gestante”. A classificação segundo o ganho de peso gestacional foi realizada segundo o Instituto de Medicina (Quadro 1)<sup>2</sup>. O peso atual foi obtido em balança portátil, digital e eletrônica, com capacidade de 150 quilos e sensibilidade de 50 gramas (Welmy<sup>®</sup>), segundo protocolo descrito por Jelliffe<sup>3</sup>. As voluntárias usavam roupas leves e mantiveram-se em pé, com os braços relaxados e cabeça no plano horizontal<sup>3</sup>.

**Quadro 1** - Classificação do índice de massa corporal (IMC) e ganho de peso esperado para gestantes.

IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Classificação	Ganho de peso esperado (kg)
< 18,5	Baixo peso	12,5 – 18,0
18,5 – 24,9	Eutrofia	11,5 – 16,0
25,0 – 29,9	Sobrepeso	7,0 – 11,5
≥ 30,0	Obesidade	5,0 – 9,0

Fonte: Adaptado de Instituto de Medicina<sup>2</sup>.

- **Estatura:** verificada com antropômetro portátil, com extensão de 2 metros, dividido em centímetros e subdividido em milímetros (Alturaexata<sup>®</sup>). As voluntárias encontravam-se em pé, descalças, braços relaxados, cabeça no plano horizontal e calcanhares unidos<sup>3</sup>.
- **IMC:** calculado a partir da divisão do peso (em quilograma) pelo quadrado da estatura (em metros). Os pontos de corte utilizados para nutrizes acima de 19 anos encontram-se no Quadro 2. Para avaliação do estado nutricional das adolescentes com até 19 anos incompletos, utilizou-se a curva de crescimento para meninas, de IMC por idade, proposta pela OMS<sup>4</sup>.

**Quadro 2** - Pontos de corte e classificação do estado nutricional segundo o índice de massa corporal (IMC).

IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Classificação
< 18,5	Baixo peso
18,5 – 24,9	Eutrofia
25,0 – 29,9	Pré-obeso
30,0 – 34,9	Obeso classe I
35,0 – 39,9	Obeso classe II
> 40,0	Obeso classe III

Fonte: Adaptado de World Health Organization<sup>5</sup>.

- **PB:** aferido com fita métrica com extensão de 2 metros, flexível e inelástica, dividida em centímetros e subdividida em milímetros. A aferição foi realizada no ponto médio entre o acrômio da escápula e o olécrano da ulna do braço direito<sup>6</sup>. Procedeu-se com avaliação do estado nutricional (Quadro 3) pela determinação do percentual de adequação da medida (calculada a partir da divisão do PB pelo valor do percentil 50, em centímetros, e posterior multiplicação por 100). Pela ausência de pontes de corte específicos para nutriz, adotou-se a mediana da amostra (percentil 50).

**Quadro 3** - Estado nutricional segundo o perímetro braquial.

Adequação do PB (%)	Classificação
< 70	Desnutrição grave
70 – 79	Desnutrição moderada
80 – 89	Desnutrição leve
90 – 109	Eutrofia
110 – 120	Sobrepeso
> 120	Obesidade

Fonte: Adaptado de Blackburn e Thornton<sup>7</sup>.

- **Peso do lactente:** aferido por meio de balança pediátrica com capacidade de 15 quilos e divisão de 05 gramas (Welmy<sup>®</sup>), com a criança totalmente despida<sup>8</sup>.
- **Comprimento:** obtido com antropômetro infantil, com extensão de 150 centímetros, divididos em centímetros e subdivididos em milímetros. A medida foi aferida com dois avaliadores: enquanto um mantinha a cabeça da criança apoiada no plano vertical em contato com a parte fixa do antropômetro, o outro pressionava os joelhos da criança na direção da superfície e segurava-lhes os pés com uma mão, e com a outra deslocava o quadro móvel do equipamento até que encostasse à superfície plantar, mantendo um ângulo reto entre o pé e a perna<sup>8</sup>. Os ombros, as costas e as nádegas da criança ficavam bem apoiados na superfície horizontal<sup>8</sup>.

- Perímetro cefálico: aferido com fita métrica com extensão de 2 metros, flexível e inelástica, dividida em centímetros e subdividida em milímetros. Com a criança deitada a fita foi posicionada sobre a proeminência occipital e sobre o arco das sobrancelhas<sup>9</sup>.
- Perímetro torácico: obtido com fita métrica com extensão de 2 metros, flexível e inelástica, dividida em centímetros e subdividida em milímetros. Foi aferido com a criança deitada e a fita permaneceu ao nível dos mamilos<sup>9</sup>.

Para classificação do estado nutricional dos bebês foram utilizadas as curvas com pontos de corte para meninas e meninos até 5 anos propostas pela OMS<sup>10</sup>.

A avaliação da composição corporal da nutriz foi realizada por meio de bioimpedância elétrica tetrapolar (Biodynamics<sup>®</sup>, modelo 310) e pela aferição de dobras cutâneas bicipital (DCB), tricipital (DCT), subescapular (DCSE) e suprailíaca (DCSI). A gordura periférica foi determinada através do somatório das DCB e DCT e a gordura central pelo somatório da DCSE e DCSI.

Para realização da bioimpedância elétrica tetrapolar as voluntárias foram instruídas a não fazer uso de diuréticos nos 7 dias anteriores à realização do exame, não consumir café no dia anterior, não realizar exercício físico nas 12 horas anteriores à realização do exame, não ingerir bebidas alcoólicas nas 48 horas que antecedem o teste e evitar a ingestão de água nas horas precedentes ao teste. As voluntárias permaneceram em posição horizontal sobre uma superfície não condutora, na posição supina, com braços e pernas abduzidos a 45 graus a partir do corpo, sem meias e luvas ou objetos metálicos. Um eletrodo emissor foi colocado próximo à articulação metacarpo-falangea da superfície dorsal da mão direita e o outro distal do arco transversal da superfície superior do pé direito<sup>10</sup>. Um eletrodo detector foi colocado entre as proeminências distais do rádio e da ulna do punho direito e o outro, entre os maléolos medial e lateral do tornozelo direito, de acordo com o manual do fabricante<sup>11</sup>.

As dobras cutâneas foram obtidas utilizando-se compasso Lange<sup>®</sup>. A DCB foi aferida com o indivíduo na posição ortostática e em repouso, sendo determinada no sentido do eixo longitudinal do braço na sua face anterior, na altura da maior circunferência aparente do ventre muscular do bíceps, estando

o membro superior direito em repouso<sup>12</sup>. A DCT foi aferida com o indivíduo em pé, com braços relaxados ao longo do corpo, no qual se mediu a dobra na face posterior do braço, na distância média entre a borda súpero-lateral do acrômio e o bordo inferior do olecrano, sendo que sua determinação foi realizada seguindo o eixo longitudinal do membro<sup>12</sup>. A DCSE foi determinada obliquamente ao eixo longitudinal do corpo, seguindo a orientação dos arcos costais, dois centímetros abaixo do ângulo inferior da escápula<sup>12</sup>. A DCSI foi aferida na metade da distância entre o último arco costal e a crista ilíaca, sobre a linha axilar medial<sup>12</sup>. Cada medida foi verificada três vezes, não consecutivas, sendo o resultado calculado pela média dos dois valores mais próximos.

A avaliação do percentual de gordura corporal foi realizada com base nos valores dos percentis de amostra estudada devido a ausência de pontos de corte para esse parâmetro em nutrizes.

#### **4.6. Avaliação dietética**

Para avaliar os hábitos alimentares das nutrizes, foram aplicados recordatórios de 24 horas (R24H) (Apêndice C) para investigar a ingestão atual, e um questionário de frequência de consumo alimentar quantitativo (QFCA) (Apêndice D) para avaliar a ingestão habitual<sup>13</sup>.

No R24H, as nutrizes foram orientadas a relatar todos os alimentos sólidos e líquidos, consumidos no dia anterior, informando os horários de consumo e as quantidades em medidas caseiras ou unidades<sup>13</sup>. A avaliação da ingestão atual foi baseada nos R24H de três dias não consecutivos, sendo dois dias durante a semana e um no final de semana<sup>14</sup>.

Considerando que o consumo de nutrientes varia de indivíduo para indivíduo (variabilidade interpessoal) e diariamente (variabilidade intrapessoal), foi realizado o ajuste estatístico pela variabilidade, segundo método proposto por Nusse e colaboradores, a partir dos dados obtidos pelo R24H<sup>15</sup>.

As prevalências de ingestões inadequadas da população foram calculadas por meio da fórmula matemática que se segue, na qual o valor de z, disponível em tabela estatística de distribuição normal, indica o percentual de inadequação do grupo<sup>16</sup>. Por levar em consideração os valores de EAR, segundo a faixa etária, as adolescentes em período lactacional com 19 anos de

idade foram enquadradas no grupo das adultas, exclusivamente para a análise em questão.

$$z = \frac{(\text{EAR} - \text{média})}{\text{DP}}$$

No QFCA, a nutriz informou a frequência e a quantidade que consumia dos alimentos contidos na lista. Foi realizada uma adaptação do QFCA a partir de um questionário previamente validado para população de Viçosa-MG<sup>17</sup>, e de outro que investigou as vitaminas A e E, e carotenoides em nutrízes<sup>8</sup>. As frequências de consumo foram classificadas em 1 a 2 vezes por dia, 1 a 6 vezes por semana, consumo quinzenal, mensal, raramente e não consome.

Pela correlação entre o consumo total de energia e o consumo individual de nutrientes estimado pelo QFCA, o consumo de nutrientes foi ajustado pelo consumo total de energia segundo o método de ajuste residual, considerando-se o consumo de energia como variável independente e o consumo de nutriente como variável dependente<sup>19</sup>. Os valores dos resíduos não padronizados gerados pelos modelos de regressão foram somados à média do consumo da população, obtendo-se assim os valores de nutrientes ajustados pelas calorias totais<sup>19</sup>. Todos os nutrientes e energia foram transformados para a base logarítmica para atender aos requisitos do modelo de regressão linear<sup>19</sup>.

Foram utilizados como recursos visuais um álbum fotográfico<sup>20</sup> e utensílios, para auxiliar na estimativa da quantidade de alimentos e das porções relatadas.

A padronização e a conversão das quantidades em medidas caseiras e/ou unidades relatadas pelas nutrízes em peso e volume, foi realizada segundo Barbosa<sup>21</sup>. Para os cálculos dietéticos foi utilizado o software Dietpro<sup>®</sup> (versão 5.5i)<sup>22</sup>. As tabelas de composição de alimentos selecionadas para as análises foram: Tabela USDA (Nutrient Data Base For Standard Reference), Tabela de Composição de Alimentos: Suporte para Decisão Nutricional, Tabelas de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil (IBGE) e Tabela Brasileira de Composição de Carotenoides em Alimentos.

## **4.7. Análises bioquímicas**

### **4.7.1. Coleta e preparo das amostras**

Amostras de leite e sangue materno foram obtidas pela manhã, após 12 horas de jejum.

Foram coletados 20 mL de sangue por punção venosa, sendo 10 mL em tubos de polipropileno contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) como anticoagulante e 10 mL em tubos de polipropileno contendo soro-gel. O procedimento foi realizado por um profissional da área de enfermagem devidamente capacitado.

Alíquotas foram encaminhadas para determinação imediata de hematócrito e da hemoglobina. Em seguida, o plasma contido nos tubos de EDTA foi centrifugado (Excelsa<sup>®</sup> II, modelo 206-BL) a 678 g por 15 minutos, acondicionado em *eppendorfs* e congelado. Para análise do perfil lipídico, os tubos contendo soro-gel foram centrifugados a 1328 g, por 10 minutos, o soro acomodado em *eppendorfs* e congelado.

O leite foi coletado utilizando-se bomba elétrica (Matern Milk<sup>®</sup>), na mama não succionada pelo lactente no dia da coleta, observando as técnicas preconizadas pela Rede Nacional de Bancos de Leite Humano<sup>23</sup>. As amostras foram coletadas em potes plásticos esterilizados e imediatamente transferidas para *eppendorfs*.

As alíquotas de plasma, sangue e leite foram armazenadas em -80°C até o momento da análise, por um período máximo de 12 meses, protegidos com papel alumínio para minimizar perdas do conteúdo antioxidante.

### **4.7.2. Hemograma completo**

O hemograma completo foi determinado pelo Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde da UFV por meio de impedância elétrica. Foi realizada contagem de células brancas, vermelhas, hemoglobina, hematócrito, índice de células vermelhas e plaquetas, mais a contagem diferencial de leucócitos.

#### 4.7.3. Perfil lipídico

O perfil lipídico foi determinado no Laboratório de Bioquímica Nutricional do Departamento de Nutrição e Saúde da UFV, por meio de métodos enzimáticos colorimétrico, utilizando Kits comerciais (BioClin<sup>®</sup>) para dosagem de colesterol total (CT), lipoproteínas de alta densidade (HDL-c) e triglicerídeos (TG). As concentrações das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) foram determinadas por meio do cálculo dado pela equação de Friedewald<sup>24</sup>:

$$\text{LDL-c} = \text{CT} - \text{HDL-c} - \text{TG}/5$$

O uso da fórmula de Friedewald é recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), e seu uso não é indicado para pacientes com hipertrigliceridemia (TG > 400 mg/dL), hepatopatia coleástica crônica, diabetes *mellitus* ou síndrome nefrótica<sup>25</sup>. Como as voluntárias não apresentavam nenhuma destas patologias citadas optou-se pelo uso da fórmula em substituição a dosagem direta.

#### 4.7.4. Determinação do retinol, carotenoides e tocoferóis

As amostras e extratos foram protegidos da luz natural e artificial com uso de vidrarias escuras, papel alumínio e cortinas tipo *black-out*. Retinol, carotenoides ( $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina) e tocoferóis ( $\alpha$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocoferol) foram extraídos e analisados no Laboratório de Análise de Vitaminas da UFV, utilizando os métodos propostos por Turner e Burri, com modificações<sup>26</sup>.

As análises foram realizadas utilizando um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (Shimadzu, SCL-10 ATVP, Japão) equipado com bomba de alta pressão (Shimadzu, LC-10ATVP, Japão), amostrador automático com *loop* de 500  $\mu\text{L}$  (Shimadzu, SIL-10AF, Japão), detector de arranjo de diodos (DAD) (Shimadzu, SPD-M10A, Japão) e sistema de desgaseificação da fase móvel com gás hélio (Shimadzu, DGU-2A, Japão).

As condições cromatográficas utilizadas para a análise incluíram um sistema de CLAE-DAD, coluna de fase reversa Waters Spherisorb ODS2 (3  $\mu\text{m}$ , 150 mm x 3 mm) equipada com pré-coluna (ODS2, 3 $\mu\text{m}$ , 20 mm x 3 mm); volume de injeção de 40-50  $\mu\text{L}$  e varredura do espectro de 200-450 nm.

Retinol, carotenoides e tocoferóis foram medidos a 325, 450 e 292 nm, respectivamente. Foi realizada eluição isocrática com fase móvel composta por acetonitrila:diclorometano:metanol (70:20:10) e fluxo de 0,5 mL/min.

#### **4.7.4.1. Extração dos compostos do leite humano**

A partir de 100 µL de leite, previamente aquecidos em banho-maria (Hemoquímica, modelo HM-1003), a 37°C, por 60 minutos, para aumentar a solubilidade dos lipídios do leite, foram adicionados 200 µL de padrão interno ( $\delta$ -tocoferol em metanol; 2,5 µg/mL), 20 µL de BHT em etanol (0,1%), 100 µL de pirogallol em etanol (10%) e 1 mL de etanol; e homogeneização em vórtex (15 segundos). Posteriormente, a mistura foi saponificada adicionando-se 300 µL de solução de hidróxido de potássio 20%, seguido de aquecimento em banho-maria (45°C, por 30 minutos). Em seguida, 2 mL de hexano e 700 µL de água ultrapura, produzida em sistema Millipore Milli-Q<sup>®</sup>, foram adicionados à mistura, seguida de agitação em vórtex por 1 minuto e centrifugação (108 g, por 2 minutos). O sobrenadante foi coletado em tubo de ensaio e o processo de extração repetido utilizando-se 2 mL de hexano. As camadas suspensas foram combinadas e secas em nitrogênio gasoso.

Para o processo de extração dos analitos foram utilizados reagentes com grau de pureza P.A. (Vetec<sup>®</sup>, Brasil).

#### **4.7.4.2. Extração dos compostos do plasma**

Os analitos do plasma foram extraídos a partir de 200 µL, após descongelados em temperatura ambiente. As amostras foram adicionadas de 1 mL de padrão interno ( $\delta$ -tocoferol em hexano; 0,5 µg/mL) e 1 mL de butilhidroxitolueno (BHT) em etanol (0,1%), e agitadas, em vórtex (Biomixer, modelo QL-901), por 15 segundos. Em seguida, 1 mL de hexano foi adicionado à mistura e prosseguiu-se com agitação por 1 minuto. Para etapa de extração, foi adicionado 800 µL de água ultrapura e realizou nova agitação por 1 minuto, e centrifugação por 2 minutos a 244 g. A fase superior foi separada e o processo de extração repetido utilizando-se 2 mL de hexano. As camadas superiores foram combinadas e secas em nitrogênio gasoso.

Para o processo de extração dos analitos foram utilizados reagentes com grau de pureza P.A. (Vetec<sup>®</sup>, Brasil).

#### **4.7.4.3. Análise simultânea dos compostos por CLAE**

As amostras secas, de leite e plasma, foram ressuspensas em 1 mL de hexano, secas novamente em nitrogênio gasoso e posteriormente reconstituídas em 100 µL de fase móvel. Volumes de 50 µL e 40 µL de leite e plasma e, respectivamente, foram injetados para identificação dos compostos de interesse. O tempo de corrida foi de 12 minutos.

Para o processo de análise foram utilizados reagentes grau de pureza HPLC (Tedia<sup>®</sup>, Brasil).

#### **4.7.4.4. Identificação e quantificação dos compostos**

A identificação e quantificação dos compostos foram realizadas usando os seguintes padrões: retinol, α-caroteno, β-caroteno, e luteína+zeaxantina (Sigma Aldrich<sup>®</sup>, Alemanha); e α-, γ- e δ-tocoferóis (Calbiochem<sup>®</sup>, Estados Unidos).

A identificação dos compostos foi realizada comparando-se os tempos de retenção obtidos das analitos das amostras e o dos respectivos padrões externos (Apêndice E). A quantificação deu-se por meio da obtenção das áreas dos picos e equações derivadas das curvas analíticas dos padrões, preparadas a partir da injeção de seis diferentes concentrações, e expressas em µmol/L.

As equações da reta e os coeficientes de correlação para as curvas analíticas foram obtidas por regressão linear, (α-caroteno:  $y = 18.614.831,1757x - 1.891,8925$ ;  $R^2 = 0,9991$ ; β-caroteno:  $y = 8.389.870,0234x - 23.422,2787$ ;  $R^2 = 0,9909$ ; Luteína+zeaxantina:  $y = 7.620.952,1712x - 3.264,7219$ ;  $R^2 = 0,9999$ ; α-tocoferol:  $y = 890888x - 10332$ ;  $R^2 = 0,9999$ ; γ-tocoferol:  $y = 1.403.360,2778x + 4.080,3360$ ;  $R^2 = 0,9989$ ; δ-tocoferol:  $y = 801930x + 757,39$ ;  $R^2 = 0,9982$ ). Equações distintas foram utilizadas apenas para quantificar o retinol do leite (Retinol:  $y = 18.402.785,5556x + 20.412,004$ ;  $R^2 = 0,9982$ ) e plasma (Retinol:  $y = 18.241.849,3052x + 31.377,3500$ ;  $R^2 = 0,9979$ ).

#### 4.7.4.5. Interpretação dos resultados

Foram consideradas anêmicas as nutrizes que apresentaram concentração de hemoglobina inferior a 12 g/dL<sup>27</sup>.

A análise do perfil lipídico seguiu as Diretrizes da SBC<sup>28,29</sup> (Quadro 4):

**Quadro 4** - Valores de referência para o perfil lipídico de adolescentes e adultas

Valor de Referência	Adolescentes	Adultas
Colesterol total (mg/dL)	<150	<200
HDL-c (mg/dL)	≥45	>60
LDL-c (mg/dL)	<100	<130
Triglicerídeos (mg/dL)	<100	<150

Fonte: Adaptado de Sociedade Brasileira de Cardiologia<sup>28,29</sup>.

O ponto de corte considerado para verificar a deficiência de vitamina A, segundo a OMS, para as concentrações de retinol no leite e plasma, foi o valor inferior a 1,05 μmol/L<sup>30</sup>. Os pontos de corte para as concentrações plasmáticas de carotenoides estão apresentadas no Quadro 5.

**Quadro 5** - Pontos de corte para as concentrações de carotenoides no sangue.

Carotenoide	Concentração plasmática (μmol/L)
α-caroteno	0,02 – 0,47
β-caroteno	0,04 – 2,26
Luteína	0,10 – 1,23

Fonte: Adaptado de Instituto de Medicina<sup>31</sup>.

Para a vitamina E plasmática, valores inferiores a 11,6 μmol/L classificaram as voluntárias como deficientes e 11,6 – 16,2 μmol/L com baixas concentrações de α-tocoferol<sup>32</sup>.

Não existem parâmetros para avaliar a deficiência de carotenoides e outros tocoferóis no leite humano.

#### 4.8. Análises estatísticas

O banco de dados foi digitado no *Microsoft Excel*<sup>®</sup> e as análises estatísticas realizadas no *software Statistical Package for Social Sciences (SPSS)*, versão 21.0. Para verificar a normalidade das variáveis utilizou-se o teste de *Shapiro-Wilk*. Conforme a distribuição da variável utilizou-se testes paramétricos e não paramétricos.

Comparações entre dois grupos foram realizadas por meio do teste *T de Student* ou teste de *Mann-Whitney*, e entre três grupos independentes ou mais através da Análise de Variância (ANOVA *one way*) ou *Kruskal-Wallis*.

Para verificar a correlação entre duas variáveis numéricas, os testes de correlação de *Pearson* ou *Spearman* foram utilizados. O Teste do *Qui-quadrado* foi utilizado para verificar associação entre duas variáveis categóricas, e o Teste *Exato de Fisher* quando o valor esperado em alguma casela na tabela 2x2 foi menor que 5.

O nível de rejeição para a hipótese de nulidade, para todos os testes aplicados, foi de 5% ( $P < 0,05$ ).

#### **4.9. Retorno às voluntárias**

Ao final do estudo, todas as nutrízes tiveram acesso aos resultados dos parâmetros avaliados e foram orientadas quanto à importância do aleitamento materno, práticas corretas da amamentação, adequação da dieta e adoção de hábitos de vida saudáveis durante a lactação (Apêndice F).

#### 4.10. Referências

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA. **Critério de classificação econômica Brasil**. Disponível em: <<http://www.abep.org/novo/Content.aspx?ContentID=301>>. Acesso em 25 abr. 2012.
2. INSTITUTE OF MEDICINE. **Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines**. Washington DC: National Academy Press, 2009.
3. JELLIFFE, D.B. **The assessment of the nutrition status of the community**. Geneva: WHO, 1966.
4. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Growth reference data for 5-19 years**. 2007. Disponível em: <<http://www.who.int/growthref/en/>>. Acesso em: 10 abr. 2012.
5. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Geneva: WHO, 1998.
6. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Physical Status: the use and interpretation of anthropometry**. Geneva: WHO, 1995.
7. BLACKBURN, G.L.; THORNTON, P.A. Nutritional assessment of the hospitalized patients. **Medical Clinics of North America**, v.63, n5, p.1103-1115, 1979.
8. EUCLYDES, M. P. **Nutrição do lactente: base científica para uma alimentação saudável**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2005.
9. ONIS, M. et al. Measurement and standardization protocols for anthropometry used in the construction of a new international growth reference. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 25, n.1, p.27-39, 2004.
10. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The WHO Child Growth Standards**. 2006. Disponível em: <<http://www.who.int/childgrowth/en/>>. Acesso em: 10 abr. 2012.
11. BIODYNAMICS CORPORATION. **Quick Start Guide for the BIA 310e**. Disponível em: <[http://www.biodyncorp.com/pdf/quick\\_start\\_guide\\_310.pdf](http://www.biodyncorp.com/pdf/quick_start_guide_310.pdf)>. Acessado em: 15 maio 2012.
12. LOHMAN, T.G.; ROCHE, F.; MARTORELL, R. **Anthropometric Standardization Reference Manual**. Human Kinetics: Champaign, IL, USA, 1988. 117p.
13. SERRA-MAJEM, L.; ARACENTA-BARTRINA, J. Introducción a la epidemiología nutricional. In: SERRA-MAJEM, L.; ARACENTA-

- BARTRINA, J.; MATAIX-VERDÚ, J. **Nutrición y Salud Pública**. Barcelona: Masson, 1995. p.50-65.
14. FISBERG, R.M. et al. Métodos de inquéritos alimentares. In: **Inquéritos alimentares: métodos e bases científicas**. (Org.). 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2005. p. 2-31.
15. NUSSER, S.M. et al. A Semiparametric transformation approach to estimating usual daily intake distributions. **Journal of the American Statistical Association**, v.91, n.3436, p.1440-1449, 1996.
16. COMINETTI, C.; COZZOLINO, S.M. Ingestões Dietéticas de Referência. In: DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, J.S. **Ciências Nutricionais: Aprendendo a Aprender**. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2008. p.407-428.
17. CRISPIM, S.P. et al. Validade relativa de um questionário de frequência alimentar para utilização em adultos. **Revista de Nutrição**, v.22, n.1, p. 81-95, 2009.
18. PRESTA, F.M.P. **Composição do leite materno em vitamina A, carotenóides e vitamina E: relação com o estado nutricional e características maternas**. 2001. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2001.
19. WILLETT, W.; STAMPFER, M. J. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. **American Journal of Epidemiology**, v. 124, n. 1, p. 17-27, 1986.
20. ZOBOTTO, C.B.; VIANA, R.P.T.; GIL, M.F. **Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções**. Campinas, SP: UNICAMP; Goiânia: UFG. 74p, 1996.
21. BARBOSA, K.B.F. **Métodos para avaliação do consumo alimentar e sua relação com marcadores de risco para síndrome metabólica em adolescentes do sexo feminino**. 2006. 228f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.
22. ESTEVES, E.A. et al. Sistema de apoio à decisão para avaliação do estado nutricional e prescrição de dietas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.48, n.3 p.236-241, 1998.
23. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Banco de leite humano: funcionamento, prevenção, controles e riscos**. 2008. Rede brasileira de bancos de leite humano. Disponível em: <<http://www.redeblh.fiocruz.br/media/blhanv2008.pdf>>. Acesso em: 28 mar. 2012.
24. FRIEDEWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without

- use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v.18, n.6, p.499-502, 1972.
25. SPOSITO, A.C. et al. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.88, n.1, p.2-19, 2007.
26. TURNER, T.; BURRI, B.J. Rapid Isocratic HPLC Method and Sample Extraction Procedures for Measuring Carotenoid, Retinoid, and Tocopherol Concentrations in Human Blood and Breast Milk for Intervention Studies. **Chromatographia**, v.75, n.5-6, p.241-252, 2012.
27. MANUAL DE EXAMES: **Laboratório Hermes Pardini**. 2002. Disponível em: <<http://www3.hermespardini.com.br/pagina/141/home.aspx>>. Acesso em: 02 fev. 2013.
28. GIULIANO, I.C.B. et al. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e Adolescência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.85, n.6, 2005.
29. XAVIER H.T. ET AL. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.101, n. 4, supl. 1, p.1-20, 2013.
30. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005**. Geneva: WHO,2009.
31. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press, 2000.
32. Laboratory Assessment of Nutritional Status. **American Journal of Public Health**, v.63, n.11, p.28-37, 1973.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Caracterização da população

Participaram do estudo 60 nutrizes residentes no município de Viçosa-MG, com idade entre 13 e 40 anos. A mediana de idade das adolescentes foi de 18,0 anos e das adultas de 26,5 anos ( $P < 0,001$ ).

A mediana materna de anos de estudo foi de 8,0 e 11,0 anos completos, para adolescentes e adultas, respectivamente, sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,001$ ). A mediana da renda familiar *per capita* relatada, para o grupo de nutrizes adolescentes (R\$ 216,7) foi menor do que para o grupo das adultas (R\$ 311,0;  $P = 0,010$ ) (Tabela 1).

Em relação aos dados obstétricos e gestacionais, houve diferença entre os grupos para a média da idade ginecológica,  $5,2 \pm 1,9$  e  $14,1 \pm 5,2$  anos ( $P < 0,001$ ) e número de filhos,  $1,1 \pm 0,4$  e  $1,7 \pm 0,8$  filhos ( $P < 0,001$ ). As medianas do número de consultas realizadas durante o pré-natal e IMC pré-gestacional foram inferiores para o grupo de adolescentes,  $P = 0,029$  e  $P = 0,005$ , respectivamente (Tabela 1).

O peso e o comprimento ao nascer dos lactentes não diferiram estatisticamente entre os grupos de nutrizes adolescentes e adultas (Tabela 1).

**Tabela 1** - Características das nutrizes e dos recém-nascidos do município de Viçosa-MG, 2013.

Variáveis	Nutrizes				P
	Adolescentes		Adultas		
	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	
<b>Características socioeconômicas</b>					
Escolaridade materna (anos) <sup>a</sup>	8,0±1,7	8,0 (5,0-11,0)	10,6±3,0	11,0 (6,0-18,0)	<0,001*
Renda familiar <i>per capita</i> (R\$) <sup>a</sup>	246,6±115,1	216,7 (100,0-518,3)	442,6±375,3	311,0 (78,8-2000,0)	0,010*
<b>Dados obstétricos e gestacionais</b>					
Idade materna (anos) <sup>a</sup>	17,5±1,5	18,0 (13,0-19,0)	27,4±5,0	26,5 (20,0-40,0)	<0,001*
Idade ginecológica (anos) <sup>b</sup>	5,2±1,9	5,0 (2,0-9,0)	14,1±5,2	14,0 (5,0-24,0)	<0,001*
Número de filhos <sup>b</sup>	1,1±0,4	1,0 (1,0-2,0)	1,7±0,8	2,0 (1,0-4,0)	<0,001*
Número de consultas pré-natal <sup>a</sup>	6,1±1,8	6,0 (2,0-9,0)	7,3±1,9	7,0 (4,0-13,0)	0,029*
IMC pré-gestacional (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	21,2±3,1	21,0 (16,0-28,4)	25,0±5,6	23,8 (17,9-40,8)	0,005*
Ganho de peso gestacional (kg) <sup>b</sup>	12,6±5,1	12,1 (4,3-23,0)	11,8±5,5	11,8 (0,1-22,4)	0,585
Período lactacional (dias) <sup>a</sup>	60,9±36,3	47,5 (30,0-161,0)	64,1±33,2	52,5 (30,0-154,0)	0,359
<b>Dados do recém-nascido</b>					
Peso ao nascer (kg) <sup>b</sup>	3,2±0,4	3,3 (2,5-4,1)	3,2±0,3	3,1 (2,8-4,0)	0,687
Comprimento ao nascer (cm) <sup>a</sup>	48,8±1,6	49,0 (46,0-52,0)	48,9±1,5	49,0 (44,0-51,0)	0,395

$\bar{X} \pm DP$  = Média±desvio padrão; Mín = mínimo; Máx = máximo; IMC = Índice de massa corporal.

\*Significância estatística (P<0,05); <sup>a</sup>Teste de *Mann-Whitney*; <sup>b</sup>Teste *T Student*.

Segundo os dados dos recém-nascidos, a maior parte deles (76,7% e 96,7% para adolescentes e adultas, respectivamente) foi classificado como adequado para idade gestacional (AIG) e do total de bebês que apresentavam peso inadequado para idade gestacional, 100% dos pequenos para idade gestacional (PIGs) e 80% dos grandes para idade gestacional (GIGs) eram de mães adolescentes, entretanto sem associação estatisticamente significativa entre a classificação e a idade materna (P=0,064) (Tabela 2).

Quanto ao tipo de parto, não houve diferença estatística entre os dois grupos (P=0,426). Foi encontrado maior percentual de primiparidade entre adolescentes (70,3%) e maior percentual de multiparidade entre adultas (82,6%), sendo a diferença estatisticamente significativa (P<0,001) (Tabela 2).

Dentre as nutrizes com baixo peso, 85,7% eram adolescentes, e entre aquelas com sobrepeso e obesidade, 70% e 100%, respectivamente, eram

adultas, havendo associação estatisticamente significativa entre o estado nutricional e a idade ( $P=0,041$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2** - Condições de nascimento dos lactentes, estado nutricional pré-gestacional e ganho de peso gestacional das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Variáveis	Nutrizes				P
	Adolescentes		Adultas		
	N	%	n	%	
<b>Sexo do lactente</b>					
Masculino	13	44,8	16	55,2	0,438
Feminino	17	54,8	14	45,2	
<b>Classificação do recém-nascido</b>					
PIG	3	100,0	-	-	0,064
AIG	23	44,2	29	55,8	
GIG	4	80,0	1	20,0	
<b>Tipo de parto</b>					
Vaginal	13	56,5	10	43,5	0,426
Cesariana	17	45,9	20	54,1	
<b>Paridade<sup>a</sup></b>					
Primípara	26	70,3	11	29,7	<0,001*
Múltipara	4	17,4	19	82,6	
<b>Estado nutricional<sup>b</sup></b>					
Baixo peso	6	85,7	1	14,3	0,005*
Eutrofia	20	52,6	18	47,4	
Sobrepeso	3	30,0	7	70,0	
Obesidade	-	-	3	100,0	
<b>Ganho de peso gestacional</b>					
Insuficiente	9	47,4	10	52,6	0,924
Adequado	8	53,3	7	46,7	
Excessivo	8	47,1	9	52,9	

PIG = Pequeno para idade gestacional; AIG = Adequado para idade gestacional; GIG = Grande para idade gestacional.

\* Significância estatística ( $P<0,05$ ), Teste do *Qui-quadrado*; <sup>a</sup>Teste *Exato de Fisher*, <sup>b</sup>Teste do *Qui-quadrado* de Tendência Linear.

Em ambos os grupos houve predominância de mulheres casadas ou em relação estável, e 66,5% das mães solteiras eram adolescentes. Das nutrizes pertencentes a classe econômica D/E, 63,6% eram adolescentes (Tabela 3).

Não houve diferença estatística entre os grupos de nutrizes adolescentes e adultas com relação ao estado civil, etnia, classe econômica, auxílios governamentais, imóvel próprio, abastecimento de água, destino do lixo e dejetos ( $P<0,05$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3** - Caracterização demográfica, socioeconômica e sanitária das nutrizes e de seus domicílios no município de Viçosa-MG, 2013.

Variáveis	Nutrizes				P
	Adolescentes		Adultas		
	n	%	n	%	
<b>Estado civil</b>					
Solteira	12	66,7	6	33,3	0,091
Casada/Relação estável	18	42,9	24	57,1	
<b>Etnia</b>					
Branca	6	35,3	11	64,7	0,061
Negra	7	38,9	11	61,1	
Parda	17	68,0	8	32,0	
<b>Classe econômica</b>					
B	5	35,7	9	64,3	0,370
C	18	51,4	17	48,6	
D/E	7	63,6	4	36,4	
<b>Auxílios governamentais</b>					
Sim	10	62,5	6	37,5	0,243
Não	20	45,5	24	54,5	
<b>Imóvel próprio</b>					
Sim	21	47,7	23	52,3	0,559
Não	9	56,3	7	43,8	
<b>Abastecimento de água</b>					
Público	28	49,1	29	50,9	0,601
Poço	1	50,0	1	50,0	
Outro	1	100,0	-	-	
<b>Tratamento da água</b>					
Filtração	23	48,9	24	51,1	0,754
Cloração	7	53,8	6	46,2	
<b>Destino do lixo<sup>a</sup></b>					
Coleta pública	29	49,2	30	50,8	0,500
Outro	1	100,0	-	-	
<b>Destino dos dejetos</b>					
Esgoto	28	49,1	29	50,9	0,601
Céu aberto	1	50,0	1	50,0	
Outro	1	100,0	-	-	

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ), Teste do *Qui-quadrado*; <sup>a</sup>Teste *Exato de Fisher*.

Ao comparar os grupos com relação às variáveis de estado nutricional e composição corporal, observou-se que as nutrizes adolescentes apresentavam menores valores de IMC ( $22,5 \pm 3,2 \text{ kg/m}^2$  vs  $26,1 \pm 4,8 \text{ kg/m}^2$ ,  $P = 0,001$ ), de DCT ( $23,0 \pm 7,5 \text{ mm}$  vs  $27,9 \pm 7,1 \text{ mm}$ ,  $P = 0,011$ ), de DCSE ( $13,8 \pm 4,5 \text{ mm}$  vs  $17,9 \pm 6,2 \text{ mm}$ ,  $P = 0,005$ ), de DCSI ( $16,7 \pm 6,6 \text{ mm}$  vs  $21,0 \pm 8,2 \text{ mm}$ ,  $P = 0,028$ ), de gordura central ( $30,5 \pm 10,0 \text{ mm}$  vs  $38,9 \pm 13,6 \text{ mm}$ ,  $P = 0,009$ ), de %GC ( $27,2 \pm 4,1\%$  vs  $31,1 \pm 5,2\%$ ,  $P = 0,002$ ), e de PB ( $25,4 \pm 2,9 \text{ cm}$  vs  $29,1 \pm 3,9 \text{ cm}$ ,  $P < 0,001$ ) (Tabela 4).

**Tabela 4** - Distribuição média das medidas antropométricas e de composição corporal das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Parâmetros avaliados	Nutrizes		P
	Adolescentes	Adultas	
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22,5±3,2	26,1±4,8	0,001*
DCB (mm)	11,3±5,1	11,4±5,1	0,939
DCT (mm)	23,0±7,5	27,9±7,1	0,011*
DCSE (mm)	13,8±4,5	17,9±6,2	0,005*
DCSI (mm)	16,7±6,6	21,0±8,2	0,028*
Gordura periférica (mm)	34,3±10,5	39,3±10,9	0,075
Gordura central (mm)	30,5±10,0	38,9±13,6	0,009*
GC (%)	27,2±4,1	31,1±5,2	0,002*
PB (cm)	25,4±2,9	29,1±3,9	<0,001*

$\bar{X} \pm DP$  = Média±desvio padrão; IMC = Índice de massa corporal; DCB = Dobra cutânea bicipital; DCT = Dobra cutânea tricípital; DCSE = Dobra cutânea subescapular; DCSI = Dobra cutânea suprailíaca; PB = Perímetro braquial; GC = Gordura corporal. Gordura periférica = DCB+DCT; Gordura Central = DCSE+DCSI.

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ), Teste *T Student*.

Utilizando-se como critérios os valores limítrofes de IMC, para adultas e adolescentes, os resultados indicaram baixo peso apenas entre as adolescentes, em oposição à maior frequência de sobrepeso e obesidade entre as adultas, 75,0% e 83,3%, respectivamente, estando este parâmetro associado significativamente com a idade ( $P=0,007$ ) (Tabela 5).

A partir da avaliação dos valores das medianas das dobras cutâneas foi possível perceber que, do total de nutrizes enquadradas acima desta referência, a maioria pertencia ao grupo das adultas. Todavia, a única medida que apresentou associação estatisticamente significativa com a idade foi a DCSI ( $P=0,039$ ). O percentual de gordura corporal também se associou estatisticamente com a faixa etária das nutrizes ( $P=0,004$ ), onde 69,0% das mulheres acima da mediana eram adultas (Tabela 5).

O perímetro braquial também foi utilizado como indicador do estado nutricional das nutrizes. Das voluntárias identificadas com desnutrição, 76,9% eram adolescentes, e daquelas com sobrepeso e obesidade, 87,5% e 100%, respectivamente, eram adultas, os dados demonstraram associação estatisticamente significativa ( $P=0,001$ ) (Tabela 5).

**Tabela 5** - Avaliação antropométrica das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Parâmetros avaliados	Nutrizes				P
	Adolescentes		Adultas		
	n	%	n	%	
<b>Estado nutricional<sup>a</sup></b>					
Baixo Peso	3	100,0	-	-	
Eutrofia	22	62,9	13	37,1	0,001*
Sobrepeso	4	25,0	12	75,0	
Obesidade	1	16,7	5	83,3	
<b>DCB (mm)</b>					
≤ mediana (11,00)	18	56,3	14	43,8	0,301
> mediana (11,00)	12	42,9	16	57,1	
<b>DCT (mm)</b>					
≤ mediana (26,50)	19	61,3	12	38,7	0,071
> mediana (26,50)	11	37,9	18	62,1	
<b>DCSE (mm)</b>					
≤ mediana (15,00)	18	58,1	13	41,9	0,196
> mediana (15,00)	12	41,4	17	58,6	
<b>DCSI (mm)</b>					
≤ mediana (17,25)	19	63,3	11	36,7	0,039*
> mediana (17,25)	11	36,7	19	63,3	
<b>GC (%)</b>					
≤ mediana (28,70)	21	67,7	10	32,3	0,004*
> mediana (28,70)	9	31,0	20	69,0	
<b>Estado nutricional segundo PB<sup>a</sup></b>					
Desnutrição moderada/leve	10	76,9	3	23,1	<0,001*
Eutrofia	19	59,4	13	40,6	
Sobrepeso	1	12,5	7	87,5	
Obesidade	-	-	7	100,0	

IMC = Índice de massa corporal; DCB = Dobra cutânea bicipital; DCT = Dobra cutânea tricípital; DCSE = Dobra cutânea subescapular; DCSI = Dobra cutânea suprailíaca; PB = Perímetro braquial; GC = Gordura corporal.

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ); Teste do *Qui-quadrado*, <sup>a</sup>Teste do *Qui-quadrado* de Tendência Linear.

Apenas o colesterol total e HDL-c apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos de nutrizes, sendo superior nas adultas (Tabela 6).

Ao avaliar as nutrizes segundo os valores de referências para cada biomarcador, percebeu-se que, para ambos os grupos, os valores médios e medianos para colesterol total estavam alterados. As adolescentes também apresentam os valores de LDL-c alterados (Tabela 6). Aproximadamente 19% do total de nutrizes estavam anêmicas, e distribuídas proporcionalmente entre adolescentes (n=6) e adultas (n=5).

**Tabela 6** - Exames bioquímicos das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Biomarcador	Valores de referência	Adolescentes		Adultas		P
		$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	
Hemoglobina (g/dL) <sup>a</sup>	12-16	12,6±0,9	12,7 (10,3-13,9)	13,0±0,9	12,8 (11,4-14,6)	0,095
Hematócrito (%) <sup>a</sup>	36-46	40,1±2,8	40,2 (32,3-44,0)	41,1±2,7	40,9 (37,0-46,2)	0,140
VCM (fl) <sup>b</sup>	80-100	86,1±5,0	85,6 (75,4-94,8)	87,9±6,0	89,8 (64,4-93,7)	0,053
Colesterol total (mg/dL) <sup>b</sup>	Adol: <150 Adul: <200	181,8±30,8	179,3 (136,6-231,5)	202,9±23,1	203,1 (161,0-246,6)	0,010*
HDL-c (mg/dL) <sup>a</sup>	Adol: ≥45 Adul: >60	62,1±12,0	63,0 (41,0-80,0)	70,0±16,6	68,0 (47,0-107,0)	0,047*
LDL-c (mg/dL) <sup>b</sup>	Adol: <100 Adul: <130	102,0±29,0	97,8 (63,3-153,5)	112,7±24,9	114,8 (47,6-156,2)	0,150
Triglicerídeos (mg/dL) <sup>a</sup>	Adol: <100 Adul: <150	79,8±33,1	70,4 (30,0-141,0)	77,8±25,3	74,5 (34,0-133,3)	0,793

$\bar{X} \pm DP$  = Média±desvio padrão; Mín = mínimo; Máx = máximo; VCM = Volume corpuscular médio; Adol = Adolescentes; Adul = Adultas; HDL-c = Lipoproteína de alta densidade de colesterol; LDL-c = Lipoproteína de baixa densidade de colesterol.

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ); <sup>a</sup>Teste *T Student*, <sup>b</sup>Teste de *Mann-Whitney*.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as concentrações dos nutrientes no leite de nutrizes adolescentes e adultas (Tabela 7).

Por meio da avaliação da concentração de retinol no leite materno, 53,3% das nutrizes de cada grupo apresentavam deficiência de vitamina A (DVA). Considerando-se as concentrações plasmáticas, a prevalência de DVA foi reduzida para 13,3% e 10,0% para adolescentes e adultas, respectivamente, sendo 3,3% de cada grupo classificada com deficiência moderada ( $< 0,7 \mu\text{mol/L}$ ). Dez por cento das adolescentes e 6,7% das adultas apresentaram DVA pelos dois parâmetros.

Segundo os valores de  $\alpha$ -tocoferol plasmático, 33,3% e 10% das adolescentes e adultas, respectivamente, encontravam-se com deficiência de vitamina E, e 36,7% de cada grupo estavam em risco.

Todas as nutrizes apresentaram concentrações plasmáticas de  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina dentro da faixa de referência ( $\beta$ -caroteno: 0,04 – 2,26  $\mu\text{mol/L}$ ; luteína+zeaxantina: 0,10 – 1,23). Quanto às concentrações de  $\alpha$ -caroteno no sangue, 16,7% e 10,0% das adolescentes e adultas, respectivamente, apresentaram valores inferiores ao referenciado (0,02 – 0,47  $\mu\text{mol/L}$ ).

**Tabela 7** - Composição de retinol, tocoferóis e carotenoides do leite humano de nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Nutrientes	Nutrizes				P
	Adolescentes		Adultas		
	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	
Retinol ( $\mu\text{mol/L}$ )	1,31 $\pm$ 0,96	1,03 (0,25-04,14)	1,12 $\pm$ 0,56	1,00 (0,36-3,19)	0,756
$\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{mol/L}$ )	0,002 $\pm$ 0,003	0,001 (0,001-0,01)	0,003 $\pm$ 0,003	0,001 (0,001-0,01)	0,108
$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{mol/L}$ )	0,16 $\pm$ 0,06	0,14 (0,11-0,43)	0,16 $\pm$ 0,04	0,14 (0,11-0,29)	0,941
Luteína+zeaxantina ( $\mu\text{mol/L}$ )	0,30 $\pm$ 0,16	0,27 (0,12-0,76)	0,27 $\pm$ 0,14	0,24 (0,13-0,82)	0,734
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{mol/L}$ )	3,80 $\pm$ 1,14	3,92 (1,96-6,80)	3,65 $\pm$ 1,10	3,40 (1,95-5,87)	0,564
$\gamma$ -tocoferol ( $\mu\text{mol/L}$ )	1,01 $\pm$ 0,42	0,90 (0,47-1,76)	0,85 $\pm$ 0,45	0,76 (0,29-1,67)	0,150

$\bar{X} \pm DP$  = Média $\pm$ desvio padrão; Mín = mínimo; Máx = máximo.

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ), Teste de *Mann-Whitney*.

Para as concentrações dos nutrientes no plasma materno, as adolescentes apresentaram valores estatisticamente inferiores de retinol,  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol (Tabela 8).

**Tabela 8** - Composição de retinol, tocoferóis e carotenoides do plasma de nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Nutrientes	Valores de referência	Nutrizes				P
		Adolescentes		Adultas		
		$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	
Retinol ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	$\geq 1,05$	1,34 $\pm$ 0,31	1,31 (0,49-1,90)	1,56 $\pm$ 0,43	1,57 (0,68-2,57)	0,025*
$\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>b</sup>	0,02-0,47	0,04 $\pm$ 0,03	0,03 (0,01-0,13)	0,05 $\pm$ 0,03	0,05 (0,01-0,13)	0,337
$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>b</sup>	0,04-2,26	0,27 $\pm$ 0,17	0,24 (0,08-0,92)	0,42 $\pm$ 0,31	0,33 (0,09-1,37)	0,029*
Luteína+zeaxantina ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>b</sup>	0,10-1,23	0,71 $\pm$ 0,20	0,68 (0,40-1,23)	0,87 $\pm$ 0,41	0,76 (0,45-2,18)	0,188
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>b</sup>	$\geq 11,6$	14,01 $\pm$ 3,79	13,41 (9,06-23,37)	17,16 $\pm$ 4,95	16,36 (8,51-33,77)	0,008*
$\gamma$ -tocoferol ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	-	1,97 $\pm$ 0,65	1,89 (0,46-3,86)	2,10 $\pm$ 0,80	2,09 (1,04-4,17)	0,482

$\bar{X} \pm DP$  = Média $\pm$ desvio padrão; Mín = mínimo; Máx = máximo.

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ); <sup>a</sup>Teste *T Student*, <sup>b</sup>Teste de *Mann-Whitney*.

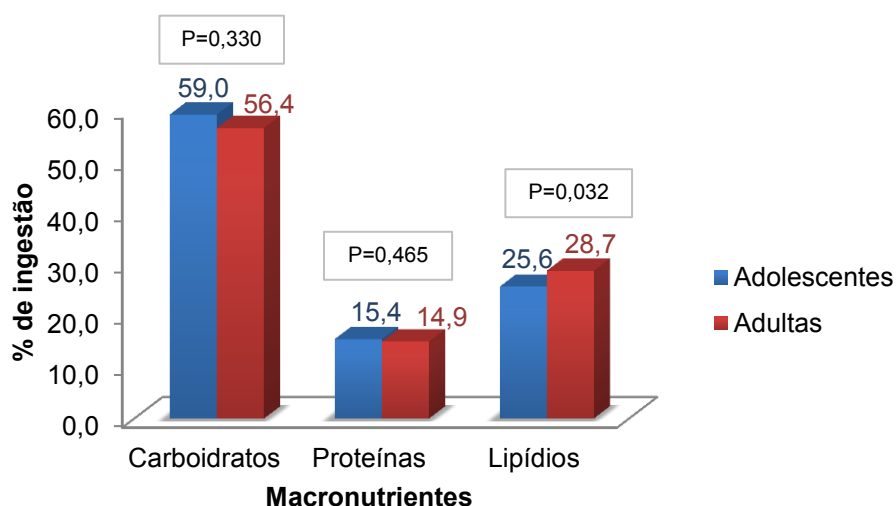
A ingestão alimentar de lipídios totais, investigado pelo R24H, também foi inferior entre as adolescentes ( $P = 0,032$ ). Energia, carboidratos e proteínas não diferiram estatisticamente entre os grupos (Tabela 9). A Figura 1 ilustra os percentuais de consumo dos macronutrientes.

**Tabela 9** - Ingestão de macronutrientes e energia, de acordo com recordatório alimentar de 24 horas das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Nutriente	Nutrizes				P
	Adolescentes		Adultas		
	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	
Energia (Kcal/dia)	1681,9±340,5	1645,8 (1058,5-2286,1)	1821,9±301,7	1802,8 (1254,8-2576,2)	0,097
Carboidratos (g/dia)	245,3±39,5	242,3 (159,2-330,3)	235,8±26,4	248,4 (210,6-298,9)	0,330
Proteínas (g/dia)	65,4±17,7	62,8 (31,2-103,5)	68,6±16,1	68,0 (40,0-119,1)	0,465
Lipídios (g/dia)	49,4±17,5	48,2 (18,4-80,6)	59,2±17,1	58,3 (18,0-100,5)	0,032*

$\bar{X} \pm DP$  = Média±desvio padrão; Mín = mínimo; Máx = máximo.

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ), Teste *T Student*.



\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ), Teste *T Student*.

**Figura 1** - Percentuais médios de consumo de macronutrientes em relação ao valor energético total, segundo recordatório alimentar de 24 horas das nutrizes segundo idade, do município de Viçosa-MG, 2013.

A ingestão dietética, segundo o R24H, indicou consumo estatisticamente inferior de vitamina A,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno pelas adolescentes, não havendo diferenças entre os grupos em relação aos demais nutrientes. Pela análise do QFCA, apenas a ingestão diária de  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno foram estatisticamente inferiores entre as nutrizes adolescentes. A ingestão atual média, pelo R24H, das vitaminas A e E estavam abaixo da recomendação, para ambos os grupos. Já a ingestão habitual média, dada pelo QFCA, indicou adequação no consumo de vitamina A, mas valores inferiores de vitamina E, para nutrizes adolescentes e adultas (Tabela 10).

Por meio da análise das vitaminas A e E do R24H, foi possível identificar aproximadamente 100% de ingestões inadequadas dos nutrientes, para ambos os grupos.

**Tabela 10** - Ingestão dietética das vitaminas A e E, e carotenoides, de acordo com recordatório alimentar de 24 horas e questionário de frequência de consumo alimentar das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Nutriente	EAR	Nutrizes				P
		Adolescentes		Adultas		
		$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	
<b>R24H</b>						
Vitamina A ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>a</sup>	Adol: 885 Adul: 900	413,8 $\pm$ 87,0	403,5 (242,3-626,4)	486,4 $\pm$ 105,2	483,0 (265,1-699,2)	0,008*
Vitamina E (mg/dia) <sup>b</sup>	Adol: 16 Adul: 16	4,2 $\pm$ 1,0	4,1 (2,9-6,3)	4,5 $\pm$ 0,8	4,4 (2,9-6,1)	0,143
$\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>b</sup>	ND	196,9 $\pm$ 260,6	35,7 (0,0-942,4)	466,8 $\pm$ 480,4	343,3 (0,0-1728,6)	0,015*
$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>a</sup>	ND	1050,2 $\pm$ 553,6	1201,5 (78,5-2088,3)	2076,6 $\pm$ 1467,6	1691,9 (93,3-5422,3)	0,001*
Luteína+zeaxantina ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>a</sup>	ND	729,8 $\pm$ 483,1	700,4 (66,1-1697,6)	971,1 $\pm$ 695,9	843,9 (89,4-2449,3)	0,279
<b>QFCA</b>						
Vitamina A ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>b</sup>	Adol: 885 Adul: 900	1036,4 $\pm$ 608,4	765,9 (200,8-2403,1)	1362,6 $\pm$ 647,2	1236,3 (398,2-2819,7)	0,05
Vitamina E (mg/dia) <sup>a</sup>	Adol: 16 Adul: 16	11,0 $\pm$ 3,3	11,0 (5,2-18,0)	11,4,0 $\pm$ 3,4	11,4 (5,6-19,7)	0,968
$\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>b</sup>	ND	277,1 $\pm$ 231,1	191,7 (7,0-869,1)	456,4 $\pm$ 316,3	386,3 (41,3-1102,6)	0,031*
$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>a</sup>	ND	1481,1 $\pm$ 900,5	1413,9 (139,6-3581,5)	2421,7 $\pm$ 1396,3	2162,6 (140,8-5019,9)	0,004*
Luteína+zeaxantina ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>b</sup>	ND	833,1 $\pm$ 524,8	648,0 (131,0-2354,4)	1099,7 $\pm$ 771,3	806,5 (86,5-3323,7)	0,201

$\bar{X} \pm DP$  = Média $\pm$ desvio padrão; Mín = mínimo Máx = máximo; EAR = Necessidade média estimada; R24H = Recordatório alimentar de 24 horas; QFCA = Questionário de frequência de consumo alimentar, ND = Não disponível.

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ); <sup>a</sup>Teste *T Student*, <sup>b</sup>Teste de *Mann-Whitney*.

A única correlação significativa identificada entre o leite humano e plasma materno, partindo-se da amostra total de nutrizes, foi para o  $\gamma$ -tocoferol ( $r=0,331$ ;  $P=0,010$ ). Ao analisar isoladamente cada grupo de mulheres, as adolescentes não apresentaram nenhuma correlação significativa, ao passo que, semelhante ao resultado geral da amostra, a única correlação estatisticamente significativa deu-se para o  $\gamma$ -tocoferol entre as adultas ( $r=0,500$ ;  $P=0,005$ ) (Tabela 11).

**Tabela 11** - Correlações entre as vitaminas A, E e carotenoides do leite humano e plasma de nutrizes adolescentes e adultas do município de Viçosa-MG, 2013.

Nutriente ( $\mu\text{mol/L}$ )	Adolescentes		Adultas		Total	
	r	P	r	P	r	P
Retinol	0,311	0,094	0,054	0,778	0,237	0,068
$\alpha$ -caroteno	0,060	0,754	0,049	0,802	0,083	0,532
$\beta$ -caroteno	0,062	0,744	0,307	0,099	0,150	0,253
Luteína+zeaxantina	0,174	0,358	0,075	0,695	0,103	0,432
$\alpha$ -tocoferol	-0,40	0,833	0,102	0,593	0,028	0,834
$\gamma$ -tocoferol	0,001	0,994	0,500	0,005*	0,331	0,010*

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ), Correção de *Spearman*.

Nenhuma correlação estatisticamente significativa foi encontrada entre os nutrientes do leite e da ingestão dietética, por nenhum dos métodos utilizados (Tabela 12). Em contrapartida, a análise global das voluntárias mostrou que o retinol,  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina presentes no plasma materno apresentaram correlação positiva e estatística tanto pelo R24H quanto pelo QFCA (Tabela 13).

Ao estratificar as correlações segundo idade materna, apenas a luteína+zeaxantina plasmática das adolescentes estavam associadas positivamente com a ingestão do nutriente, a partir de ambos os inquéritos alimentares. Através do QFCA, foi identificada também correlação entre o retinol ( $r=0,380$ ,  $P=0,038$ ) do sangue e relatado na alimentação das adolescentes. Para as adultas, houve correlação apenas entre luteína+zeaxantina plasmática e ingerida, pelo R24H ( $r=0,411$ ,  $P=0,024$ ). A única correlação negativa encontrada foi entre o conteúdo de  $\gamma$ -tocoferol plasmático de adolescentes e o consumo de acordo com QFCA (Tabela 13).

**Tabela 12** - Correlações entre as vitaminas A, E e carotenoides do leite humano e da ingestão dietética (recordatório alimentar de 24 horas e questionário de frequência de consumo alimentar), de nutrizes adolescentes e adultas do município de Viçosa-MG, 2013.

Nutriente (µmol/L)	Adolescentes		Adultas		Total	
	r	P	r	P	r	P
<b>Leite Humano vs R24H</b>						
Retinol	0,154	0,417	0,224	0,334	0,121	0,358
α-caroteno	-0,111	0,559	-0,018	0,927	-0,025	0,853
β-caroteno	-0,148	0,437	0,002	0,990	-0,068	0,606
Luteína+zeaxantina	0,129	0,497	-0,028	0,882	0,052	0,694
α-tocoferol	-0,102	0,990	0,006 <sup>a</sup>	0,975	-0,062	0,640
γ-tocoferol	-0,022	0,909	0,050	0,794	-0,024	0,858
<b>Leite Humano vs QFCA</b>						
Retinol	0,291	0,119	0,204	0,281	0,228	0,079
α-tocoferol	0,048	0,803	-0,215	0,254	-0,74	0,577
α-caroteno	0,072	0,705	-0,060	0,759	0,062	0,640
β-caroteno	-0,111	0,560	-0,228	0,225	-,189	0,148
Luteína+zeaxantina	0,117	0,538	-0,123	0,519	0,030	0,821
γ-tocoferol	-0,197	0,307	-0,130	0,495	-0,192	0,148

R24H = Recordatório alimentar de 24 horas; QFCA = Questionário de frequência de consumo alimentar.

**Tabela 13** - Correlações entre as vitaminas A, E e carotenoides do plasma e da ingestão dietética (recordatório alimentar de 24 horas e questionário de frequência de consumo alimentar), de nutrizes adolescentes e adultas do município de Viçosa-MG, 2013.

Nutriente (µmol/L)	Adolescentes		Adultas		Total	
	r	P	r	P	r	P
<b>Plasma vs R24H</b>						
Retinol	0,332	0,073	0,131 <sup>a</sup>	0,491	0,274 <sup>a</sup>	0,034*
α-caroteno	0,022	0,906	0,228	0,226	0,154	0,241
β-caroteno	0,203	0,282	0,256	0,173	0,285	0,027*
Luteína+zeaxantina	0,440	0,015*	0,411	0,024*	0,423	0,001*
α-tocoferol	-0,239	0,203	0,200	0,290	-0,001	0,996
γ-tocoferol	0,039	0,837	0,027 <sup>a</sup>	0,888	0,098	0,454
<b>Plasma vs QFCA</b>						
Retinol	0,380	0,038*	-0,144	0,550	0,341	0,008*
α-caroteno	0,306	0,100	0,074	0,699	0,197	0,131
β-caroteno	0,358	0,052	0,091	0,631	0,276	0,033*
Luteína+zeaxantina	0,443	0,014*	0,329	0,076	0,408	0,001*
α-tocoferol	0,183 <sup>a</sup>	0,332	0,152	0,423	0,142	0,283
γ-tocoferol	-0,422 <sup>a</sup>	0,020*	0,013	0,945	-0,172 <sup>a</sup>	0,193

R24H = Recordatório alimentar de 24 horas; QFCA = Questionário de frequência de consumo alimentar.

\*Significância estatística (P<0,05); <sup>a</sup>Correlação de *Pearson*, Correlação de *Spearman* para as demais.

A Tabela 14 demonstra as correlações significativas encontradas entre os nutrientes do leite humano e os do plasma, considerando a amostra total. Nos dois fluidos biológicos, a luteína+zeaxantina apresentou correlação com o retinol, tocoferóis e β-caroteno, e o α-tocoferol com γ-tocoferol, retinol e β-caroteno. No leite, o retinol também se correlacionou com γ-tocoferol, diferentemente do plasma, no qual ele se correlacionou também com β-caroteno. O γ-tocoferol esteve associado positivamente com β-caroteno

somente no plasma, enquanto o  $\alpha$ -tocoferol apresentou correlação com  $\alpha$ -caroteno no leite. Todos os carotenoides plasmáticos se correlacionaram entre si.

**Tabela 14** - Correlações significativas entre os nutrientes do leite e do plasma de nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Nutrientes ( $\mu\text{mol/L}$ )		r	P
<b>Leite Humano</b>			
Retinol	$\alpha$ -tocoferol	0,544	<0,001
Retinol	$\gamma$ -tocoferol	0,448	<0,001
Retinol	Luteína+zeaxantina	0,334	0,009
$\alpha$ -tocoferol	$\gamma$ -tocoferol	0,786	<0,001
$\alpha$ -tocoferol	$\beta$ -caroteno	0,529	<0,001
$\alpha$ -tocoferol	Luteína+zeaxantina	0,743	<0,001
$\gamma$ -tocoferol	$\beta$ -caroteno	0,278	0,033
$\gamma$ -tocoferol	Luteína+zeaxantina	0,647	<0,001
$\beta$ -caroteno	Luteína+zeaxantina	0,472	<0,001
<b>Plasma</b>			
Retinol	$\alpha$ -tocoferol	0,534	<0,001
Retinol	$\beta$ -caroteno	0,414	0,001
Retinol	Luteína+zeaxantina	0,468	<0,001
$\alpha$ -tocoferol	$\gamma$ -tocoferol	0,511	<0,001
$\alpha$ -tocoferol	$\alpha$ -caroteno	0,380	0,003
$\alpha$ -tocoferol	$\beta$ -caroteno	0,457	<0,001
$\alpha$ -tocoferol	Luteína+zeaxantina	0,648	<0,001
$\gamma$ -tocoferol	Luteína+zeaxantina	0,271	0,036
$\alpha$ -caroteno	$\beta$ -caroteno	0,721	<0,001
$\alpha$ -caroteno	Luteína+zeaxantina	0,469	<0,001
$\beta$ -caroteno	Luteína+zeaxantina	0,537	<0,001

Correlação de Spearman.

A Tabela 15 identifica as correlações significativas existentes entre os nutrientes do leite humano e plasma, para cada grupo isoladamente. As adolescentes obtiveram um maior número de correlações entre os nutrientes do leite, enquanto as adultas tiveram números superiores de correlações entre os nutrientes plasmáticos. Em ambos os grupos o retinol associou-se positivamente com os tocoferóis, os tocoferóis entre si, e a luteína+zeaxantina com  $\gamma$ -tocoferol,  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno. No plasma materno, para as diferentes faixas etárias, a luteína+zeaxantina apresentou correlações com o retinol, tocoferóis e demais carotenoides, e o  $\alpha$ -tocoferol também se associou com  $\gamma$ -tocoferol e retinol.

Correlações distintas entre os grupos de voluntárias deram-se predominantemente entre os tocoferóis e os carotenoides. No leite humano das adultas, o  $\gamma$ -tocoferol correlacionou-se com o  $\beta$ -caroteno, já para as adolescentes, o  $\alpha$ -caroteno apresentou correlação com os tocoferóis e luteína+zeaxantina. O conteúdo de  $\gamma$ -tocoferol plasmático associou-se com os

de luteína+zeaxantina no grupo das adolescentes. Quanto aos carotenoides plasmáticos das adultas, o  $\alpha$ -caroteno expressou correlação com  $\alpha$ -tocoferol e luteína+zeaxantina, e o  $\beta$ -caroteno com o  $\alpha$ -tocoferol e retinol (Tabela 15).

**Tabela 15** - Correlações significativas entre os nutrientes do leite e plasma das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

		Nutrizes					
Adolescentes				Adultas			
Nutrientes ( $\mu\text{mol/L}$ )		r	P	Nutrientes ( $\mu\text{mol/L}$ )		r	P
Leite Humano	Leite Humano			Leite Humano	Leite Humano		
Retinol	$\alpha$ -tocoferol	0,467	0,009	Retinol	$\alpha$ -tocoferol	0,538	0,002
Retinol	$\gamma$ -tocoferol	0,373	<0,001	Retinol	$\gamma$ -tocoferol	0,436	0,016
$\alpha$ -tocoferol	$\gamma$ -tocoferol	0,731	<0,001	$\alpha$ -tocoferol	$\gamma$ -tocoferol	0,786	<0,001
$\alpha$ -tocoferol	$\alpha$ -caroteno	0,521	0,003	$\alpha$ -tocoferol	$\beta$ -caroteno	0,562	0,001
$\alpha$ -tocoferol	$\beta$ -caroteno	0,517	0,003	$\alpha$ -tocoferol	Luteína+zeaxantina	0,643	<0,001
$\alpha$ -tocoferol	Luteína+zeaxantina	0,793	<0,001	$\gamma$ -tocoferol	$\beta$ -caroteno	0,428	0,018
$\gamma$ -tocoferol	$\alpha$ -caroteno	0,497	0,006	$\gamma$ -tocoferol	Luteína+zeaxantina	0,646	<0,001
$\gamma$ -tocoferol	Luteína+zeaxantina	0,662	<0,001	$\beta$ -caroteno	Luteína+zeaxantina	0,493	0,006
$\alpha$ -caroteno	Luteína+zeaxantina	0,338	0,034				
$\beta$ -caroteno	Luteína+zeaxantina	0,480	0,007				
<b>Plasma</b>	<b>Plasma</b>			<b>Plasma</b>	<b>Plasma</b>		
Retinol	$\alpha$ -tocoferol	0,465 <sup>a</sup>	0,010	Retinol	$\alpha$ -tocoferol	0,466	0,010
Retinol	Luteína+zeaxantina	0,425	0,019	Retinol	$\beta$ -caroteno	0,442	0,014
$\alpha$ -tocoferol	$\gamma$ -tocoferol	0,487 <sup>a</sup>	0,006	Retinol	Luteína+zeaxantina	0,387	0,035
$\alpha$ -tocoferol	Luteína+zeaxantina	0,729	<0,001	$\alpha$ -tocoferol	$\gamma$ -tocoferol	0,541	0,002
$\gamma$ -tocoferol	Luteína+zeaxantina	0,470	0,009	$\alpha$ -tocoferol	$\alpha$ -caroteno	0,550	0,002
$\alpha$ -caroteno	$\beta$ -caroteno	0,619	<0,001	$\alpha$ -tocoferol	$\beta$ -caroteno	0,517	0,003
$\beta$ -caroteno	Luteína+zeaxantina	0,537	<0,001	$\alpha$ -tocoferol	Luteína+zeaxantina	0,455	0,011
				$\alpha$ -caroteno	$\beta$ -caroteno	0,745	<0,001
				$\alpha$ -caroteno	Luteína+zeaxantina	0,668	<0,001
				$\beta$ -caroteno	Luteína+zeaxantina	0,628	<0,001

<sup>a</sup>Correlação de *Pearson*, Correlação de *Spearman* para as demais.

## 5.2. Artigo de Revisão

Propriedades antioxidantes do leite humano e sua contribuição para o perfil imunológico do lactente: uma revisão sistemática

### Resumo

O leite materno é a fonte nutricional recomendada para promoção da saúde das crianças, pois além do oferecer todos os nutrientes essenciais, contém fatores de proteção responsáveis pelo desenvolvimento do sistema imunológico do lactente. Dentre eles encontram-se os antioxidantes, que podem variar dependendo de fatores como fase de lactação, horário do dia, idade gestacional, estado nutricional, alimentação e idade materna. Diante da importância da relação existente entre o aleitamento materno e o sistema de defesa, o objetivo foi realizar uma revisão sistemática abordando aspectos relacionados às propriedades antioxidante do leite humano e sua contribuição para o perfil imunológico do lactente. Foram realizadas buscas nas bases de dados online *LILACS* e *MEDLINE*, e nas referências dos artigos previamente selecionados, utilizando os Descritores em Ciências da Saúde criados pela Bireme. A pesquisa resultou em 802 artigos, dos quais 11 atenderam aos critérios de inclusão. Nenhum trabalho foi desenvolvido no Brasil, sendo a maioria de caráter transversal e publicados entre 2002 e 2011. Todos os artigos objetivaram estudar as propriedades antioxidantes do leite humano de maneira direta ou indiretamente, através da análise de amostras do próprio leite, urina ou plasma. Quatro estudos analisaram as modificações da capacidade antioxidante do leite humano ocorridas ao longo dos dias pós-parto, um investigou a influência das condições de armazenamento e um os efeitos de processamentos térmicos. Sete compararam as propriedades do leite humano e fórmulas infantis e sete envolveram crianças prematuras. Os principais resultados sugerem a amamentação precoce como principal fonte de proteção para os recém-nascidos, desenvolvimento e fortalecimento do sistema imunológico do lactente, uma vez que os seus substitutos apresentaram menor poder antioxidante.

Palavras-chave: Leite humano; antioxidante; imunidade.

## Antioxidant properties of human milk and its contribution to the immunological profile of the infant: a systematic review

### **Abstract**

Breast milk is the recommended nutritional source for promoting infant's health. In addition to providing all the essential nutrients, it contains many protective factors that will contribute to the development of the infant's immune system. Among the components present in human milk, antioxidants are responsible for defending the body, which may vary depending on factors such as stage of lactation, time of day, gestational age, nutritional status, nutrition, and maternal age. Given the importance of the relationship between breastfeeding and the defense system, the objective was to systematically review the aspects related to the antioxidant properties of human milk and its contributions to the infant's immunological profile. Searches were performed by Bireme on the online databases *LILACS* and *MEDLINE*, and references of selected articles previously, using the Descriptors in Health Sciences created by Bireme. The research resulted in 802 articles, of which 11 met the inclusion criteria. Most of the cross-section was published between 2002 and 2011. No work was developed in Brazil. All articles aimed to study the antioxidant properties of human milk in a direct way or indirectly, by analyzing samples of the milk itself, urine or plasma. Four studies examined the changes of antioxidant capacity of human milk occurred throughout the postpartum days; one investigated the influence of storage conditions and the effects of thermal processing. Seven compared the properties of human milk and infant formulas and seven involving premature infants. The main results suggest the early breastfeeding as the primary source of protection for newborn's development and strengthening of the immune system, since their replacements had lower antioxidant power.

Keywords: Human milk; antioxidant; immunity.

## Introdução

O leite materno é reconhecido como o alimento ideal e fundamental para promoção e proteção da saúde de crianças<sup>1,2</sup>. Além de garantir um crescimento e desenvolvimento adequados, o leite humano contém diversos fatores de defesas que contribuem para o fortalecimento do sistema imunológico<sup>2,3</sup>. A prevenção de diarreia, pneumonia, sepse, otite, infecção no trato urinário, enterocolite necrosante, dentre outras patologias, são benefícios do oferecimento precoce do leite materno<sup>2,3,4,5</sup>.

Dentre componentes bioativos do leite responsáveis pela defesa do organismo encontram-se os antioxidantes, que apresentam capacidade de neutralizar radicais livres e espécies reativas de oxigênio<sup>6,7</sup>. Componentes enzimáticos e não enzimáticos, incluindo catalase, superóxido dismutase, glutathione peroxidase, selênio, vitaminas A, C e E, e carotenoides, desempenham papel antioxidante<sup>6,7,8</sup>.

A composição do leite humano varia dependendo da fase de lactação, horário do dia, idade gestacional do lactente, estado nutricional, alimentação e idade materna<sup>4,9</sup>. As condições de armazenamento relacionadas ao tempo e temperatura e o tipo de processamento térmico submetido, também geram alterações na composição do leite<sup>10,11,12,33-35</sup>.

Recém-nascidos prematuros apresentam um sistema de defesa imaturo, com enzimas insuficientes e baixas concentrações de substâncias com efeitos antioxidantes, tornando-os, portanto, mais susceptíveis aos efeitos deletérios por espécies reativas de oxigênio e radicais livres gerados na entre a transição fetal e neonatal<sup>19-22</sup>. É provável que as patologias relacionadas à prematuridade sejam consequência do desbalanço entre a proteção antioxidante e a geração de espécies reativas, com riscos para o surgimento de enterocolite necrosante, displasia broncopulmonar, hemorragia intraventricular e retinopatia da prematuridade<sup>18,21,23</sup>.

Em situações de impossibilidade do aleitamento materno, uma alternativa é o oferecimento de fórmula infantil, que utiliza normalmente leite de vaca como base, e através de modificações na sua composição busca atender as necessidades nutricionais e condições fisiológicas da criança<sup>13</sup>.

Nos últimos anos houve visível melhoria nas fórmulas infantis com a suplementação de muitas delas, sendo inclusos, por exemplo, ácidos graxos

poli-insaturados de cadeia longa, nucleotídeos, selênio, cálcio, ferro e vitaminas A, D e E<sup>15-17</sup>. Apesar do progresso tecnológico, o objetivo de se aproximar as fórmulas da composição do leite humano ainda está distante de ser atingido, não trazendo os mesmos benefícios propiciados pelo leite humano<sup>14</sup>.

Partindo-se do conhecimento de que o aleitamento materno é o modo de alimentação mais natural e seguro para as crianças, a investigação dos fatores relacionados aos mecanismos de proteção e capacidade antioxidante do leite humano assume grande importância. Objetivou-se realizar uma revisão sistemática abordando aspectos relacionados às propriedades antioxidantes do leite humano e sua contribuição para o perfil imunológico do lactente.

## Métodos

Realizou-se uma busca sistemática nas bases de dados *online* Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (*LILACS*) e Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (*MEDLINE*). Estas bases foram acessadas através da Biblioteca Virtual em Saúde Pública (BVS)/Bireme/OPAS/OMS<sup>24</sup>. Foram utilizadas as palavras chaves em português selecionadas mediante consulta aos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), criados pela BIREME: leite humano, antioxidantes e imunidade, combinados entre si (Tabela 1). A revisão foi ampliada com a inclusão de artigos relevantes identificados através das referências bibliográficas das publicações selecionadas inicialmente.

Os critérios de inclusão adotados foram: ser artigo original; ser desenvolvido com seres humanos; incluir nutrízes saudáveis que deram a luz prematuramente ou não; compreender o período entre janeiro de 1992 e abril de 2012, nos idiomas português, inglês ou espanhol.

Os artigos foram primeiramente selecionados segundo título e resumo, e aqueles que atenderam inicialmente aos critérios de inclusão foram obtidos e lidos na íntegra.

**Tabela 1** - Combinações dos descritores e número de publicações identificadas.

<b>Descritores</b>	<b>Nº de publicações</b>
"Leite humano" + "antioxidantes"	68
"Leite humano" + "imunidade"	393
"Antioxidantes" + "imunidade"	336
"Leite humano" + "antioxidantes" + "imunidade"	5
<b>Total</b>	<b>802</b>

## Resultados

Foram identificadas 802 publicações através da busca em base eletrônica de dados, dos quais 102 foram selecionados com base na relevância dos títulos para leitura dos respectivos resumos. A partir dos resumos, 26 foram selecionados para leitura na íntegra, sendo que 7 não apresentavam texto completo disponível para leitura e 13 foram desprezados por não atenderem aos critérios de inclusão. A revisão resultou em um total de 11 artigos, considerando a inclusão de 5 publicações identificadas a partir das referências dos trabalhos já escolhidos. O processo de revisão está descrito na Figura 1.

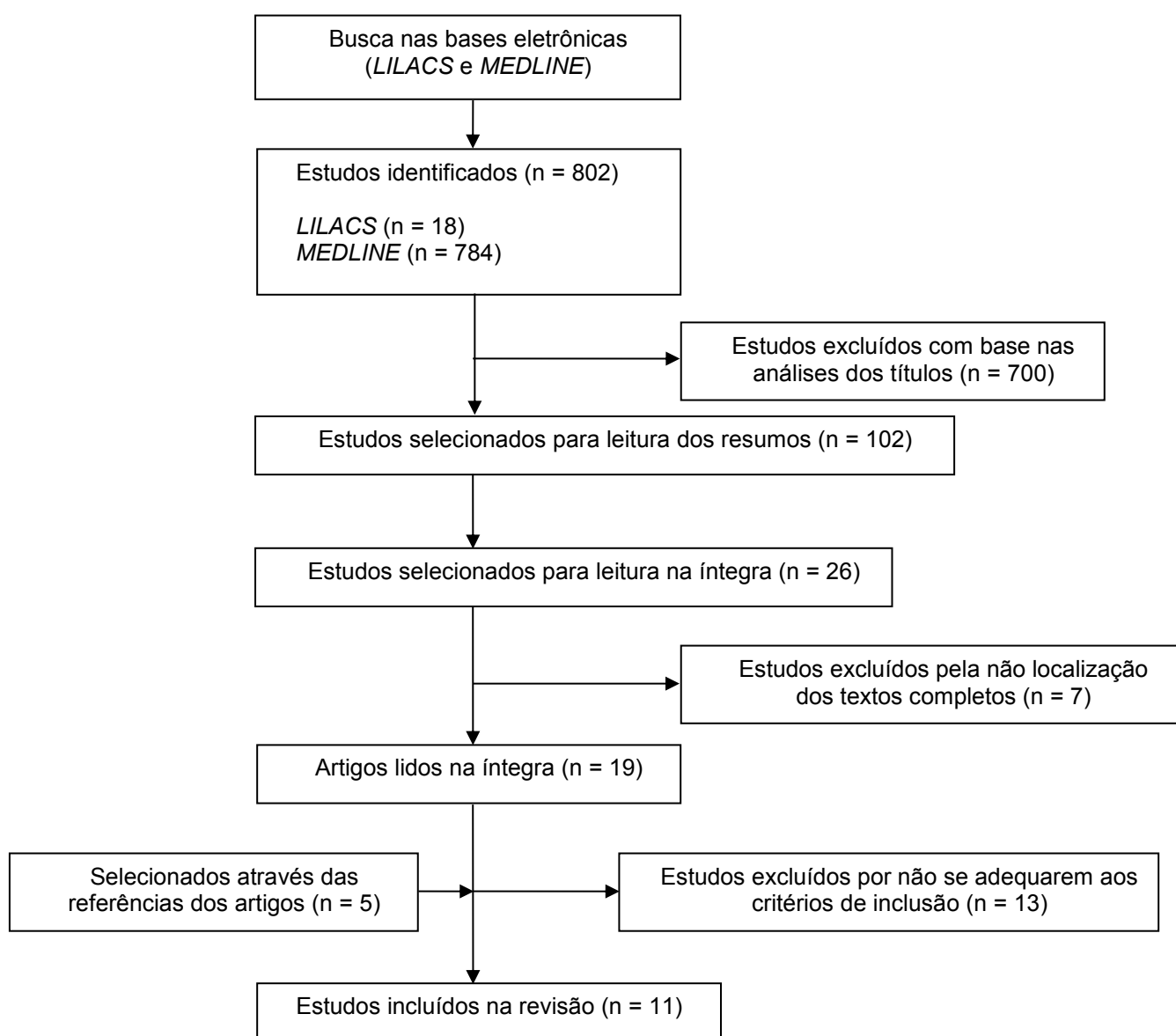


Figura 1 - Etapas do processo de revisão sistemática.

Para facilitar a visualização dos trabalhos, os mesmos foram descritos no Quadro 1, contendo informações sobre referência, ano de publicação, local de realização, objetivo, tipo de estudo, população/amostra, método de análise da capacidade antioxidante e principais resultados.

Do total de artigos selecionados para a presente revisão, nenhum trabalho foi desenvolvido no Brasil, a maioria apresentava delineamento transversal<sup>26-27,29-35</sup> e publicados entre os anos de 2002 e 2011. As amostras foram compostas por nutrizes saudáveis e lactentes de até 12 meses de idade. Sete estudos foram realizados com prematuros<sup>26,28-30,32-34</sup>.

Todos os artigos tiveram como objetivo principal estudar propriedades antioxidantes do leite humano, de maneira direta ou indiretamente. Nove estudos<sup>25-26,29-35</sup> avaliaram a capacidade antioxidante do próprio leite<sup>25-26,29-35</sup>, 7 compararam com propriedades de fórmulas infantis<sup>26-30,32,34</sup>, 2 utilizaram urina dos lactentes para identificar os marcadores de estresse oxidativo<sup>28,32</sup> e 2 avaliaram também o plasma<sup>25,27</sup>.

Quatro estudos analisaram as modificações da capacidade antioxidante do leite humano ocorridas ao longo dos dias pós-parto<sup>25-26,29,33</sup>, dois investigaram a influência das condições de armazenamento<sup>33-34</sup> e um os efeitos de processamentos térmicos<sup>35</sup>.

Os principais resultados encontrados sugerem a amamentação precoce como principal fonte de proteção para os recém-nascidos<sup>26-27,29-30</sup>, uma vez que as fórmulas infantis apresentaram menor poder antioxidante em relação ao leite humano<sup>26-30,33,34</sup>. E que, com o passar do tempo (fases de lactação e tempo de armazenamento), a capacidade antioxidante do leite reduz significativamente<sup>25,33-34</sup>.

**Quadro 1** - Síntese dos estudos selecionados sobre as concentrações de antioxidante do leite humano.

Referência/ Ano	País	Objetivo	Tipo do estudo	Amostra	Método de análise	Principais resultados
Zarban et al., 2009 <sup>25</sup>	Irã	Avaliar a mudança da CAT e da atividade sequestradora de radical do LH durante os primeiros seis meses de lactação e sua correlação com a CAT do plasma materno.	Longitudinal	115 nutrízes saudáveis que tiveram gestação a termo: - Total de 505 amostras de leite (colostro, leites de transição e maduro). - 58 amostras de sangue recolhidas no 3º mês de lactação.	- Ensaio FRAP para CAT.  - Ensaio do radical DPPH para atividade sequestradora de radical.	- CAT e atividade sequestradora de radical foram maiores no colostro em relação aos leites de transição e maduro (P<0,05). - Correlação significativa entre os resultados dos dois métodos (r=0,562; P<0,001). - Relação entre o CAT do LH e plasma materno também foi significativa (r=0,267; P<0,05).
Ezaki et al., 2008 <sup>26</sup>	Japão	Comparar a CAT do LH de prematuros e fórmulas, e ao longo dos dias pós-parto.	Transversal	- 56 amostras de LH de nutrízes com gestação pré-termo. - 2 fórmulas infantis (A e B) com composição similar ao LH de mulheres japonesas (n <sub>A</sub> = 6 e n <sub>B</sub> = 6).	- Teste BAP.	- CAT do LH foi superior a das fórmulas infantis (P<0,0001). - Não houve diferença significativa entre o CAT e as fórmulas (P=0,51). - CAT do LH foi negativamente correlacionada com a idade pós-natal (r <sup>2</sup> =0,25; P<0,0001).
Aycicek et al., 2006 <sup>27</sup>	Turquia	Avaliar o efeito do LH na CAT plasmática, PT e IEO.	Transversal	Crianças de 3 a 6 meses de idade, nascidas a termo: - 28 alimentadas exclusivamente com LH. - 26 alimentadas exclusivamente com fórmula infantil.	- Método de Erel (ensaio ABTS) para CAT. - Método xilenol-férrico laranja para PT. - Razão entre CAT e PT foi considerada como IEO.	- CAT foi significativamente maior no grupo com LH (P<0,05).

(Continua)

**Quadro 1 - Síntese dos estudos selecionados sobre as concentrações de antioxidante do leite humano.**

Ledo et al, 2009 <sup>28</sup>	Espanha	Testar a hipótese que prematuros alimentados com fórmula infantil estão em maior risco de estresse oxidativo.	Longitudinal	<p>Crianças nascidas prematuramente:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 29 alimentadas exclusivamente com LH.</li> <li>- 34 alimentados exclusivamente com fórmula infantil para prematuro.</li> </ul> <p>Controle: 15 crianças a termo alimentadas exclusivamente com LH.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Detecção de o-Tyr, 8-oxodG e dG, na urina.</li> <li>- Análise dos derivados oxidativos da Phe: o-Tyr/Phe.</li> <li>- Análise das bases oxidantes de DNA: 8-oxodG/dG.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grupos prematuros eliminaram maior quantidade de metabólitos do que grupo controle.</li> <li>- Grupo prematuro com fórmula eliminou significativamente maiores quantidades de 8-oxodG [razão 8-oxodG/2dG] (P&lt;0,02) e de o-Tyr [razão o-Tyr/Phe] (P&lt;0,01) do que o grupo com LH.</li> </ul>
Oveisi et al., 2010 <sup>29</sup>	Irã	Analisar o significado do LH na prevenção do estresse oxidativo, comparando a CAT do LH e fórmula infantil e demonstrando a relação entre CAT com idade pós-natal.	Transversal	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 140 nutrizes, sendo 4 pré-termos.</li> <li>- 2 marcas de fórmula infantil (n=80).</li> </ul>	- Ensaio FRAP.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- CAT foi significativamente maior no LH em comparação as fórmulas (P&lt;0,0001).</li> <li>- Comprimento ao nascer foi diretamente correlacionada com a CAT do LH (r=0,237; P=0,01).</li> <li>- Correlação inversa foi encontrada entre a CAT e idade da criança (r=-0,270; P=0,02).</li> <li>- CAT do LH aumentou com o aumento do consumo de queijo, vegetais, frutas, pães e oleaginosas (P&lt;0,05).</li> </ul>

(Continua)

**Quadro 1** - Síntese dos estudos selecionados sobre as concentrações de antioxidante do leite humano.

<p>Friel et al, 2002<sup>30</sup></p>	<p>Canadá</p>	<p>Testar a hipótese de que o LH de mães de prematuros pode prever vantagens antioxidantes em comparação com o de bebês a termo, e LH pode fornecer propriedades antioxidantes não vistas em fórmulas infantis, através de 3 experimentos*.</p> <p>*Experimento 1: avaliar a resistência ao estresse oxidativo de LH e fórmulas infantis.</p> <p>*Experimento 2: determinar as diferenças da resistência ao estresse oxidativo entre o LH coletado de mães de a termo e prematuros, incluindo análise da atividade da enzima catalase.</p> <p>*Experimento 3: examinar fatores no LH que podem ser responsáveis por aumento da resistência ao estresse oxidativo.</p>	<p>Transversal</p>	<p>Experimento 1: - 5 nutrizas com gestação prematura. - Fórmulas infantis (n=2).</p> <p>Experimento 2: - 17 nutrizas com gestação a termo. - 28 nutrizas de gestação prematura. - Amostras coletadas na 1ª, 2ª e 12ª semanas de gestação:</p> <p>Experimento 3: - 1 nutriz de gestação a termo com um mês pós-parto. - Fórmulas infantis (n=4).</p>	<p>- ESR e estudo do consumo/depleção de O<sub>2</sub> para análise resistência ao estresse oxidativo do LH e fórmulas. - CLAE para análise MDA.</p>	<p>Experimento 1: - Produção de radical ascorbato é mais intensa na fórmula; consumo de O<sub>2</sub> no LH é menor do que na fórmula, ambos com ou sem o estresse oxidativo.</p> <p>Experimento 2: - Não houve diferenças do consumo de O<sub>2</sub> após o estresse oxidativo entre LH de bebês a termo e prematuros; concentrações de catalase de LH aumentaram com o tempo.</p> <p>Experimento 3: - Adição de catalase, GPx e SOD aumentou a resistência ao estresse oxidativo das fórmulas; enzimas desnaturantes endógenas não diminuíram a capacidade de LH para resistir ao estresse oxidativo; sulfato ferroso associado à vitamina C, adicionados ao LH e fórmulas fortificadas com Fe, aumentaram o estresse oxidativo; adição de quelantes de Fe a fórmula reduziu estresse oxidativo.</p>
---------------------------------------	---------------	---	--------------------	--	--	---

(Continua)

**Quadro 1** - Síntese dos estudos selecionados sobre as concentrações de antioxidante do leite humano.

Tijerina-Sáenz; Innis; Kitts, 2009 <sup>31</sup>	Canadá	Avaliar se a CAT do LH está relacionada com as concentrações de vitaminas A e E, e ácidos graxos.	Transversal	60 nutrizas, de gestação a termo, com um mês pós-parto.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- CLAE para análise das vitaminas A e E.</li> <li>- GLC para ácidos graxos.</li> <li>- Ensaio ORAC<sub>FL</sub> para CAT.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Correlações significativas positivas foram encontradas entre conteúdos de <math>\alpha</math>-Toc e retinol todo-trans (<math>r=0,557</math>; <math>P&lt;0,001</math>) e entre CA do LH e a concentração de <math>\alpha</math>-Toc (<math>r=0,439</math>; <math>P&lt;0,01</math>).</li> <li>- Não foram encontradas correlações entre CAT do LH e ácidos graxos, e vitamina A.</li> </ul>
Korchazhkina et al., 2006 <sup>32</sup>	Reino Unido	Comparar a proteção antioxidante de prematuros alimentados com LH e fórmula infantil, através da avaliação das concentrações de vitamina E no LH e MDA na urina.	Transversal	20 recém-nascidos pré-termo: <ul style="list-style-type: none"> <li>- 10 alimentados exclusivamente com LH.</li> <li>- 10 alimentados exclusivamente com fórmula infantil.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- CLAE para análise de MDA e vitamina E.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Não houve diferença significativa entre os valores de MDA na urina entre prematuros alimentados com LH ou fórmula infantil.</li> <li>- Concentrações de MDA no LH e fórmula foram inferiores aos limites de detecção.</li> <li>- LH e fórmula continham concentrações satisfatórias de vitamina E (0,3-3,0 mg/100 mL).</li> </ul>
Xavier; Rai; Hegde, 2011 <sup>33</sup>	Índia	Comparar a CAT do LH expresso em diferentes fases da lactação, armazenados a várias temperaturas e por distintos períodos de tempo.	Transversal	40 nutrizas: <ul style="list-style-type: none"> <li>- 10 amostras de LH de mães com gestação a termo, no 3º, 7º e 30º dias pós-parto.</li> <li>- 10 amostras de LH de mães com gestação pré-termo, no 3º, 7º e 30º dias pós-parto.</li> <li>- 10 amostras de mães com gestação a termo, entre 5 e 12 meses pós-parto.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Método do fosfomolibdênio.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diferença significativa na CAT foi entre as 3 fases do LH avaliados imediatamente após extração (<math>P&lt;0,05</math>). Entretanto não houve diferença significativa entre LH de transição e maduro (<math>P&gt;0,05</math>).</li> <li>- CAT no colostro de gestação a termo foi maior em comparação com a gestação pré-termo (<math>P&lt;0,001</math>).</li> <li>- Diminuição significativa na CAT de LH após refrigeração e congelamento durante 48 horas e 7 dias (<math>P&lt;0,0005</math>).</li> </ul>

(Continua)

**Quadro 1** - Síntese dos estudos selecionados sobre as concentrações de antioxidante do leite humano.

<p>Xavier; Rai; Hegde, 2011<sup>33</sup></p>	<p>Índia</p>	<p>Comparar a CAT do LH expresso em diferentes fases da lactação, armazenados a várias temperaturas e por distintos períodos de tempo.</p>	<p>Transversal</p>		<p>- Método do fosfomolibdênio.</p>	<p>- Nenhuma diferença foi encontrada no CAT entre LH de transição e maduro refrigerado por 48 horas e uma semana (P&gt;0,05). - Não houve diferença significativa na CAT média entre LH obtido de mulheres com bebês a termo e prematuro.</p>
<p>Hanna et al., 2004<sup>34</sup></p>	<p>Estados Unidos</p>	<p>Comparar a CAT do LH fresco em comparação com o leite armazenado a temperatura de refrigeração e de congelamento, por 48 horas e 7 dias, e entre a CAT do LH de mães com bebê a termo, prematuro e fórmula infantil.</p>	<p>Transversal</p>	<p>- 16 nutrízes: 8 com gestação a termo e 8 com gestação pré termo. - 5 amostras de fórmula infantil.</p>	<p>- Ensaio ABTS</p>	<p>- Não houve diferença significativa entre a CAT do LH de lactentes a termo e prematuro (P&lt;0,05). - CAT do LH é significativamente mais elevada do que a de fórmula, independentemente da duração e condições de armazenagem (P&lt;0,05). - Congelamento (-20°C) diminuiu significativamente a CAT do LH em comparação com a refrigeração (P&lt;0,001), tanto por 48 horas ou sete dias. - Em comparação do LH fresco, a menor CAT foi observada no LH após congelamento durante 7 dias (P&lt;0,001). - CAT da fórmula não se altera com tempo e temperatura de armazenamento.</p>

(Continua)

**Quadro 1** - Síntese dos estudos selecionados sobre as concentrações de antioxidante do leite humano.

Silvestre et al, 2008 <sup>35</sup>	Espanha	Investigar o efeito de diferentes tipos de processamento térmico sobre as propriedades antioxidantes do LH.	Transversal	31 nutrízes com gestação a termo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- CLAE para análise de MDA e GSH.</li> <li>- GPx foi analisada segundo método proposto por Lawrence e Burk.</li> <li>- Kit comercial utilizando solução de batocuproína, para análise CAT.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Concentração de MDA do leite fresco e amostras pasteurizadas não apresentaram variações significativas (P&gt;0,05).</li> <li>- Diminuição na concentração de GSH em amostras de leite submetidas a tratamento térmico, sendo a redução significativa ao se aplicar a pasteurização titular (63° C durante 30 min) (P&lt;0,05). Não houve diferença significativa ao se aplicar a pasteurização elevada (75° C durante 15 segundos) (P&gt;0,05).</li> <li>- Ambos os tratamentos induziram uma perda significativa da GPx (P&lt;0,05). Não houve diferença significativa da GPx entre os 2 processamentos.</li> <li>- Apenas a pasteurização titular induziu perda significativa da CAT (P&lt;0,05).</li> </ul>
-------------------------------------	---------	---	-------------	-----------------------------------	--	---

LH: leite humano; CAT: capacidade antioxidante total; FRAP: *ferric reducing antioxidant power*; DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil; BAP: *Biological Antioxidant Potential*; ABTS: 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico); PT: peroxide total; IOE: índice de estresse oxidativo; 8-oxodG: 8-hidroxi-2-deoxiguanosina; 2 dG: 2'-deoxiguanosina; Phe: fenilalanina; o-Tyr: orto-tirosina; CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência; GLC: cromatografia líquida-gasosa; ORAC: *Oxygen Radical Absorbance Capacity*; MDA: malonaldeído; GSH: glutationa; GPx: glutationa peroxidase; SOD: superóxido dismutase; O<sup>2</sup>: oxigênio; NADPH: nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido; ESR: *electron spin resonance*.

## Discussão

Diante do conhecimento dos efeitos benéficos da amamentação sobre o estado nutricional, é de fundamental importância o entendimento da capacidade antioxidantes do leite humano (LH) e sua ação como modulador do sistema imunológico das crianças. Os ensaios analíticos são úteis na obtenção de um quadro global de antioxidantes relacionados a fluidos corporais e como eles de modificam dependendo das condições.

As propriedades antioxidantes foram determinadas no leite humano em 9 dos 11 trabalhos contidos na revisão<sup>25-26,29-35</sup>, na urina em 2<sup>28,32</sup> e no plasma<sup>25,27</sup>, por diferentes métodos de análise (Quadro 2). O crescente interesse epidemiológico no conhecimento do papel dos antioxidantes levou ao desenvolvimento de vários ensaios analíticos para avaliar a capacidade antioxidante dos alimentos<sup>36</sup>, entretanto deve-se atentar para as peculiaridades de cada método. É importante ressaltar que os valores encontrados nos trabalhos devem ser comparados apenas quando as medições são realizadas baseadas na mesma metodologia<sup>36</sup>, tornando-se esta uma limitação identificada no presente estudo, uma vez que os artigos selecionados apresentaram objetivos similares, mas muitos utilizaram métodos analíticos diferenciados.

Parto prematuro e o comprometimento fetal podem ser consequências da ação dos radicais livres, assim como o consequente aparecimento de complicações no pós-parto e doenças como resultados do processo de estresse oxidativo<sup>26,48</sup>. Pesquisas envolvendo recém-nascidos pré-termo têm se destacado no meio científico e foram as mais prevalentes nesta revisão (n=7)<sup>26,28-30,32-34</sup>. Seus resultados indicaram que a amamentação precoce desempenha papel crucial no desenvolvimento do sistema imune destas crianças<sup>26,28-30,32-34</sup>.

Outro destaque foi o número de trabalhos envolvendo fórmula infantil (n=7)<sup>26-30,32,34</sup>, que evidenciaram menor poder antioxidante fornecido por elas, apesar da sua composição semelhante ao leite materno.

**Quadro 2** - Métodos analíticos e especificações dos estudos selecionados para a revisão.

<b>Método analítico</b>	<b>Especificação</b>	<b>Estudos</b>
Ensaio FRAP ( <i>ferric reducing antioxidant power</i> )	Baseia-se na redução de um complexo férrico na presença de 2,4,6-tripiridil-s-triazina pela ação de antioxidantes, formando um complexo corado <sup>37</sup> .	25, 29
Ensaio do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)	Baseia-se na captura do radical orgânico DPPH por antioxidantes e conseqüente mudança da coloração da amostra pela redução do reagente (violeta-escura para clara) <sup>38</sup> .	25
Teste BAP ( <i>Biological Antioxidant Potential</i> )	Baseia-se na capacidade de descoloração de uma solução contendo íons férricos ( $Fe^{3+}$ ), quando os mesmos são reduzidos a íons ferrosos ( $Fe^{2+}$ ), após adição de antioxidantes <sup>39</sup> .	26
Ensaio do radical ABTS [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)]	Baseia-se no embranquecer da cor característica de um radical orgânico catiônico mais estável de ABTS com a adição de amostras contendo antioxidantes <sup>40</sup> .	27, 34
Método xilenol-férrico laranja	Baseia-se na oxidação de $Fe^{2+}$ em $Fe^{3+}$ , por vários tipos de peróxidos contidos nas amostras, na presença de laranja de xilenol, produzindo um complexo férrico-xilenol de cor laranja <sup>41</sup> .	27
Detecção de orto-tirosina (o-Tyr)	Baseia-se na detecção de o-Tyr, um produto final estável da reação entre radicais hidroxila e fenilalanina, através de CLAE <sup>42</sup> .	28
Detecção de 8-hidroxi-2-deoxiguanosina (8-oxodG) e 2'-deoxiguanosina (2dG)	Baseia-se na detecção de 8-oxodG e 2dG, produtos gerados pela lesão do DNA por radicais hidroxila <sup>28</sup> .	28
ESR ( <i>Electron Spin Resonance</i> ) ou EPR ( <i>Electron Paramagnetic Resonance</i> )	Consiste na aplicação de um campo magnético externo "H" sobre uma amostra que contenha elétrons desemparelhados, portanto, radicais livres apresentam sinais de ESR, sendo possível verificar o comportamento de determinadas substâncias na presença de oxidantes e avaliar o seu efeito antioxidante <sup>43</sup> .	30
Método ORAC <sub>FL</sub> ( <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> )	Avalia a capacidade antioxidante da amostra através da medida da sua habilidade de sequestrar os radicais peroxil e proteger a fluoresceína (FL) da oxidação pelo 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidroclorado (AAPH). O AAPH que é um gerador de radicais livres, a 37°C. Queda na fluorescência da FL indica a extensão do dano causado pela sua reação com os radicais gerados <sup>44</sup> .	31
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	Trata-se de um método físico-químico de separação de elementos, o qual está fundamentado na migração diferencial dos componentes de uma mistura, devido a diferentes interações entre uma fase móvel e uma fase estacionária, sendo a primeira um solvente.	28,30,31*, 32,35
Método do fosfomolibdênio	Baseia-se na determinação da redução do $Mo^{+4}$ a $Mo^{+5}$ pela amostra por ação de antioxidante, com formação subsequente de um complexo verde fosfato de $Mo^{+5}$ (coloração inicial amarela) <sup>46</sup> .	33
Método proposto por Lawrence e Burk	Determina a atividade enzimática através da medida da quantidade de NADPH oxidado, sendo a atividade diretamente proporcional a taxa de oxidação <sup>47</sup> .	35

Mo – molibdênio; NADPH - nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido.

\* Foi empregado também o método de Cromatografia Líquida Gasosa (GLC).

Hanna et al.<sup>34</sup>, Ezaki et al.<sup>26</sup> e Oveisi et al.<sup>29</sup> avaliaram a capacidade antioxidante total (CAT) do LH de mães de prematuros e fórmulas infantis e, embora utilizando métodos distintos, encontraram que a CAT do LH é significativamente superior a das fórmulas infantis, com valor de  $P < 0,0001$  para os primeiros trabalhos e  $P < 0,05$  para o último.

Aycicek e colaboradores<sup>27</sup> identificaram que crianças nascidas a termo alimentadas exclusivamente com LH apresentaram CAT plasmática

significativamente maior que aquelas alimentadas exclusivamente com fórmula ( $P < 0,05$ ), concentração de peróxido total e índice de estresse oxidativo mais elevados ( $P < 0,05$ ) no grupo com fórmula. Ledo et al.<sup>28</sup> estudaram 2 marcadores específicos da oxidação do radical hidroxila em amostras de urina e encontraram, no grupo de prematuros que utilizava fórmula, eliminação significativamente de maiores quantidades de derivados oxidativos de fenilalanina ( $P < 0,01$ ) e bases oxidantes de DNA ( $P < 0,02$ ). Apenas no estudo de Korchazhkina et al. (2006) não houve diferença estatisticamente significativa de um indicador da capacidade antioxidante entre prematuros alimentado com LH ou fórmula infantil ( $P > 0,05$ ), no qual foi avaliado um biomarcador não invasivo de peroxidação lipídica induzida por estresse oxidativo, o malonaldeído.

Justificativas para as diferenças entre a composição antioxidante do LH e das fórmulas infantis foram atribuídas às ações de antioxidantes endógenos, como as enzimas superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase, presentes apenas no LH e não nas fórmulas<sup>26</sup>, ao processamento empregado para o preparo das fórmulas e à própria composição das mesmas, por apresentarem maiores quantidades de produtos de oxidação lipídica pré-formados<sup>34</sup>.

Friel et al.<sup>30</sup> testaram a hipótese de que LH de mães de prematuros pode prover maiores concentrações de antioxidantes em comparação com bebês a termo, além de apresentar propriedades antioxidantes não vistas em fórmulas infantis, através de 3 experimentos avaliaram, respectivamente: a) resistência ao estresse oxidativo; b) comparação das diferenças da resistência ao estresse oxidativo entre o leite de mães de crianças a termo e pré-termo e; c) análise dos fatores do LH responsáveis pelo aumento dessa resistência. Como resultados obtidos, assumindo-se  $P < 0,05$ , os autores encontraram: produção do radical ascorbato e consumo de oxigênio maiores nas fórmulas em relação ao LH ao adicionarem vitamina C, com ou sem estresse oxidativo; concentrações aumentadas de catalase do LH com o passar do tempo; aumento da resistência ao estresse oxidativo das fórmulas após adição de catalase, glutathione peroxidase e superóxido dismutase; sulfato ferroso associado a vitamina C, quando adicionados ao LH e fórmulas fortificadas com ferro aumentaram o estresse oxidativo; adição de quelantes de ferro à fórmula reduziu o estresse oxidativo; enzimas desnaturantes endógenas não

diminuíram a capacidade de LH para resistir ao estresse oxidativo<sup>30</sup>. Não encontraram diferença significativa entre o consumo de oxigênio do LH de mães de bebês a termo e prematuros ( $P>0,05$ )<sup>30</sup>.

A composição do LH pode variar de acordo com a alimentação materna<sup>25,29</sup>, idade do lactente<sup>25-26,29,33</sup>, tipo de armazenamento<sup>33-34</sup> e processamento térmico<sup>35</sup>.

Segundo trabalho de Oveisi e colaboradores<sup>29</sup>, a CAT do LH aumentava com o consumo diário de queijos, frutas, hortaliças, cereais e oleaginosas, ( $P<0,05$ ), devido ao conteúdo elevado de antioxidantes nos produtos lácteos (vitaminas A e E, carotenoides), frutas e hortaliças (vitamina C, carotenoides, antocianinas, lignanas), cereais (lignanas, zinco, vitamina E), e oleaginosas (saponinas, taninos, coenzima Q<sup>10</sup>, flavonóides, vitaminas A e E, selênio). Zarban et al. (2009), encontraram correlação positiva entre a CAT do LH e do plasma materno ( $r=0,267$ ,  $P<0,05$ ) e reportam que as mães com valores baixos necessitavam de maior atenção em relação ao consumo de nutrientes antioxidantes durante a lactação.

Tijerina-Sáenz; Innis; Kitts<sup>31</sup> estudaram amostras de leite de mulheres que apresentaram gestação a termo, e conseguiram verificar que o  $\alpha$ -tocoferol contribui significativamente para a capacidade antioxidante total do leite humano, pela correlação significativa positiva entre eles ( $r=0,439$ ,  $P<0,01$ ), e que a correlação positiva entre a vitamina A e E do LH ( $r=0,557$ ,  $P<0,01$ ) foi consistente com a suplementação multivitamínica auto referida por todas as nutrizes participantes.

Zarban et al.<sup>25</sup> e Xavier; Rai, Hegde<sup>33</sup> avaliaram a CAT do LH em diferentes fases da lactação, sendo o primeiro estudo com bebês nascidos a termo e o segundo com a termo e prematuros. Ambos encontraram maior CAT no colostro ( $P<0,05$ ), e a CAT no colostro de gestação a termo foi maior em relação a pré-termo ( $P<0,001$ ), segundo achados dos últimos autores.

Ezaki et al.<sup>26</sup> e Oveisi et al.<sup>29</sup> encontraram correlação inversa entre a CAT do LH de mulheres com gestação pré-termo e a idade pós natal ( $r=-0,270$ ,  $P=0,01$ ;  $r^2=0,25$ ;  $P<0,0001$ ), respectivamente. Tais resultados reforçam a importância do aleitamento materno precoce, principalmente do colostro, como fornecedor de substâncias antioxidantes para o lactente<sup>25-26,33</sup>.

O armazenamento do LH ordenhado para uso posterior é uma prática comum e pouco estudada, sendo esta a justificativa para o desenvolvimento

dos 2 estudos que verificaram as alterações ocorridas com o LH armazenado a diferentes temperaturas e períodos de tempo<sup>33-34</sup>.

Hanna e colaboradores<sup>34</sup> mediram a atividade antioxidante do LH fresco, coletado em no máximo 24 horas pós-parto, refrigerado (4°C) e congelado (-20°C), armazenados por 48 horas e sete dias. Os autores verificaram que o congelamento diminui significativamente a CAT do LH em comparação com a refrigeração ( $P < 0,001$ ), para ambos os períodos de armazenamento<sup>34</sup>. E constaram também que a CAT diminui com o tempo de armazenamento ( $P < 0,001$ ), independente do método de armazenamento (congelamento ou refrigeração)<sup>34</sup>.

Xavier; Rai, Hegde<sup>33</sup>, com amostras de LH coletadas no 3º, 7º e 30º dias pós-parto e entre 5 e 12 meses, realizaram estudo semelhante ao citado anteriormente, com modificação apenas na temperatura de congelamento (-8°C), e encontraram diminuição significativa na CAT do LH após refrigeração e congelamento durante 48 horas e 7 dias quando comparada ao leite fresco no tempo zero ( $P < 0,0005$ ). A inativação de fatores antioxidantes do LH, como a atividade de enzimas principalmente pelo processo de congelamento, foi discutida como justificativa para os resultados<sup>33-34</sup>.

Silvestre et al.<sup>35</sup> investigaram o efeito de 2 diferentes tipos de pasteurização sobre as propriedades antioxidantes do LH de nutrizes com gestação a termo, por ser este processamento térmico mais comumente aplicado em bancos de leite para eliminar o risco de transmissão de agentes infecciosos aos receptores. As amostras de LH foram submetidas a pasteurização lenta (63°C durante 30 min) e pasteurização rápida (75°C durante 15 segundos), sendo encontrados como resultados uma diminuição significativa da concentração de glutathione e CAT em amostras de LH submetidas a pasteurização lenta ( $P < 0,05$ ), e redução significativa da atividade da glutathione peroxidase pelos dois métodos ( $P < 0,05$ )<sup>35</sup>. Os autores concluíram que tratamento a alta temperatura por curtos períodos de tempo garante a destruição de micro-organismos do leite e produz perdas menores na CAT, contribuindo dessa maneira para manter a qualidade funcional do leite e seus benefícios para o lactente<sup>35</sup>.

Apenas 2 dos estudos selecionados<sup>33-34</sup> compararam a CAT do LH de mães de bebês a termo e prematuros. Hanna et al.<sup>34</sup> não encontraram diferença estatisticamente significativa entre a CAT do colostro de mulheres de

gestação a termo e prematura ( $P < 0,05$ ). Contrariamente, Xavier; Rai e Hegde<sup>33</sup> identificaram maior CAT no colostro em gestações a termo ( $P < 0,001$ ), entretanto, não foi observada diferença significativa entre a CAT dos leites de transição e maduro. Fatores como os aspectos metodológicos e características específicas das populações estudadas podem ter contribuído para resultados discordantes.

## **Conclusão**

Evidenciou-se a presença de maior capacidade antioxidante do leite humano em relação às fórmulas infantis. Existem diversos ensaios para avaliar o poder antioxidante, devendo-se atentar para as metodologias utilizadas e os objetivos propostos de cada estudo. A falta de detalhamento das características dos sujeitos avaliados e das metodologias utilizadas, bem como o controle das variáveis de confusão, representam uma importante limitação, o que não permite considerar os resultados como universais.

Os dados apoiam as vantagens do aleitamento materno precoce contra o estresse oxidativo nos recém-nascidos, principalmente em prematuros e que as propriedades antioxidantes atribuídas ao leite humano são indispensáveis para o desenvolvimento e fortalecimento do sistema imunológico do lactente. Entretanto, para elucidar mais claramente a influência positiva da concentração de antioxidante do leite materno e sua associação com o sistema imune, e estado nutricional das crianças, é necessário o desenvolvimento de um maior número de estudos com caráter longitudinal.

## **Referências Bibliográficas**

1. KUMMER, S.C. et al. Evolução do padrão de aleitamento materno. **Revista de Saúde Pública**, v.34, n.2,143-148, 2000.
2. JACSON, K.M.; NAZAR, A.M. Breastfeeding, the immune response, and long-term health. **The Journal of the American Osteopathic Association**, v.106, n.4, p.203-207, 2006.
3. WOLF, A.E.; ADLERBERTH, I. Does breastfeeding affect the infant's immune responsiveness? **Acta Paediatrica**, v.87, n.1, p.19-22, 1998.
4. WALKET, A. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. **Journal of Pediatrics**, v.156, n.2, p.3-7, 2010.

5. VIEIRA, G.O.; SILVA, L.R.; VIEIRA, T.O. Alimentação infantil e morbidade por diarreia. **Jornal de Pediatria**, v.79, n.5, p.449-454, 2003.
6. SHOJI, H. et.al. Suppressive effects of breast milk on oxidative DNA damage in very low birthweight infants. **Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition**, v.89, n.2, p.136-138, 2004.
7. FIELD, C.F. The Immunological Components of Human Milk and Their Effect on Immune Development in Infants. **Journal of Nutrition**, v.135, n.1, p.1-4, 2005.
8. KASAPOVIĆ, J. et al. Superoxide dismutase activity in colostrum, transitional and mature human milk. **The Turkish Journal of Pediatrics**, v.47, n.4, p.343-347, 2005.
9. NASCIMENTO, M.B.R.; ISSLER, H. Breastfeeding: making the difference in the development, health and nutrition of term and preterm newborns. **Revista do Hospital das Clínicas Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo**, v.58, n.1, p.49-60, 2003
10. BRAGA, L.P. M.; PALHARES, D.B. Efeito da evaporação e pasteurização na composição bioquímica e imunológica do leite humano. **Jornal de Pediatria**, v.83, n.1, p.59-63.
11. RIBEIRO, K.D.S. et al. R. Efeito do processamento do leite humano sobre os níveis de retinol. **Jornal de Pediatria**, v.81, n.1, p.61-64, 2005.
12. RONA, M.S.S. et al. Efeito do tempo e da temperatura de estocagem nas determinações de acidez, cálcio, proteínas e lipídeos de leite de doadoras de bancos de leite humano. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.8, n.3, p.257-263, 2008.
13. BARBOSA, M.B. et al. Custo da alimentação no primeiro ano de vida. **Revista de Nutrição**, v.20, n.1, p.55-62, 2007.
14. VALENZUELA B.A.; NIETO, K.S. Ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal: su importancia en el desarrollo del sistema nervioso y visual. **Revista chilena de pediatría**, v.74, n.2, p.149-57, 2003.
15. CARVER, J.D. Advances in nutritional modifications of infant formulas. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, n.6, p.1550-1554, 2003.
16. KUS, M.M.M.; AUED-PIMENTEL, S.; MANCINI-FILHO, J. Comparação de métodos analíticos para determinação de lipídios e ácidos graxos polinsaturados por cromatografia gasosa em fórmula infantil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.68, n.1, p.12-20, 2009.
17. OLIVEIRA, M.A.A.; OSÓRIO, M.M. Consumo de leite de vaca e anemia ferropriva na infância. **Jornal de Pediatria**, v.81, n.5, p.361-367, 2005

18. NASCIMENTO, M.B.R.; ISSLER, H. Aleitamento materno em prematuros: manejo clínico hospitalar. **Jornal de Pediatria**, v.80, n.5, p.163-172, 2004.
19. RODRIGUES, F.P.M. Importância dos radicais livres de oxigênio no período neonatal. **Jornal de Pediatria**, v.74, n.2, p.91-98, 1998.
20. PERRONE, S. et al. Oxidative Stress and Nutrition in the Preterm Newborn. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v.45, n.3, p.178-182, 2007.
21. ROBLES, R; PALOMINO, N.; ROBLES, A. Oxidative stress in the neonate. **Early Human Development**, v.65, n.2, p.75-81, 2001.
22. BAYDAS, G. et al. Antioxidant Vitamin Levels in Term and Preterm Infants and Their Relation to Maternal Vitamin Status. **Archives of Medical Research**, v.33, n.3, p.276-280, 2002.
23. SCHOCK, B.C. et al. Oxidative stress in lavage fluid of preterm infants at risk of chronic lung disease. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular**, v.281, n.6, p.1386-1391, 2001.
24. **Biblioteca Virtual em Saúde – BIREME**. Disponível em: <<http://regional.bvsalud.org/php/index.php>>. Acesso em: 20 abr. 2012.
25. ZARBAN, A. et al. Antioxidant and radical scavenging activity of human colostrum, transitional and mature milk. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v.45, n.2, p.150-154, 2009.
26. EZAKI, S.; ITO, T.; SUZUKI, K.; TAMURA, M. Association between Total Antioxidant Capacity in Breast Milk and Postnatal Age in Days in Premature Infants. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v.42, n.2, p.133-137, 2008.
27. AYCICEK, A. et al. Breast milk provides better antioxidant power than does formula. **Nutrition**, v.22, n.6, p.616-619, 2006.
28. LEDO, A. et al. Human milk enhances antioxidant defenses against hydroxyl radical aggression in preterm infants. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.89, n.1, p.210-215, 2009.
29. OVEISI, M.R. et al. Human Breast Milk Provides Better Antioxidant Capacity than Infant Formula. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v.9, n.4, p.445-449, 2010.
30. FRIEL, J.K. et al. Milk from mothers of both premature and full-term infants provides better antioxidant protection than does infant formula. **Pediatric Research**, v.51, n.5, p.612-618, 2002.
31. TIJERINA-SÁENZ, A.; INNIS, S.M.; KITTS, D.D. Antioxidant capacity of human milk and its association with vitamins A and E and fatty acid composition. **Acta Pædiatrica**, v.98, n.11, p.1793-1798, 2009.

32. KORCHAZHKINA, O. et al. Effects of exclusive formula or breast milk feeding on oxidative stress in healthy preterm infants. **Archives of Disease in Childhood**, v.91, n.4, p.327-329, 2006.
33. XAVIER, A.M.; RAI, K.; HEGDE, A.M. Total antioxidant concentrations of breastmilk--an eye-opener to the negligent. **Journal of Health, Population and Nutrition**, v.29, n.6, p.605-611, 2011.
34. HANNA, N. et al. Effect of storage on breast milk antioxidant activity. **Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition**, v.89, n.6, p.518-520, 2004.
35. SILVESTRE, D. et al. Antioxidant capacity of human milk: effect of thermal conditions for the pasteurization. **Acta Paediatrica**, v.97, n.8, p.1070-1074, 2008.
36. PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v.39, n.7, p.791-800, 2003.
37. FERREIRA, R.Q.; AVACA, L.A. Determinação eletroquímica da capacidade antioxidante de sucos de frutas industrializados usando o CRAC assay. **Química Nova**, v.31, n.8, p.2169-2173, 2008.
38. RUFINO, M.S.M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. (Comunicado técnico, 127), 2007.
39. BENEDETTI, S. ET al. The antioxidant protection of CELLFOOD® against oxidative damage in vitro. **Food and Chemical Toxicology**, v.49, n.9, p.2292-2298, 2011.
40. RUFINO, M.S.M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS+**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. (Comunicado técnico, 128), 2007
41. LIMA, E.S.; ABDALLA, D.S.P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.37, n.3, p.293-303, 2001.
42. LEEUWENBURGH, C. et al. Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. **Free Radical Biology and Medicine**, v.27, n.1-2, p.186-192, 1999.
43. OLIVEIRA, L.S.; ALONSO, A. **Atividades Antioxidantes de Moléculas/Extratos de Plantas e Ações em Membrana Modelo e Estrato Córneo**. Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. Disponível em:  
<[http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pibic/trabalhos/LET\\_\\_000.PDF](http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pibic/trabalhos/LET__000.PDF)>. Acesso em 20 maio 2012.

44. TOMEI, R.R.; SALVADOR, M.J. Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais. **XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação** – Universidade do Vale do Paraíba, 2007. Disponível em:  
<[http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC\\_2007/trabalhos/saude/epg/EPG00322\\_01C.pdf](http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2007/trabalhos/saude/epg/EPG00322_01C.pdf)>. Acesso em: 20 maio 2012.
45. DEGANI, A.L.G.; CASS, Q.B.; VIEIRA, P.C. Cromatografia: um Breve Ensaio. **Química Nova**, n.7, p.21-25, 1998.
46. LONGHI, J.G. **Atividade biológica da semente de Mucuna pruriens**. 2007. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PN, 2007.
47. BRIDI, R.; STEFFEN, V.M; HENRIQUES, A.T. Investigação da atividade antioxidante do extrato padronizado de Ginkgo biloba (EGb 761) em ratos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.37, n.2, p.159-164. 2001.
48. GOMES, M.M.; SAUNDERS, C.; ACCIOLY, E. Papel da vitamina A na prevenção do estresse oxidativo em recém-nascidos. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.5, n.3, p.275-282, 2005.

## 5.1. Artigo Original 1

Retinol, carotenoides e tocoferóis no leite e suas correlações com as concentrações plasmáticas e ingestão alimentar de nutrizes adolescentes e adultas

### Resumo

As vitaminas e carotenoides presentes no leite materno desempenham importante papel no processo de crescimento e desenvolvimento de recém-nascidos, e suas concentrações em nutrizes adolescentes pode estar comprometido e representar riscos para a saúde da lactente. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano, e sua correlação com as concentrações plasmáticas e ingestão alimentar de nutrizes adultas e adolescentes. Trata-se de um estudo transversal com 30 nutrizes adolescentes e 30 adultas residentes no município de Viçosa, Minas Gerais, segundo o tempo pós-parto e nível socioeconômico. Foi realizada aplicação de questionário estruturado e inquéritos dietéticos, avaliação antropométrica e de composição corporal, e análises bioquímicas do leite humano e plasma materno. Para adolescentes e adultas, as concentrações no leite humano de retinol,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, luteína+zeaxantina,  $\alpha$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocoferol no leite humano não diferiram estatisticamente. Apenas o  $\gamma$ -tocoferol do leite correlacionou-se positivamente com as concentrações plasmáticas. Nenhuma correlação foi encontrada entre os nutrientes do leite e a ingestão dietética das nutrizes. Desta forma, sugere-se que as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis do leite independe de fatores como a idade, estado nutricional em relação ao nutriente e ingestão alimentar materna.

Palavras-chave: Leite humano; retinol; tocoferóis; carotenoides; adolescentes e adultas.

## Retinol, carotenoids and tocopherols in milk and their correlations with plasma concentration and dietary intake of lactating adolescent and adult

### **Abstract**

Vitamins and carotenoids present in breast milk play an important role in the growth and development of newborns, and their concentrations in lactating adolescents may be compromised and pose risks to the health of infants. Thus, the aim of this study was to evaluate the concentrations of retinol, carotenoids and tocopherols in human milk, and its correlation with plasma concentrations and dietary intake of adult lactating mothers and adolescents. This is a cross-sectional study of 30 adolescent and 30 adult lactating mothers residing in Viçosa, Minas Gerais, matched according to postpartum time and socioeconomic status. The assessment consisted of a structured questionnaire and dietary surveys, anthropometric and body composition, biochemical analyzes of human milk, and maternal plasma. For adolescents and adults, the concentrations of retinol,  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, lutein zeaxanthin,  $\alpha$ -tocopherol and  $\gamma$ -tocopherol in human milk didn't differ statistically. Only the  $\gamma$ -tocopherol in the milk was positively correlated with plasma concentrations. No association was found between the milk's nutrients and the dietary intake of lactating mothers. In conclusion, it is suggested that the concentrations of retinol, carotenoids, and tocopherols in milk do not depend on factors such as age, nutritional status in relation to nutrient or maternal dietary intake.

Keywords: Human milk; retinol; tocopherols; carotenoids; adolescents and adults.

## Introdução

O leite materno é reconhecido como o alimento ideal para o recém-nascido e deve ser oferecido exclusivamente até o sexto mês de vida<sup>1</sup>. Além de garantir um crescimento e desenvolvimento adequados, contém diversos fatores de defesas que contribuem para o fortalecimento do sistema imunológico do lactente, dentre eles destacam-se as vitaminas e carotenoides<sup>2-4</sup>.

A concentração de vitaminas e carotenoides do leite materno é influenciada por diversos fatores, destacando-se a ingestão materna e estado nutricional em relação aos nutrientes<sup>5</sup>.

Quando a ingestão materna é baixa, as concentrações dos nutrientes no leite também são inferiores e respondem mais rapidamente à suplementação dietética, diferentemente do que ocorre quando o consumo e concentração são mais altos, as concentrações mantêm-se mais estáveis e apresentam menor resposta à suplementação<sup>1,5</sup>. O estado nutricional materno de vitaminas tem relação direta com as concentrações plasmáticas da nutriz, sendo este um determinante crítico para a saúde e desenvolvimento do lactente<sup>5</sup>.

A vitamina A é um potente antioxidante e desempenha importantes funções no metabolismo humano, relacionadas à expressão gênica, ao adequado funcionamento do sistema visual, à manutenção da integridade epitelial, ao sistema imunológico e ao crescimento e desenvolvimento físico<sup>6,7</sup>. Destaque deve ser dado a esta vitamina nos períodos da gestação e lactação, pelas elevadas demandas materna, fetal e do lactente<sup>8</sup>.

Os carotenoides pró-vitamínicos A, como  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e criptoxantina, podem ser potenciais fontes de vitamina A no leite materno<sup>6,7,9</sup>. Além disso, tanto os pró-vitamínicos A quanto os não pró-vitamínicos A, como luteína, zeaxantina e licopeno, têm se destacado pelo seu relevante papel como potencializadores do sistema imunológico e proteção contra o estresse oxidativo<sup>6,7,9,10</sup>.

A vitamina E ocorre na natureza em oito formas diferentes:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  e  $\gamma$ -tocoferóis e  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  e  $\gamma$ -tocotrienóis<sup>6,7</sup>. Trata-se de outro antioxidante lipossolúvel que tem como função principal proteger os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa das membranas celulares, e as lipoproteínas contra a oxidação<sup>6,7,11</sup>. Os principais tocoferóis presentes no glóbulo de gordura

do leite são  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -tocoferóis, e suas concentrações diminuem com o progresso da lactação<sup>12</sup>.

Nutrizes adolescentes são mais susceptíveis a riscos clínicos e nutricionais ao longo da gestação e pós-parto, por se tratar de um grupo que ainda encontra-se em processo de crescimento e imaturidade biológica<sup>13,14</sup>. Hábitos alimentares inadequados comuns neste grupo, caracterizados pela elevada ingestão energética e baixo consumo de micronutrientes, também contribuem para o aumento dos riscos nutricionais inerentes ao grupo materno infantil<sup>14,15</sup>.

Apesar da gravidez na adolescência ser considerada um grande problema de saúde pública<sup>16</sup>, estudos que avaliaram as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano de mães adolescentes ainda são escassos<sup>17-21</sup>.

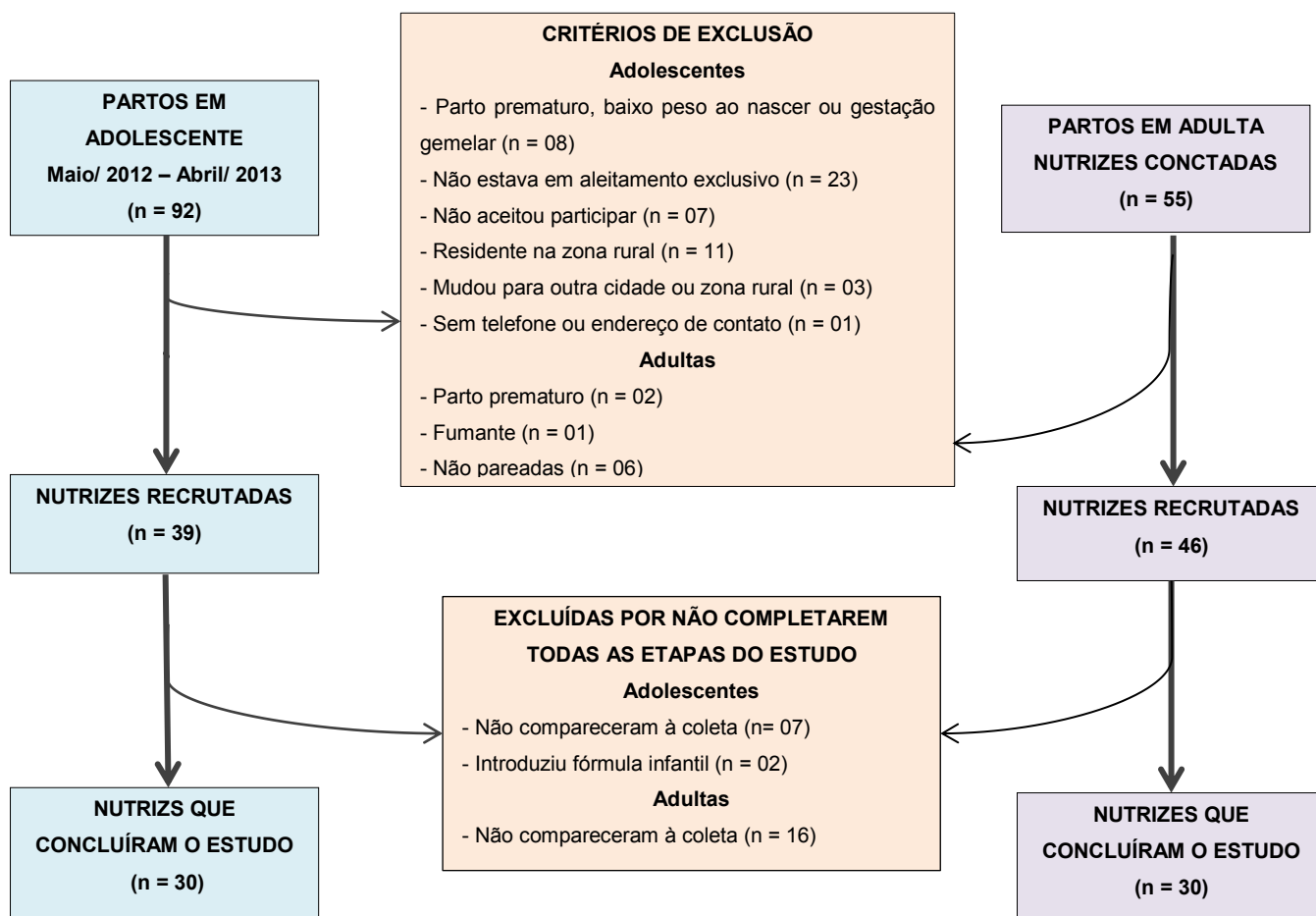
O objetivo do presente estudo foi avaliar as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano, e sua correlação com as concentrações plasmáticas e ingestão alimentar de nutrizes adultas e adolescentes, do município de Viçosa, Minas Gerais (MG).

## **Materiais e métodos**

### *Sujeitos*

Trata-se de um estudo transversal realizado com nutrizes do município de Viçosa-MG.

As nutrizes foram contactadas através de telefonema e/ou endereço residencial, fornecido pelo Hospital São Sebastião ou pelas Estratégias Saúde da Família do município. As adolescentes (10-19 anos) foram recrutadas segundo os critérios de inclusão: ausência de enfermidade crônica ou processos infecciosos atualmente ou durante a gestação, não ingestão anterior ou atual de suplementos que contivessem vitamina A, vitamina E ou carotenoides, idade gestacional entre 37 e 42 semanas, residentes no município de Viçosa e lactentes em aleitamento materno exclusivo ou predominante durante os seis primeiros meses de vida. Foram excluídas nutrizes fumantes e etilistas, e aquelas cujos recém-nascidos permaneceram retidos na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal, portadores de anomalias congênitas e/ou apresentaram baixo peso ao nascer (< 2500 gramas) (Figura 1).



**Figura 1** - Fluxograma de recrutamento das participantes do estudo.

As nutrizes adultas ( $\geq 20$  anos) foram selecionadas seguindo os critérios citados anteriormente e pareadas com as adolescentes segundo o tempo pós-parto e nível socioeconômico.

Dados gerais sobre as nutrizes (características socioeconômicas, obstétricas e gestacionais) foram obtidos por meio de questionário semiestruturado padronizado. Para classificação do nível socioeconômico foi utilizado o Critério de Classificação Econômica, desenvolvido pela Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa e as classes agrupadas em A, B, C e D/E<sup>31</sup>. Para as análises posteriores, as classes A1 e A2, foram agrupadas na categoria A, B1 e B2 na categoria B; C1 e C2 na categoria C; enquanto D e E foram agrupadas na categoria D/E.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), sob Protocolo nº030/2012, e todas as participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). No caso de adolescentes menores de 18 anos, foi solicitado também o consentimento e a assinatura do TCLE do responsável.

### *Avaliação Antropométrica*

O peso e a altura foram aferidos de acordo com protocolo descrito por Jelliffe<sup>22</sup>, com balança portátil, digital e eletrônica (Welmy<sup>®</sup>) e antropômetro portátil (Alturaexata<sup>®</sup>), respectivamente. O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado e as nutrizes classificadas segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS)<sup>23,24</sup>. O percentual de gordura corporal (%GC) foi determinado por meio de bioimpedância elétrica tetrapolar (Biodynamics<sup>®</sup>, modelo 310).

### *Avaliação Dietética*

A ingestão dietética recente foi avaliada utilizando-se Recordatórios Alimentares de 24 horas (R24H) de três dias não consecutivos, abrangendo dois dias de semana e um dia de final de semana<sup>25</sup>. Um Questionário de Frequência de Consumo Alimentar, adaptado para a população estudada de acordo com os nutrientes de interesse<sup>21,26</sup>, foi aplicado para determinar a ingestão habitual das nutrizes.

Para a análise da ingestão de nutrientes foi utilizado o *software* Dietpro<sup>®</sup>, versão 5.5i. Utilizou-se os dados de consumo das vitaminas A e E, identificados pelo R24H, para calcular as prevalências de ingestões inadequadas<sup>27</sup>.

Os dados dietéticos obtidos pelo R24H foram ajustados pela variabilidade<sup>27</sup> e os valores encontrados pelo QFCA ajustados pela ingestão calórica total, através do método residual<sup>30</sup>.

### *Coleta e preparo das amostras*

As amostras de leite humano e sangue materno foram obtidas pela manhã, após 12 horas de jejum. As amostras de sangue (20 mL) foram coletadas por punção venosa em tubos de polipropileno contendo etilenodiamino tetra-acético (EDTA) como anticoagulante e soro-gel. Alíquotas foram encaminhadas para determinação imediata de hematócrito e da hemoglobina. Em seguida, o plasma, contido nos tubos de EDTA, foi centrifugado (Excelsa<sup>®</sup> II, modelo 206-BL) a 678 g por 15 minutos e acondicionado em *ependorfs*. Para análise do perfil lipídico, os tubos contendo soro-gel foram centrifugados à 1328 g, por 10 minutos e o soro acomodado em *ependorfs*.

O leite humano foi retirado por meio de bomba elétrica (Matern Milk<sup>®</sup>), na mama não succionada pelo lactente no dia da coleta, observando as técnicas

preconizadas pela Rede Nacional de Bancos de Leite Humano<sup>28</sup>. As amostras foram coletadas em potes plásticos esterilizados e imediatamente transferidas para *ependorfs*.

As alíquotas de plasma e leite foram armazenadas a -80°C até o momento da análise, por um período máximo de 12 meses, protegidos com papel alumínio para minimizar perdas do conteúdo de antioxidantes.

#### *Hemograma e perfil lipídico*

O hemograma completo foi determinado segundo protocolo do Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde da UFV por meio de impedância elétrica. O perfil lipídico, contemplando colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e triglicerídeos do sangue, foi determinado no Laboratório de Bioquímica Nutricional do Departamento de Nutrição e Saúde da UFV, por meio de métodos enzimáticos colorimétrico, utilizando Kits comerciais (BioClin<sup>®</sup>).

Nutrizes com hemoglobina abaixo de 12 g/dL foram consideradas anêmicas<sup>34</sup>. Para análise do perfil lipídico utilizou-se os valores de referência propostos pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC)<sup>32,33</sup>.

#### *Determinação simultânea de retinol, carotenoides e tocoferóis*

Retinol, carotenoides e tocoferóis foram determinados no Laboratório de Análise de Vitaminas da UFV, segundo adaptação dos métodos propostos por Turner e Burri<sup>29</sup>. As análises foram realizadas utilizando um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (Shimadzu, SCL-10 ATVP, Japão) equipado com bomba de alta pressão (Shimadzu, LC-10ATVP, Japão), amostrador automático com *loop* de 500 µL (Shimadzu, SIL-10AF, Japão), detector de arranjo de diodos (DAD) (Shimadzu, SPD-M10A, Japão) e sistema de desgaseificação da fase móvel com gás hélio (Shimadzu, DGU-2A, Japão).

As condições cromatográficas utilizadas para a análise incluíram um sistema de CLAE-DAD, coluna de fase reversa Waters Spherisorb ODS2 (3 µm, 150 mm x 3 mm) equipada com pré-coluna (ODS2, 3µ, 20 mm x 3 mm); volume de injeção de 40-50 µL e varredura do espectro de 200-450 nm. O retinol, carotenoides e tocoferóis foram medidos a 325, 450 e 292 nm, respectivamente. Foi realizada eluição isocrática com fase móvel composta por acetonitrila:diclorometano:metanol (70:20:10) e fluxo de 0,5 mL/min.

A partir de 100  $\mu\text{L}$  de leite, previamente aquecidos em banho-maria (Hemoquímica, modelo HM-1003), a 37°C, por 60 minutos, para aumentar a solubilidade dos lipídios do leite, foram adicionados 200  $\mu\text{L}$  de padrão interno ( $\delta$ -tocoferol em metanol; 2,5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), 20  $\mu\text{L}$  de butilhidroxitolueno (BHT) em etanol (0,1%), 100  $\mu\text{L}$  de pirogalol em etanol (10%) e 1 mL de etanol; e homogeneização em vórtex (Biomixer, modelo QL-901), por 15 segundos. Posteriormente, a mistura foi saponificada adicionando-se 300  $\mu\text{L}$  de solução de hidróxido de potássio 20%, seguido de aquecimento em banho-maria (45°C, por 30 minutos). Em seguida, 2 mL de hexano e 700  $\mu\text{L}$  de água ultrapura, produzida em sistema Millipore Milli-Q<sup>®</sup>, foram adicionados à mistura, seguida de agitação em vórtex por 1 minuto e centrifugação (108 g, por 2 minutos). O sobrenadante foi coletado em tubo de ensaio e o processo de extração repetido utilizando-se 2 mL de hexano. As camadas suspensas foram combinadas e secas em nitrogênio gasoso.

Os analitos do plasma foram extraídos a partir de 200  $\mu\text{L}$ , após descongelados em temperatura ambiente. As amostras foram adicionadas de 1 mL de padrão interno ( $\delta$ -tocoferol em hexano; 0,5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), e 1 mL de BHT em etanol (0,1%), e agitadas, em vórtex (Biomixer, modelo QL-901), por 15 segundos. Em seguida, 1 mL de hexano foi adicionado à mistura e prosseguiu com agitação por 1 minuto. Para etapa de extração, foi adicionado 800  $\mu\text{L}$  de água ultrapura e realizou nova agitação por 1 minuto, e centrifugação por 2 minutos a 244 g. A fase superior foi separada e o processo de extração repetido utilizando-se 2 mL de hexano. As camadas superiores foram combinadas e secas em nitrogênio gasoso.

As amostras secas, de leite e plasma, foram ressuspensas em 1 mL de hexano, secas novamente em nitrogênio gasoso e posteriormente reconstituídas em 100  $\mu\text{L}$  de fase móvel. Volumes de 50  $\mu\text{L}$  e 40  $\mu\text{L}$  de leite e plasma, respectivamente, foram injetados para identificação dos compostos de interesse. O tempo de corrida foi de 12 minutos e a identificação dos compostos realizada comparando-se os tempos de retenção obtidos das amostras de retinol,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, luteína+zeaxantina,  $\alpha$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocoferol com os tempos de retenção dos padrões externos. A quantificação deu-se por meio da obtenção das áreas dos picos e equações derivadas das curvas analíticas dos padrões, preparadas a partir da injeção de seis diferentes concentrações, e expressas em  $\mu\text{mol}/\text{L}$ .

Foram utilizados os padrões de retinol (Sigma Aldrich<sup>®</sup>, Alemanha);  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno, e luteína+zeaxantina (Sigma Aldrich<sup>®</sup>, Alemanha); e  $\alpha$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferóis (Calbiochem<sup>®</sup>, Estados Unidos). Para o processo de extração dos analitos foram utilizados reagentes com grau de pureza P.A. (Vetec<sup>®</sup>, Brasil) e para as análises reagentes grau de pureza HPLC (Tedia<sup>®</sup>, Brasil).

O ponto de corte considerado para verificar a deficiência de vitamina A (DVA), segundo a OMS, para as concentrações de retinol no leite e plasma, foi inferior a 1,05  $\mu\text{mol/L}$ <sup>37</sup>. Não existem parâmetros para avaliar a deficiência de carotenoides e tocoferóis no leite humano.

Para os carotenoides do sangue, aquelas concentrações que se encontravam dentro dos valores de referência citados pelo Instituto de Medicina<sup>31</sup> foram consideradas adequadas ( $\alpha$ -caroteno: 0,02-0,47  $\mu\text{mol/L}$ ;  $\beta$ -caroteno: 0,04-2,26  $\mu\text{mol/L}$ ; luteína: 0,10-1,23  $\mu\text{mol/L}$ ). Para a vitamina E plasmática, o ponto de corte utilizado foi o valor inferior a 11,6  $\mu\text{mol/L}$  para concentrações deficientes e 11,6 – 16,2  $\mu\text{mol/L}$  para baixas concentrações de  $\alpha$ -tocoferol<sup>35</sup>.

### *Análises estatísticas*

As análises estatísticas foram realizadas no *software Statistical Package for Social Sciences (SPSS)*, versão 21.0. Para verificar a normalidade das variáveis utilizou-se o teste de *Shapiro-Wilk*. Comparações entre os grupos foram realizadas por meio do teste *T de Student* ou teste de *Mann-Whitney*. Para verificar as correlações entre as variáveis, os testes de correlação de *Pearson* ou *Spearman* foram utilizados. O Teste do *Qui-quadrado* foi utilizado para verificar associação entre o IMC e idade materna.

O nível de rejeição para a hipótese de nulidade, para todos os testes aplicados, foi de 5% ( $P < 0,05$ ).

### **Resultados**

Participaram do estudo um total de 60 nutrizes, com idade variando entre 13 e 40 anos. A mediana da idade materna foi de 18,0 anos para as adolescentes e de 26,5 anos para as adultas ( $P < 0,001$ ). As medianas de anos de estudo e renda *per capita* foram inferiores para o grupo de adolescentes ( $P < 0,001$  e  $P = 0,010$ , respectivamente) (Tabela 1). A maior parte das voluntárias pertencia a classe econômica C, independente da faixa etária.

Todos os dados obstétricos avaliados foram estatisticamente superiores entre as adultas ( $P < 0,05$ ), exceto o ganho de peso gestacional. As adolescentes apresentaram valores médios inferiores de IMC ( $P = 0,001$ ) e %GC ( $P = 0,002$ ) (Tabela 1). Ao avaliar os valores limítrofes de IMC, para adultas e adolescentes, foi identificado baixo peso apenas entre as adolescentes (10%), ao passo que, das nutrizes com sobrepeso e obesidade, 75,0% e 83,3%, respectivamente, pertenciam ao grupo das adultas. Tal parâmetro associou-se significativamente com a idade ( $P = 0,001$ ).

Verificou-se que apenas o colesterol total e HDL-c apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $P = 0,010$  e  $P = 0,047$ , respectivamente). Deve-se ressaltar, entretanto, que as concentrações médias e medianas para o colesterol total estavam alteradas em ambos os grupos, e o valor para LDL-c para as adolescentes (Tabela 1).

**Tabela 1** - Características das nutrizes e dos recém-nascidos do município de Viçosa-MG, 2013.

Variáveis	Nutrizes				P
	Adolescentes		Adultas		
	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	
<b>Dados obstétricos e gestacionais</b>					
Idade ginecológica (anos) <sup>b</sup>	5,2±1,9	5,0 (2,0-9,0)	14,1±5,2	14,0 (5,0-24,0)	<0,001*
Número de filhos <sup>b</sup>	1,1±0,4	1,0 (1,0-2,0)	1,7±0,8	2,0 (1,0-4,0)	<0,001*
Número de consultas pré-natal <sup>a</sup>	6,1±1,8	6,0 (2,0-9,0)	7,3±1,9	7,0 (4,0-13,0)	0,029*
IMC pré-gestacional (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	21,2±3,1	21,0 (16,0-28,4)	25,0±5,6	23,8 (17,9-40,8)	0,005*
Ganho de peso gestacional (kg) <sup>b</sup>	12,6±5,1	12,1 (4,3-23,0)	11,8±5,5	11,8 (0,1-22,4)	0,585
<b>Parâmetros antropométricos</b>					
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>b</sup>	22,5±3,2	22,3 (16,3-31,3)	26,1±4,8	25,4 (18,7-40,2)	0,001*
GC (%) <sup>b</sup>	27,2±4,1	27,6 (16,7-35,3)	31,1±5,2	30,7 (22,0-43,3)	0,002*
<b>Parâmetros bioquímicos</b>					
Hemoglobina (g/dL) <sup>b</sup>	12,6±0,9	12,7 (10,3-13,9)	13,0±0,9	12,8 (11,4-14,6)	0,095
Hematócrito (%) <sup>b</sup>	40,1±2,8	40,2 (32,3-44,0)	41,1±2,7	40,9 (37,0-46,2)	0,140
Colesterol total (mg/dL) <sup>a</sup>	181,8±30,8	179,3 (136,6-231,5)	202,9±23,1	203,1 (161,0-246,6)	0,010*
HDL-c (mg/dL) <sup>b</sup>	62,1±12,0	63,0 (41,0-80,0)	70,0±16,6	68,0 (47,0-107,0)	0,047*
LDL-c (mg/dL) <sup>a</sup>	102,0±29,0	97,8 (63,3-153,5)	112,7±24,9	114,8 (47,6-156,2)	0,150
Triglicerídeos (mg/dL) <sup>b</sup>	79,8±33,1	70,4 (30,0-141,0)	77,8±25,3	74,5 (34,0-133,3)	0,793

$\bar{X} \pm DP$  = Média±desvio padrão; Mín = mínimo; Máx = máximo; IMC = Índice de massa corporal; GC = Gordura corporal; HDL-c = Lipoproteína de alta densidade de colesterol; LDL-c = Lipoproteína de baixa densidade de colesterol.

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ); <sup>a</sup>Teste de *Mann-Whitney*; <sup>b</sup>Teste *T Student*.

Aproximadamente 19% das nutrizes da amostra estavam anêmicas e distribuídas proporcionalmente entre adolescentes (20%) e adultas (17,2%).

Pela análise do R24H, as nutrizes adolescentes apresentaram consumo diário inferior de vitamina A,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno em comparação com as adultas ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2). Observou-se aproximadamente 100% de prevalência de inadequação do consumo das vitaminas, para ambos os grupos.

O QFCA indicou diferença apenas entre a ingestão de  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno ( $P = 0,031$ ;  $P = 0,004$ , respectivamente). Os valores médios e medianos identificados para as vitaminas A e E, segundo o R24H, estavam abaixo da recomendação diária baseando-se nas DRI's (*Dietary Reference Intakes*)<sup>36</sup>. Tais valores, encontrados pelo QFCA, mantiveram-se abaixo para vitamina E, mas adequados para vitamina A. Não se pode afirmar sobre a inadequação da ingestão de carotenoides pela ausência de recomendações para ingestão<sup>35</sup>. A ingestão alimentar de energia e macronutrientes foi analisada pelo R24H, no qual verificou-se consumo inferior apenas de lipídios totais pelas adolescentes ( $P = 0,032$ ).

**Tabela 2** - Ingestão dietética das vitaminas A, E e carotenoides, de acordo com recordatório alimentar de 24 horas e questionário de frequência de consumo alimentar das nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Nutriente	EAR	Nutrizes				P
		Adolescentes		Adultas		
		$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	
<b>R24H</b>						
Vitamina A ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>a</sup>	Adol: 885 Adul: 900	413,8 $\pm$ 87,0	403,5 (242,3-626,4)	486,4 $\pm$ 105,2	483,0 (265,1-699,2)	0,008*
Vitamina E (mg/dia) <sup>b</sup>	Adol: 16 Adul: 16	4,2 $\pm$ 1,0	4,1 (2,9-6,3)	4,5 $\pm$ 0,8	4,4 (2,9-6,1)	0,143
$\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>b</sup>	ND	196,9 $\pm$ 260,6	35,7 (0,0-942,4)	466,8 $\pm$ 480,4	343,3 (0,0-1728,6)	0,015*
$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>a</sup>	ND	1050,2 $\pm$ 553,6	1201,5 (78,5-2088,3)	2076,6 $\pm$ 1467,6	1691,9 (93,3-5422,3)	0,001*
Luteína+Zeaxantina ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>a</sup>	ND	729,8 $\pm$ 483,1	700,4 (66,1-1697,6)	971,1 $\pm$ 695,9	843,9 (89,4-2449,3)	0,279
<b>QFCA</b>						
Vitamina A ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>b</sup>	Adol: 885 Adul: 900	1036,4 $\pm$ 608,4	765,9 (200,8-2403,1)	1362,6 $\pm$ 647,2	1236,3 (398,2-2819,7)	0,05
Vitamina E (mg/dia) <sup>a</sup>	Adol: 16 Adul: 16	11,0 $\pm$ 3,3	11,0 (5,2-18,0)	11,4,0 $\pm$ 3,4	11,4 (5,6-19,7)	0,968
$\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>b</sup>	ND	277,1 $\pm$ 231,1	191,7 (7,0-869,1)	456,4 $\pm$ 316,3	386,3 (41,3-1102,6)	0,031*
$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>a</sup>	ND	1481,1 $\pm$ 900,5	1413,9 (139,6-3581,5)	2421,7 $\pm$ 1396,3	2162,6 (140,8-5019,9)	0,004*
Luteína+Zeaxantina ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) <sup>b</sup>	ND	833,1 $\pm$ 524,8	648,0 (131,0-2354,4)	1099,7 $\pm$ 771,3	806,5 (86,5-3323,7)	0,201

$\bar{X} \pm DP$  = Média $\pm$ desvio padrão; Mín = mínimo; Máx = máximo; EAR = Necessidade média estimada<sup>35,36</sup>; R24h = Recordatório alimentar de 24 horas; QFCA = Questionário de frequência de consumo alimentar, ND = Não disponível.

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ); <sup>a</sup>Teste *T Student*, <sup>b</sup>Teste de *Mann-Whitney*.

Não houve diferença das concentrações dos analitos no leite humano entre os grupos, diferentemente no padrão identificado no plasma, no qual as concentrações de retinol,  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno foram inferiores entre as adolescentes ( $P=0,025$ ;  $P=0,008$ ;  $P=0,029$ , respectivamente) (Tabela 3).

Por meio da avaliação da concentração de retinol no leite materno, 53,3% das nutrizes de cada grupo apresentavam DVA. Considerando-se as concentrações plasmáticas, foi encontrado um percentual de 13,3% e 10,0% de DVA para adolescentes e adultas, respectivamente, sendo 3,3% de cada grupo classificada com deficiência moderada ( $>0,7\mu\text{mol/L}$ ). Segundo os valores de  $\alpha$ -tocoferol plasmático, 33,3% e 10,0% das adolescentes e adultas, respectivamente, encontravam-se com deficiência de vitamina E ( $<11,6\mu\text{mol/L}$ ), e 36,7% de cada grupo estavam em risco ( $11,6-16,2\mu\text{mol/L}$ ). Todas as nutrizes apresentaram concentrações de  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina adequados e, 16,7% e 10,0% das adolescentes e adultas, respectivamente, apresentaram concentração inferior ao valor referenciado.

**Tabela 3** - Concentração de retinol, carotenoides e tocoferóis do leite humano de nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Nutrientes	Nutrizes				P
	Adolescentes		Adultas		
	$\bar{X} \pm \text{DP}$	Mediana (Mín-Máx)	$\bar{X} \pm \text{DP}$	Mediana (Mín-Máx)	
<b>Leite humano</b>					
Retinol ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	1,31 $\pm$ 0,96	1,03 (0,25-04,14)	1,12 $\pm$ 0,56	1,00 (0,36-3,19)	0,756
$\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	0,002 $\pm$ 0,003	0,001 (0,001-0,01)	0,003 $\pm$ 0,003	0,001 (0,001-0,01)	0,108
$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	0,16 $\pm$ 0,06	0,14 (0,11-0,43)	0,16 $\pm$ 0,04	0,14 (0,11-0,29)	0,941
Luteína+zeaxantina ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	0,30 $\pm$ 0,16	0,27 (0,12-0,76)	0,27 $\pm$ 0,14	0,24 (0,13-0,82)	0,734
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	3,80 $\pm$ 1,14	3,92 (1,96-6,80)	3,65 $\pm$ 1,10	3,40 (1,95-5,87)	0,564
$\gamma$ -tocoferol ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	1,01 $\pm$ 0,42	0,90 (0,47-1,76)	0,85 $\pm$ 0,45	0,76 (0,29-1,67)	0,150
<b>Plasma</b>					
Retinol ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>b</sup>	1,34 $\pm$ 0,31	1,31 (0,49-1,90)	1,56 $\pm$ 0,43	1,57 (0,68-2,57)	0,025*
$\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	0,04 $\pm$ 0,03	0,03 (0,01-0,13)	0,05 $\pm$ 0,03	0,05 (0,01-0,13)	0,337
$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	0,27 $\pm$ 0,17	0,24 (0,08-0,92)	0,42 $\pm$ 0,31	0,33 (0,09-1,37)	0,029*
Luteína+zeaxantina ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	0,71 $\pm$ 0,20	0,68 (0,40-1,23)	0,87 $\pm$ 0,41	0,76 (0,45-2,18)	0,188
$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>	14,01 $\pm$ 3,79	13,41 (9,06-23,37)	17,16 $\pm$ 4,95	16,36 (8,51-33,77)	0,008*
$\gamma$ -tocoferol ( $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>b</sup>	1,97 $\pm$ 0,65	1,89 (0,46-3,86)	2,10 $\pm$ 0,80	2,09 (1,04-4,17)	0,482

$\bar{X} \pm \text{DP}$  = Média  $\pm$  desvio padrão; Mín = mínimo; Máx = máximo.

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ); <sup>a</sup>Teste de Mann-Whitney, <sup>b</sup>Teste T Student.

A única correlação significativa identificada entre o leite humano e plasma materno, considerando-se a amostra total de nutrizes, foi entre o  $\gamma$ -tocoferol ( $r=0,331$ ,  $P=0,010$ ). Ambos os fluidos apresentaram correlações positivas da luteína+zeaxantina com retinol, tocoferóis e  $\beta$ -caroteno, e do  $\alpha$ -tocoferol com  $\gamma$ -tocoferol, retinol e  $\beta$ -caroteno. O retinol também se correlacionou com  $\gamma$ -tocoferol no leite humano, distintamente do plasma, no qual se correlacionou com  $\beta$ -caroteno. Houve correlação significativa entre  $\gamma$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno somente no plasma, enquanto o  $\alpha$ -tocoferol associou-se com  $\alpha$ -caroteno no leite. Todos os carotenoides do plasma se correlacionaram entre si. A ingestão dietética de vitamina A, pelos dois inquéritos alimentares, esteve associada positivamente com as concentrações plasmáticas de retinol, assim como para  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina. Nenhuma correlação significativa foi encontrada entre o leite humano e o consumo das nutrizes.

**Tabela 4** - Correlações significativas entre os nutrientes do leite e do plasma de nutrizes do município de Viçosa-MG, 2013.

Nutrientes ( $\mu\text{mol/L}$ )	r	P
<b>Leite Humano vs Plasma</b>		
$\gamma$ -tocoferol	0,331	0,010
<b>Leite Humano</b>		
Retinol vs $\alpha$ -tocoferol	0,544	<0,001
Retinol vs $\gamma$ -tocoferol	0,448	<0,001
Retinol vs Luteína+zeaxantina	0,334	0,009
$\alpha$ -tocoferol vs $\gamma$ -tocoferol	0,786	<0,001
$\alpha$ -tocoferol vs $\beta$ -caroteno	0,529	<0,001
$\alpha$ -tocoferol vs Luteína+zeaxantina	0,743	<0,001
$\gamma$ -tocoferol vs $\beta$ -caroteno	0,278	0,033
$\gamma$ -tocoferol vs Luteína+zeaxantina	0,647	<0,001
$\beta$ -caroteno vs Luteína+zeaxantina	0,472	<0,001
<b>Plasma</b>		
Retinol vs $\alpha$ -tocoferol	0,534	<0,001
Retinol vs $\beta$ -caroteno	0,414	0,001
Retinol vs Luteína+zeaxantina	0,468	<0,001
$\alpha$ -tocoferol vs $\gamma$ -tocoferol	0,511	<0,001
$\alpha$ -tocoferol vs $\alpha$ -caroteno	0,380	0,003
$\alpha$ -tocoferol vs $\beta$ -caroteno	0,457	<0,001
$\alpha$ -tocoferol vs Luteína+zeaxantina	0,648	<0,001
$\gamma$ -tocoferol vs Luteína+zeaxantina	0,271	0,036
$\alpha$ -caroteno vs $\beta$ -caroteno	0,721	<0,001
$\alpha$ -caroteno vs Luteína+zeaxantina	0,469	<0,001
$\beta$ -caroteno vs Luteína+zeaxantina	0,537	<0,001
<b>Plasma vs Ingestão Dietética</b>		
Retinol (R24H)	0,274 <sup>a</sup>	0,034
Retinol (QFCA)	0,341	0,008
$\beta$ -caroteno (R24H)	0,285	0,027
$\beta$ -caroteno (QFCA)	0,276	0,033
Luteína+zeaxantina (R24H)	0,423	0,001
Luteína+zeaxantina (QFCA)	0,408	0,001

R24H = Recordatório alimentar de 24 horas; QFCA = Questionário de frequência de consumo alimentar.

<sup>a</sup>Correlação de *Pearson*, Correlação de *Spearman* para as demais.

## Discussão

Os requerimentos nutricionais durante o período de lactação aumentam pela intensa atividade metabólica, com o intuito de garantir o adequado crescimento e desenvolvimento do lactente, bem como a integridade da saúde da nutriz<sup>39,40</sup>. Em adolescentes, este aumento é ainda mais expressivo pelo somatório das demandas referentes ao crescimento da mãe e do bebê<sup>19,40,41</sup>.

As elevadas prevalências de ingestões inadequadas das vitaminas A e E instigam maiores cuidados com o grupo estudado, por sua vulnerabilidade biológica e pelas consequências da deficiência desses micronutrientes para a saúde materno infantil<sup>19,40,41</sup>.

Pela avaliação da dieta recente, baixas ingestões médias das vitaminas A e E de nutrizes adolescentes e adultas, também foram relatadas por autores nacionais<sup>17,21,42</sup>. Os valores médios de ingestão habitual dessas vitaminas são concordantes com outros estudos envolvendo nutrizes<sup>21,43</sup>.

Não foi possível classificar a ingestão de carotenoides pela ausência de recomendações pelas DRI's<sup>35</sup>. A partir da avaliação de ambos os inquéritos dietéticos, a ingestão diária de carotenoides foi inferior ao encontrado em outros estudos com nutrizes<sup>21,44</sup>. A ingestão de carotenoides pode ser muito variável<sup>45</sup> e as diferenças entre os estudos podem estar associadas aos hábitos alimentares característicos de cada região.

Houve diferença estatisticamente significativa entre o consumo de vitamina,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno entre nutrizes adultas e adolescentes. A ingestão inferior de micronutrientes por nutrizes adolescentes é um possível reflexo dos hábitos alimentares inadequados deste grupo, com baixa frequência de consumo de produtos lácteos, frutas e hortaliças<sup>15,42</sup>. A falta de conhecimento sobre hábitos alimentares saudáveis, monotonia alimentar, restrições alimentares em virtude da busca por padrões estéticos corporais, ausência de apoio durante a gestação e pós-parto, e condições socioeconômicas precárias também podem favorecer a ingestão deficiente de nutrientes do grupo em questão<sup>14,15</sup>. O aconselhamento dietético faz-se necessário para garantir a ingestão adequada e melhoria do estado nutricional dessas nutrizes<sup>14</sup>.

As concentrações médias de retinol do leite maduro e plasma de nutrizes adolescentes e adultas foram similares ao encontrado em estudos brasileiros<sup>18,20,21,46-51</sup> e internacionais<sup>29,44,45,52-55</sup>.

A concentração de retinol no leite materno pode ser utilizada como um excelente indicador de DVA, capaz de fornecer informações sobre o estado nutricional em relação a vitamina A tanto da mãe quanto do bebê que está sendo amamentado<sup>56,57</sup>. Os recém-nascidos dependem do conteúdo desta vitamina no leite para manter sua reserva e acumular estoques hepáticos até o momento em que a alimentação complementar irá fornecer quantidades adicionais do nutriente<sup>56,57</sup>.

O percentual de DVA encontrado no presente estudo, segundo o conteúdo do leite humano, indica um grave problema de saúde pública, independente do tamanho amostral<sup>58</sup>. Estudo semelhante, com nutrizas adolescentes no Rio de Janeiro, identificou percentual ainda mais elevado de DVA (87%)<sup>18</sup>. Outros estudos nacionais com adultas e adolescentes encontraram prevalências inferiores, entre 20,5 e 49,6%<sup>47-49</sup>.

A OMS reavaliou os critérios de interpretação das concentrações plasmáticas de retinol para possibilitar a detecção dos casos de DVA ainda em estágio subclínico ou marginal, adotando-se o ponto de corte  $<1,05\mu\text{mol/L}$ <sup>37</sup>. Portanto, pesquisas que utilizam valores inferiores a  $0,7\mu\text{mol/L}$  podem apresentar prevalências subestimadas de DVA em suas populações.

O percentual inferior de DVA dado pela concentração plasmática pelo presente estudo corrobora com estudos brasileiros envolvendo nutrizas adolescentes e adultas<sup>18,47,59,60</sup>. A dosagem de retinol no sangue reflete as reservas corporais primordialmente quando o corpo encontra-se em situações extremas (estoques muito baixos ou muito altos). Por esse motivo a concentração sérica/plasmática não é o melhor indicador para diagnóstico da DVA em indivíduos, e sim a concentração do leite<sup>58</sup>.

As concentrações médias de carotenoides no leite humano e plasma apresentaram comportamento distinto ao encontrado por outros autores. No leite materno, a concentração de  $\alpha$ -caroteno assemelhou-se ao quantificado em lactantes cubanas<sup>45</sup> e americanas<sup>54</sup>, e as concentrações de  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina foram superiores ao dosado em outros estudos<sup>9,10,44,45,54,61</sup>. No plasma, valores similares aos de  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno foram encontrados em estudos realizados nos Estados Unidos<sup>29,54</sup>, e, assim, como no leite, a concentração de luteína+zeaxantina foi superior ao de outras pesquisas<sup>29,44,54</sup>. Estudos nacionais identificaram quantidades inferiores de carotenoides no leite humano e de luteína+zeaxantina no plasma, em nutrizas

adolescentes e adultas<sup>18,47</sup>. Os dados do presente estudo foram superiores aos de um estudo multinacional (Austrália, Reino Unido, Canadá, Chile, China, Japão, México, Filipinas, e Estados Unidos) desenvolvido com o objetivo investigar os principais carotenoides do leite humano de mulheres saudáveis, exceto para a concentração de  $\alpha$ -caroteno, que se apresentou inferior ao de todos os países envolvidos<sup>62</sup>. Assim como descrito por outros autores, a proporção de luteína+zeaxantina nos fluidos analisados foi mais elevada em relação aos demais carotenoides<sup>9,29,54,62</sup>.

Investigações em diferentes países sobre as concentrações de  $\alpha$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocoferol, no leite e plasma materno, identificaram resultados análogos aos do presente estudo<sup>29,45,52,55,63</sup>. Valores inferiores foram encontrados em estudo nacional, exceto para  $\gamma$ -tocoferol do plasma, o qual apresentou similaridade<sup>18</sup>. Elevado risco de carência de  $\alpha$ -tocoferol, segundo concentração plasmática, também foi encontrado em nutrizes brasileiras<sup>18,64</sup>.

Embora o papel das vitaminas e carotenoides para a saúde materno infantil seja incontestável<sup>6,7,39</sup>, os mecanismos envolvidos na transferência destas moléculas a partir do plasma sanguíneo para a glândula mamária ainda não estão bem estabelecidos<sup>18,40,65-67</sup>.

Não houve diferença entre as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano entre nutrizes adolescentes e adultas. No Brasil foi identificado apenas um estudo comparando diretamente as concentrações de vitamina A no leite maduro, segundo faixa etária e nível socioeconômico<sup>17</sup>. Outro estudo teve como objetivo avaliar as concentrações de  $\alpha$ -tocoferol no colostro de nutrizes adolescentes e adultas<sup>19</sup>. Assim como no presente estudo, nenhum dos estudos identificou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos<sup>17,19</sup>.

Os resultados sugerem que, independente da faixa etária da nutriz, os mecanismos de mobilização e transferência das vitaminas e carotenoides para o leite materno não sofrem alterações significativas<sup>40</sup>. Tais achados reforçam a ideia de prioridade na mobilização de nutrientes para o leite a fim de favorecer a nutrição do lactente, independente da faixa etária materna.

Mulheres com idade ginecológica inferior a dois anos têm maiores chances de complicações fisiológicas, ao passo que aquelas com idade superior apresentam comportamento semelhante a adultas<sup>14,67</sup>. Observações em adolescentes americanas indicaram um declínio na idade de maturação das

adolescentes e na idade média da menarca, fato que pode estar associado a melhorias na saúde e nutrição<sup>67,68</sup>. A média da idade ginecológica identificada no presente estudo para as adolescentes, 5,2±1,9 anos, pode estar associada a este padrão de maturação precoce, favorecendo o corpo da mulher no momento na concepção e reduzindo possíveis interferências na produção adequada do leite materno.

Apesar de a literatura discorrer sobre a influência da alimentação materna sobre as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis do leite humano<sup>39,40</sup>, os resultados ainda são conflitantes<sup>17,55,18,67</sup>. No presente estudo não foi identificada nenhuma associação significativa entre a ingestão dietética e as concentrações dos analitos no leite. Esse resultado corrobora com a hipótese de que, mesmo a nutrição materna estando comprometida, as concentrações de nutrientes no leite são bem protegidas e podem ser provenientes de reservas ou tecidos corporais maternos<sup>41,67,69</sup>.

Também não foram encontradas correlações entre os nutrientes do leite e plasma materno, exceto para o  $\gamma$ -tocoferol, semelhante a outros estudos<sup>18,21</sup>. Esta ausência de correlação pode indicar diferentes mecanismos de transporte para os fluidos biológicos. Azeredo e Trugo<sup>18</sup> sugeriram que os mecanismos de transporte de retinol e  $\alpha$ -tocoferol para o epitélio mamário não dependem diretamente das concentrações plasmáticas, e ocorre devido a presença de receptores de membranas e proteínas de ligação intracelulares.

O transporte para a glândula mamária ocorre de maneira distinta dependendo do nutriente. O retinol é transportado principalmente pela Proteína Ligante de Retinol (*Retinol Binding Protein* – RBP), enquanto os carotenoides e tocoferóis pelas lipoproteínas plasmáticas<sup>18,21,42,61,65</sup>.

Acredita-se que, em estado de jejum, aproximadamente 95% da vitamina A circulante encontra-se ligada a RBP, e é captada pela glândula mamária por mecanismos mediados por receptores celulares específicos<sup>51,65,70</sup>. Outra forma de mobilização dessa vitamina dá-se por intermédio dos quilomícrons pós prandiais, que captam os ésteres de retinil nos enterócitos e os transportam até o tecido mamário, onde, pela ação da lipase lipoprotéica, ocorre a liberação dos esterres<sup>21,51,70</sup>.

Os carotenoides geralmente são absorvidos passivamente e podem ser transportados em sua forma íntegra, convertidos a ácido carotenoico ou clivados à retinal, pelas lipoproteínas plasmáticas para os tecidos<sup>61,70,71</sup>. As

diferentes proporções encontradas entre os carotenoides no leite e plasma podem ser atribuídas ao comportamento distinto das moléculas. Estudos têm demonstrado que os carotenoides com menor polaridade, como  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno, estão mais associados a LDL-c, ao passo que os mais polares, como luteína e zeaxantina, são transportados por HDL-c e, em menor proporção, por lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-c) e LDL-c<sup>10,35,66,71</sup>.

Os tocoferóis são encontrados em todas as lipoproteínas<sup>7</sup>. O componente da vitamina E mais abundante no plasma e nos tecidos é o  $\alpha$ -tocoferol, decorrente do direcionamento preferencial desse composto para as VLDL-c oriundas do fígado, através de Proteína de Transferência de Tocoferol (*Tocopherol-Transfer Protein* – TTP)<sup>7,42</sup>. Assim como os demais tecidos extra-hepáticos, a glândula mamária pode absorver a vitamina E através da hidrólise e liberação dos tocoferóis pela ação da lipases lipoprotéicas sobre as lipoproteínas, ou por meio das lipoproteínas captadas pelos receptores de superfície celular específicos, principalmente LDL-c<sup>7,19,72</sup>.

As diversas correlações encontradas entre o retinol, carotenoides e tocoferóis no leite e plasma podem ser explicadas pelas vias semelhantes de transporte e metabolismo. Correlações entre estes nutrientes estão descritas na literatura<sup>18,21,62</sup>. No leite, as vitaminas lipossolúveis e os carotenoides são excretados como constituintes dos glóbulos de gorduras<sup>65,67</sup>. Apesar das características distintas de transporte no plasma entre retinol e tocoferóis, as correlações podem ser justificadas por se tratar de nutrientes lipídio-relacionados e, a biodisponibilidade e absorção de um é influenciado pela concentração plasmática do outro<sup>6,7,72</sup>.

Diferentemente do encontrado para o leite humano, o consumo recente e habitual de retinol,  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina estiveram associados com as concentrações plasmáticas das nutrizes, concordando com estudos anteriores que descreveram a dieta materna como variável de grande influência sobre as concentrações de retinol e carotenoides no sangue<sup>7,21,62,66</sup>. A ausência de associação entre os tocoferóis pode estar relacionada à capacidade limitada do plasma em aumentar as concentrações de  $\alpha$ -tocoferol, possivelmente porque o  $\alpha$ -tocoferol absorvido substitui o anterior nas lipoproteínas plasmáticas<sup>7,72,73</sup>.

Não foram encontrados dados na literatura que elucidassem claramente a diferença entre as concentrações plasmáticas de retinol,  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno entre nutrizes adolescentes e adultas, como encontrado neste estudo. Entretanto, o consumo inferior de vitamina A e carotenoides pelas adolescentes pode ser uma possível explicação para tal diferença. Além de, fisiologicamente, serem esperados menores valores no perfil lipídico de crianças e adolescentes, na puberdade é esperada uma queda das concentrações sanguíneas de colesterol total, LDL-c e HDL-c, atribuída às influências da maturação sexual<sup>14</sup>, portanto, os valores inferiores de  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol também podem ser reflexo da menor concentração de lipoproteínas identificada nas nutrizes adolescentes.

A ingestão inferior de lipídios pelas nutrizes adolescentes ( $P=0,032$ ) também pode ter contribuído para o perfil plasmático identificado, uma vez que o consumo deste macronutriente é outro fator capaz de interferir na biodisponibilidade e absorção das vitaminas A e E, e carotenoides<sup>6,7</sup>.

Este é um dos estudos pioneiros sobre a investigação de possíveis diferenças entre as concentrações de micronutrientes no leite humano e plasma de nutrizes adolescentes e adultas. Mais estudos se fazem necessários para elucidar melhor o transporte de vitaminas e carotenoides para o leite humano e os fatores interferentes.

## **Conclusão**

Concluiu-se que as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis do leite humano de nutrizes adolescentes e adultas foram iguais e não se associaram com a ingestão alimentar e concentrações plasmáticas, exceto para as concentrações de  $\gamma$ -tocoferol no leite e sangue.

As concentrações mais baixas de retinol,  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol plasmáticas podem ser atribuídos ao consumo inferior dos mesmos pelas adolescentes. O baixo consumo de micronutrientes pelas nutrizes, aliado as elevadas prevalências de deficiências de vitaminas, instigam maiores cuidados com o grupo em questão, principalmente por se tratar de uma fase em que os requerimentos são mais elevados.

## Referências Bibliográficas

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Saúde da criança: nutrição infantil: aleitamento materno e alimentação complementar**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2009.
2. JACKSON, K.M.; NAZAR, A.M. Breastfeeding, the immune response, and long-term health. **The Journal of the American Osteopathic Association**, v.106, n.4, p.203-207, 2006.
3. WOLD, A.E.; ADLERBERTH, I. Does breastfeeding affect the infant's immune responsiveness? **Acta Paediatrica**, v.87, n.1, p.19-22. 1998.
4. SHOJI, H. et.al. Suppressive effects of breast milk on oxidative DNA damage in very low birthweight infants. **Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition**, v.89, n.2, p.136-138, 2004.
5. PICCIANO, M.F. Nutrient Composition of Human Milk. **Pediatric Clinics of North America**, v.48, n.1, p.53-67, 2001.
6. PENTEADO. M.V.C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2003.
7. RUCKER, R.B. et al. **Handbook of vitamins**. 3. ed. New York: Marcel Dekker Inc, 2001.
8. OLIVEIRA, J.M; OLIVEIRA, N.S.; BERGAMASCHI, D.P. Concentrações de vitamina A no leite humano e características socioeconômicas e nutricionais maternas: resultados de estudos brasileiros. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.9, n.1, p.11-20, 2009.
9. JACKSON, J.G. et al. Major carotenoids in mature human milk: Longitudinal and diurnal patterns. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.9, n.1, p.2-7, 1998.
10. JACKSON, J.G.; ZIMMERB, J.P. Lutein and zeaxanthin in human milk independently and significantly differ among women from Japan, Mexico, and the United Kingdom. **Nutrition Research**, v.27, n.8, p.449-453, 2007.
11. DI MASCIO, P.; MURPHY, M.E.; SIES. H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.53, n.1, p.194-200, 1991.
12. BOERSMA, E.R. et al. Vitamin E, lipid fractions, and fatty acid composition of colostrum, transitional milk, and mature milk : an international comparative study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.53, n.5, p.1197-1204, 1991.

13. WORTHINGTON-ROBERTS, B.S.; WILLIAMS, S.R. **Nutrition in pregnancy and lactation**. 6. ed. St.Louis: Mosby, 1993.
14. PRIORE, S.E. et al. **Nutrição e saúde na adolescência**. 1. ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2010.
15. BARROS, D.C. O consumo alimentar de gestantes adolescentes no Município do Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, v.20, n.1, p.121-129, 2004.
16. YAZLLE, M.E.H.D. Gravidez na adolescência. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.28, n.8, p.443-445, 2006.
17. VÍTOLO, M.R. et al. Níveis de vitamina A no leite maduro de nutrizes adolescentes e adultas de diferentes estratos socioeconômicos. **Revista de Ciências Médicas**, v.8, n.1, p.3-10, 1999.
18. AZEREDO, V.B.; TRUGO, N.M. Retinol, carotenoids, and tocopherols in the milk of lactating adolescents and relationships with plasma concentrations. **Nutrition**, v.24, n.2, p.133-139, 2008.
19. DIMENSTEIN, R. et al. Concentração de alfa-tocoferol no soro e colostro materno de adolescentes e adultas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.32, n.6, p.267-272, 2010.
20. MELLO NETO J. et al. The influence of maternal factors on the concentration of vitamin A in mature breast milk. **Clinical Nutrition**, v.28, n.2, p.178-181, 2009.
21. PRESTA, F.M.P. **Composição do leite materno em vitamina A, carotenóides e vitamina E: relação com o estado nutricional e características maternas**. 2001. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2001.
22. JELLIFFE, D.B. **The assessment if the nutrition status of the community**. Geneva, WHO: 1966.
23. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity: preventing and mananging the global epidemic**. Geneva: WHO, 1998.
24. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Growth reference data for 5-19 years**. 2007. Disponível em: <<http://www.who.int/growthref/en/>>. Acesso em: 10 abr. 2012.
25. FISBERG, R.M. et al. Métodos de inquéritos alimentares. In: **Inquéritos alimentares: métodos e bases científicos**. (Org.). 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2005. p. 2-31.
26. CRISPIM, S.P. et al. Validade relativa de um questionário de freqüência alimentar para utilização em adultos. **Revista de Nutrição**, v.22, n.1, p. 81-95, 2009.

27. COMINETTI, C.; COZZOLINO, S.M. Ingestões Dietéticas de Referência. In: DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, J.S. **Ciências Nutricionais: Aprendendo a Aprender**. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2008. p.407-428.
28. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Banco de leite humano: funcionamento, prevenção, controles e riscos**. 2008. Rede brasileira de bancos de leite humano. Disponível em: <<http://www.redeblh.fiocruz.br/media/blhanv2008.pdf>>. Acesso em: 28 mar. 2012.
29. TURNER, T.; BURRI, B.J. Rapid Isocratic HPLC Method and Sample Extraction Procedures for Measuring Carotenoid, Retinoid, and Tocopherol Concentrations in Human Blood and Breast Milk for Intervention Studies. **Chromatographia**, v.75, n.5-6, p.241-252, 2012.
30. WILLETT, W.; STAMPFER, M. J. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. **American Journal of Epidemiology**, v. 124, n. 1, p. 17-27, 1986.
31. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA. **Critério de classificação econômica Brasil**. Disponível em: <<http://www.abep.org/novo/Content.aspx?ContentID=301>>. Acesso em 25 abr. 2012.
32. GIULIANO, I.C.B. et al. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e Adolescência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.85, n.6, 2005.
33. XAVIER H.T. ET AL. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.101, n. 4, supl. 1, p.1-20, 2013.
34. MANUAL DE EXAMES: **Laboratório Hermes Pardini**. 2002. Disponível em: <<http://www3.hermespardini.com.br/pagina/141/home.aspx>>. Acesso em: 02 fev. 2013.
35. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press, 2000.
36. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc**. Washington, DC: National Academy Press, 2001.
37. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005**. Geneva: WHO, 2009.
38. Laboratory Assessment of Nutritional Status. **American Journal of Public Health**, v.63, n.11, p.28-37, 1973.

39. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Vitamina “A” na gestação e lactação: recomendações e relatório de uma consultoria**. Brasília, DF: Centro Colaborador de Alimentação e Nutrição do Nordeste , 2001.
40. INSTITUTE OF MEDICINE. **Nutrition during lactation**. Washington, DC: National Academy Press, 1996.
41. CORE GROUP. **Maternal Nutrition During Pregnancy and Lactation**. Disponível em:  
<[http://www.coregroup.org/storage/documents/Workingpapers/MaternalNutritionDietaryGuide\\_AED.pdf](http://www.coregroup.org/storage/documents/Workingpapers/MaternalNutritionDietaryGuide_AED.pdf)>. Acesso em: 01 nov. 2013.
42. MELLO NETO, J. **Influência de fatores nutricionais, obstétricos, socioeconômicos e demográficos nas concentrações de vitamina A, ferro, zinco e cobre no sangue e no leite maduro de doadores do banco de leite humano de Marília, SP**. 2005. 88f. Tese (Doutorado em Nutrição) – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2005.
43. DERBYSHIRE E. et al. Habitual micronutrient intake during and after pregnancy in Caucasian Londoners. **Maternal and Child Nutrition**, v.5, n.1, p.1-9, 2009.
44. CANFIELD, L.M. et al.  $\beta$ -Carotene in breast milk and serum is increased after a single  $\beta$ -carotene dose. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.66, n.1, p.52-61, 1997.
45. MACIAS, C., SCHWEIGERT, F.J. Changes in the Concentration of Carotenoids, Vitamin A, Alpha-Tocopherol and Total Lipids in Human Milk throughout Early Lactation. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.45, n.2, p.82-85, 2001.
46. GÓES, H.C. et al. Nutrient Composition of Banked Human Milk in Brazil and Influence of Processing on Zinc Distribution in Milk Fractions. **Nutrition**, v.18, n.7-8, p.590-594, 2002.
47. MENESES, F.; TRUGO, N.M.F. Retinol,  $\beta$ -carotene, and lutein + zeaxanthin in the milk of Brazilian nursing women: associations with plasma concentrations and influences of maternal characteristics. **Nutrition Research**, v. 25, n.5, p.443–451, 2005.
48. MELLO NETO, J. **Influência de fatores nutricionais, obstétricos, socioeconômicos e demográficos nas concentrações de vitamina A, ferro, zinco e cobre no sangue e no leite maduro de doadores do banco de leite humano de Marília, SP**. 2005. 88f. Tese (Doutorado em Nutrição) – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2005.
49. SOUZA, G. et al. Concentração de vitamina A no leite humano maduro. **Jornal de Pediatria**, v.88, n.6, p.496-502, 2012.

50. SOARES, F.B.; RIBEIRO, K.D.S.; DIMENSTEIN, R. Análise do retinol sérico em puérperas atendidas em uma maternidade pública de Natal/RN. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.40, n.2, p.129-131, 2008.
51. FUSTINONI, A.M. **Vitamina A no leite materno: influência do estado nutricional de lactantes e da composição do leite**. 2008. 77f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) – Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
52. BARUA, S. et al. Retinol and alpha-tocopherol content in breast milk of Bangladeshi mothers under low socio-economic status. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.48, n.1, p.13-18, 1997.
53. RICE A.L. et al. Maternal Vitamin A or  $\beta$ -Carotene Supplementation in Lactating Bangladeshi Women Benefits Mothers and Infants but Does Not Prevent Subclinical Deficiency. **Journal of Nutrition**, v.129, n.2, p.356-365, 1999.
54. LOUISE, M. et al. Short-term  $\beta$ -carotene supplementation of lactating mothers consuming diets low in vitamin A. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.10, n.9, p.532–538, 1999.
55. SZLAGATYS-SIDORKIEWICZ, A. et al. Longitudinal study of vitamins A, E and lipid oxidative damage in human milk throughout lactation. **Early Human Development**, v.88, n.6, p.421-424, 2012.
56. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Indicators for Assessing Vitamin A Deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes**. Geneva: WHO, 1996.
57. STOLTZFUS, R.J., 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**, v.75, n.5, p.703-711, 1995.
58. BRASIL. Ministério da Saúde. Cadernos de Atenção Básica: **Carências de Micronutrientes**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2007.
59. CAMPOS, L.F. et al. Níveis de retinol e carotenóides séricos e intercorrências gestacionais em puérperas. **Revista de Nutrição**, v.21, n.6, p.623-632, 2008.
60. LIRA, L.Q. et al. Perfil de retinol no soro e colostro de puérperas atendidas em maternidade pública Brasileira e sua associação com características maternas e obstétricas. **Revista Paulista de Pediatria**, v.29, n.4, p.515-520, 2011.
61. GIULIANO, A.R. et al. Quantitation of and inter/intraindividual variability in major carotenoids of mature human milk. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.5, n.11, p.551–556, 1994.

62. CANFIELD, L.M. Multinational study of major breast milk carotenoids of healthy mothers. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.42, n.3, p.133-41, 2003.
63. TIJERINA-SÁENZ A.; INNIS, S.M.; KITTS, D.D. Antioxidant capacity of human milk and its association with vitamins A and E and fatty acid composition. **Acta Paediatrica**, v.98, n.11, p.1793-1798, 2009.
64. LIRA, L.Q. et al. Correlation of vitamin A nutritional status on alpha-tocopherol in the colostrum of lactating women. **Maternal and Child Nutrition**, v.9, n.1, p.31-40, 2013.
65. JENSEN, R.G. **Handbook of milk composition**. Washington, DC: National Academy Press, 1995.
66. SCHWEIGERT F.J. et al. Effect of the stage of lactation in humans on carotenoid levels in milk, blood plasma and plasma lipoprotein fractions. **European Journal of Nutrition**, v.43, n.21, p.39-44, 2004.
67. WORTHINGTON-ROBERTS, B.S; WILLIAMS, S.R. **Nutrition in pregnancy and lactation**. 6. ed. St.Louis: Mosby, 1993.
68. TANNER, J.M. Growth and Maturation during Adolescence. **Nutrition Reviews**, v.39, n.2, p.43-55, 1981.
69. RAAIJ, J.M.A.; GROOT, C.P.G.M. Gravidez e lactação. In: GIBNEY, M.J.; IAN A. MACDONALD, I.A; E HELEN M. ROCHE, H.M. **Nutrição e metabolismo**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogam, 2006. cap 6., p.87-101.
70. SENOO, H. Structure and function of hepatic stellate cells. **Medical Electron Microscopy**, v.37, n.1, p.3-15, 2004.
71. ROMANCHIK, J.E.; MOREL, D.W.; HARRISON, E.H. Distributions of carotenoids and alpha-tocopherol among lipoproteins do not change when human plasma is incubated in vitro. **Journal of Nutrition**, v.125, n.10, p.2610-2617, 1995.
72. VERGROESEN, A.J.; CRAWFORD, M. **The role of fats in human nutrition**. 3. ed. Washington, DC: National Academy Press, 1995.
73. COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 3. Ed. Barueri, SP: Manole, 2011.

## 5.2. Artigo Original 2

Características socioeconômicas, bioquímicas e nutricionais de nutrizes adolescentes e adultas, e sua influência na composição de retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano

### Resumo

Vitaminas lipossolúveis e carotenoides compõem uma fração muito variável do leite, dependendo das características de cada nutriz. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi caracterizar as condições socioeconômicas e nutricionais de nutrizes adolescentes e adultas e sua influência sobre as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano. O estudo foi do tipo transversal realizado no município de Viçosa, Minas Gerais, com 60 nutrizes adolescentes (n=30) e adultas (n=30). Foi realizada aplicação de questionário estruturado e inquéritos dietéticos, avaliação antropométrica e de composição corporal, e análises bioquímicas do leite humano e plasma materno. As concentrações encontradas de retinol,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocoferol no leite não diferiram entre as nutrizes adolescentes e adultas. As análises do grupo de adolescentes indicaram que a escolaridade e as concentrações de hemoglobina influenciaram negativamente as concentrações de  $\beta$ -caroteno ( $P=0,019$ ) e tocoferóis ( $P=0,015$ ), respectivamente, e o percentual de gordura corporal afetou de maneira positiva a concentração de retinol ( $P=0,020$ ). Para as adultas, a concentração de hemoglobina interferiu positivamente na concentração de retinol do leite ( $P=0,024$ ). Pode-se concluir que a concentração de nutrientes do leite humano independe de fatores socioeconômicos, alimentares e de saúde, de maneira isolada, e seja, provavelmente, multifatorial.

Palavras-chave: Leite humano; retinol; tocoferóis, carotenoides; características maternas.

Socioeconomic, nutritional and biochemical characteristics of lactating adolescents and adults, and its influence on the composition of retinol, carotenoids and tocopherols in human milk

**Abstract**

Fat-soluble vitamins and carotenoids compose a highly variable fraction of in milk, depending on the characteristics of each mother. Therefore, the aim of this study was to characterize the socioeconomic and nutritional conditions of lactating adolescents and adults and their influence on concentrations of retinol, carotenoids and tocopherols in human milk. The study was cross-sectional conducted in Viçosa, Minas Gerais, with 60 lactating adolescents (n = 30) and adult (n = 30). The assessment included a structured questionnaire and dietary surveys, anthropometric and body composition, and biochemical analyzes of human milk and maternal plasma. Statistically, there was no difference in the concentrations found in milk retinol,  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -tocopherol and  $\gamma$ -tocopherol between the groups. The analysis of the group of adolescents indicated that level of education and hemoglobin concentrations negatively influenced the concentrations of  $\beta$ -carotene (P=0.019) and tocopherols (P=0.015), respectively, and the percentage of body fat positively affected the concentration of retinol (P=0.020). For adult, hemoglobin concentration only positively interfered in the retinol concentrations of milk (P=0.024). It can be concluded that the concentration of nutrients in human milk is independent of socioeconomic, dietary and health factors, in isolation, and is probably multifactorial.

Keywords: Human milk; retinol; tocopherols; carotenoids; maternal characteristics.

## Introdução

O leite humano é um fluido biológico altamente complexo, constituído por uma fase aquosa (87%), emulsões de glóbulos de gordura (4%), dispersões coloidais de moléculas de caseína (0,3%), membranas de glóbulos de gordura e células vivas<sup>1,2</sup>. As vitaminas A e E, e carotenoides estão presentes glóbulos de gordura e desempenham importante papel no processo de crescimento e desenvolvimento do lactente<sup>2,3</sup>.

A vitamina A está envolvida nos processos de reprodução, ciclo visual e proliferação e diferenciação celular, além de ser um potente antioxidante e proporcionar a integridade do sistema imunológico<sup>4,5</sup>. A concentração de retinol no leite materno pode ser utilizada como um excelente indicador de deficiência de vitamina A (DVA), por fornecer informações sobre o estado nutricional tanto da mãe quanto do bebê<sup>6</sup>.

Os carotenoides têm se destacado como potencializadores do sistema imunológico e proteção contra o estresse oxidativo<sup>4,5,7</sup>. Os caracterizados como pró-vitamínicos A são potenciais fontes de vitamina A para o leite materno<sup>2,3</sup>.

A vitamina E é o principal antioxidante da membrana celular, capaz de inibir a ação dos radicais livres e prevenir a peroxidação lipídica<sup>4,5</sup>. Têm-se atribuído outras funções a esta vitamina, como inibição da proliferação celular, agregação plaquetária e adesão de monócitos<sup>4,5,8</sup>.

O conteúdo de vitaminas e carotenoides do leite humano pode ser afetado por diversos fatores e o conhecimento sobre as condições que podem modular os nutrientes pode direcionar medidas preventivas de deficiências na nutriz e no lactente<sup>9</sup>.

Variações na composição nutricional do leite dependem do estágio de lactação, fração do leite, idade gestacional, horário do dia em que é secretado e características maternas<sup>2,3,10</sup>. A ingestão materna e o estado nutricional em relação a vitamina são considerados os fatores modificáveis mais importantes<sup>2</sup>. Estudos têm demonstrado correlação entre a concentração de vitaminas lipossolúveis e variáveis como a paridade<sup>11</sup>, índice de massa corporal (IMC)<sup>8</sup> pré-gestacional e estado nutricional<sup>12</sup>.

A gravidez na adolescência é considerada um grande problema de saúde pública e sua origem está relacionada a aspectos biológicos, familiares, sociais, psicológicos e contraceptivos<sup>28</sup>. Hábitos alimentares inadequados durante a gestação e puerpério, comuns neste grupo, aumentam os riscos

nutricionais e podem trazer consequências negativas para o binômio mãe-filho<sup>28,33</sup>. A idade materna também pode ser capaz de alterar as concentrações de nutrientes no leite humano<sup>2,42</sup>.

O objetivo do presente estudo foi caracterizar as condições socioeconômicas e nutricionais de nutrizes adolescentes e adultas e sua influência sobre as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano.

## **Materiais e métodos**

### *Sujeitos*

Trata-se de um estudo de caráter transversal realizado com nutrizes residentes no município de Viçosa, Minas Gerais (MG), contactadas por telefonema e/ou endereço residencial, fornecido pelo Hospital São Sebastião ou pelas Estratégias de Saúde da Família do município. As adolescentes (10-19 anos) foram recrutadas de acordo com os critérios de inclusão: ausência de enfermidade crônica ou processos infecciosos atualmente ou durante a gestação, não ingestão anterior ou atual de suplementos que contivessem vitamina A, vitamina E ou carotenoides, idade gestacional entre 37 e 42 semanas, residentes no município de Viçosa e lactentes em aleitamento materno exclusivo ou predominante durante os seis primeiros meses de vida. Foram excluídas nutrizes fumantes e etilistas, e aquelas cujos recém-nascidos permaneceram retidos na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal, portadores de anomalias congênitas e/ou baixo peso ao nascer (< 2500 gramas).

Posteriormente, nutrizes adultas ( $\geq 20$  anos) que atenderam aos critérios citados anteriormente foram selecionadas e pareadas com as adolescentes segundo o tempo pós-parto e nível socioeconômico.

Para identificação dos dados gerais das nutrizes foi aplicado um questionário estruturado que contemplava dados sobre a idade cronológica e da menarca, condições socioeconômicas, escolaridade, condições da habitação, dados obstétricos, uso de suplementos e dados gestacionais. Utilizou-se o Critério de Classificação Econômica proposto pela Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa<sup>20</sup> para determinar o nível socioeconômico das nutrizes, as quais foram agrupadas em quatro categorias (A, B, C e D/E). Foram consideradas com baixo nível de instrução, nutrizes com até oito anos completos de estudo<sup>24</sup>

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), sob Protocolo nº030/2012, e todas as participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). No caso de adolescentes com idade inferior a 18 anos a assinatura do TCLE por um responsável foi solicitada.

#### *Avaliação Antropométrica*

O peso foi aferido com balança portátil, digital e eletrônica (Welmy<sup>®</sup>), e a estatura com antropômetro portátil (Alturaexata<sup>®</sup>), seguindo protocolo descrito por Jelliffe<sup>13</sup>. O estado nutricional foi classificado segundo os valores de IMC propostos pela Organização Mundial da Saúde (OMS)<sup>14,15</sup>. O percentual de gordura corporal (%GC) foi determinado por meio de bioimpedância elétrica tetrapolar (Biodynamics<sup>®</sup>, modelo 310). Um compasso (Lange<sup>®</sup>) foi utilizado para aferir dobras cutâneas em quatro pontos anatômicos, dobra cutânea bicipital (DCB), tricípital (DCT), subescapular (DCSE) e suprailíaca (DCSI). O percentil 90 foi utilizado para classificação de nutrizes com excesso de gordura corporal, pela ausência de valores de referência para esse grupo.

#### *Avaliação Dietética*

A ingestão dietética foi avaliada utilizando-se três Recordatórios Alimentares de 24 horas (R24H) de dias não consecutivos, sendo dois referentes a dias de semana e um referente ao final de semana<sup>16</sup>.

A análise da ingestão de nutrientes foi realizada utilizando o *software* Dietpro<sup>®</sup>, versão 5.5i e os dados foram ajustados pela variabilidade<sup>17</sup>. A partir dos dados de ingestão das vitaminas foram calculadas as prevalências de ingestões inadequadas<sup>17</sup>.

#### *Coleta e preparo das amostras*

A coleta de leite humano e sangue materno foi realizada após 12 horas de jejum. As amostras de sangue (20 mL) foram coletadas por punção venosa em tubos polipropileno contendo etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Alíquotas foram encaminhadas para determinação imediata de hematócrito e da hemoglobina. Em seguida, o plasma, contido nos tubos de EDTA, foi centrifugado (Excelsa<sup>®</sup> II, modelo 206-BL) a 678 g por 15 minutos e acondicionado em *ependorfs*.

O leite foi retirado observando as técnicas preconizadas pela Rede Nacional de Bancos de Leite Humano<sup>28</sup>, com bomba elétrica (Matern Milk<sup>®</sup>), na mama não succionada pelo lactente no dia da coleta. As amostras foram coletadas em potes plásticos esterilizados e imediatamente transferidas para *ependorfs*.

As alíquotas de plasma e leite foram armazenadas a -80°C até o momento da análise, protegidos da luz natural e artificial com papel alumínio para minimizar perdas de nutrientes.

### *Análises bioquímicas*

Hematócrito e hemoglobina foram determinados segundo protocolo do Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde da UFV por meio de impedância elétrica. As nutrízes com concentração de hemoglobina inferior a 12 g/dL<sup>19</sup> foram classificadas como anêmicas.

Retinol, carotenoides e tocoferóis foram determinados no Laboratório de Análise de Vitaminas da UFV, segundo adaptação dos métodos propostos por Turner e Burri<sup>18</sup>, utilizando um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (Shimadzu, SCL-10 ATVP, Japão) equipado com bomba de alta pressão (Shimadzu, LC-10ATVP, Japão), amostrador automático com *loop* de 500 µL (Shimadzu, SIL-10AF, Japão), detector de arranjo de diodos (DAD) (Shimadzu, SPD-M10A, Japão) e sistema de desgaseificação da fase móvel com gás hélio (Shimadzu, DGU-2A, Japão).

As condições cromatográficas utilizadas para a análise incluíram um sistema de CLAE-DAD, coluna de fase reversa Waters Spherisorb ODS2 (3 µm, 150 mm x 3 mm) equipada com pré-coluna (ODS2, 3µ, 20 mm x 3 mm); volume de injeção de 40-50 µL e varredura do espectro de 200-450 nm. O retinol, carotenoides e tocoferóis foram medidos a 325, 450 e 292 nm, respectivamente. Foi realizada eluição isocrática com fase móvel composta por acetonitrila:diclorometano:metanol (70:20:10) e fluxo de 0,5 mL/min.

Os compostos do leite foram extraídos a partir de 100 µL de leite, previamente aquecidos em banho-maria (Hemoquímica, modelo HM-1003), a 37°C, por 60 minutos, para aumentar a solubilidade dos lipídios do leite, ao qual foram adicionados 200 µL de padrão interno ( $\delta$ -tocoferol em metanol; 2,5 µL/mL), 20 µL de butilhidroxitolueno (BHT) em etanol (0,1%), 100 µL de pirogalol em etanol (10%) e 1 mL de etanol; e homogeneização em vórtex

(Biomixer, modelo QL-901), por 15 segundos. Posteriormente, a mistura foi saponificada adicionando-se 300  $\mu\text{L}$  de solução de hidróxido de potássio 20%, seguido de aquecimento em banho-maria (45°C, por 30 minutos). Na sequência, 2 mL de hexano e 700  $\mu\text{L}$  de água ultrapura, produzida em sistema Millipore Milli-Q<sup>®</sup>, foram adicionados à mistura, seguida de agitação em vórtex por 1 minuto e centrifugação (108 g, por 2 minutos). O sobrenadante foi coletado em tubo de ensaio e o processo de extração repetido utilizando-se 2 mL de hexano. As camadas suspensas foram combinadas e secas em nitrogênio gasoso.

A partir de 200  $\mu\text{L}$ , previamente descongelados em temperatura ambiente, as amostras foram adicionadas de 1 mL de padrão interno ( $\delta$ -tocoferol em hexano; 0,5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), e 1 mL de BHT em etanol (0,1%), e agitadas, em vórtex (Biomixer, modelo QL-901), por 15 segundos. Em seguida, 1 mL de hexano foi adicionado à mistura e prosseguiu com agitação por 1 minuto. Para etapa de extração, foi adicionado 800  $\mu\text{L}$  de água ultrapura e realizou nova agitação por 1 minuto, e centrifugação por 2 minutos a 244 g. A fase superior foi separada e o processo de extração repetido utilizando-se 2 mL de hexano. As camadas superiores foram combinadas e secas em nitrogênio gasoso.

As amostras secas de ambos os fluidos foram ressuspensas em 1 mL de hexano, secas novamente em nitrogênio gasoso e posteriormente reconstituídas em 100  $\mu\text{L}$  de fase móvel. Volumes de 40  $\mu\text{L}$  e 50  $\mu\text{L}$  de plasma e leite, respectivamente, foram injetados para identificação dos compostos de interesse. O tempo de corrida foi de 12 minutos e a identificação dos compostos realizada comparando-se os tempos de retenção obtidos das amostras de retinol,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, luteína+zeaxantina,  $\alpha$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocoferol com os tempos de retenção dos padrões externos. A quantificação deu-se por meio da obtenção das áreas dos picos e equações derivadas das curvas analíticas dos padrões, preparadas a partir da injeção de seis diferentes concentrações, e expressas em  $\mu\text{mol}/\text{L}$ .

Foram utilizados os padrões de retinol (Sigma Aldrich<sup>®</sup>, Alemanha);  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno, e luteína+zeaxantina (Sigma Aldrich<sup>®</sup>, Alemanha); e  $\alpha$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferóis (Calbiochem<sup>®</sup>, Estados Unidos). Para o processo de extração dos analitos foram utilizados reagentes com grau de pureza P.A. (Vetec<sup>®</sup>, Brasil) e para as análise reagentes grau de pureza HPLC (Tedia<sup>®</sup>, Brasil).

Para verificar a deficiência de vitamina A foi utilizado o ponto de corte proposto pela OMS, para as concentrações de retinol no leite e plasma, foi inferior a  $1,05\mu\text{mol/L}$ <sup>6</sup>. Concentrações de carotenoides plasmáticos dentro dos valores de referência citados pelo Instituto de Medicina<sup>22</sup> foram consideradas adequadas ( $\alpha$ -caroteno:  $0,02-0,47\ \mu\text{mol/L}$ ;  $\beta$ -caroteno:  $0,04-2,26\ \mu\text{mol/L}$ ; luteína:  $0,10-1,23\ \mu\text{mol/L}$ ). Para a vitamina E plasmática, o ponto de corte utilizado foi inferior a  $11,6\ \mu\text{mol/L}$  para concentrações deficientes e  $11,6 - 16,2\ \mu\text{mol/L}$  para baixas concentrações de  $\alpha$ -tocoferol<sup>23</sup>.

### *Análises estatísticas*

As análises estatísticas foram realizadas no *software Statistical Package for Social Sciences (SPSS)*, versão 21.0. O teste de *Shapiro-Wilk* foi utilizado para verificar a normalidade das variáveis. Comparações entre os dois grupos foram realizadas por meio do teste *T de Student* ou teste de *Mann-Whitney*, e entre três grupos independentes através da Análise de Variância (ANOVA *one way*) ou *Kruskal-Wallis*. Para verificar as correlações entre as concentrações de leite humano e plasma realizou-se o teste de correlação de *Spearman*. O nível de rejeição para a hipótese de nulidade, para todos os testes aplicados, foi de 5% ( $P < 0,05$ ).

### **Resultados**

Participaram do presente estudo um total de 60 nutrizes, com idade entre 13 e 40 anos, mediana de 18,0 anos para as adolescentes e de 26,5 anos para as adultas ( $P < 0,001$ ). As medianas de anos de estudo e renda *per capita* foram inferiores entre as adolescentes ( $P < 0,001$  e  $P = 0,010$ , respectivamente) (Tabela 1).

Em comparação com o grupo de adultas, as nutrizes adolescentes apresentaram menor idade ginecológica ( $P < 0,001$ ), número de filhos ( $P < 0,001$ ), número de consultas no pré-natal ( $P = 0,029$ ) e IMC pré-gestacional ( $P = 0,005$ ).

Do total de nutrizes solteiras da amostra as adolescentes foram as principais representantes (66,7%), contrariamente ao grupo das casadas ou em relação estável, no qual as adultas representavam 57,1% do total. Quanto a etnia, a maioria das nutrizes adolescentes auto declararam-se pardas (56,7%), ao passo que, dentre as adultas, houve igualdade entre as representantes das

raças branca e negra (36,7%). A classe econômica C foi a mais prevalente, com cerca de 60% e 57% de adolescentes e adultas pertencentes à ela, respectivamente. Do total de nutrizes enquadradas na classe B, 64,3% eram adultas, em oposição a classe D/E, com 63,6% de adolescentes. Do total de nutrizes primíparas, a maior parte delas era adolescente (70,3%).

Quanto aos parâmetros antropométricos, as nutrizes adultas apresentaram valores médios superiores de IMC ( $P=0,001$ ), %GC ( $P=0,002$ ), DCT ( $P=0,011$ ), DCSE ( $P=0,005$ ), DCSI ( $P=0,02$ ) e gordura central ( $P=0,009$ ) (Tabela 1).

Cerca de 19% do total das nutrizes apresentaram quadro de anemia, distribuídas proporcionalmente entre adolescentes (20%) e adultas (17,2%). As concentrações plasmáticas de retinol,  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno foram inferiores para o grupo de nutrizes adolescentes ( $P=0,025$ ,  $P=0,008$  e  $P=0,029$ , respectivamente) (Tabela 1).

Pela análise dietética, as nutrizes adolescentes apresentaram ingestão diária inferior de lipídios totais, vitamina A,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno ( $P=0,032$ ,  $P=0,008$ ,  $P=0,015$ ,  $P=0,001$ , respectivamente) (Tabela 1). Os valores de consumo identificados para as vitaminas A e E estavam abaixo da recomendação diária para ambos os grupos, segundo as DRIs (*Dietary Reference Intakes*).

Foram encontradas prevalências de aproximadamente 100% de inadequação da ingestão das vitaminas, para ambos os grupos. Nada se pode afirmar sobre a inadequação da ingestão de carotenoides pela ausência de recomendações para ingestão.

Pela avaliação da concentração de retinol no leite materno, 53,3% das adolescentes e a mesma proporção para adultas, apresentavam deficiência de vitamina A. Ao passo que, pela análise do plasma, o percentual encontrado foi de 13,3% e 10%, para adolescentes e adultas, respectivamente. As concentrações plasmáticas de  $\alpha$ -tocoferol indicaram 33,3% e 10% de deficiência de vitamina E entre adolescentes e adultas, respectivamente ( $<11,6 \mu\text{mol/L}$ ). As concentrações de  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina estavam dentro da faixa de referência segundo o Instituto de Medicina para ambos os grupos, porém 16,7% e 10,0% das adolescentes e adultas, respectivamente, apresentaram concentração inferior ao de referência para o  $\alpha$ -caroteno.

**Tabela 1** - Características gerais das nutrizes e dos recém-nascidos, do município de Viçosa-MG, 2013.

Variáveis	Nutrizes				P
	Adolescentes		Adultas		
	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	
<b>Características socioeconômicas</b>					
Idade materna (anos) <sup>†</sup>	17,5±1,5	18,0 (13,0-19,0)	27,4±5,0	26,5 (20,0-40,0)	<0,001*
Escolaridade materna (anos) <sup>†</sup>	8,0±1,7	8,0 (5,0-11,0)	10,6±3,0	11,0 (6,0-18,0)	<0,001*
Renda familiar per capita (R\$) <sup>†</sup>	246,6±115,1	216,7 (100,0-518,3)	442,6±375,3	311,0 (78,8-2000,0)	0,010*
<b>Parâmetros antropométricos</b>					
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>‡</sup>	22,5±3,2	22,3 (16,3-31,3)	26,1±4,8	25,4 (18,7-40,2)	0,001*
GC (%) <sup>‡</sup>	27,2±4,1	27,6 (16,7-35,3)	31,1±5,2	30,7 (22,0-43,3)	0,002*
DCB (mm) <sup>‡</sup>	11,3±5,1	10,5 (4,0-23,5)	11,4±5,1	11,5 (3,0-23,0)	0,939
DCT (mm) <sup>‡</sup>	23,0±7,5	23,8 (7,0-37,0)	27,9±7,1	28,5 (12,5-42,0)	0,011*
DCSE (mm) <sup>‡</sup>	13,8±4,5	14,0 (6,0-22,0)	17,9±6,2	18,0 (6,0-30,5)	0,005*
DCSI (mm) <sup>‡</sup>	16,7±6,6	15,0 (5,0-30,0)	21,0±8,2	20,0 (6,0-43,0)	0,028*
Gordura periférica (mm) <sup>‡</sup>	34,3±10,5	35,0 (4,0-57,0)	39,3±10,9	40,5 (15,5-58,0)	0,075
Gordura central (mm) <sup>‡</sup>	30,5±10,0	30,8 (12,0-49,0)	38,9±13,6	36,8 (17,0-73,5)	0,009*
<b>Parâmetros bioquímicos</b>					
Hemoglobina (g/dL) <sup>‡</sup>	12,6±0,9	12,7 (10,3-13,9)	13,0±0,9	12,8 (11,4-14,6)	0,095
Hematócrito (%) <sup>‡</sup>	40,1±2,8	40,2 (32,3-44,0)	41,1±2,7	40,9 (37,0-46,2)	0,140
Retinol (µmol/L) <sup>‡</sup>	1,34±0,31	1,31 (0,49-1,90)	1,56±0,43	1,57 (0,68-2,57)	0,025*
α-caroteno (µmol/L) <sup>†</sup>	0,04±0,03	0,03 (0,01-0,13)	0,05±0,03	0,05 (0,01-0,13)	0,337
β-caroteno (µmol/L) <sup>†</sup>	0,27±0,17	0,24 (0,08-0,92)	0,42±0,31	0,33 (0,09-1,37)	0,029*
Luteína+zeaxantina (µmol/L) <sup>†</sup>	0,71±0,20	0,68 (0,40-1,23)	0,87±0,41	0,76 (0,45-2,18)	0,188
α-tocoferol (µmol/L) <sup>†</sup>	14,01±3,79	13,41 (9,06-23,37)	17,16±4,95	16,36 (8,51-33,77)	0,008*
γ-tocoferol (µmol/L) <sup>‡</sup>	1,97±0,65	1,89 (0,46-3,86)	2,10±0,80	2,09 (1,04-4,17)	0,482
<b>Ingestão Dietética</b>					
Carboidratos (g/dia) <sup>‡</sup>	245,3±39,5	242,3 (159,2-330,3)	235,8±26,4	248,4 (210,6-298,9)	0,330
Proteínas (g/dia) <sup>‡</sup>	65,4±17,7	62,8 (31,2-103,5)	68,6±16,1	68,0 (40,0-119,1)	0,465
Lipídios (g/dia) <sup>‡</sup>	49,4±17,5	48,2 (18,4-80,6)	59,2±17,1	58,3 (18,0-100,5)	0,032*
Vitamina A (µg/dia) <sup>‡</sup>	413,8±87,0	403,5 (242,3-626,4)	486,4±105,2	483,0 (265,1-699,2)	0,008*
Vitamina E (mg/dia) <sup>†</sup>	4,2±1,0	4,1 (2,9-6,3)	4,5±0,8	4,4 (2,9-6,1)	0,143
α-caroteno (µg/dia) <sup>†</sup>	196,9±260,6	35,7 (0,0-942,4)	466,8±480,4	343,3 (0,0-1728,6)	0,015*
β-caroteno (µg/dia) <sup>‡</sup>	1050,2±553,6	1201,5 (78,5-2088,3)	2076,6±1467,6	1691,9 (93,3-5422,3)	0,001*
Luteína+zeaxantina (µg/dia) <sup>‡</sup>	729,8±483,1	700,4 (66,1-1697,6)	971,1±695,9	843,9 (89,4-2449,3)	0,279

(Continua)

**Tabela 1** - Características gerais das nutrizes e dos recém-nascidos, do município de Viçosa-MG, 2013.

Variável	Nutrizes				P
	Adolescentes		Adultas		
	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	$\bar{X} \pm DP$	Mediana (Mín-Máx)	
<b>Leite Humano (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>					
Retinol <sup>†</sup>	1,31±0,96	1,03 (0,25-04,14)	1,12±0,56	1,00 (0,36-3,19)	0,756
$\alpha$ -caroteno <sup>†</sup>	0,002±0,003	0,001 (0,001-0,01)	0,003±0,003	0,001 (0,001-0,01)	0,108
$\beta$ -caroteno <sup>†</sup>	0,16±0,06	0,14 (0,11-0,43)	0,16±0,04	0,14 (0,11-0,29)	0,941
Luteína+zeaxantina <sup>†</sup>	0,30±0,16	0,27 (0,12-0,76)	0,27±0,14	0,24 (0,13-0,82)	0,734
$\alpha$ -tocoferol <sup>†</sup>	3,80±1,14	3,92 (1,96-6,80)	3,65±1,10	3,40 (1,95-5,87)	0,564
$\gamma$ -tocoferol <sup>†</sup>	1,01±0,42	0,90 (0,47-1,76)	0,85±0,45	0,76 (0,29-1,67)	0,150

$\bar{X} \pm DP$  = Média±desvio padrão; Mín = mínimo; Máx = máximo; IMC = Índice de massa corporal; GC = Gordura corporal; DCT = Dobra cutânea tricipital; DCSE = Dobra cutânea subescapular; DCSI = Dobra cutânea suprailíaca; HDL-c = Lipoproteína de alta densidade de colesterol; LDL-c = Lipoproteína de baixa densidade de colesterol. GC = Gordura corporal. Gordura periférica = DCB+DCT; gordura central = DCSE+DCSI.

\*Significância estatística ( $P < 0,05$ ); <sup>†</sup>Teste de *Mann-Whitney*; <sup>‡</sup>Teste *T Student*.

A influência das características maternas sobre o conteúdo de retinol, carotenoides e tocoferóis foram estudadas segundo com a faixa etária das nutrizes (Tabelas 2-4). Nutrizes adolescentes com baixa escolaridade apresentaram concentrações superiores de  $\beta$ -caroteno ( $P=0,019$ ). Nenhuma das demais variáveis socioeconômicas e gestacionais influenciou significativamente os conteúdos dos analitos do leite.

Nutrizes adolescentes com percentual de gordura corporal acima do percentil 90 apresentaram maior concentração de retinol no leite ( $P=0,020$ ). Para as demais características antropométricas e de composição corporal, não foram encontradas diferenças em relação a nenhum nutriente, independente da faixa etária.

Adolescentes anêmicas apresentaram maiores concentrações de tocoferóis no leite, em oposição às adultas, que exibiram menores concentrações de retinol.

A ingestão alimentar dos micronutrientes não influenciaram o seu conteúdo no leite. Não foram encontradas correlações entre as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis do leite e plasma, exceto para  $\gamma$ -tocoferol ( $r=0,500$ ,  $P=0,005$ ) em adultas.

**Tabela 2** - Concentrações de retinol e carotenoides no leite humano segundo variáveis socioeconômicas, bioquímicas e nutricionais de nutrizes adolescentes, do município de Viçosa-MG, 2013.

Variáveis	Adolescentes								
	%	Retinol		α-caroteno		β-caroteno		Luteína+zeaxantina	
		X̄ ou Mediana (μmol/L)	P	X̄ ou Mediana (μmol/L)	P	X̄ ou Mediana (μmol/L)	P	X̄ ou Mediana (μmol/L)	P
<b>Etnia<sup>†</sup></b>									
Branca	20,0	0,821		0,001		0,135		0,218	
Negra	23,3	1,302	0,229	0,001	0,973	0,147	0,723	0,292	0,267
Parda	56,7	1,018		0,001		0,142		0,282	
<b>Classe econômica<sup>†</sup></b>									
B	16,7	1,045		0,001		0,118		0,183	
C	60,0	1,154	0,529	0,001	0,368	0,144	0,055	0,287	0,683
D/E	23,3	0,852		0,001		0,152		0,245	
<b>Escolaridade<sup>‡</sup></b>									
≤ 8 anos	66,7	1,141		0,001		0,148		0,274	
> 8 anos	33,3	0,797	0,391	0,001	0,129	0,124	0,019*	0,232	0,582
<b>Paridade<sup>‡</sup></b>									
Primíparas	86,7	0,994		0,001		0,141		0,269	
Múltiplas	13,3	1,650	0,211	0,002	0,692	0,163	0,376	0,278	0,647
<b>Estado Nutricional</b>									
<b>Pré-gestacional<sup>†</sup></b>									
Baixo peso	20,7	0,813		0,003		0,136		0,236	
Eutrofia	69,0	1,009	0,456	0,001	0,375	0,148	0,821	0,251	0,929
Excesso de peso	10,3	1,291		0,001		0,136		0,301	
<b>Estado Nutricional<sup>†</sup></b>									
Baixo peso	10,0	1,761		0,006		0,137		0,264	
Eutrofia	73,3	0,893	0,243	0,001	0,142	0,152	0,354	0,269	0,520
Excesso de peso	16,7	1,073		0,001		0,134		0,179	
<b>GC (%)<sup>‡</sup></b>									
≤ p90 (32,78)	90,0	1,023 <sup>a</sup>		0,001		0,146		0,282	
> p90 (32,78)	10,0	1,857	0,020*	0,001	0,511	0,134	0,201	0,146	0,226
<b>Gordura periférica (mm)<sup>‡</sup></b>									
≤ p90 (48,60)	90,0	1,018		0,001		0,143		0,257	
> p90 (48,60)	10,0	1,648	0,284	0,001	0,809	0,130	0,917	0,293	0,744
<b>Gordura central (mm)<sup>‡</sup></b>									
≤ p90 (46,25)	90,0	1,018		0,001		0,146		0,257	
> p90 (46,25)	10,0	1,648	0,284	0,001	0,557	0,125	0,156	0,282	0,904
<b>Hemoglobina (g/dL)<sup>‡</sup></b>									
< 12	20,0	1,154		0,006		0,143		0,323	
≥ 12	80,0	1,008	0,717	0,001	0,097	0,143	0,595	0,245	0,078
<b>Ingestão Dietética<sup>‡</sup></b>									
≤ mediana	-	0,733		0,001		0,146		0,218	
> mediana	-	1,073	0,442	0,001	0,504	0,140	0,415	0,268	0,054

X̄ = média; GC = Gordura corporal; p90 = percentil 90. Gordura periférica = DCB+DCT; Gordura central = DCSE+DCSI.

\*Significância estatística (P<0,05); <sup>†</sup>Teste de *Kruskal-Wallis*, <sup>‡</sup>Teste de *Mann-Whitney*, <sup>a</sup>Teste *T Student*.

**Tabela 3** - Concentrações de retinol e carotenoides no leite humano segundo variáveis socioeconômicas, bioquímicas e nutricionais de nutrizes adultas, do município de Viçosa-MG, 2013.

Variáveis	Adultas								
	%	Retinol		α-caroteno		β-caroteno		Luteína+zeaxantina	
		$\bar{X}$ ou Mediana (μmol/L)	P	$\bar{X}$ ou Mediana (μmol/L)	P	$\bar{X}$ ou Mediana (μmol/L)	P	$\bar{X}$ ou Mediana (μmol/L)	P
<b>Etnia<sup>†</sup></b>									
Branca	36,7	0,913		0,005		0,147		0,234	
Negra	36,7	0,897	0,350	0,001	0,744	0,146	0,536	0,282	0,671
Parda	26,7	1,147		0,001		0,136		0,221	
<b>Classe econômica<sup>†</sup></b>									
B	30,0	1,269		0,001	0,092	0,142	0,209	0,229	0,796
C	56,7	0,848	0,143	0,004		0,142		0,244	
D/E	13,3	0,880		0,001		0,119		0,251	
<b>Escolaridade<sup>‡</sup></b>									
≤ 8 anos	30,0	1,348	0,167	0,001	0,157	0,136	0,402	0,272	0,378
> 8 anos	70,0	0,897		0,001		0,142		0,228	
<b>Paridade<sup>‡</sup></b>									
Primíparas	36,7	1,020	0,747	0,005	0,138	0,142	0,880	0,229	0,983
Multiparas	63,3	0,960		0,001		0,142		0,240	
<b>Estado Nutricional Pré-gestacional<sup>‡</sup></b>									
Eutrofia	64,3	0,997	0,962	0,001	0,292	0,142	0,924	0,231	0,848
Excesso de peso	35,7	1,100		0,003		0,141		0,250	
<b>Estado Nutricional<sup>‡</sup></b>									
Eutrofia	43,3	0,796	0,250	0,001	0,456	0,142	0,391	0,254	0,722
Excesso de peso	56,7	1,241		0,003		0,142		0,234	
<b>GC (%)<sup>‡</sup></b>									
≤ p90 (32,78)	90,0	0,960	0,809	0,001	0,519	0,142	0,972	0,233	0,863
> p90 (32,78)	10,0	1,241		0,001		0,151		0,281	
<b>Gordura periférica (mm)<sup>‡</sup></b>									
≤ p90 (48,60)	90,0	0,913	0,351	0,001	0,830	0,153	0,468	0,240	0,388
> p90 (48,60)	10,0	1,241		0,001		0,128		0,213	
<b>Gordura central (mm)<sup>‡</sup></b>									
≤ p90 (46,25)	90,0	1,020	0,704	0,001	0,252	0,142	0,704	0,234	0,863
> p90 (46,25)	10,0	0,960		0,001		0,136		0,272	
<b>Hemoglobina (g/dL)<sup>‡</sup></b>									
< 12	17,2	0,631	0,024*	0,001	0,834	0,151	0,686	0,281	0,954
≥ 12	82,8	1,163		0,001		0,141		0,231	
<b>Ingestão Dietética<sup>‡</sup></b>									
≤ mediana	-	0,913	0,694	0,005	0,315	0,136	0,576	0,247	0,646
> mediana	-	0,990		0,001		0,142		0,228	

$\bar{X}$  = média; GC = Gordura corporal; p90 = percentil 90. Gordura periférica = DCB+DCT; Gordura central = DCSE+DCSI.

\*Significância estatística (P<0,05); <sup>†</sup>Teste de *Kruskal-Wallis*, <sup>‡</sup>Teste de *Mann-Whitney*.

**Tabela 4** - Concentrações de tocoferóis no leite humano segundo variáveis socioeconômicas, bioquímicas e nutricionais de nutrizes adolescentes e adultas, do município de Viçosa-MG, 2013.

Variáveis	%	Adolescentes				Adultas				
		α-tocoferol		γ-tocoferol		α-tocoferol		γ-tocoferol		
		$\bar{X}$ ou Mediana (μmol/L)	P	$\bar{X}$ ou Mediana (μmol/L)	P	$\bar{X}$ ou Mediana (μmol/L)	P	$\bar{X}$ ou Mediana (μmol/L)	P	
<b>Etnia<sup>b</sup></b>										
Branca	20,0	3,427	0,165	0,881 <sup>†</sup>	0,894	36,7	3,611	0,832	0,750	0,267
Negra	23,3	4,501		1,035		36,7	3,798		1,030	
Parda	56,7	3,641		0,902		26,7	3,486		0,753	
<b>Classe econômica<sup>b</sup></b>										
B	16,7	3,449	0,668	1,194	0,603	30,0	4,147	0,225	0,791 <sup>†</sup>	0,754
C	60,0	3,945		1,000		56,7	3,362		0,701	
D/E	23,3	3,672		0,927		13,3	3,727		0,933	
<b>Escolaridade<sup>‡</sup></b>										
≤ 8 anos	66,7	3,873 <sup>a</sup>	0,624	0,945	0,759	66,7	3,810	0,197	1,144	0,108
> 8 anos	33,3	3,651		0,858		33,3	3,114		0,662	
<b>Paridade</b>										
Primíparas	86,7	3,739 <sup>a</sup>	0,471	0,902 <sup>‡</sup>	0,728	86,7	3,520 <sup>a</sup>	0,639	0,678 <sup>‡</sup>	0,780
Múltiparas	13,3	4,190		1,144		13,3	3,719		0,791	
<b>Estado Nutricional</b>										
<b>Pré-gestacional<sup>†</sup></b>										
Baixo peso	20,7	4,051	0,704	0,968	0,938	-	-	0,924	-	-
Eutrofia	69,0	3,922		0,881		64,3	3,291		0,700	
Excesso de peso	10,3	3,689		0,902		35,7	3,518		0,825	
<b>Estado Nutricional<sup>†</sup></b>										
Baixo peso	10,0	4,102	0,163	1,629	0,300	-	-	0,691	-	-
Eutrofia	73,3	3,922		0,991		43,3	3,157 <sup>‡</sup>		0,779 <sup>a</sup>	
Excesso de peso	16,7	3,243		0,72		56,7	3,616		0,910	
<b>GC (%)<sup>‡</sup></b>										
≤ p90 (32,78)	90,0	4,000	0,137	1,013	0,197	90,0	3,601 <sup>a</sup>	0,515	0,723	0,557
> p90 (32,78)	10,0	3,243		0,724		10,0	4,047		1,381	
<b>Gordura periférica (mm)<sup>‡</sup></b>										
≤ p90 (48,60)	90,0	3,895	0,557	0,947	0,886	90,0	3,623 <sup>a</sup>	0,738	0,791	0,216
> p90 (48,60)	10,0	4,112		0,858		10,0	3,825		0,322	
<b>Gordura central (mm)<sup>‡</sup></b>										
≤ p90 (46,25)	90,0	3,895	0,863	0,891	0,886	90,0	3,157	0,604	0,791	0,809
> p90 (46,25)	10,0	4,081		1,058		10,0	3,616		0,701	
<b>Hemoglobina (g/dL)<sup>‡</sup></b>										
< 12	20,0	4,424	0,015*	1,401	0,015*	17,2	4,005	0,908	1,072 <sup>a</sup>	0,448
≥ 12	80,0	3,554		0,774		82,8	3,264		0,813	
<b>Ingestão Dietética</b>										
≤ mediana	-	3,941 <sup>a</sup>	0,506	1,064 <sup>a</sup>	0,498	-	3,371 <sup>‡</sup>	0,983	0,857 <sup>a</sup>	0,969
> mediana	-	3,658		0,957		-	3,616		0,850	

$\bar{X}$  = média; Xi = mediana; GC = Gordura corporal; p90 = percentil 90. Gordura Periférica = DCB+DCT; gordura periférica = DCSE+DCSI.

\*Significância estatística (P<0,05); <sup>†</sup>Teste de *Kruskal-Wallis*, <sup>‡</sup>Teste de *Mann-Whitney*, <sup>a</sup>Teste *T Student*, <sup>b</sup>ANOVA one way.

## Discussão

Muitas pesquisas envolvendo o aleitamento materno e seus benefícios têm sido desenvolvidas, entretanto as características maternas e sua influência sobre a composição do leite humano, principalmente em relação a micronutrientes, ainda são controversos<sup>2,9,25</sup>.

Gravidez e lactação compreendem fases de vulnerabilidade nutricional elevada, na qual necessidades nutricionais aumentam com o intuito de proteger e promover a saúde materna e infantil, sendo estes requerimentos ainda mais expressivos em adolescentes, pelo somatório com demandas necessárias para o crescimento na mãe<sup>2,3,27</sup>.

No presente estudo, as diferenças entre a escolaridade, idade ginecológica e número de filhos era esperada entre as nutrizes adolescentes e adultas. A inserção das nutrizes adultas no mercado de trabalho, bem como a presença de um companheiro, pode explicar a maior renda deste grupo.

Sabe-se que indivíduos com condições socioeconômicas desfavoráveis e baixo grau de instrução apresentam, normalmente, pior estado nutricional, pois tendem a ter conhecimento mais restrito sobre assuntos relacionados a cuidados com a saúde e importância de escolhas alimentares adequadas<sup>27</sup>. A associação destes dois fatores pode ser uma provável justificativa para o menor número de consultas pré-natal realizado pelas adolescentes, assim como para os valores inferiores identificados pelo IMC pré-gestacional, parâmetros antropométricos e de ingestão dietética (Tabela 1).

Além disso, o estado nutricional pré-gestacional das nutrizes adolescentes, marcado por valores inferiores de IMC quando comparados aos das adultas, pode ser reflexo da fase em que se encontram, caracterizada por alterações na composição corporal<sup>28</sup>. Há um aumento ponderal no período que antecede a adolescência, utilizado como reserva para o crescimento, seguido pela redução da velocidade de ganho de gordura corporal, marcada pelo início do estirão de crescimento<sup>28-30</sup>. Os menores valores encontrados pela avaliação antropométrica e de composição corporal também podem estar associados a essas alterações. Independente da adolescência, um estudo brasileiro verificou correlação positiva entre IMC e %GC, e a idade materna<sup>31</sup>.

Não foram encontrados estudos que esclarecessem a diferença entre as concentrações plasmáticas de retinol,  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol entre nutrizes adolescentes e adultas, como encontrados no presente estudo.

Sabe-se que, fisiologicamente, adolescentes apresentam menores valores de lipoproteínas plasmáticas em relação aos adultos<sup>32</sup>, e que, na puberdade, pode ocorrer uma queda das concentrações sanguíneas de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e lipoproteína de baixa e alta densidade (HDL-c), associadas à influência exercida pela maturação

sexual<sup>28</sup>. Esses fatos podem representar uma justificativa plausível para as diferenças existentes entre as concentrações de  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol, visto que carotenoides e tocoferóis possuem vias semelhantes de transporte e metabolismo pelas lipoproteínas plasmáticas para os tecidos<sup>4,5</sup>.

A ingestão dietética inferior de vitamina A e carotenoides é outro provável fator para explicar as diferentes concentrações plasmáticas dos micronutrientes nas adolescentes, bem como o menor consumo de lipídios, uma vez que eles podem interferir na biodisponibilidade e absorção das vitaminas lipossolúveis e carotenoides<sup>4,5</sup>.

As baixas ingestões médias das vitaminas A e E, por nutrizes adolescentes e adultas, corroboram com o descrito na literatura por outros pesquisadores<sup>25,33,34</sup>. Não foi possível classificar o consumo de carotenoides pela ausência de recomendações pelas DRIs<sup>22</sup>, mas os valores encontrados foram inferiores aos calculados em outros estudos<sup>25,35</sup>. Possivelmente, a ingestão inferior de micronutrientes por nutrizes adolescentes pode ser reflexo dos hábitos alimentares inadequados deste grupo, com baixa frequência de consumo de produtos lácteos, frutas e hortaliças<sup>33,34</sup>.

As concentrações de retinol,  $\alpha$ -caroteno e tocoferóis no leite humano foram semelhantes ao encontrado em investigações semelhantes<sup>11,25,36,37,39,40</sup>, ao passo que, as concentrações de  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina foram superiores<sup>7,35,36,37</sup>.

Não foram encontradas diferenças significativas entre as concentrações dos nutrientes no leite de adolescentes e adultas. No Brasil foi identificado apenas um estudo confrontando diretamente as concentrações de vitamina A no leite maduro, segundo faixa etária e nível socioeconômico<sup>38</sup>. Outro avaliou as concentrações de  $\alpha$ -tocoferol no colostro de nutrizes adolescentes e adultas<sup>26</sup>. Nenhum deles identificou diferença entre os grupos<sup>26,38</sup>. Estes resultados sugerem que, independente da faixa etária da nutriz, os mecanismos de mobilização e transporte de nutrientes para o leite materno não sofrem alterações significativas, priorizando as demandas do lactente<sup>2</sup>.

Apesar das condições socioeconômicas e nutricionais da nutriz serem apontados como fatores influentes das concentrações dos nutrientes no leite humano<sup>2,3,41</sup>, a relação entre as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis e as variáveis maternas ainda é controversa.

A escolaridade ( $\leq 8$  anos) foi a única variável socioeconômica que influenciou um analito do leite, o  $\beta$ -caroteno, entre as adolescentes. Dimenstein e colaboradores<sup>41</sup> também relataram resultado semelhante e inesperado, mas com média mais baixa de retinol em mulheres com escolaridade mais alta.

A concentração mais elevada de retinol, em nutrizes adolescentes, com maior %GC ( $>p90$ ) pode estar relacionada aos maiores concentrações de Proteína Ligante de Retinol (*Retinol Binding Protein* – RBP), secretada pelos adipócitos e fígado, em indivíduos obesos<sup>12</sup>. A RBP é o principal transportador de retinol para a glândula mamária<sup>2,3</sup>.

Maiores concentrações de retinol foram encontrados em nutrizes adultas não anêmicas ( $\geq 12$  mg/dL), em oposição aos menores valores de tocoferóis em adolescentes. Em grupos populacionais mais vulneráveis, têm sido observadas correlações entre hemoglobina e retinol sérico/plasmático, sustentando a hipótese de que a deficiência de ferro altera a distribuição de vitamina A no plasma<sup>45</sup>.

Semelhante ao presente estudo, outros pesquisadores também não encontraram correlações entre nutrientes do leite humano e plasmáticos<sup>25,42</sup>. Diferentes mecanismos podem estar associados ao transporte de retinol e tocoferóis para os fluidos, como sugerido por Azeredo e Trugo<sup>42</sup>.

Nutrizes com baixa ingestão de vitaminas podem apresentar concentrações mais baixos desses compostos no leite e, como consequência, tornar o lactente mais vulnerável a quadros de deficiências<sup>2,10</sup>. Embora a relação positiva entre a alimentação e as concentrações de nutrientes tenha sido demonstrada<sup>12</sup>, nenhuma correlação foi identificada no presente estudo e por outros autores<sup>42,46</sup>.

Embora alguns autores tenham demonstrado relação da paridade<sup>11</sup> e IMC pré-gestacional<sup>8</sup> e estado nutricional<sup>44</sup>, similarmente aos resultados encontrados no presente estudo, várias investigações não constataram a interferência das características maternas sobre a concentração de retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano<sup>9,38,41-43</sup>.

A pouca influência exercida pelas características maternas sobre as concentrações de nutrientes do leite sugerem a existência de um mecanismo de adaptação da glândula mamária para garantir a manutenção de concentrações adequadas para atender às necessidades diárias do lactente<sup>41</sup>.

## Conclusão

Nutrizes adolescentes apresentaram valores inferiores para as variáveis socioeconômicas, obstétricas, gestacionais, antropométricas, bioquímicas e dietéticas. Não houve diferença entre as concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano entre os grupos estudados.

As análises do grupo de adolescentes indicaram que a escolaridade e as concentrações de hemoglobina influenciaram de maneira negativa as concentrações de  $\beta$ -caroteno e tocoferóis, respectivamente, e o percentual de gordura corporal afetou positivamente o conteúdo de retinol. Para as adultas apenas a concentração de hemoglobina interferiu no conteúdo de retinol do leite, positivamente.

Possivelmente as concentrações de nutrientes do leite humano independem de fatores socioeconômicos, alimentares e de saúde de maneira isolada, e seja, provavelmente, multifatorial. Entretanto, mais estudos epidemiológicos são necessários para elucidar melhor a influência das características maternas sobre a composição dos nutrientes neste fluido.

## Referências Bibliográficas

1. PICCIANO, M.F. Nutrient Composition of Human Milk. **Pediatric Clinics of North America**, v.48, n.1, p.53-67, 2001.
2. INSTITUTE OF MEDICINE. **Nutrition during lactation**. Washington, DC: National Academy Press, 1996.
3. CORE GROUP. **Maternal Nutrition During Pregnancy and Lactation**. Disponível em: <[http://www.coregroup.org/storage/documents/Workingpapers/MaternalNutritionDietaryGuide\\_AED.pdf](http://www.coregroup.org/storage/documents/Workingpapers/MaternalNutritionDietaryGuide_AED.pdf)>. Acesso em: 01 nov.2013.
4. PENTEADO, M.V.C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2003.
5. RUCKER, R.B. et al. **Handbook of vitamins**. 3. ed. New York: Marcel Dekker Inc, 2001.
6. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005**. Geneva: WHO, 2009.
7. JACKSON, J.G. et al. Major carotenoids in mature human milk: Longitudinal and diurnal patterns. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.9, n.1, p.2–7, 1998.

8. LIRA, L.Q. et al. Níveis de alfa-tocoferol no soro e colostro de lactantes e associação com variáveis maternas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.34, n.8, p.362-368, 2012.
9. LIRA, L.Q. et al. Perfil de retinol no soro e colostro de puérperas atendidas em maternidade pública Brasileira e sua associação com características maternas e obstétricas. **Revista Paulista de Pediatria**, v.29, n.4, p.515-520, 2011.
10. JENSEN, R.G. **Handbook of milk composition**. Washington, DC: National Academy Press, 1995.
11. MENESES, F.; TRUGO, N.M.F. Retinol,  $\beta$ -carotene, and lutein + zeaxanthin in the milk of Brazilian nursing women: associations with plasma concentrations and influences of maternal characteristics. **Nutrition Research**, v. 25, n.5, p.443–451, 2005.
12. FUSTINONI, A.M. **Vitamina A no leite materno: influência do estado nutricional de lactantes e da composição do leite**. 2008. 77f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) – Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
13. JELLIFFE, D.B. **The assessment if the nutrition status of the community**. Geneva: WHO, 1966.
14. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity: preventing and mananging the global epidemic**. Geneva: WHO; 1998.
15. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Growth reference data for 5-19 years, 2007**. Disponível em: <<http://www.who.int/growthref/en/>>. Acesso em: 10 abr. 2012.
16. FISBERG, R.M. et al. Métodos de inquéritos alimentares. In: **Inquéritos alimentares: métodos e bases científicos**. (Org.). 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2005. p. 2-31.
17. COMINETTI, C.; COZZOLINO, S.M. Ingestões Dietéticas de Referência. In: DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, J.S. **Ciências Nutricionais: Aprendendo a Aprender**. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2008. p.407-428.
18. TURNER, T.; BURRI, B.J. Rapid Isocratic HPLC Method and Sample Extraction Procedures for Measuring Carotenoid, Retinoid, and Tocopherol Concentrations in Human Blood and Breast Milk for Intervention Studies. **Chromatographia**, v.75, n.5-6, p.241-252, 2012.
19. MANUAL DE EXAMES: **Laboratório Hermes Pardini**. 2002. Disponível em: <<http://www3.hermespardini.com.br/pagina/141/home.aspx>>. Acesso em: 02 fev. 2013.
20. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA. **Critério de classificação econômica Brasil**. Disponível em: <<http://www.abep.org/novo/Content.aspx?>

21. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc.** Washington, DC: National Academy Press, 2001.
22. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids.** Washington, DC: National Academy Press, 2000.
23. Laboratory Assessment of Nutritional Status. **American Journal of Public Health**, v.63, n.11, p.28-37, 1973.
24. VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G.; PIMENTA, A.M.; GILBERTO, K. Epidemiologia do sobrepeso e da obesidade e seus fatores determinantes em Belo Horizonte (MG), Brasil: estudo transversal de base populacional. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v.16, n.5, 208-314, 2004.
25. PRESTA, F.M.P. **Composição do leite materno em vitamina A, carotenóides e vitamina E: relação com o estado nutricional e características maternas.** 2001. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2001.
26. DIMENSTEIN, R. et al. Concentração de alfa-tocoferol no soro e colostro materno de adolescentes e adultas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.32, n.6, p.267-272, 2010.
27. SANTOS, E.N.; VELARDE, L.G.C.; FERREIRA, V.A. Associação entre deficiência de vitamina A e variáveis socioeconômicas, nutricionais e obstétricas de gestantes. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.15, n.1, p.1021-1030, 2010.
28. PRIORE, S.E. et al. **Nutrição e saúde na adolescência.** 1. ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2010.
29. BARBOSA, K.B.F.; FRANCESCHINI, S.C.C.; PRIORE, S.E. Influência dos estágios de maturação sexual no estado nutricional, antropometria e composição corporal de adolescentes. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.6, n.4, p.375-382, 2006.
30. CASTILHO, S.D.; BARRAS FILHO, A.A. Crescimento pós-menarca. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia and Metabologia**, v.44, n.3, p.195-204, 2000.
31. RODRIGUES, M.L., COSTA, T.H. Association of the maternal experience and changes in adiposity measured by BMI, waist:hip ratio and percentage body fat in urban Brazilian women. **British Journal of Nutrition**, v.85, n.1, p.107-114, 2001.

32. GIULIANO, I.C.B. et al. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e Adolescência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.85, n.6, 2005.
33. BARROS, D.C. et al. O consumo alimentar de gestantes adolescentes no Município do Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, v.20, n.1. p.121-129, 2004.
34. PRESTA, F. M. P. **Influência da gestação e lactação sobre o metabolismo e estado de ácidos graxos em adolescentes e sua relação com a composição do leite**. 2005. 118 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.
35. CANFIELD, L.M. et al.  $\beta$ -Carotene in breast milk and serum is increased after a single  $\beta$ -carotene dose. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.66, n.1, p.52-61, 1997.
36. MACIAS, C.; SCHWEIGERT, F.J. Changes in the Concentration of Carotenoids, Vitamin A, Alpha-Tocopherol and Total Lipids in Human Milk throughout Early Lactation. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.45, n.2, p:82-85, 2001.
37. LOUISE, M. et al. Short-term  $\beta$ -carotene supplementation of lactating mothers consuming diets low in vitamin A. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.10, n.9, p.532–538, 1999.
38. VÍTOLO, M.R. et al. Níveis de vitamina A no leite maduro de nutrizes adolescentes e adultas de diferentes estratos socioeconômicos. **Revista de Ciências Médicas**, v.8, n.1, p.3-10, 1999.
39. MELLO NETO J. et al. The influence of maternal factors on the concentration of vitamin A in mature breast milk. **Clinical Nutrition**, v.28, n.2, p.178-181, 2009.
40. BARUA, S. et al. Retinol and alpha-tocopherol content in breast milk of Bangladeshi mothers under low socio-economic status. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.48, n.1, p.13-18, 1997.
41. DIMENSTEIN, R. et al. Influência de variáveis socioeconômicas e de saúde materno-infantil sobre os níveis de retinol no colostro humano. **Jornal de Pediatria**, v.79, n.6, p.513-518, 2003.
42. AZEREDO, V.B.; TRUGO, N.M. Retinol, carotenoids, and tocopherols in the milk of lactating adolescents and relationships with plasma concentrations. **Nutrition**, v.24, n.2, p.133-139, 2008.
43. CANFIELD, L.M. Multinational study of major breast milk carotenoids of healthy mothers. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.42, n.3, p.133-41, 2003.

44. PATTON, S. et al. Carotenoids of human colostrum. **Lipids**. v.25, n.3, p.159-65, 1990.
45. COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 3. Ed. Barueri, SP: Manole, 2011.
46. DIMENSTEIN, R. et al. Avaliação dos níveis de retinol no colostro humano e a sua relação com o estado nutricional materno em vitamina A. **Revista Brasileira de Medicina**, v., 63, n.5, 2006. Disponível em: <[http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id\\_materia=3285](http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3285)> . Acesso em 12 nov. 2013.

## 6. CONCLUSÕES GERAIS

Verificou-se que as nutrizes adolescentes apresentavam ingestão inferior de lipídios totais, vitamina A,  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno em relação ao grupo das adultas. Foram encontradas prevalências de aproximadamente 100% de ingestões inadequadas das vitaminas, para ambos os grupos.

A comparação entre os grupos evidenciou menores concentrações sanguíneas de colesterol total, lipoproteínas de alta densidade, retinol,  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol em nutrizes adolescentes.

Elevada prevalência de deficiência de vitamina A foi detectada a partir da análise das concentrações de retinol no leite humano. As concentrações de retinol, carotenoides e tocoferóis do leite humano não diferiram entre nutrizes adolescentes e adultas estudadas.

Várias correlações foram identificadas entre as concentrações dos nutrientes no leite e no plasma, entretanto nenhuma correlação significativa entre o conteúdo dos fluidos entre si, exceto para o  $\gamma$ -tocoferol.

O consumo alimentar das vitaminas e carotenoides também não se correlacionou com as concentrações dos nutrientes do leite, diferentemente do padrão encontrado no plasma, contemplando correlações positivas entre retinol,  $\beta$ -caroteno e luteína+zeaxantina.

Em conclusão, o presente estudo demonstrou que o conteúdo de retinol, carotenoides e tocoferóis do leite não dependem da faixa etária, estado nutricional em relação ao nutriente e ingestão alimentar da nutriz, corroborando com a hipótese de uma mobilização prioritária de nutrientes para o lactente.

## 7. APÊNDICES

### APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**  
**DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO**



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

Idade: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Concordo voluntariamente em participar desta pesquisa que tem como objetivo “comparar as concentrações dos ácidos graxos, retinol, carotenoides e tocoferóis no leite humano de nutrizes adolescentes e adultas”. Serão aferidas as medidas antropométricas da criança (peso, comprimento e perímetros cefálico e torácico) e da mãe (peso, altura e dobras cutâneas tricípital e subescapular), aplicado questionários para obtenção de informações relacionadas à alimentação e ao estilo de vida materno e coletado amostras de leite humano e de sangue da mãe. A coleta do leite humano e do sangue ocorrerá entre 30-180 dias pós-parto. Em cada período, será coletado leite humano de acordo com a disponibilidade materna, no momento e em quantidade que não prejudique a alimentação da criança e 10 mL de sangue venoso. Estou ciente, também, que não terei nenhum tipo de vantagem econômica ou material por participar do estudo, e que poderei abandonar a pesquisa em qualquer etapa de seu desenvolvimento. Estou em conformidade que meus resultados obtidos, sejam divulgados no meio científico, sempre resguardando minha individualidade e identificação.

Nome da participante: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B – Questionário estruturado (1º e 2º encontros)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO**



### QUESTIONÁRIO (1º ENCONTRO)

**PROTOCOLO N°:** \_\_\_\_\_

**DATA:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### 1. DADOS PESSOAIS

Nome da nutriz:	
Endereço:	
Bairro:	
Referência:	Tel:

#### 2. DADOS DO LACTENTE

Nome:	
Data de nascimento: ____/____/____	Sexo: (1) Masculino (2) Feminino
Idade gestacional:	D.U.M.:
Peso ao nascer:	Comprimento ao nascer:
Classificação do RN segundo PN e IG: (1) GIG ⇒ peso ao nascer > P90 para IG (2) AIG ⇒ peso ao nascer entre P10 e P90 para IG (3) PIG ⇒ peso ao nascer < P10 para IG	
Índice de Apgar: 1º: _____ 5º: _____	
A criança foi internada: (0) Não (1) Sim. Se sim, qual(is) motivo(s): _____	
Tempo de internação em dias: _____	
A criança já fez exame de sangue? (0) Não (1) Sim. Se sim, qual(is) exame(s): _____	
Resultado: _____	
A criança já fez exame de fezes? (0) Não (1) Sim. Resultado: _____	
O cartão de vacinação está completo? (0) Não (1) Sim	

#### 3. DADOS SOCIOECONÔMICOS:

Estado civil: (1) Solteira (2) Casada (3) Relação estável (4) Outro _____	
Escolaridade materna (anos completos):	Profissão materna:
Condição atual de trabalho da nutriz: (1) emprego formal (2) emprego informal (3) desempregada	
Quantas pessoas moram no domicílio? (incluindo a sra.) _____	Número de filhos: _____
O pai mora com a mãe da criança? (0) Não (1) Sim	
Escolaridade paterna (anos completos):	Profissão paterna:
Condição atual de trabalho do cônjuge: (1) emprego formal (2) emprego informal (3) desempregado	
Renda familiar (R\$):	Número de pessoas que dependem da renda:
O imóvel é próprio: (0) Não (1) Sim	

Na sua casa tem:

ITENS	QUANTIDADE				
	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores					
Rádio					
Banheiro					
Automóvel					
Empregada mensalista					
Máquina de lavar					
Vídeo cassete e/ou DVD					

ITENS	QUANTIDADE				
	0	1	2	3	4 ou +
Geladeira					
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)					

Quem a senhora considera como chefe da família? \_\_\_\_\_

Grau de instrução do chefe da família:

NOMENCLATURA ANTIGA	NOMENCLATURA ATUAL	PONTUAÇÃO
Analfabeto/ Primário incompleto	Analfabeto/ Até 3ª série fundamental/ Até 3ª série 1º grau	0
Primário completo/ Ginásial incompleto	Até 4ª série ensino fundamental/ até 4ª série 1º grau	1
Ginásial completo/ Colegial incompleto	Fundamental completo/ 1º grau completo	2
Colegial completo/ Superior incompleto	Médio completo/ 2º grau completo	4
Superior completo	Superior completo	8

Classificação: \_\_\_\_\_

#### 4. CONDIÇÕES DE HABITAÇÃO:

Abastecimento de água: (1) Público (2) Poço (3) Outro
Tratamento de água: (1) Filtração (2) Fervura (3) Cloração (4) Sem tratamento
Energia elétrica: (0) Não (1) Sim
Destino do lixo: (1) Coleta pública (2) Enterra/ queima (3) Quintal (4) Outro
Destino de dejetos: (1) Esgoto (2) Fossa (3) Céu aberto (4) Outro

#### 5. DADOS OBSTÉTRICOS E GESTACIONAIS:

Idade da menarca: _____	Número de gestações: _____	Número de partos: _____
Amamentou os filhos anteriores? (0) Não (1) Sim		
Se sim, quanto tempo durou o aleitamento materno de cada filho: _____		
Ordem da criança: _____		
Assistência pré-natal atual: (0) Não (1) Sim	Número de consultas: _____	
Local: _____		
Intervalo do último parto: _____	Tipo de parto: (1) Normal (2) Cesárea (3) Fórceps	
Peso pré-gestacional: _____	IMC pré-gestacional: _____	
Peso última consulta pré-natal: _____	Data última consulta pré-natal: _____	Ganho de peso na gestação: _____
Intercorrências na gestação? (0) Não (1) Sim		
Qual? (1) Obstipação (3) Diabetes (5) Hipertensão (2) Edema (4) Pré-eclâmpsia (6) Outro _____		
A senhora ficou internada após o parto? (0) Não (1) Sim. Se sim, qual o motivo? _____		
Tabagismo? (0) Não (1) Sim	Nº cigarros/dia: _____	
Na gestação? (0) Não (1) Sim	Nº cigarros/dia: _____	
Faz uso de bebida alcoólica? (0) Não (1) Ocasionalmente (2) Semanalmente (3) Todo dia		
Fez uso de bebida alcoólica na gestação? (0) Não (1) Ocasionalmente (2) Semanalmente (3) Todo dia		
Uso de medicamentos na gestação? (0) Não (1) Sim	Quais? _____ Mês de início: _____ Duração: _____	
Uso de suplemento na gestação? (0) Não (1) Sim	Quais? _____ Mês de início: _____ Posologia: _____ Duração: _____	
Intercorrência neonatais? (0) Não (1) Sim	Qual? (1) Sofrimento fetal (2) Icterícia (3) Outro: _____	
Até que idade pretende amamentar? (0) não pretende amamentar		
Está com alguma dificuldade para amamentar? (0) Não (1) Sim. Qual? _____		
Afeções mamárias? (0) Não (1) Sim. Qual? _____		
Quantas horas (ou minutos) após o parto a criança mamou? _____		

**6. DADOS DA NUTRIZ:**

Data de nascimento: ____/____/____	Idade: _____
Raça: (1) branca (2) negra (3) parda (4) amarela (5) indígena	
A senhora já ficou internada? (0) Não (1) Sim. Se sim, qual motivo? _____	
A senhora voltou a trabalhar depois que a criança nasceu? (0) Não (1) Sim	
Que idade a criança tinha quando começou/voltou a trabalhar? ____ meses ____ dias	
Quantos dias por semana a senhora trabalha fora? ____ dias/semana	
Quantas horas por dia a senhora fica fora de casa? ____ horas/dia	
Utiliza: (1) SUS (2) Particular (3) Plano de saúde (4) Convênio intermunicipal	
Que unidades de saúde utiliza quando necessário: (1) Hospital local (2) PSF (3) Hospital de outro município (4) Posto de saúde/Policlínica (5) Outros	
Participação em programas assistencialistas: (0) Não (1) Sim Quais: _____	



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO**



**QUESTIONÁRIO (2º ENCONTRO)**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E DA COMPOSIÇÃO CORPORAL DA NUTRIZ				
		30-120 dias pós-parto		
Peso (No pós-parto imediato: _____)				
Estatura				
IMC				
BIA				
CB				
CMB				
Dobra cutânea bicipital	1ª:	2ª:	3ª:	Média:
Dobra cutânea tricípital	1ª:	2ª:	3ª:	Média:
Dobra cutânea subescapular	1ª:	2ª:	3ª:	Média:
Dobra cutânea supra-ilíaca	1ª:	2ª:	3ª:	Média:
Suplemento? (0) Não (1) Sim	Qual?			Posologia:
Medicamento? (0) Não (1) Sim	Qual?			Posologia:

AVALIAÇÃO ATUAL DO LACTENTE: ANTROPOMETRIA E DIETÉTICA			
Peso		Comprimento:	
Perímetro cefálico:		Perímetro torácico:	
Usa chupeta? (0) Não (1) Sim		Usa mamadeira? (0) Não (1) Sim	
Suplemento? (0) Não (1) Sim	Qual?	Posologia:	Duração:
Medicamento? (0) Não (1) Sim	Qual?	Posologia:	Duração:
A criança já consome? (S/N)			
<input type="checkbox"/> Água <input type="checkbox"/> Chá <input type="checkbox"/> Suco de frutas <input type="checkbox"/> Mingau <input type="checkbox"/> Bebidas lácteas <input type="checkbox"/> Açúcar			
<input type="checkbox"/> Leite de vaca (in natura ou em pó) <input type="checkbox"/> Fórmula infantil. Qual? _____			
<input type="checkbox"/> Engrossante (maizena, neston, farinha láctea, fubá...) <input type="checkbox"/> Frutas <input type="checkbox"/> Carne <input type="checkbox"/> Arroz			
<input type="checkbox"/> Feijão (caldo?) <input type="checkbox"/> Ovo (gema?) <input type="checkbox"/> Legumes <input type="checkbox"/> Verduras (folhas) <input type="checkbox"/> Pão			
<input type="checkbox"/> Bolo, broa (amassados?) <input type="checkbox"/> Biscoito (esfarelado?) <input type="checkbox"/> Café <input type="checkbox"/> Balas, doces, chocolates <input type="checkbox"/> Refrigerante			
Tipo de aleitamento (não perguntar):      (1) Exclusivo      (2) Predominante      (3) Misto      (4) Complementado			

ORDENHA DO LEITE HUMANO	
Horário da última mamada:	
Ordenha do leite na mama succionada? (0) Não (1) Sim	
Ordenha do leite em quantas mamas? (1) Uma (2) Duas	
Outras	observações:
_____	
_____	

## APÊNDICE C – Recordatório alimentar de 24 horas

### RECORDATÓRIO 24 HORAS (1º ENCONTRO)

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

REFEIÇÃO	ALIMENTOS	MEDIDA CASEIRA	OBSERVAÇÕES (Modo de preparo)
<b>Café da manhã</b> Horário: _____ Local: _____			
<b>Lanche (manhã)</b> Horário: _____ Local: _____			
<b>Almoço</b> Horário: _____ Local: _____			
<b>Lanche (tarde)</b> Horário: _____ Local: _____			
<b>Jantar</b> Horário: _____ Local: _____			
<b>Ceia</b> Horário: _____ Local: _____			

## APÊNDICE D – Questionário de frequência de consumo alimentar



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO



Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

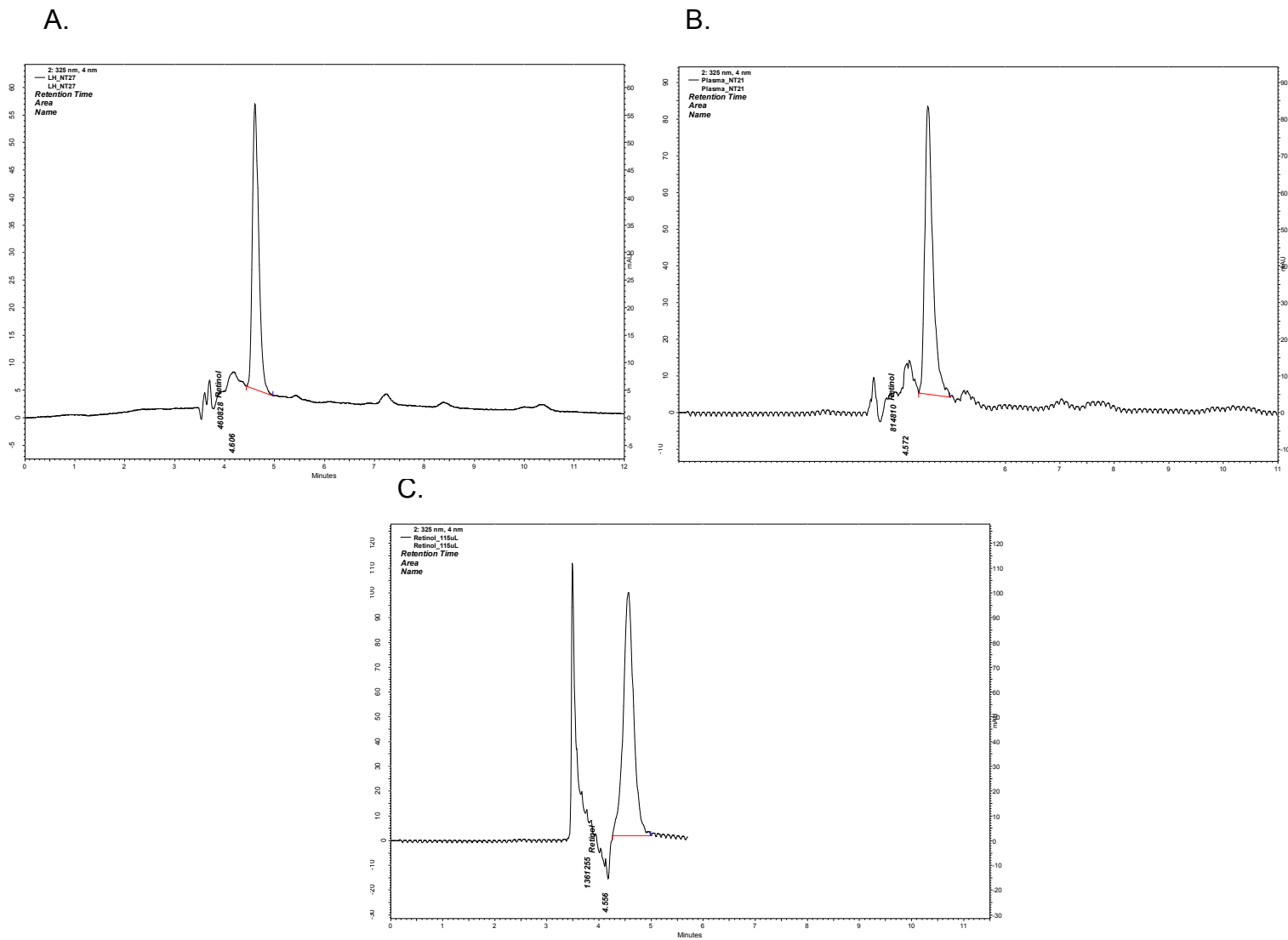
### QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA DE CONSUMO ALIMENTAR (1º ENCONTRO)

Alimento	Consumo											Quantidade (medida caseira)
	Diário		Semanal						Quinzenal	Mensal	Não consome ou raramente	
	1x	2x	1x	2x	3x	4x	5x	6x				
Abacate												
Abóbora Moranga												
Abobrinha												
Agrião												
Amendoim												
Apresentado/ presunto/ mortadela												
Azeite de oliva												
Bacon												
Banha												
Batata doce												
Caqui												
Carne bovina costela												
Carne bovina moída												
Carne bovina músculo												
Carne de frango com pele												
Carne de frango sem pele												
Carne suína costela												
Carne suína pernil/ lombo												

Alimento	Consumo											Quantidade (medida caseira)
	Diário		Semanal						Quinzenal	Mensal	Não consome ou raramente	
	1x	2x	1x	2x	3x	4x	5x	6x				
Castanhas												
Cenoura												
Coco												
Couve Crua												
Couve Refogada (quanto de óleo)												
Creme de leite												
Fígado de boi												
Fígado de galinha												
Gordura vegetal												
Iogurte												
Leite cru												
Leite desnatado												
Leite em pó desnatado												
Leite em pó integral												
Leite integral												
Linguiça												
Maionese												
Manga												
Manteiga												
Margarina												
Melão												
Nozes												
Óleo (especificar: _____ quanto dura 1L:												
Óleo (especificar: _____ quanto dura 1L:												
Ovo												

Alimento	Consumo											Quantidade (medida caseira)
	Diário		Semanal						Quinzenal	Mensal	Não consome ou raramente	
	1x	2x	1x	2x	3x	4x	5x	6x				
Peixe												
Pêssego (in natura ou conserva)												
Pimentão vermelho												
Queijo cheddar												
Queijo cottage												
Queijo minas												
Queijo mussarela												
Queijo parmesão												
Queijo prato												
Queijo provolone												
Requeijão												
Ricota												
Sardinha/ atum												
Sementes oleaginosas (girassol, gergelim)												
Suco artificial (marca)												
Suco natural (de: _____)												
Tangerina ou mexerica												
Tomate												

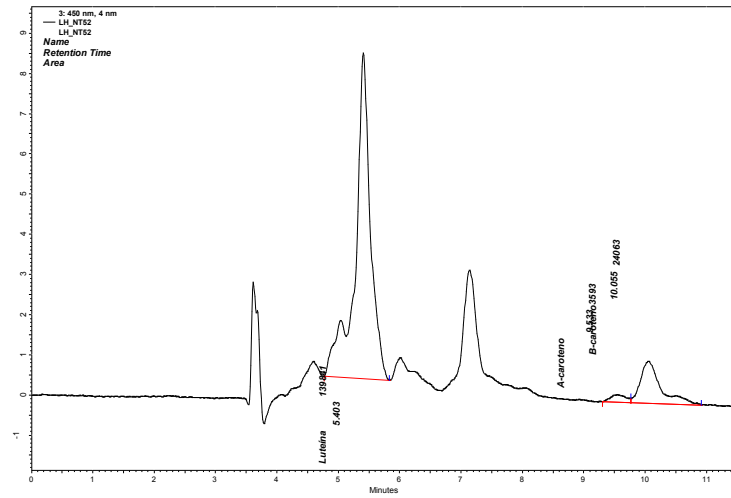
## APÊNDICE E – Perfis cromatográficos



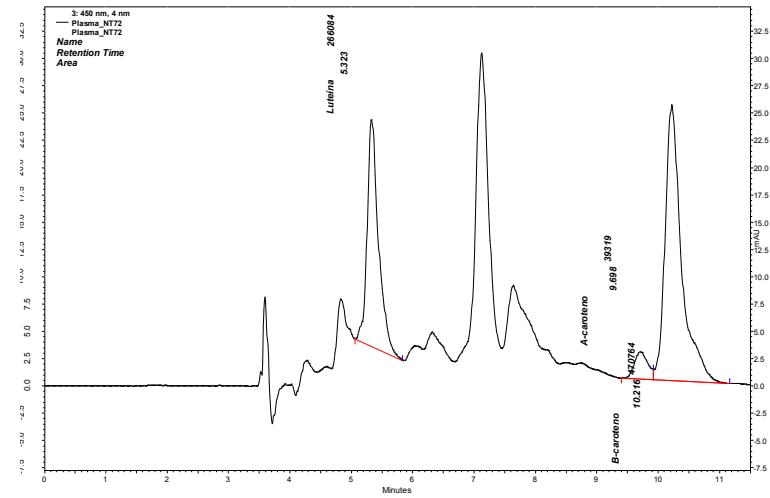
**Figura 1:** Perfis cromatográficos do retinol no leite humano (A) e plasma materno (B), e padrão de retinol (C), por cromatografia líquida de alta eficiência.

## APÊNDICE E – Perfis cromatográficos

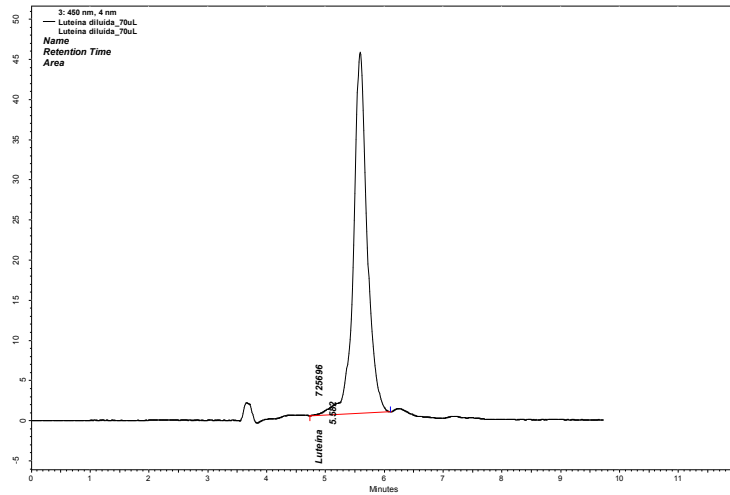
A.



B.



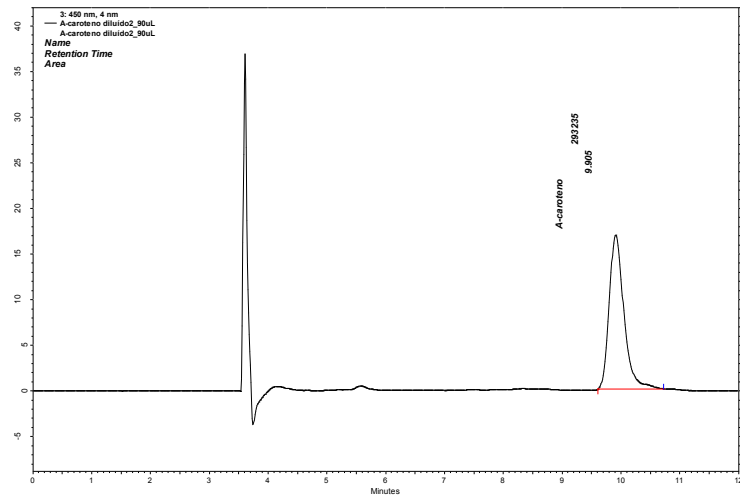
C.



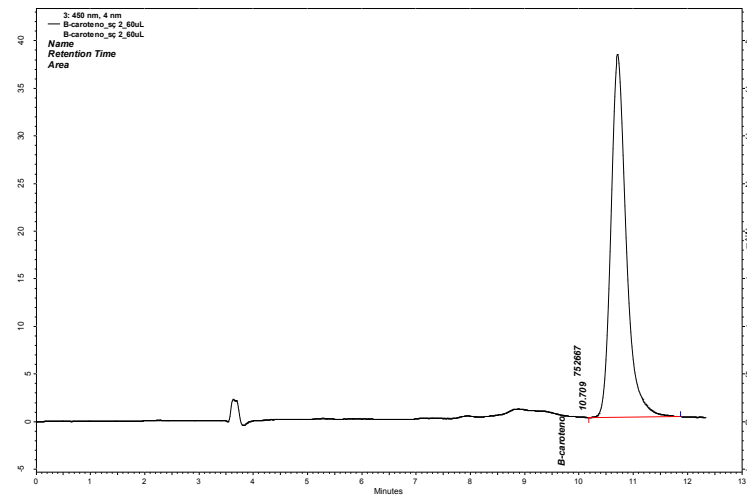
**Figura 2:** Perfis cromatográficos dos carotenoides no leite humano (A) e plasma materno (B), e padrão de luteína (C), por cromatografia líquida de alta eficiência.

## APÊNDICE E – Perfis cromatográficos

A.

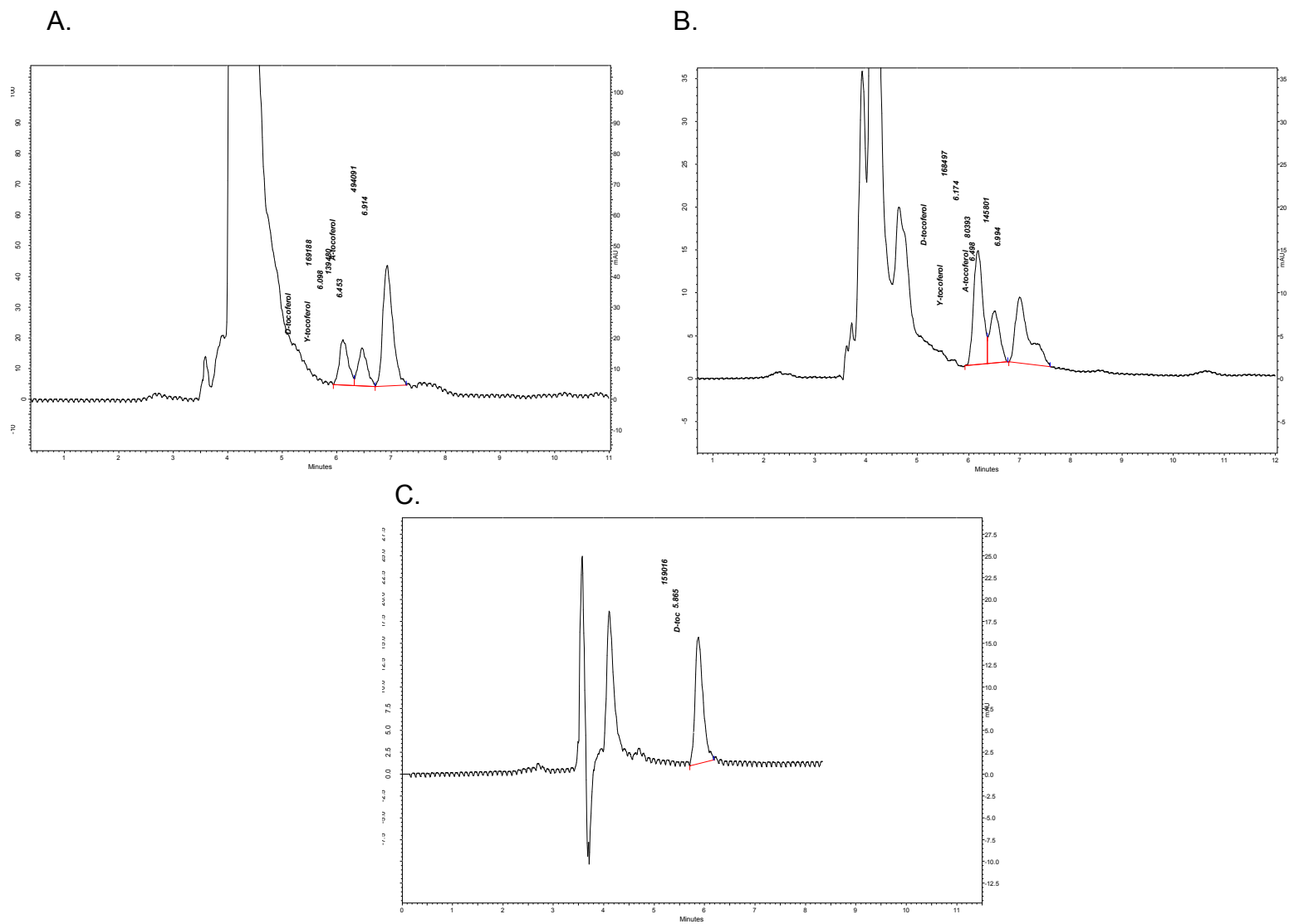


B.



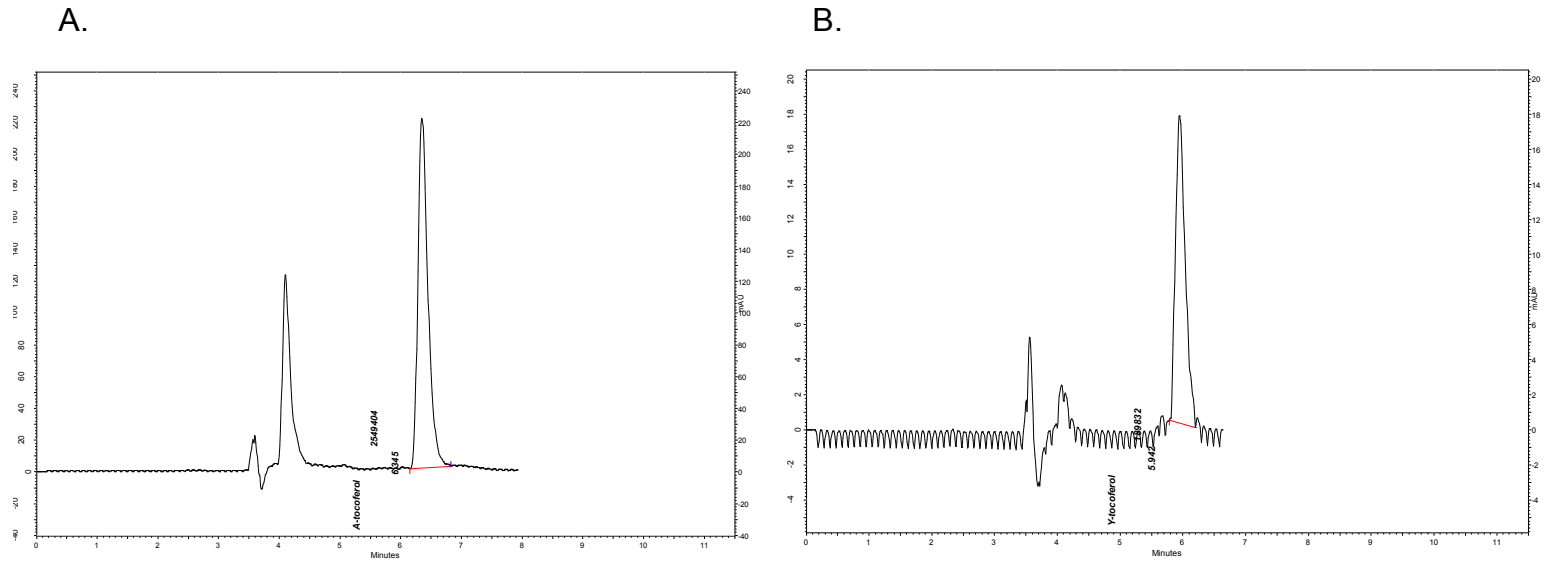
**Figura 3:** Perfis cromatográficos do padrão de  $\alpha$ -caroteno (A) e padrão de  $\beta$ -caroteno (B), por cromatografia líquida de alta eficiência.

## APÊNDICE E – Perfis cromatográficos



**Figura 4:** Perfis cromatográficos dos tocoferóis no leite humano (A) e plasma materno (B), e padrão de  $\delta$ -tocoferol (C), por cromatografia líquida de alta eficiência.

## APÊNDICE E – Perfis cromatográficos



**Figura 5:** Perfis cromatográficos do padrão de  $\alpha$ -tocoferol (A) e padrão de  $\gamma$ -tocoferol (B), por cromatografia líquida de alta eficiência.

**ORIENTAÇÕES PARA NUTRIZES**

**IMPORTÂNCIA DA AMAMENTAÇÃO**



**Por que garantir a amamentação é importante?**

O leite humano é o único alimento capaz de oferecer todos os nutrientes na quantidade exata de que o bebê precisa. Ele garante o melhor crescimento e desenvolvimento, não existindo nenhum outro alimento capaz de substituí-lo. Nos primeiros seis meses, o leite materno é suficiente. Depois de seis meses, continue amamentando até os dois anos ou mais e ofereça, gradualmente, outros alimentos saudáveis.

**O que mais o bebê ganha mamando no peito?**

Proteção contra infecções desde os primeiros dias de vida, estabelecimento de vínculo afetivo entre mãe e filho, promove desenvolvimento neuro-psicomotor e cognitivo infantil, é de fácil digestão, contém nutrientes essenciais, desenvolve as mandíbulas da criança pelo ato da sucção, é rico em anticorpos e melhora o padrão cardiorrespiratório.

Além disso, protege contra diarreia e previne enterocolite, doença de Crohn, doença celíaca, leucemia, alergias, diabetes e infecção respiratória e urinária.

**Que vantagens a amamentação traz para a mãe?**

O sangramento pós-parto diminui, assim como as chances de desenvolver anemia, câncer de mama e diabetes. A mulher que amamenta perde mais rapidamente o peso que ganhou durante a gravidez.

A mulher que amamenta precisa do apoio de todos: família, vizinhos, amigos, colegas de trabalho.

## PRÁTICAS CORRETAS DE AMAMENTAÇÃO

### Dicas úteis para uma boa amamentação:

- A cor do leite pode variar, mas ele nunca é fraco.
- Evite bebidas alcoólicas, fumo e drogas.
- A mãe deve dar o peito a seu filho sempre que ele pedir.

O bebê não tem horário para mamar, tem seu próprio ritmo, que deve ser respeitado.

É importante que o bebê esvazie bem uma mama antes de você passá-lo para outra. O leite do fim da mamada tem mais gordura e, por isso, mata a fome do bebê e faz com que ele ganhe mais peso.

### Não se esqueça:

- As mamadeiras e chupetas modificam a maneira de mamar e muitos bebês passam a não querer mais o peito. Além disso, podem causar problemas na dentição, na fala e aumentar o risco de infecções.
- Os bebês costumam mamar com muita frequência, principalmente nos primeiros meses. Isso é normal.
- Nem todo choro do bebê é fome. O seu filho pode chorar porque está com frio ou calor, cólicas, sentindo algum desconforto, fraldas sujas ou precisando de aconchego, de "colinho".
- A mãe que tiver excesso de leite pode doá-lo a um banco de leite humano e ajudar outros bebês que precisam.
- Não se esqueça: existem leis que protegem a amamentação.





### **Comentários errados sobre amamentação:**

- Amamentar dói;
- Meu leite é fraco;
- Meu leite não é suficiente para o bebê;
- Quando o peito é pequeno ele produz pouco leite e não consegue sustentar o bebê;

- Amamentar vai deixar o peito caído.

### **HÁBITOS ALIMENTARES SAUDÁVEIS PARA NUTRIZES**

#### **Dicas para mães que estão amamentando:**

- Escolha refeições saudáveis e coloridas;
- Beba bastante água entre as refeições;
- Realize suas refeições em um ambiente calmo, relaxante e de preferência em companhia de mais pessoas;
- Fazer uma alimentação fracionada em 6 vezes/dia, para garantir níveis glicêmicos constantes e nutrientes;
- Ingerir de 3 a 4 litros de água/dia;
- Aumentar a ingestão de verduras, legumes e frutas;
- Consumir alimentos fonte de ferro (carne e vegetais folhosos verde-escuro), alimentos fonte de cálcio (sardinha, salmão, brócolis, couve, semente de gergelim, amêndoa), e fonte de ácido fólico (peixes, brócolis, tomate, acelga, couve, rúcula);
- Consumir cereais integrais;
- Não consumir bebidas alcoólicas, nem fumar;
- Evitar o consumo de alimentos estimulantes, como café e alguns tipos de chá;
- Não consumir adoçante;



- Faça caminhadas regulares.

## ORIENTAÇÃO ALIMENTAR PARA CRIANÇAS DE 06 À 24 MESES EM ALEITAMENTO MATERNO



- Aos 6 meses de idade deve-se introduzir, aos pouco, novos alimentos, porém o aleitamento deve ser mantido até os 02 anos.
- A primeira refeição que deve ser introduzida é a papinha salgada no horário do almoço. Essa papinha pode ser igual à refeição da família, porém com a consistência adequada para a idade.

Composição da papinha salgada:
Arroz ou macarrão ou tubérculos (batata, mandioca, inhame, baroa) + feijão (amassado e coado) + carne bem cozida (até desmanchar) + legumes variados.

- Começar introduzindo alimentos bem cozidos e amassados, e ir aumentando a consistência aos poucos.

Idade	Consistência da alimentação
6 à 8 meses	semi-sólida (papa)
9 à 11 meses	semi-sólida (triturar, picar, desfiar)
12 à 24 meses	sólida (alimentação da família)

- A papinha de frutas não supre as necessidades de nutrientes do bebê, além de prejudicar a aceitação da papinha salgada, devido a melhor aceitação do paladar doce. Por isso, a papinha de fruta nunca deve ser oferecida como refeição, mas sim como sobremesa.
- A criança tem a capacidade de auto-regulação do apetite, por isso pode dar o quanto ela quiser do alimento.

- Evitar papinha industrializada.
- Utilizar o sal com moderação.
- Evitar suco em excesso (não mais de 240ml de suco/dia).
- Evitar mamadeira (leite) ou danoninho/toddyinho/iogurtes juntamente com as refeições de sal.

<b>Alimentos que devem ser evitados até 1 ano:</b>
Fígado, manteiga, cereais integrais, espinafre, leite de vaca, açúcar, chocolate, carne de porco, café, salgadinho (chips), conservas, frituras, condimentos, industrializados, refrigerantes, chás, casca de feijão.
<b>Alimentos que devem ser evitados até os 2 anos:</b>
Mel e clara de ovo.
<b>Alimentos que devem ser evitados até os 3 anos:</b>
Peixe, amendoim, nozes.

- Aumentar o número de refeições aos poucos.

<b>6 a 8 meses</b>	2 a 3 refeições/dia (almoço, lanche da tarde, jantar)
<b>9 a 23 meses</b>	3 a 4 refeições/dia (lanche da manhã, almoço, lanche da tarde, jantar)

<b>Composição da papinha do lanche da manhã ou da tarde:</b>
Fruta (mamão ou banana) + cereal (aveia ou neston ou farinha láctea).


- A papinha salgada do jantar deve ser introduzida aos 8 meses.

LUIZA MELLO DE AZEREDO  
Nutricionista - CRN4 06101303  
(31) 9456-8785

KARLA VANESSA DO NASCIMENTO SILVA  
Nutricionista  
(31) 8734-0004

## 8. ANEXOS

### ANEXO A – Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS-CEPH

*Campus Universitário – Divisão de Saúde - Viçosa, MG - 36570-000 - Telefone: (31) 3899-3783*

---


Of. Ref. Nº 030/2012/CEPH

Viçosa, 16 de abril de 2012

Prezada Professora:

Cientificamos V. S<sup>a</sup>. de que o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, em sua 1<sup>a</sup> Reunião de 2012 (segunda sessão), realizada nesta data, analisou e aprovou, sob o aspecto ético, o projeto intitulado *Leite humano de nutrizas adolescentes e adultas: há diferença na composição de ácidos graxos e antioxidante?*

Atenciosamente,

  
Professora Patrícia Aurélio Del Nero  
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos-CEPH  
Presidente

À Professora  
Juliana Farias de Novaes Barros  
Departamento de Nutrição e Saúde - DNS

/rhs.

## ANEXO B - Critério de Classificação Econômica



### Alterações na aplicação do Critério Brasil, válidas a partir de 01/01/2013

A dinâmica da economia brasileira, com variações importantes nos níveis de renda e na posse de bens nos domicílios, representa um desafio importante para a estabilidade temporal dos critérios de classificação socioeconômica. Em relação ao CCEB, os usuários têm apresentado dificuldades na manutenção de amostras em painel para estudos longitudinais. As dificuldades são maiores na amostragem dos estratos de pontuação mais baixa.

A ABEP vem trabalhando intensamente na avaliação e construção de um critério que seja fruto da nova realidade do país. Porém, para que os estudos produzidos pelos usuários do Critério Brasil continuem sendo úteis ao mercado e mantenham o rigor metodológico necessário, as seguintes recomendações são propostas às empresas que tenham estudos contínuos, com amostras em painel:

- A reclassificação de domicílios entre as classe C2 e D deve respeitar uma região de tolerância de 1 ponto, conforme descrito abaixo:
  - o Domicílios classificados, no momento inicial do estudo, como classe D → são reclassificados como C2, apenas no momento em que atingirem 15 pontos;
  - o Domicílios classificados, no momento inicial do estudo, como classe C2 → são reclassificados como D, apenas no momento em que atingirem 12 pontos;
  - o O momento inicial de estudos desenvolvidos a partir de amostra mestra é o da realização da amostra mestra;
  - o O momento inicial de estudos desenvolvidos sem amostra mestra é o da primeira medição (onda) do estudo.

**IMPORTANTE:** As alterações descritas acima são apenas para os estudos que usem amostras contínuas em painéis. Estudos *ad hoc* e estudos contínuos, com amostras independentes, devem continuar a aplicar o Critério Brasil regularmente.

Outra mudança importante no CCEB é válida para todos os estudos que utilizem o Critério Brasil. As classes D e E devem ser unidas para a estimativa e construção de amostras. A justificativa para esta decisão é o tamanho reduzido da classe E, que inviabiliza a leitura de resultados obtidos através de amostras probabilísticas ou por cotas, que respeitem os tamanhos dos estratos.

A partir de 2013 a ABEP deixa de divulgar os tamanhos separados destes dois estratos.

Finalmente, em função do tamanho reduzido da Classe A1 a renda média deste estrato deixa de ser divulgada. Assim, a estimativa de renda média é feita para o conjunto da Classe A.

O Critério de Classificação Econômica Brasil, enfatiza sua função de estimar o poder de compra das pessoas e famílias urbanas, abandonando a pretensão de classificar a população em termos de "classes sociais". A divisão de mercado definida abaixo é de **classes econômicas**.

### **SISTEMA DE PONTOS**

#### **Posse de itens**

	Quantidade de Itens				
	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	4	5	6	7
Automóvel	0	4	7	9	9
Empregada mensalista	0	3	4	4	4
Máquina de lavar	0	2	2	2	2
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0	2	2	2	2

#### **Grau de Instrução do chefe de família**

Nomenclatura Antiga	Nomenclatura Atual	
Analfabeto/ Primário Incompleto	Analfabeto/ Fundamental 1 Incompleto	0
Primário completo/ Ginásial Incompleto	Fundamental 1 Completo / Fundamental 2 Incompleto	1
Ginásial completo/ Colegial Incompleto	Fundamental 2 Completo/ Médio Incompleto	2
Colegial completo/ Superior Incompleto	Médio Completo/ Superior Incompleto	4
Superior completo	Superior Completo	8

### **CORTES DO CRITÉRIO BRASIL**

Classe	Pontos
A1	42 - 46
A2	35 - 41
B1	29 - 34
B2	23 - 28
C1	18 - 22
C2	14 - 17
D	8 - 13
E	0 - 7

## **PROCEDIMENTO NA COLETA DOS ITENS**

É importante e necessário que o critério seja aplicado de forma uniforme e precisa. Para tanto, é fundamental atender integralmente as definições e procedimentos citados a seguir.

Para aparelhos domésticos em geral devemos:

Considerar os seguintes casos  
Bem alugado em caráter permanente  
Bem emprestado de outro domicílio há mais de 6 meses  
Bem quebrado há menos de 6 meses

Não considerar os seguintes casos  
Bem emprestado para outro domicílio há mais de 6 meses  
Bem quebrado há mais de 6 meses  
Bem alugado em caráter eventual  
Bem de propriedade de empregados ou pensionistas

### **Televisores**

Considerar apenas os televisores em cores.  
Televisores de uso de empregados domésticos (declaração espontânea) só devem ser considerados caso tenha(m) sido adquirido(s) pela família empregadora.

### **Rádio**

Considerar qualquer tipo de rádio no domicílio, mesmo que esteja incorporado a outro equipamento de som ou televisor. Rádios tipo walkman, conjunto 3 em 1 ou microsystems devem ser considerados, desde que possam sintonizar as emissoras de rádio convencionais. Não pode ser considerado o rádio de automóvel.

### **Banheiro**

O que define o banheiro é a existência de vaso sanitário. Considerar todos os banheiros e lavabos com vaso sanitário, incluindo os de empregada, os localizados fora de casa e os da(s) suite(s). Para ser considerado, o banheiro tem que ser privativo do domicílio. Banheiros coletivos (que servem a mais de uma habitação) não devem ser considerados.

### **Automóvel**

Não considerar táxis, vans ou pick-ups usados para fretes, ou qualquer veículo usado para atividades profissionais. Veículos de uso misto (lazer e profissional) não devem ser considerados.

### **Empregado doméstico**

Considerar apenas os empregados mensalistas, isto é, aqueles que trabalham pelo menos 5 dias por semana, durmam ou não no emprego. Não esquecer de incluir babás, motoristas, cozinheiras, copeiras, arrumadeiras, considerando sempre os mensalistas. Note bem: o termo empregados mensalistas se refere aos empregados que trabalham no domicílio de forma permanente e/ou contínua, pelo menos 5 dias por semana, e não ao regime de pagamento do salário.

### **Máquina de Lavar**

Considerar máquina de lavar roupa, somente as máquinas automáticas e/ou semiautomática. O tanquinho NÃO deve ser considerado.

### **Videocassete e/ou DVD**

Verificar presença de qualquer tipo de vídeo cassete ou aparelho de DVD.

### **Geladeira e Freezer**

No quadro de pontuação há duas linhas independentes para assinalar a posse de geladeira e freezer respectivamente. A pontuação será aplicada de forma independente:

Havendo geladeira no domicílio, independente da quantidade, serão atribuídos os pontos (4) correspondentes a posse de geladeira;  
Se a geladeira tiver um freezer incorporado – 2ª porta – ou houver no domicílio um freezer independente serão atribuídos os pontos (2) correspondentes ao freezer.

As possibilidades são:

Não possui geladeira nem freezer	0 pt
Possui geladeira simples (não duplex) e não possui freezer	4 pts
Possui geladeira de duas portas e não possui freezer	6 pts
Possui geladeira de duas portas e freezer	6 pts
Possui freezer mas não geladeira (caso raro mas aceitável)	2 pt

### **OBSERVAÇÕES IMPORTANTES**

Este critério foi construído para definir grandes classes que atendam às necessidades de segmentação (por poder aquisitivo) da grande maioria das empresas. Não pode, entretanto, como qualquer outro critério, satisfazer todos os usuários em todas as circunstâncias. Certamente há muitos casos em que o universo a ser pesquisado é de pessoas, digamos, com renda pessoal mensal acima de US\$ 30.000. Em casos como esse, o pesquisador deve procurar outros critérios de seleção que não o CCEB.

A outra observação é que o CCEB, como os seus antecessores, foi construído com a utilização de técnicas estatísticas que, como se sabe, sempre se baseiam em coletivos. Em uma determinada amostra, de determinado tamanho, temos uma determinada probabilidade de classificação correta, (que, esperamos, seja alta) e uma probabilidade de erro de classificação (que, esperamos, seja baixa). O que esperamos é que os casos incorretamente classificados sejam pouco numerosos, de modo a não distorcer significativamente os resultados de nossa investigação.

Nenhum critério, entretanto, tem validade sob uma análise individual. Afirmações freqüentes do tipo “... conheço um sujeito que é obviamente classe D, mas

pelo critério é classe B...” não invalidam o critério que é feito para funcionar estatisticamente. Servem porém, para nos alertar, quando trabalhamos na análise individual, ou quase individual, de comportamentos e atitudes (entrevistas em profundidade e discussões em grupo respectivamente). Numa discussão em grupo um único caso de má classificação pode pôr a perder todo o grupo. No caso de entrevista em profundidade os prejuízos são ainda mais óbvios. Além disso, numa pesquisa qualitativa, raramente uma definição de classe exclusivamente econômica será satisfatória.

Portanto, é de fundamental importância que todo o mercado tenha ciência de que o CCEB, ou qualquer outro critério econômico, não é suficiente para uma boa classificação em pesquisas qualitativas. Nesses casos deve-se obter além do CCEB, o máximo de informações (possível, viável, razoável) sobre os respondentes, incluindo então seus comportamentos de compra, preferências e interesses, lazer e hobbies e até características de personalidade.

Uma comprovação adicional da conveniência do Critério de Classificação Econômica Brasil é sua discriminação efetiva do poder de compra entre as diversas regiões brasileiras, revelando importantes diferenças entre elas

### **Informações referentes ao LSE 2011**

#### **9 RMs – IBOPE Mídia**

<b>Classes</b>	<b>Renda média bruta familiar no mês em R\$</b>
Classe A	9.263
Classe B1	5.241
Classe B2	2.654
Classe C1	1.685
Classe C2	1.147
Classe DE	776