

**Influência de fatores nutricionais, obstétricos, socio-
econômicos e demográficos nas concentrações de
vitamina A, ferro, zinco e cobre no sangue e no leite
maduro de doadoras do banco de leite humano de
Marília, SP.**

Júlio de Mello Neto



Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Saúde Pública para obtenção
de Título de Doutor em Saúde Pública.

Área de Concentração: Nutrição

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Helen de
Carvalho Rondó

São Paulo

2005

**à minha mulher, mônica
com todo meu amor....**

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente à minha orientadora, Profa. Dra. Patrícia Helen de Carvalho Rondó, pela humildade com que orienta, ensina e realiza projetos importantes. A cada decisão tomada, um exemplo de ética profissional.

À Profa. Dra. Marie Oshiiwa, pelas análises estatísticas e sobretudo, pela amizade dedicada.

À enfermeira Sandra Domingues, Coordenadora do Banco de Leite Humano de Marília, São Paulo, pela generosidade com que acolheu este projeto.

Às graduandas de Nutrição, Cristiane Zago Zacari e Mariana Lima dos Santos, pelo comprometimento e amadurecimento com que executaram suas atribuições.

À Profa. Dra. Miriam Coelho de Souza, por me apresentar à Faculdade de Saúde Pública, por incentivar e facilitar a execução deste trabalho como Coordenadora do Curso de Nutrição da Universidade Metodista de Piracicaba, *Campus Lins*.

À Farmacêutica Bioquímica e amiga, Fernanda B. Santos Serra, proprietária do Laboratório Labclin de análises clínicas, que realizou as análises hematológicas impecavelmente.

Ao Dr. Marcelo Antonio Morgano, Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas, e Lidiane Souza, Farmacêutica Bioquímica, pela eficiência com que realizaram as análises dos metais no leite.

Aos meus sogros, Dna. Brasilina e Sr. Pedro, por incentivarem esta etapa de minha carreira e por me acolherem em sua casa, tornando minha permanência em São Paulo mais agradável.

Aos meus pais, Villa e Yaya, por cuidarem de minha família na minha ausência, me dando paz, e por se desdobrarem para me ajudar nos momentos críticos.

À minha irmã, Ciça, que me deu o privilégio de sentir o verdadeiro amor fraterno. Que um dia eu possa retribuir.

Às Profas. Dras. Sônia Buongiorno de Souza e Carmem Marino Donangelo, pelas sugestões importantes dadas para que este projeto pudesse ser colocado em prática, quando do exame defesa do projeto.

Ao Prof. Dr. Cláudio Leone, Profa. Dra. Sônia Buongiorno de Souza (novamente), Dra. Marina Ferreira Rea e Profa. Dra. Nádia Maria Friozzo Trugo, pelas correções solicitadas durante a pré-banca, que certamente aumentaram a qualidade deste trabalho.

À Vanessa Illison e Maíra Ladeia Rodrigues Curti pela disposição com que sempre auxiliaram nas análises da vitamina A.

À Camila Mayumi Fukushima pela grande ajuda, tanto na técnica para análise de vitamina A, como na realização da prestação de contas à FAPESP.

À amiga Sirlei T. Bennemann, minha primeira orientadora de iniciação científica, a quem o destino sabiamente me reaproximou.

À amiga Sarah Arana, que me deu a oportunidade de iniciar o mestrado, e que me ensinou muito no decorrer desses anos.

Aos amigos Fernando e Eduardo, que me hospedaram, e me acompanharam até mesmo nos trabalhos no laboratório, aos domingos e feriados.

Aos colegas do Departamento de Histologia da Universidade Estadual de Londrina, pela cooperação e compreensão nesta fase de conclusão da Tese.

Aos funcionários do Laboratório de Microbiologia do Hemocentro de Marília, pelas facilidades que proporcionaram para separação das amostras de sangue.

À Universidade Metodista de Piracicaba, pelo incentivo dado através do Auxílio Capacitação Docente, e pela oportunidade de iniciar minha carreira docente.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, pelo financiamento integral deste projeto.

E ao meu amado filho Heitor.

RESUMO

Mello JN. A influência de fatores nutricionais, obstétricos, sócio-econômicos e demográficos nas concentrações de vitamina A, ferro, zinco e cobre, no sangue e no leite maduro de doadoras do Banco de Leite Humano de Marília, SP. São Paulo, 2005 [Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Objetivo. O objetivo deste estudo foi avaliar as influências de fatores nutricionais, obstétricos, sócio-econômicos e demográficos nas concentrações de vitamina A, ferro, zinco e cobre no sangue e no leite maduro de doadoras de Banco de leite humano.

Métodos. Foram avaliadas 161 lactantes do Banco de Leite Humano de Marília, SP. As concentrações de ferro, zinco e cobre, foram quantificadas através de espectrofotometria de emissão atômica e as concentrações de vitamina A através de cromatografia líquida de alta eficiência.

Resultados. A vitamina A no leite teve associação negativa com idade gestacional, tempo de amamentação e trabalho materno; vitamina A no sangue teve associação positiva com idade materna e ingestão de suplemento durante a gestação, e negativa com ingestão de cobre. O ferro no sangue teve associação positiva com número de filhos, grau formal de instrução materna, parto cesáreo, proporção corporal de gordura e idade materna, e negativa com trabalho materno, ingestão de suplemento durante a gestação e ingestão de zinco. O zinco no leite teve associação positiva com ingestão de vitamina A, e negativa com número de filhos e tempo de amamentação; zinco no sangue teve associação negativa com hábito de fumar. O cobre no leite teve associação negativa com tempo de amamentação, e cobre no sangue teve associação positiva com consumo de álcool.

Conclusões. Fatores nutricionais, obstétricos, sócio-econômicos e demográficos tiveram associações significativas com nos níveis sanguíneos de vitamina A, ferro, zinco e cobre, assim como nas concentrações desses micronutrientes no leite maduro de doadoras do Banco de leite humano de Marília, SP.

Descritores: Banco de leite, micronutrientes, leite humano, vitamina A, ferro, zinco, cobre.

SUMMARY

Mello JN. The influence of nutritional, obstetric, socio-economic and demographic factors in vitamin A, iron, zinc and copper concentrations in blood and mature breast milk of donors of the Human Milk Bank of Marília, São Paulo, 2005. [PhD Thesis-Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo Brazil].

Objective. The objectives of this study were to evaluate the influence of nutritional, obstetric, socio-economic and demographic factors in vitamin A, iron, zinc and copper concentrations in blood and mature milk of donors of a Human Milk Bank. **Methods.** One hundred and sixty one (161) breast milk donors of the Human Milk Bank of Marília, São Paulo, were included in this study. The concentrations of iron, zinc and copper were determined by atomic emission spectrometry, and vitamin A concentrations were assessed by high performance liquid chromatography. **Results.** Vitamin A in milk was negatively associated with gestational age, breastfeeding time and maternal work; blood vitamin A was positively associated with maternal age and supplement intake during gestation, and negatively associated with copper intake. Blood iron was positively associated with number of previous children, mother's school level, caesarian delivery, maternal body fat and maternal age, and negatively associated with maternal work, supplement intake during gestation and zinc intake. Zinc in milk was positively associated with vitamin A intake, and negatively associated with number of previous children and breastfeeding time; blood zinc was negatively associated with smoking habit. Copper in milk was negatively associated with breastfeeding duration and blood copper was positively associated with alcohol intake. **Conclusions.** Nutritional, obstetric, socio-economic and demographic factors had significant association with blood levels of vitamin A, iron, zinc and copper, and with micronutrient composition of mature breast milk of donors of the Human Milk Bank of Marília, SP.

Descriptors: human milk bank, micronutrients, human milk, vitamin A, iron, zinc, copper

ÍNDICE

Pág.

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	8
2.1. Objetivo Geral	8
2.2. Objetivos Específicos	8
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	10
3.1 . População em Estudo	10
3.2 . Informações de Interesse	10
3.3 . Determinação do Estado Nutricional	12
3.4. Consumo Alimentar	13
3.5. Amostragem	14
3.6. Colheita e Preparo das Amostras	16
3.7. Determinação de Cobre, Ferro e Zinco no Leite	17
3.8. Determinação de Vitamina A no Sangue e no Leite	18
3.9. Análises Bioquímicas no Sangue	19
3.9.1. Ceruloplasmina	19
3.9.2. Zinco	19
3.9.3. Transferrina	19
3.9.4. Ferro	20
3.9.5. Cobre	20
3.9.6. Ferritina	20
3.10. Análises Hematológicas	20

3.11. Análises Estatísticas	20
3.12. Questões Éticas	21
4. RESULTADOS	22
4.1. Características Gerais	22
4.2. Proporções	27
4.3. Correlações	28
4.3.1. Correlações com Fatores em Estudo e Indicadores de Vitamina A	28
4.3.2. Correlações com Fatores em Estudo e Indicadores de Ferro	28
4.3.3. Correlações com Fatores em Estudo e Indicadores de Zinco	29
4.3.4. Correlações com Fatores em Estudo e Indicadores de Cobre	30
4.3.5. Correlações entre os Indicadores dos Micronutrientes no Sangue, no Leite e Ingeridos	30
4.4. Modelos de Regressão Multivariada	31
5. DISCUSSÃO	33
5.1. Vitamina A	34
5.1.1. Influência de Fatores Nutricionais na Vitamina A	35
5.1.2. Influência de Fatores Obstétricos na Vitamina A	36
5.1.3. Influência de Fatores Ligados à Amamentação na Vitamina A	37
5.1.4. Influência de Fatores de Exposição a Tóxicos na Vitamina A	38
5.1.5. Influência de Fatores Demográficos na Vitamina A	39
5.1.6. Influência de Fatores Sócio-Econômicos na Vitamina A	40
5.1.7. Interações entre Vitamina A, Ferro, Zinco e Cobre	40
5.2. Ferro	44
5.2.1. Influência de Fatores Nutricionais no Ferro	45
5.2.2. Influência de Fatores Obstétricos no Ferro	46
5.2.3. Influência de Fatores Ligados à Amamentação no Ferro	48
5.2.4. Influência de Fatores de Exposição a Tóxicos no Ferro	48
5.2.5. Influência de Fatores Demográficos no Ferro	48

5.2.6. Influência de Fatores Sócio-Econômicos no Ferro	49
5.2.7. Interações entre Ferro, Zinco e Cobre	49
5.3. Zinco	51
5.3.1. Influência de Fatores Nutricionais no Zinco	52
5.3.2. Influência de Fatores Obstétricos no Zinco	52
5.3.3. Influência de Fatores Ligados à Amamentação no Zinco	53
5.3.4. Influência de Fatores de Exposição a Tóxicos no Zinco	53
5.3.5. Influência de Fatores Demográficos no Zinco	54
5.3.6. Influência de Fatores Sócio-Econômicos no Zinco	54
5.3.7. Interações entre Zinco e Cobre	55
5.4. Cobre	56
5.4.1. Influência de Fatores Nutricionais no Cobre	56
5.4.2. Influência de Fatores Obstétricos no Cobre	57
5.4.3. Influência de Fatores Ligados à Amamentação no Cobre	58
5.4.4. Influência de Fatores de Exposição a Tóxicos no Cobre	58
5.4.5. Influência de Fatores Demográficos no Cobre	59
6. CONCLUSÕES	60
7. COMENTÁRIOS	62
8. BIBLIOGRAFIA	64
ANEXOS	

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

	Pág.
Tabela 1. Classificação do Estado Nutricional Atual de Acordo com o Indicador IMC.	13
Quadro 1. Prevalências de Deficiências dos Micronutrientes em Estudos, Relatadas por Outros Autores.	15
Tabela 2. Condições de Operações do Espectrômetro com Configuração Axial para as Determinações dos Minerais das Amostras de Leite Materno.	18
Tabela 3. Características Antropométricas e de Composição Corporal das Lactantes.	23
Tabela 4. Características Obstétricas.	24
Tabela 5. Hábito de Fumar, Consumo de Álcool	24
Tabela 6. Características Demográficas e Socio-Econômicas das Lactantes	25
Tabela 7. Concentrações Sanguíneas dos Micronutrientes nas Lactantes	26
Tabela 8. Médias e Desvios Padrão das Concentrações dos Micronutrientes em estudo no leite maduro.	27
Tabela 9. Correlações Estatisticamente Significantes entre Vitamina A no Leite e no Sangue e Variáveis Investigadas.	28

Tabela 10. Correlações Estatisticamente Significantes entre a Ferritina e Hemoglobina e Variáveis Investigadas	29
Tabela 11. Correlações Estatisticamente Significantes entre o Zinco no Leite Zinco sérico e Variáveis Investigadas.	29
Tabela 12. Correlações Estatisticamente Significantes entre o Cobre no leite e a Ceruloplasmina e Variáveis Investigadas	30
Tabela 13. Correlações (R) e p Valores Observados entre os Indicadores de Micronutrientes no Sangue e no Leite	31
Tabela 14. Modelos de Regressão Multivariada.	32

1. INTRODUÇÃO

O leite humano, além de ser considerado a melhor fonte de nutrientes para crianças, desempenha um papel muito importante na proteção imunológica contra doenças infecciosas e no desenvolvimento afetivo e psicológico (American Academy of Pediatrics 1978; VICTORA e col. 1987; DEWEY e col. 1990; MONTEIRO e col. 1990; GRANZOTO e col. 1992; VICTORA 1992; VICTORA 1996; GIUGLIANI e VICTORA 1997). Por esse motivo, é tido como padrão-ouro, quanto à composição e concentração de nutrientes, quando da formulação de produtos à base de leite e outros alimentos substitutos (BENEMARIYA e col. 1995). Porém, ao avaliarmos os muitos trabalhos, em várias partes do mundo e com metodologias comparáveis, que se propuseram a analisar a composição do leite humano, especialmente quanto a micronutrientes, observamos que os resultados mostram uma composição variável (BENEMARIYA e col. 1995; CONI e col. 1990; DOREA 2000; GROSS e col. 1998). Esta variabilidade de concentração de micronutrientes na composição do leite humano torna a avaliação do consumo alimentar de lactentes, por nutricionistas e pediatras, uma tarefa extremamente complicada (BENEMARIYA e col. 1995).

Dentre os micronutrientes constituintes do leite humano, alguns como o ferro e a vitamina A, por exemplo, quando em déficit no sangue materno, são reconhecidamente um problema de Saúde Pública, com uma maior prevalência nos países em desenvolvimento (GROSS e col.1998).

Outros elementos traço, como o zinco e o cobre, por serem componentes de uma grande gama de metaloenzimas e metaloproteínas, participam de muitos sistemas biológicos (BENEMARIYA e col. 1995). Ainda que as deficiências de zinco e cobre não recebam maior atenção em Saúde Pública, na Clínica podem assumir proporções importantes, o que justifica os esforços para obtenção de métodos mais precisos para se correlacionar suas concentrações no sangue e leite de nutrízes, bem como os fatores que determinam essas concentrações (IYENGAR 1981).

Sabe-se que a composição do leite humano varia conforme o estágio da lactação, hora do dia, se no início ou final da mamada (PICCIANO e GUTHRIE 1976; NEVILLE e col., 1984; YOSHINAGA e col. 1991), localização geográfica (PARR e col., 1991), características socio-econômicas (BENEMARIYA e col. 1995). No entanto, as investigações das variáveis nutricionais, sócio-econômicas, demográficas e obstétricas que podem influenciar tais alterações, ainda que norteiem a maioria das pesquisas com esse cunho, mostram-se controversas. Durante as duas primeiras semanas após o parto, no leite denominado colostro, ocorrem as mais drásticas alterações na composição e no volume, que de próximo a zero passa a 500mL por dia já na primeira semana (ARNAUD e FAVIER 1995). Os mesmos autores, estudando a concentração de alguns elementos traço no colostro, constataram que o elemento zinco sofre uma alteração significativa nesse período, pois atinge uma concentração máxima no segundo dia após o parto, entrando em seguida em declínio, com o decorrer do aleitamento. Para os elementos cobre e ferro, não foram observadas alterações significativas no estágio de lactação estudado, embora as suas concentrações também estivessem aumentadas, provavelmente para atender às necessidades do recém nascido que, neste período ingere um volume reduzido de leite quando comparado aos períodos mais avançados da amamentação. As concentrações de proteína, vitamina A, B12, K e imunoglobulinas também estão sensivelmente aumentadas no colostro, quando comparamos com o leite maduro, ou seja, o de vinte dias após o parto (Royal Soc Chem e MAFF 1991; MCCLELLAND e col. 1978).

De qualquer forma, os micronutrientes do leite humano maduro, apesar de encontrarem-se em baixas concentrações, são bem aproveitados pelo lactente, pelo seu alto grau de biodisponibilidade (LONNERDAL 1985).

Existem vários fatores nutricionais, demográficos, obstétricos e sócio-econômicos que, acreditam-se, sejam moduladores da secreção de micronutrientes no leite humano. Entre eles, o consumo alimentar ou estado nutricional da mãe (KARRA e col. 1988), estatura materna e peso da criança (YOSHINAGA e col. 1991), idade da

mãe e paridade (PICCIANO e GUTHRIE 1976), área onde reside a mãe (PARR e col. 1991) e duração da gestação (ROEKENS e col. 1985).

Para atender às necessidades de uma criança, o suprimento diário mínimo de vitamina A deveria ser de 180 equivalentes de retinol-ER (WHO/FAO 1988). Porém, segundo o National Research Council, EUA, (1989), para que seja estabelecido o estoque normal de vitamina A no fígado, a criança deveria receber 373 ER/dia no seu primeiro ano de vida. Segundo esta recomendação, 70% das mães não alcançam este limite (GROSS e col. 1998).

A deficiência de zinco em crianças pode prejudicar o crescimento e desenvolvimento, bem como aumentar a mortalidade infantil (GOOD 1989; KEEN e HURLEY 1989; GIBSON 1990) e perinatal, elevando a incidência e severidade de infecções, particularmente em crianças com baixo peso ao nascer e das geradas em gestações de risco (ALLEN 1994; SHANKAR e PRASAD 1998). O zinco apresenta uma interação muito importante com a vitamina A e o beta-caroteno, sendo sua deficiência um agravante nas patologias resultantes da deficiência de vitamina A (CHRISTIAN e WEST 1998).

As concentrações de ferro e cobre no leite humano são consideradas abaixo do necessário para o desenvolvimento e crescimento adequados do neonato. Acredita-se que essa lacuna seja suprida pelas reservas acumuladas pelo recém-nascido durante o desenvolvimento intra-uterino (WIDDOWSON e col. 1974; DONANGELO e col. 1993). GUTHRIE e PICCIANO, 1995, afirmam que em recém-nascidos, o estoque de ferro pode durar de três a seis meses. Mas, se pensarmos na importância desses elementos traço, não somente na eritropoiese, mas no caso do ferro, nas propriedades imuno-protetoras (THIBAUT e col. 1993; COOK e col. 1994; DHUR e col. 1989), ainda que o neonato possua algumas reservas, é importante se investigar os fatores relacionados com o suprimento desses micronutrientes pelo leite materno como uma ferramenta fundamental para controle da mortalidade de recém-nascidos.

Não obstante, ainda que uma vasta referência bibliográfica sobre composição em micronutrientes do leite humano esteja disponível, inclusive com trabalhos realizados no Brasil (TRUGO e col. 1988; DONANGELO e col. 1989; LEHTI 1990), pouco se sabe sobre o perfil micronutricional dos leites doados aos bancos de leite humano do país. GÓES e col., 2002 avaliaram a composição de alguns nutrientes do leite maduro doado a um banco de leite humano, bem com os efeitos da pasteurização e congelamento nestes nutrientes. No referido trabalho, os autores concluíram que as médias de concentração da maioria dos nutrientes avaliados atingiram os valores normais, mas que ocorreu uma redistribuição do elemento zinco pelas frações com as quais tem afinidade, o que poderia reduzir sua biodisponibilidade para o bebê. Mais recentemente, BORTOLOZO e col., 2004, com o objetivo de desenvolver um suplemento para ser adicionado ao leite de bebês nascidos com baixo peso, avaliaram alguns nutrientes de leite humano maduro, entre outros tipos já processados em dois bancos de leite humano, e concluíram que os níveis de nutrientes não satisfariam as necessidades de bebês nascidos com baixo peso.

O Brasil é um país pioneiro no estabelecimento de bancos de leite humano e vem desenvolvendo um padrão de excelência em qualidade. Esta qualidade não se restringe apenas a aspectos microbiológicos do leite doado, minimizando e eliminando de fato os riscos de disseminação de doenças. Pode-se também observar que a operacionalidade das instituições é eficiente na triagem de doadoras e na distribuição do leite a neonatos com risco real de comprometimento nutricional ou imunológico, seja por incapacidade de amamentação da mãe, prematuridade ou baixo peso do recém-nascido.

O conhecimento do perfil micronutricional do leite de bancos de leite humano constitui por si só, uma importante informação, levando-se em conta a finalidade deste leite. Além disso, as possíveis associações deste perfil micronutricional com fatores demográficos, obstétricos, sócio-econômicos e outros fatores nutricionais das doadoras, podem fazer emergir valiosas informações sobre o quanto estes fatores interferem na composição do leite materno, a exemplo de outros trabalhos.

As nutrizes selecionadas como doadoras pelos bancos de leite constituem um grupo especial de mulheres, pois a média de duração do período de amamentação deste grupo é sensivelmente maior que a observada no Brasil em geral, aproximando-se, e muitas vezes superando o recomendado por especialistas do mundo todo (KRAMER e KAKUMA 2005), ou seja, amamentação materna exclusiva até seis meses de vida.

As crianças nos primeiros anos de vida são um grupo de risco para anemia, sendo o ferro, juntamente com outros micronutrientes, um elemento-chave na eritropoiese (DEMAEYER e ADIELS-TEGMAN 1885; DEMAEYER e col. 1989). A anemia interfere nos processos de crescimento e desenvolvimento da criança, prejudicando o desenvolvimento mental, motor, e da linguagem, determinando alterações comportamentais e psicológicas, como falta de atenção, fadiga, insegurança e diminuição da atividade física (FILER 1990; LOZOF e col. 1991). A deficiência de ferro também é um fator que aumenta a suscetibilidade a infecções (COOK 1994). Em roedores com anemia ferropriva, foi observada a redução da função das células “Natural Killer”, bem como a diminuição da resposta de células B (DHUR 1989). Diversas alterações metabólicas podem decorrer da deficiência de ferro, com comprometimento da pele e mucosas, dos sistemas digestório e imunológico, o que vem a constituir a síndrome “enfermidade ferropriva” (TABOADA 1983).

A deficiência de vitamina A também é um problema de Saúde Pública, particularmente em países em desenvolvimento (GROSS e col. 1998). Esta vitamina tem função muito importante na diferenciação celular, anti-tumoral e como moduladora da imunidade (BATES 1993, 1995). RUMORE, 1993, em trabalho envolvendo crianças desnutridas, sugere que a vitamina A protege contra infecções virais, mais especificamente contra o sarampo. O retinol é necessário para o crescimento, diferenciação e integridade dos tecidos epiteliais, da visão, das funções imunológicas, e para a remodelação do tecido ósseo (OLSON 1996). Crianças com deficiência subclínica de vitamina A podem ter episódios de diarreia e distúrbios respiratórios exacerbados, provavelmente pelos danos nos epitélios e depressão do sistema imunológico (BLOEM e col. 1990; SOMMER e WEST 1996).

O zinco é um componente estrutural de muitas enzimas (JACKSON 1989; ZLATKO e col. 1997), atuando como cofator em importantes metaloenzimas envolvidas na síntese e reparação do DNA, integridade dos glóbulos vermelhos, metabolismo do osso e fígado e múltiplas reações de desidrogenase e carboxipeptidase. Seu papel na síntese de DNA faz dele um elemento essencial na divisão rápida de tecidos em fase de crescimento como a medula óssea e o timo (LEVY 1998). Em crianças com deficiência de zinco, observou-se um decréscimo na velocidade de crescimento linear e um déficit do desenvolvimento motor (PRASAD 1996). Estudos envolvendo animais com deficiência em zinco sugerem que este pode regular a proliferação de osteoblastos e osteoclastos (PLEBAN e col. 1985; LEEK e col. 1988), portanto, importante também para a remodelação do osso. AGGETT, 1994, sugere que as crianças nascidas com baixo peso seriam as mais vulneráveis às deficiências de zinco e cobre, do que as nascidas com peso dentro da faixa de normalidade. A deficiência de zinco pode contribuir para a diarreia, "rash", infecção e deficiência de vitamina A em crianças desnutridas (SIMMER e col. 1990). Em crianças desnutridas submetidas à reabilitação nutricional em Bangladesh, o zinco foi um fator importante para o ganho de peso (SIMMER e col. 1990). Casos de deficiência nutricional de zinco em lactentes de dois a seis meses de idade manifestaram-se como acrodermatites perioral e perineal, crescimento retardado e irritabilidade, acompanhado de baixos níveis deste elemento no sangue, em lactentes (AGGETT e col. 1980; MURPHY e col. 1985; BLOM e col. 1980; KURAMOTO e col. 1986).

O cobre desempenha funções essenciais na eritropoiese, sendo um constituinte do sistema citocromo oxidase (ZLATKO e col. 1997). A deficiência de cobre desequilibra a mobilização das reservas de ferro do fígado e o transporte plasmático de ferro como um componente da ceruloplasmina (OSAKI e col. 1966). Crianças com deficiência de cobre podem desenvolver anemia hipocrômica microcítica, que não responde a terapia com ferro, e é acompanhada de neutropenia e osteoporose (JIRAPINYO e col. 1985).

Os micronutrientes selecionados para esta investigação, conforme exposto anteriormente, desempenham funções específicas em sistemas orgânicos diferentes,

individualmente ou interagindo entre si e com outros nutrientes. Suas deficiências em populações de lactantes e crianças alimentadas exclusivamente com seus leites, sobretudo aquelas em risco de desnutrição, maiores consumidoras dos bancos de leite, podem apresentar prejuízos em seu desenvolvimento e crescimento, que devido às rápidas mudanças nesta fase precoce da vida podem não ser sanadas eficientemente.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral:

Investigar as associações entre fatores nutricionais, demográficos, obstétricos e sócio-econômicos das doadoras dos bancos de leite humano de Marília, SP, e as concentrações de vitamina A, ferro, zinco e cobre no sangue e no leite maduro.

2.2. Específicos:

- Avaliar as concentrações de vitamina A, ferro, zinco e cobre no leite maduro doado ao banco de leite humano de Marília, SP.
- Avaliar as concentrações de vitamina A, ferro, zinco e cobre no sangue de doadoras de leite do banco de leite humano de Marília, SP.
- Investigar as associações entre as concentrações de vitamina A, ferro, zinco e cobre do leite maduro, e fatores nutricionais, demográficos, obstétricos e sócio-econômicos de doadoras do banco de leite humano de Marília, SP.
- Investigar as associações entre as concentrações de vitamina A, ferro, zinco e cobre do sangue, e fatores nutricionais, demográficos, obstétricos e sócio-econômicos de doadoras do banco de leite humano de Marília, SP.
- Investigar as associações entre o consumo alimentar de vitamina A, ferro, zinco e cobre e suas concentrações no leite maduro de doadoras do banco de leite humano de Marília, SP.

- **Investigar as associações entre o consumo alimentar de vitamina A, ferro, zinco e cobre e suas concentrações no sangue de doadoras do banco de leite humano de Marília, SP.**

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. População em estudo

O banco de leite humano de Marília, conta, em média com 70 doadoras, com um ingresso e egresso mensal de aproximadamente 20 nutrízes. Todas as doadoras passam a integrar este quadro por livre e espontânea vontade, sendo convidadas pelos profissionais do banco de leite, após confirmação de que não possuem nenhum potencial de transmissibilidade de doenças infecto-contagiosas, confirmado por exame de sangue e entrevista. As futuras doadoras são então instruídas sobre como proceder à colheita e o armazenamento de leite. O leite pode ser colhido em vários horários ao longo do dia e pode ser estocado em um mesmo recipiente de vidro, fornecido pelo banco de leite, até que seja utilizada toda sua capacidade, que pode variar de 350 a 500mL, e mantido no congelador ou freezer doméstico.

Participaram deste estudo 161 doadoras do banco de leite humano de Marília, SP, que estavam produzindo leite maduro (no caso, entre 20 e 62 dias após o parto) e seus bebês, entre outubro de 2003 e agosto de 2004, após assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (em anexo).

3.2. Informações de interesse

Foram obtidas as seguintes informações através de questionário em anexo:

a) Fatores nutricionais

- 1) antropometria materna (peso, estatura e pregas cutâneas)
- 2) consumo alimentar

b) Fatores obstétricos

- 1) idade gestacional do recém-nascido
- 2) uso de contraceptivo oral, antes e após o parto
- 3) consumo de suplemento vitamínico na gravidez e puerpério
- 4) consumo de suplemento mineral na gravidez e puerpério

- 5) ocorrência de algum processo infeccioso nos últimos 30 dias
- 6) número de filhos
- c) Fatores ligados à amamentação
 - 1) tempo de amamentação
 - 2) tipo de amamentação (exclusiva ou mista)
- d) Fatores de exposição a tóxicos
 - 1) hábito de fumar
 - 2) consumo de bebida alcoólica
- e) Fatores demográficos
 - 1) grau formal de instrução
 - 2) idade da mãe
 - 3) estado civil
- f) Fatores sócio-econômicos
 - 1) renda *per capita*
 - 2) trabalho materno

O consumo alimentar das mães foi obtido através de um diário recordatório de 24 horas. O tempo de amamentação considerado foi idade do bebê.

Mães que já haviam parado de fumar também foram consideradas fumantes.

Para a aferição do peso das mães, foi utilizada uma balança solar portátil marca Soehnle® com capacidade de até 150 kg e sensibilidade de 100g, instalada em local firme, sem declives. Sem calçados e com roupas leves, as mães eram posicionadas no centro da balança, eretas, até que a leitura do peso corporal total fosse feita e anotada (FRISANCHO, 1990).

A estatura das mães foi determinada com antropômetro da CMS WEIGHING EQUIPMENT LTD®, com 2m e sensibilidade de 1mm. As mães permaneciam sem calçados, sem acessórios nos cabelos, em posição ereta e com a cabeça erguida, na linha de *Frankfort*, com os braços pendentes ao lado do corpo, calcanhares e dorso encostados no plano vertical da fita. A haste móvel do antropômetro era encostada sobre o couro cabeludo da mãe, e a medida registrada (FRISANCHO 1990).

As pregas cutâneas foram aferidas com adipômetro portátil, marca Lange®, com capacidade de 60mm e sensibilidade de 1mm. As medidas foram determinadas de acordo com a recomendação de Frisancho, 1990, como segue:

a) Tricipital (DCT) - a distância entre a projeção lateral do processo acromial e a margem inferior do processo olecraniano era medida no aspecto lateral do braço não dominante, com o cúbito flexionado a 90°. Utilizando uma fita métrica, o ponto médio era marcado na lateral do braço, a dobra era tomada um centímetro acima da linha marcada no aspecto posterior do braço e o adipômetro aplicado ao nível marcado;

b) Bicipital (DCBi) - a dobra era destacada sobre o ventre do bíceps braquial, no ponto médio do braço direito, em linha com a borda anterior do processo acromial e fossa cubital anterior. O adipômetro era aplicado um centímetro abaixo dos dedos;

c) Subescapular (DCSE) - ao longo da linha natural da pele, logo abaixo do ângulo inferior da escápula, do lado direito, o adipômetro era aplicado na dobra, um centímetro abaixo dos dedos;

d) Supra-íliaca (DCSI) - a dobra era destacada posteriormente à linha média axilar e sobre a crista íliaca, do lado direito, ao longo da linha natural da pele com o adipômetro aplicado um centímetro abaixo dos dedos.

3.3. Determinação do estado nutricional

Para a determinação do estado nutricional das doadoras, foram calculados o índice de massa corporal (IMC), padrão da OMS (1995 e 1997), conforme tabela 1, e porcentagem de gordura corporal.

TABELA 1. CLASSIFICAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL ATUAL DE ACORDO COM O ÍNDICE DE MASSA CORPORAL – IMC

Classificação	Valor do IMC (kg/m²)
Desnutrição grau III	< 16
Desnutrição grau II	16-16,9
Desnutrição grau I	17-18,4
Normal	18,5-24,9
Pré-obeso	25-29,9
Obesidade grau I	30-34,9
Obesidade grau II	35-39,9
Obesidade grau III	>40

Fonte: Organização Mundial da Saúde (1995 e 1997)

Para a determinação da porcentagem de gordura corporal foi utilizada a somatória das 4 pregas cutâneas e a tabela de DURNIN e WOMERSLEY, 1974, e classificado de acordo com LOHMAN, 1992, utilizando o intervalo de 8% como risco para doenças e desordens associadas à desnutrição, entre 9 e 22% como abaixo da média, 23% como ideal, de 24 a 31% como acima da média e 32% como risco para doenças associadas a obesidade.

Para o cálculo das necessidades dos micronutrientes em estudo, tanto das lactantes como dos lactentes, foram utilizadas as recomendações do FOOD NUTRITION BOARD, 2002, segundo as faixas etárias.

3.4. Consumo alimentar

Para o cálculo do recordatório de 24 hs foi utilizado o Software Diet Pro versão 4. As lactantes foram classificadas segundo a faixa etária (14 a 18, 19 a 30 e 31 a 50 anos de idade) e suas necessidades de ingestão diária dos micronutrientes, comparadas ao

recomendado pelo Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies , (2002).

3.5. Amostragem

Para o cálculo de amostragem foi utilizado o programa EPI INFO (Centers for Disease Control, CDC and World Health Organization 2001) baseando-se na menor prevalência de deficiência de um dos micronutrientes em estudo, no sangue de lactantes. Sendo assim, o valor considerado foi de 11,1%, a menor prevalência encontrada para a deficiência de zinco sérico, em estudo realizado por DONANGELO e col., 1989, em lactantes, 30 dias após o parto, segundo levantamento bibliográfico através da base de dados Medline para o período de 1974 até abril de 2003. Conforme o cálculo, a amostra requerida para este estudo com um nível de confiança (α) de 95%, um poder (β) de 80%, seria de 143 participantes, considerando-se a proporção de não-expostas (nível do micronutriente no sangue normal) e de expostas (nível de micronutriente no sangue abaixo do normal) de 10:1, uma freqüência esperada de nível baixo de zinco no leite de não-expostas de 20% e um risco relativo de 3,00.

No quadro 1, estão relacionadas algumas prevalências de deficiências dos micronutrientes que foram estudados neste projeto.

Em toda a revisão da literatura sobre o assunto não foi obtida a prevalência da deficiência de cobre.

QUADRO 1. PREVALÊNCIAS DE DEFICIÊNCIAS DOS MICRONUTRIENTES EM ESTUDOS, RELATADAS POR OUTROS AUTORES

Micronutriente	Prevalência da Deficiência	População Estudada	Autor	Referência:
Zinco	57%	Gestantes mexicanas	HUNT e col.	Am J Clin Nutr 1987;46:563-69
Zinco	25%	Lactantes indonésias	DIJKHUIZEN e col.	Am J Clin Nutr 2001;73:786-91
Zinco	11,1%	Gestantes brasileiras	DONANGELO e col.	Eur J Cli Nutr 1989;43:253-66
Zinco	17,7%	Gestantes espanholas	ORTEGA e col.	Eur J Clin Nutr 1997;51:253-58
Ferro	29,1	Lactantes indonésias	GROSS e col.	Eur J Clin Nutr 1998;52:884-90
Ferro	35,1%	Gestantes brasileiras	SZARFARC	Tese Livre Docência FSP-USP- 1983.
Ferro	38,4%	Parturientes brasileiras	ARRUDA	Tese de Mestrado – CCS -UFP - 1990
Ferro	50%	Lactantes indonésias	DIJKHUIZEN e col.	Am J Clin Nutr 2001;73:786-91
Vitamina A	18%	Lactantes indonésias	DIJKHUIZEN e col.	Am J Clin Nutr 2001;73:786-91
Vitamina A	23,6%	Parturientes brasileiras	RAMALHO e col.	Arch Latnoam Nutr 1999;49(4): 318-321.
Vitamina A	29,7%	Gestantes Indianas	VINUTHA e col.	Indian Pediatr 2000;37(11):1188-1193.
Vitamina A	23,7%	Lactantes indonésias	GROSS e col.	Eur J Clin Nutr 1998;52:884-90

3.6. Colheita e preparo das amostras

As participantes receberam um recipiente de plástico branco (leitoso, não transparente) para colheita da amostra de leite, com capacidade para 200mL (isento de traços de metal) e foram instruídas a colherem em torno de 20 mL através de expressão manual ou bomba manual, de várias tomadas, no início e no final da mamada, até a meia noite do dia em que as medidas antropométricas, a colheita de sangue venoso e a entrevista foram realizadas. Com isto procurou-se orientar a cobertura de leite de começo e fim de mamada e de diferentes horas do dia, apesar destas informações não poderem ser conferidas, pelas limitações típicas deste tipo de estudo. As amostras de leite eram armazenadas em congelador ou freezer domésticos e recolhidas no dia seguinte. Após separação em duas alíquotas, as amostras eram congeladas e encaminhadas ao Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas e ao Laboratório de Micronutrientes do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, onde eram armazenadas à -70 graus centígrados até o momento das análises.

As amostras de sangue foram colhidas através de punção venosa periférica com seringas e agulhas descartáveis e armazenadas em tubos com anticoagulantes (análise de hemoglobina), e em tubos secos (sem anticoagulante, para as outras análises). Todos os tubos utilizados eram isentos de traços de metais. Após centrifugação, o soro sanguíneo era separado em duas alíquotas, congeladas e encaminhadas para o Laboratório de Análises Clínicas Labclin, em Indaiatuba, São Paulo, onde foram realizadas as análises de ferro, ferritina, transferrina, zinco, cobre, e ceruloplasmina, e para o Laboratório de Micronutrientes do Depto. de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, onde eram armazenadas à -70 graus centígrados até o momento das análises de vitamina A. Para a análise da concentração de hemoglobina, o sangue era enviado no mesmo dia ao Laboratório São Francisco de Análises Clínicas S/C Ltda, em Marília, São Paulo.

3.7. Determinação de ferro, zinco e cobre no leite

A preparação da amostra foi adaptada de DONANGELO e col., 1989. Pipetou-se 3,00 mL de cada amostra com três repetições analíticas em cápsula de porcelana, em seguida, a amostra foi seca em chapa de aquecimento e posteriormente incinerada em forno mufla a 450°C por 4 horas até a formação de cinzas brancas. As cinzas foram dissolvidas em 2,5 mL de ácido nítrico concentrado e transferidas quantitativamente para balão volumétrico de 50 mL avolumando-se com água bidestilada.

A curva analítica de calibração foi preparada pela diluição de solução 1.000 mg L⁻¹ em solução de ácido nítrico (Merck) 5% (v/v) para concentração final de 0,01 a 2,5 mg L⁻¹ de Cobre, ferro e zinco.

Para a quantificação dos minerais, ferro, cobre e zinco foi utilizado um espectrômetro de emissão ótica com plasma de argônio induzido (ICP OES). O equipamento utilizado foi um ICP OES simultâneo, com visão axial VISTA MPX, VARIAN (Mulgrave, Australia). Para a nebulização das soluções foi empregado um nebulizador concêntrico (sea spray) acoplado a uma câmara ciclônica. As condições ótimas para determinação multielementar foram estabelecidas para o elemento manganês, conforme recomendação do fabricante. Os parâmetros instrumentais utilizados estão descritos na tabela 2.

Os comprimentos de onda (nm) usados foram: cálcio 317,933; cobre 324,754; magnésio 279,553; fósforo 178,28; ferro 259,94; manganês 293,931; potássio 766,491; zinco 206,20; sódio 589,592; fósforo 213,618.

TABELA 2. CONDIÇÕES DE OPERAÇÕES DO ESPECTRÔMETRO COM CONFIGURAÇÃO AXIAL PARA AS DETERMINAÇÕES DOS MINERAIS DAS AMOSTRAS DE LEITE MATERNO

Potência do plasma (Kw)	1,0
Gás refrigerante (Ar) (L min ⁻¹)	15
Gás auxiliar (Ar) (L min ⁻¹)	1,5
Pressão do nebulizador ^b (kPa)	200
Gerador de rádio frequência (MHz)	40
Tempo de estabilização (s)	10
Tempo de leitura (s)	10

3.8. Determinação de vitamina A no sangue e no leite

Para as determinações da vitamina A, foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC), da marca Shimadzu, conforme metodologia descrita por Erhardt e col. (2002). O aparelho conta de bomba LC-IOAD, controlador SCL-IOA, detector UV visível SPD-IOA com lâmpada de deutério (D2) programado para ler em 325nm, software CLASS VP, coluna HPLC - Phenomenex Synergi: 4u fusion RP 150 x 4.60mm - C 18, pré coluna Security Guard cartridges Kit - KJO 4287 Phenomenex, looping de 20µl e injetor manual, do Laboratório de Micronutrientes do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. O padrão utilizado foi all trans retinol, 95% de pureza, Sigma Pharma. A curva de calibração foi construída a partir da solução de estoque, feita com retinol, com as seguintes concentrações confirmadas através de espectrofotometria: 4,54; 2,27; 1,13; 0,56; 0,28; 0,14; 0,07; 0,03 µmol/L.

Para o soro sangüíneo, a extração da vitamina A foi realizada com a adição de 200µl de acetonitrila a 100 µl de soro. Após agitação em agitador elétrico (Biomixer mult-mixer MVS 1), durante 5 segundos e centrifugação (Eppendorf Centrifuge 5415 C) durante 8 minutos a 12.000 rotações/minuto, no mínimo 50 µl do sobrenadante foi injetado no HPLC eluído com fase móvel de acetonitrila/dioxano/metanol. Em

quarenta e quatro por cento das amostras a vitamina A foi determinada em duplicata para testar a reprodutibilidade do método.

Para o leite, foi utilizado método simplificado adotado por CASSETARI e col., 2001. No referido método, uma alíquota de 500µl de leite materno é incubada por uma noite com 500µl de solução de etanol e hidróxido de potássio (4 Mol/L). Acrescenta-se então, 2 mL de acetonitrila com 5% de ácido acético por volume e agita-se vigorosamente. Após separação das suas fases, toma-se 50µl do sobrenadante e injeta-se no HPLC. Neste caso a eluição foi feita em fase móvel de acetonitrila/dioxano/metanol (82%,15%,3%) no lugar de metanol/água (95:5, vol:vol), do método original. Ao metanol foi acrescentado 100 Mm de acetato de amônio e 0.1% de trietilamina para melhor definição dos picos. Em trinta e dois por cento das amostras a vitamina A foi determinada em duplicata para conferência de reprodutibilidade do método.

3.9. Análises bioquímicas no sangue

3.9.1. Ceruloplasmina

material:soro

método nefelometria, valor de referência, de 25,0 a 63,0 mg/dl.

3.9.2. Zinco

material: soro

método, espectrofotometria com absorção atômica, com forno de grafite e correção de fundo pelo sistema Zeeman background, valor de referência, 70,0 a 120,0 µg%.

3.9.3. Transferrina

material: soro

método nefelometria, valor de referência, de 212,0 a 360,0 mg/dl.

3.9.4. Ferro

material: soro

método colorimétrico com ferrozine/ácido ascórbico, valor de referência, 49,0 a 151,0 $\mu\text{g/dl}$.

3.9.5. Cobre

material: soro

método, espectrofotometria com absorção atômica, com forno de grafite e correção de fundo pelo sistema Zeeman background, valor de referência de 85 a 155 $\mu\text{g/dl}$.

3.9.6. Ferritina

material: soro

método, quimioluminescência, valor de referência, 10 a 291 ng/ml .

3.10. Análises hematológicas

A concentração de hemoglobina foi avaliada através de contagem eletrônica em contador automático CELL-DYN 1400.

3.11. Análises estatísticas

Os dados obtidos neste estudo foram analisados através de estatística descritiva e a associação existente entre as variáveis de interesse foi avaliada através de análise de correlação e de regressão linear multivariada, fixando-se a concentração de cada elemento como variável dependente, e cada um dos fatores demográficos, nutricionais, obstétricos e sócio-econômicos como independentes. A correlação de Pearson foi utilizada para avaliação da associação entre as concentrações de micronutrientes no sangue, leite materno e consumo alimentar da mãe, e cada um dos

fatores demográficos, nutricionais, obstétricos e sócio-econômicos. O Teste de Goodman é um estudo de contrastes de proporções multinomiais. Esta técnica fixou a classe de resposta e realizou contraste entre proporções dos grupos comparados possibilitando fixar grupo e realizar comparações dentro do mesmo.

O nível de significância utilizado neste estudo foi de 5%. O programa BioEstat foi utilizado para estatística descritiva e para a análise de regressão multivariada.

3.12. Questões éticas

Este projeto obteve parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo em 19/02/2002, baseado na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde do Brasil.

4. RESULTADOS

4.1. Características gerais

Neste estudo foram avaliadas 161 mães. Por motivo de hemólise do sangue, não foi possível realizar algumas análises das mães. Do mesmo modo, algumas mães não forneceram a amostra de leite. Obviamente essas análises ficaram incompletas, mas nenhuma participante foi excluída da pesquisa por este motivo. Todas as mães alegaram plena saúde física, assim como a de seus bebês, nenhum dos quais apresentando sinais aparentes de infecção. Todos os cálculos estatísticos foram realizados com dados de 150 mães em média.

A tabela 3 mostra as principais características antropométricas das mães avaliadas. Através da classificação do IMC observa-se uma importante proporção de mães pré-obesas (31%), e obesas em algum grau (11,8%). Pela avaliação da porcentagem de gordura corporal dessas mães verificou-se que 72,2%, uma proporção considerável desta população estaria em risco de apresentar doenças associadas à obesidade. Importante destacar que o acúmulo de gordura na gestação para o processo de amamentação, fenômeno natural e esperado, torna as classificações acima inapropriadas.

TABELA 3. CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS E DE COMPOSIÇÃO CORPORAL DAS LACTANTES

IMC	Número de mães	%
Desnutrida II	1	0,62
Desnutrida I	4	2,5
Normal	87	54,1
Pré-obesa	50	31
Obesa I	14	8,7
Obesa II	4	2,5
Obesa III	1	0,62
% de gordura corporal das mães		
Abaixo da média	4	2,6
Ideal	3	1,9
Acima da média	37	23,9
Associado a obesidade	111	72,2

As características obstétricas apresentadas na tabela 4, mostram que a maioria das mães tomou algum suplemento vitamínico ou mineral durante a gestação, 88,2%, e que 87% tomaram contraceptivo oral até decidirem engravidar. O parto cesário ocorreu em maior frequência (71,4%) do que o parto normal, e uma proporção importante de 13% de nascimentos prematuros foi registrada nesta população. Mães primíparas constituíram 56,5% na amostra estudada. Ainda na tabela 4 observa-se que 81,9% das mães praticavam a amamentação exclusiva ou predominante (sem substituição de mamada)

TABELA 4. CARACTERÍSTICAS OBSTÉTRICAS

Consumo de suplemento	Gestação n (%)	lactação n (%)
Sim	142 (88,2%)	35 (21,7%)
Não	19 (11,8%)	126 (78,2%)
Total	161	161
Uso de contraceptivo oral	número de mães	%
Sim	140	87,0
Não	21	13,0
Total	161	100
Tipo de parto	número de partos	%
Normal	46	28,6
Cesariana	115	71,4
Total	161	100
Tempo de gestação	número de bebês	%
Prematuros	21	13
A termo	140	87
Total	161	100
Quantidade de filhos	número de mães	%
1	91	56,5
2	53	32,9
3	9	5,6
4	5	3,1
7	2	1,2
Sem resposta	1	0,6
Média	1,61	0,96 (DP)
Tipo de amamentação		
Exclusiva	132	81,9
Mista	29	18
Total	161	100

DP = desvio padrão

O consumo de bebida alcoólica foi referido como socialmente por 27,3% das mães, e 13,7% referiram fumar cigarros (tabela 5).

TABELA 5. HÁBITO DE FUMAR E CONSUMO DE ÁLCOOL

Consumo de álcool	número de mães	%
Sim	44	27,3
Não	117	72,7
Hábito de fumar		
Sim	22	13,7
Não	139	86,3

Na tabela 6 estão apresentadas informações demográficas e socio-econômicas. Mães casadas ou vivendo em união estável constituíram 83,8% da amostra. Quanto ao grau formal de ensino, 66,3% tinham o ensino médio ou mais.

TABELA 6. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E SOCIO-ECONÔMICAS DAS LACTANTES

Estado civil	Número de mães (n=161)	%
Casada	97	60,2
União estável	38	23,6
Solteira	24	14,9
Divorciada ou separada	2	1,2
Ocupação	Número de mães	%
Trabalhadora ativa	75	46,6
Desempregada ou dona de casa	86	53,4
Renda per capita em salário mínimo (sm) – aproximado	Número de mães	%
Sem renda	2	1,2
Até meio sm	25	15,5
Acima de meio e até 1 sm	28	17,4
Acima de 1 e até ½ sm	38	23,6
Acima de ½ e até 2 sm	24	14,9
2,5 sm	7	4,3
De 3 a 4 sm	17	10,5
De 5 a 10 sm	9	5,6
Não informado	11	6,8
Escolaridade	Número de mães	%
Fundamental incompleto	18	11,1
Fundamental completo	31	19,2
Médio incompleto	5	3,1
Médio completo	80	49,6
Superior incompleto	2	1,2
Superior completo	25	15,5
Idade das mães	Média e desvio padrão	Moda e mediana
Minima = 15 anos Máxima = 41 anos Coeficiente de variação = 21,9%	27,1 ± 5,9 anos	27 anos

As médias dos indicadores dos micronutrientes no sangue estão apresentadas na tabela 7. Através de teste estatístico foi constatado que a média de concentração de

vitamina A difere significativamente conforme as faixas etárias consideradas (abaixo de 19, de 19 a 30 e acima de 30 anos).

TABELA 7. CONCENTRAÇÕES SANGUÍNEAS DOS MICRONUTRIENTES EM ESTUDO NAS LACTANTES

Indicadores sanguíneos	Faixa etária (anos)		
	Abaixo de 19 anos (n = 14)	De 19 a 30 anos (n = 109)	Acima de 30 anos (n = 38)
Zinco (µg %)	90,53 ± 13,86 A	92,97 ± 11,50 A	90,43 ± 16,46 A
Transferrina (mg/dl)	230,22 ± 18,42 A	248,27 ± 34,28 A	245,31 ± 20,23 A
Ferro sérico (µg/dl)	100,78 ± 36,10 A	86,92 ± 40,43 A	98,00 ± 33,19 A
Ferritina (ng/mL)	30,71 ± 9,64 A	48,89 ± 31,11 A	76,26 ± 49,32 A
Ceruloplasmina (mg/dl)	31,16 ± 4,33 A	34,43 ± 5,60 A	33,79 ± 4,79 A
Vitamina A (µmol/l)	0,61 ± 0,19 A	0,76 ± 0,19 B	0,88 ± 0,22 C
Cobre (µg/dl)	104,20 ± 14,69 A	109,42 ± 18,30 A	108,85 ± 19,98 A
Hemoglobina (g/dl)	13,29 ± 1,47 A	12,93 ± 1,59 A	12,72 ± 1,17 A

Obs. - Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si.

As médias de concentração dos micronutrientes encontradas no leite maduro estão apresentadas na tabela 8.

TABELA 8. MÉDIAS E DESVIOS PADRÃO DAS CONCENTRAÇÕES DOS MICRONUTRIENTES EM ESTUDO NO LEITE MADURO

Micronutrientes	Média	Desvio padrão
Vitamina A ($\mu\text{mol/L}$)	1,19	0,69
Ferro (mg/L)	0,35	0,33
Zinco (mg/L)	2,65	1,10
Cobre (mg/L)	0,30	0,12

4.2. Proporções

No teste de proporções de Goodman feito entre fumantes e não-fumantes em relação à concentração dos micronutrientes ficou constatado que a proporção de mães com concentração de vitamina A sérica inferior ao recomendado era maior entre as que fumavam, com um nível de confiança de $p < 0,01$. Da mesma forma, a proporção de concentração de hemoglobina abaixo do recomendado foi maior nas fumantes, com nível de confiança de $p < 0,05$. A proporção de mães com a concentração de ferro no leite abaixo do recomendado também foi maior entre as que fumavam ($p < 0,05$).

As mães que viviam com seus companheiros, casadas ou em união estável, apresentavam maiores concentrações no sangue de transferrina, ferro, ferritina, hemoglobina e vitamina A em relação às mães que não viviam com seus companheiros ($p < 0,05$). Do mesmo modo, mães vivendo com seus companheiros apresentavam maiores concentrações de zinco no leite ($p < 0,05$).

4.3. Correlações

4.3.1. Correlações dos fatores em estudo e indicadores da vitamina A

As correlações estatisticamente significativas entre os fatores investigados e indicadores da vitamina A estão apresentados na tabela 9. A vitamina A sérica teve correlação positiva com suplemento ingerido durante a gestação atribuindo-se 1 para mães que ingeriam suplementos na gestação e 2 para as que não ingeriram.

Foi observada correlação positiva entre trabalho materno e vitamina A no leite, atribuindo-se 2 para mães que trabalham e 1 para as que não trabalham.

TABELA 9. CORRELAÇÕES ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTES ENTRE VITAMINA A NO LEITE E NO SANGUE E VARIÁVEIS INVESTIGADAS

Fatores	Vit. A no leite		Vit. A sérica	
	r	p	r	P
Tempo de amamentação	-0,2783	0,0010	-	-
Suplemento na gestação	-	-	0,1691	0,0482
Trabalho materno	0,2095	0,0133	-	-
Idade materna	-	-	0,1838	0,0321
Ingestão de cobre	-	-	-0,1675	0,0482

4.3.2. Correlações dos fatores em estudo e indicadores do ferro

A hemoglobina teve correlação positiva com o tipo de parto, atribuindo-se 1 para parto normal e 2 para cesáreo. E a ferritina teve correlação negativa com suplemento durante a gestação atribuindo-se 1 para mães que ingeriam suplementos na gestação e 2 para as que não ingeriram. Estas informações estão apresentadas na tabela 10.

TABELA 10. CORRELAÇÕES ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTES ENTRE A FERRITINA E HEMOGLOBINA E VARIÁVEIS INVESTIGADAS

Fatores	Ferritina		Hemoglobina	
	r	p	r	P
Gordura corporal da mãe	0,2131	0,0130	-	-
Suplemento na gestação	0,1680	0,0496	-	-
Tipo de parto (cesário)	-	-	0,2139	0,0123
Trabalho materno	0,1934	0,0225	-	-
Idade da mãe	0,3041	0,0003	-	-
Grau formal de instrução	0,1675	0,0439	-	-
Número de filhos	-	-	0,1681	0,0495
Ingestão de zinco	-0,1905	0,0257	-0,1695	0,0476

4.3.3. Correlações dos fatores em estudo e indicadores do zinco

A tabela 11 mostra as correlações significativas entre os indicadores de zinco no leite e no sangue e os fatores em estudo. Zinco sérico teve correlação negativa com hábito de fumar, atribuindo-se 1 para não-fumantes e 2 para fumantes.

TABELA 11. CORRELAÇÕES ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTES ENTRE ZINCO NO LEITE E ZINCO SÉRICO E VARIÁVEIS INVESTIGADAS

Fatores	Zinco no leite		Zinco sérico	
	r	p	r	P
Tempo de amamentação	-0,2370	0,0053	-	-
Hábito de fumar	-	-	-0,1728	0,0433
Número de filhos	-0,1765	0,0391	-	-
Ingestão de vit. A	0,1947	0,0379	-	-

4.3.4. Correlações dos fatores em estudo e indicadores do cobre

A ceruloplasmina teve correlação positiva com consumo de álcool, atribuindo-se 2 para mães que consomem álcool e 1 para mães que não consomem. A tabela 12 mostra as correlações significativas observadas entre indicadores do cobre e os fatores estudados.

TABELA 12. CORRELAÇÕES ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTES ENTRE O COBRE NO LEITE E CERULOPLASMINA E VARIÁVEIS INVESTIGADAS

Fatores	Cobre no leite		Ceruloplasmina	
	r	p	r	P
Tempo de amamentação	-0,2364	0,0054	-	-
Consumo de álcool	-	-	0,0835	0,03302
Ingestão de cobre	-	-	0,2038	0,0164

4.3.5. Correlações entre os indicadores dos micronutrientes no sangue, no leite e ingeridos

Ingestão de zinco e teve correlação positiva com ingestão de vitamina A ($r = 0,1955$, $p = 0,0220$), com ingestão de ferro ($r = 0,5434$, $p = 0,0000$), e com ingestão de cobre ($r = 0,5585$, $p = 0,0000$). Ingestão de ferro teve correlação positiva com ingestão de cobre ($r = 0,4907$, $p = 0,0000$). Ingestão de cobre teve correlação positiva com ingestão de vitamina A ($r = 0,3730$, $p = 0,0000$). A tabela 13 mostra outras correlações estatisticamente significativas encontradas entre os indicadores dos micronutrientes utilizados neste estudo.

TABELA 13. CORRELAÇÕES SIGNIFICATIVAS (R) E P VALORES OBSERVADOS ENTRE OS INDICADORES DE MICRONUTRIENTES NO SANGUE E NO LEITE

	Ferritina		Ceruloplasmina		Hb		Cu sérico		Vit. A no leite	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Zn sérico	0,2260	0,0079	-0,2255	0,0080	-	-	-	-	-	-
Fe sérico	-	-	-0,3032	0,0003	0,0427	0,0000	-0,3032	0,0003	-	-
Cu sérico	-	-	0,6356	0,0000	-0,3753	0,0000	-	-	-	-
Vit. A sérica	0,1973	0,0203	-	-	-	-	-	-	-	-
Zn leite	-	-	0,1825	0,0328	-	-	-	-	-	-
Fe leite	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1818	0,0327

4.4. Modelos de regressão linear multivariada

Foram realizadas análises multivariadas (regressão linear), para alguns dos indicadores dos micronutrientes em estudo. Em alguns casos, certas variáveis foram deixadas no modelo, mesmo não tendo um “p” significativo (tabela 14).

TABELA 14. MODELOS DE REGRESSÃO MULTIVARIADA

	Coefficiente parcial de regressão	p	R2 ajustado
Vitamina A sérica			
- Idade da mãe	0,0222	0,0000	0,8377
- Consumo de álcool	0,0804	0,0028	
Vitamina A no leite			
- Hábito de fumar	0,5782	0,0000	0,4693
- tempo de amamentação	-0,0021	0,5596	
- Cobre ingerido	0,3033	0,0000	
Hemoglobina			
- Gordura da mãe	0,1127	0,0001	0,95
- Idade gestacional	0,2275	0,0000	
Ceruloplasmina			
- Idade gestacional	0,0150	0,0696	0,6995
- Ingestão atual de suplementos	0,1139	0,3016	
- Ingestão de cobre	0,0442	0,0000	
- Ingestão de ferro	-0,0167	0,0313	
- Ingestão de zinco	0,027	0,0011	
- Ingestão de vit. A	0,016	0,0000	
Cobre no leite			
- Tempo de amamentação	-0,0026	0,0009	0,6894
- Ceruloplasmina	0,0055	0,0000	
- Hemoglobina	0,0159	0,0000	

5. DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho evidenciam que a complexidade do processo da amamentação se torna cada vez maior diante de cada nova informação que emerge das mais variadas pesquisas concernentes a este tema.

As lactantes selecionadas para este estudo propositadamente não pertenciam a uma população com deficiências nutricionais conhecidas, ou em dificuldades outras que comprometessem o ato de amamentar com vistas ao crescimento e desenvolvimento adequados de seus bebês e manutenção de sua própria saúde. Ao contrário, essas mães, conforme exposto anteriormente, pertenciam a um grupo selecionado por profissionais da Saúde absolutamente envolvidos com a manutenção da prática saudável do aleitamento materno, os do Banco de Leite Humano, portanto sendo mulheres que supostamente gozavam de plena saúde para esta prática, e eram assistidas muito proximamente por estes profissionais. Neste aspecto, este trabalho diferiu da maioria, onde o enfoque era justamente em grupos de lactantes com deficiências nutricionais conhecidas, ou pré-investigadas, ou pertencentes a regiões ou populações de risco para deficiências em micronutrientes, muitas vezes visando uma intervenção com estudo de coorte.

O critério “doadoras de banco de leite” para a escolha do grupo para o estudo visou à investigação de fatores que influenciam a concentração de vitamina A, ferro, zinco e cobre no leite humano em condições normais, uma vez que, entre pessoas saudáveis e aquelas com alguma deficiência nutricional, especialmente nos casos mais graves, o comportamento bioquímico destes micronutrientes no organismo pode ser bastante diferente.

Mas, a despeito do critério de seleção para o estudo, lactantes constituem grupo de risco para deficiências nutricionais (ETTYANG e col. 2003) especialmente em países em desenvolvimento, ainda que a qualidade de vida sinalize um organismo saudável. Por isto, não surpreende de todo os resultados de deficiências encontrados neste estudo.

5.1. Vitamina A

A média sérica encontrada para a vitamina A foi de 0,78 $\mu\text{mol/L}$, comparável, mas abaixo da média encontrada por NCUBE e col., 2001, investigando lactantes do Zimbabwe (0,873 $\mu\text{mol/L}$). Naquele trabalho 40% das lactantes estavam deficientes ao considerar o ponto de corte de 0,7 $\mu\text{mol/L}$ para deficiência. Com o mesmo ponto de corte, 25% das mães no presente estudo foram consideradas em risco, estando duas participantes com deficiência grave (abaixo de 0,35 $\mu\text{mol/L}$). Mas considerando 1,05 $\mu\text{mol/L}$ como ponto de corte, 90% das lactantes foram classificadas como em risco de deficiência de vitamina A, sendo que 65,5% estavam em risco moderado de deficiência, tendo suas concentrações entre 0,7 e 1,05 $\mu\text{mol/L}$, e 25% abaixo de 0,7 $\mu\text{mol/L}$, em risco grave de deficiência, de acordo com os pontos de corte definidos para adultos (NEWMAN 1993).

No leite, a média de concentração encontrada foi 1,19 $\mu\text{mol/L}$, bastante próximo à média encontrada por GÓES e col., 2002, que também avaliaram leite maduro de bancos de leite humano, antes e após a pasteurização e congelamento das amostras avaliadas. As médias também são comparáveis com as referidas para o Canadá (1,188 $\mu\text{mol/L} \pm 0,066$), Chile (1,242 $\mu\text{mol/L} \pm 0,085$) e Japão (1,230 $\mu\text{mol/L}$, $\pm 0,063$) em estudo de CANFIELD e col., 2003, que avaliou a concentração de carotenóides no leite de lactantes de nove países. A proporção de mães com concentrações de vitamina A abaixo do recomendado (1,05 $\mu\text{mol/L}$) no leite avaliado foi de 49,6%. Tomando este parâmetro para classificar esta população quanto a prevalência de deficiência de vitamina A, conforme recomendações do IVACG (International Vitamin A Consultative Group), estamos diante de um quadro de gravidade, ou seja mais de 25% desta população encontra-se com deficiência.

Se adotado critério recomendado pelo National Research Council, EUA, (1989), ou seja, 373 ER/dia, correspondendo a 1,30 $\mu\text{mol/dia}$ no seu primeiro ano de vida, a proporção de mães produzindo leite deficiente em vitamina A neste trabalho sobe para 66,9%, e confirma os achados de GROSS e col., 1998, que apontaram para um total de 70% de lactantes abaixo deste limite.

Sabendo que a primeira causa de deficiência em vitamina A em crianças é a deficiência materna, este resultado torna-se alarmante (MILLER e col. 2002). STOLTZFUS e col. 1993, mostram uma associação importante entre concentrações de vitamina A no leite abaixo de 1,05 $\mu\text{mol/L}$ e prevalência de deficiência de vitamina A em crianças com seis meses de idade.

5.1.1. Influência de fatores nutricionais na vitamina A

Neste trabalho, não foi encontrada correlação significativa entre a vitamina A no leite e no sangue, conforme muitos trabalhos referem (STOLTZFUS e UNDERWOOD 1995; GROSS e col. 1998; HASKELL & BROWN 1999; DIJKHUIZEN e col. 2001), mesmo 16,2% das mães constando como deficientes em ambos indicadores. No entanto, algumas publicações referem-se à propriedade de manutenção da qualidade do leite humano, pelo menos em condições de deficiência moderada (GEBRE-MEDHIN e col 1976; HASKELL e BROWN 1999), o que explicaria, em parte, uma associação pouco significante neste estudo.

A quantidade de vitamina A ingerida não apresentou associação com a vitamina A sérica ou do leite. Alguns autores afirmam existir uma nítida elevação nos níveis séricos de vitamina A após ingestão de altas doses do micronutriente, mas que a duração desta elevação é dependente da interação da dose ingerida com o nível de resposta hepática, e que, em indivíduos com níveis hepáticos normais de retinol, a redução ou privação completa de vitamina A na dieta não altera sua concentração sérica (UNDERWOOD 1994; GONÇALVES-CARVALHO e col. 1997; DINIZ e SANTOS 2000). Estas informações sugerem cautela na interpretação de dados de dieta alimentar obtidos de apenas um recordatório de 24 horas, como neste caso, mesmo sendo o nível sérico ou plasmático de vitamina A o indicador mais comumente utilizado na avaliação do estado nutricional deste micronutriente em populações.

A avaliação da ingestão de micronutrientes neste trabalho foi baseada em um diário recordatório de 24 horas apenas, pois diários mais dias, dependeriam de um envolvimento maior de mães que se encontravam em rotina doméstica bastante sobrecarregada com os cuidados com o novo bebê.

CHAPPELL e col., 1985, também não encontraram associações entre a quantidade de vitamina A e caroteno ingeridos, referido pelas mães, e suas respectivas concentrações no leite, em um trabalho com nutrizas saudáveis e bem acompanhadas por profissionais da saúde. Alguns autores (VAHLQUIST e NILSSON 1979; DAVILA e col. 1985), trabalhando experimentalmente com modelos animais apontaram para uma associação positiva entre a quantidade de vitamina A ingerida e sua concentração no leite, que poderia ser explicada pela transferência direta para as glândulas mamárias, da vitamina A absorvida no intestino delgado e ligada aos quilomicrons. Portanto, a vitamina A não estaria sendo liberada de depósitos do fígado ligada a proteína de ligação, necessariamente. Nestes experimentos, porém, esta relação foi evidente naqueles animais que ingeriram uma quantidade muito acima da usual na dieta.

5.1.2. Influência de fatores obstétricos na vitamina A

A ingestão de polivitamínicos e/ou poliminerais durante a gestação teve um efeito positivo na concentração sérica de vitamina A, mas não teve nenhum efeito significativo sobre a concentração da vitamina A no leite. O consumo de polivitamínicos e/ou poliminerais durante a amamentação não teve efeito na vitamina A do leite nem do sangue. Estes resultados não podem ser confundidos com os obtidos após suplementação com uma dose pré-estabelecida ou de alimentos fortificados com vitamina A, uma vez que esta informação foi apenas referida pelas mães, e sem distinção entre a composição do suplemento.

De qualquer forma, muitos trabalhos que investigaram os efeitos da suplementação com vitamina A nos níveis séricos e no leite, apontam para um efeito positivo.

VINUTHA e col., 2000, obtiveram resultados positivos em manter níveis adequados de vitamina A sérica e no leite de mães que receberam dose única de vitamina A nas 48 horas após o parto. Recentemente, BASU e col., 2003, em um estudo de suplementação com uma única mega-dose de vitamina A, imediatamente após o parto, a lactantes indianas de baixa renda, obtiveram resultados positivos na manutenção de níveis adequados de vitamina A no leite nos primeiros seis meses de aleitamento, não registrando nenhum caso de deficiência em vitamina A no grupo de suplementados (mães e seus bebês). Resultados semelhantes foram descritos por BAHL e col., 2002, que ministraram doses de vitamina A, a lactantes da Índia e do Peru. No referido estudo observou-se que as lactantes suplementadas tiveram maior concentração de retinol dois meses após o parto. Em oposição aos resultados acima citados, VILLARD e BATES, 1987, não encontraram efeito significativo da suplementação com vitamina A no leite de mães de classes desfavorecidas em Gambia, África.

Considerando que a maioria das mães deste trabalho ingeriu algum tipo de suplemento na gestação (88,2%), e supondo que boa parte destes suplementos continha vitamina A em sua fórmula, pode-se inferir que estas mães tiveram seus estoques de vitamina A reforçados. Já a proporção de mães que estavam ingerindo algum tipo de suplemento durante a amamentação não foi expressiva (21,7%) e, somando-se a este fato, o tipo de suplemento não foi mencionado, o que impossibilita afirmar, através destes resultados, a existência ou não de associação entre vitamina A ingerida e vitamina A sérica ou no leite.

5.1.3. Influência de fatores ligados à amamentação na vitamina A

O tempo de amamentação teve significativa associação negativa com o nível de vitamina A no leite, confirmando, portanto, que com o avançar do tempo de amamentação existe a tendência de diminuição da concentração deste micronutriente no leite. Este resultado está de acordo com os estudos de GROSS e col., 1998, que investigaram este micronutriente em mães da Indonésia. Embora DIJKHUIZEN e

col., 2001, não tenham observado associação significativa entre duração da amamentação e redução da concentração de vitamina A no leite.

5.1.4. Influência de fatores de exposição a tóxicos na vitamina A

No teste de proporções feito entre fumantes e não fumantes, em relação à concentração dos micronutrientes, ficou constatado que a proporção de mães com concentração de vitamina A sérica inferior ao recomendado era maior nas mães que fumavam. O consumo de álcool também contribuiu, mas positivamente, para a concentração de vitamina A sérica, no modelo de regressão multivariada, ou seja, mães que consumiam álcool, neste caso, apenas socialmente, tiveram níveis de vitamina A sérica mais elevados.

No leite, a concentração de vitamina A também foi influenciada pelo hábito de fumar, conforme modelo de regressão, tendo influência positiva, ou seja, mães fumantes tiveram a concentração de vitamina A no leite mais elevada.

Estes resultados são de difícil explicação, pois qualquer inferência quanto às influências dos constituintes do fumo na tendência em aumentar ou reduzir as concentrações de vitamina A no sangue e no leite, seria precipitado, se baseadas apenas nos resultados da metodologia executada neste estudo. Em relação ao sangue, alguns estudos referem uma diminuição dos níveis sanguíneos de antioxidantes, como o beta-caroteno em fumantes (STRYKER e col. 1988; NIERENBERG e col. 1991), o que está de acordo com os resultados deste estudo. Mas quanto a associação positiva encontrada entre hábito de fumar e vitamina A no leite, poderia pensar-se em um mecanismo compensatório, caso fosse possível comprovar a existência de determinado componente que concorresse em absorção com a vitamina A ou ainda, que mais de um componente do cigarro estimulasse ou inibisse a mobilização ou liberação de vitamina A dos tecidos de reserva do organismo. Foram levantadas outras informações em torno do hábito de fumar conforme questionário aplicado, em

anexo, mas pela proporção reduzida de fumantes (incluindo ex-fumantes), as suposições acima citadas não puderam ser investigadas com o rigor necessário.

A influência do consumo de álcool no aumento dos níveis séricos de vitamina A também está em oposição com outros estudos (STRYKER e col. 1988; ALBANES e col. 1997). Se uma explicação fosse possível, tendo em mente os papéis do fígado como o maior reservatório de vitamina A, através dos hepatócitos e células armazenadoras de lipídeos, bem como de inativador e desintoxicador de várias substâncias, através das células hepáticas, e tendo o retículo endoplasmático liso a papel fundamental na metabolização de compostos tóxicos, bem como metabolizador de lipídeos, substrato de armazenamento de vitamina A, poderia-se supor que as células hepáticas, e o lipídeo como veículo, aumentem também a liberação de vitamina A, ou conversão de beta-caroteno a retinol, quando envolvidos mais freqüentemente na metabolização e inativação álcool. Novamente, estas hipóteses não poderiam ser confirmadas através da metodologia deste estudo que foi adotada para uma finalidade mais generalista, e com uma proporção reduzida de lactantes (27,3%), que referiram consumo de álcool, e apenas socialmente.

5.1.5. Influência de fatores demográficos na vitamina A

A idade materna foi importante para a concentração sérica de vitamina A, quando colocada em um modelo de regressão. Esta associação foi positiva, ou seja, as mães mais velhas tiveram nível sérico de vitamina A mais elevado. Esta associação foi confirmada através do coeficiente de correlação de Pearson que foi significativamente positivo. Pelo teste estatístico das médias (mães agrupadas em 3 faixas etárias - até 19 anos, 19 a 30 anos e acima de 30 anos), novamente observou-se que mães mais velhas tiveram médias superiores de vitamina A sérica. NCUBE e col., 2001, referem que lactantes menores de 21 anos de idade tinham em média, vitamina A sérica abaixo das mães com idades acima de 21 anos. Este resultado não sofreu interferência de multiparidade e amamentação de outros filhos, como era

esperado, sinalizando para um mecanismo eficiente de homeostase da vitamina A sérica conforme aumenta a idade das mulheres.

Entre mulheres vivendo com seus companheiros e as que eram sozinhas, a proporção de concentrações séricas de vitamina A abaixo do recomendado foi maior nas mães que não viviam com seus companheiros, conforme teste de proporções. A vitamina A é um oligoelemento antioxidante. Admitindo-se que mães vivendo sem seus companheiros estariam expostas a um estresse emocional maior, em relação àquelas onde o pai do bebê está presente, poderia inferir-se um consumo maior de todos os elementos antioxidantes em seus estoques orgânicos, inclusive da vitamina A. Obviamente trata-se apenas de uma suposição que carece de investigação mais específica.

5.1.6. Influência de fatores sócio-econômicos na vitamina A

Uma correlação entre vitamina A no leite e ocupação materna foi encontrada, evidenciando que mães que trabalham ativamente fora de casa têm uma maior concentração de vitamina A no leite. Renda *per capita* ou grau formal de escolaridade não influenciaram este resultado, fazendo supor que mulheres que trabalham fora de casa possam ter maiores possibilidades de refeições balanceadas, sob controle de nutricionistas, como ocorre em empresas que fornecem alimentos aos seus funcionários.

5.1.7. Interações entre vitamina A, ferro, zinco e cobre

Neste trabalho foi encontrada uma correlação positiva entre a vitamina A e o ferro no leite, e entre a vitamina A sérica e ferritina. Resultados semelhantes foram relatados entre ferritina e hemoglobina com retinol sérico (ETTYANG e col. 2003). A estreita relação entre a vitamina A e o ferro já é bem conhecida. DE PEE e col., 1995, selecionaram um grupo de mulheres anêmicas com o propósito de investigar a

deficiência nutricional da vitamina A. Estes dois micronutrientes, ferro e vitamina A, em geral, são encontrados nos mesmos alimentos-fontes, e no organismo humano também parecem caminhar juntos, pois nos estados de carência de ambos, observam-se quadros patológicos que afetam os mesmos órgãos ou sistemas. DIJKHUIZEN e col., 2001, mostraram que mães e respectivos bebês com deficiência em vitamina A tiveram de duas a três vezes mais riscos de estarem deficientes em ferro.

A vitamina A já era conhecida como a vitamina anti-infecção em experimentos realizados nas décadas de 1920 e 1930 (ROSS 1996). A deficiência de ferro também é um fator que aumenta a suscetibilidade a infecções (COOK 1994). A deficiência de vitamina A pode inibir a proliferação e diferenciação de linfócitos B no homem (STEPHENSON, 2001). Em roedores com anemia ferropriva foi observada a redução da função das células “Natural Killer”, bem como a diminuição da resposta de células B (DHUR 1989). O comprometimento da pele e mucosas, dos sistemas digestório e imunológico ou “síndrome enfermidade ferropriva” (TABOADA 1983), coincide em muito com os estados de deficiência subclínica de vitamina A em crianças, onde são relatados episódios de diarreia e distúrbios respiratórios exacerbados, provavelmente pelos danos nos epitélios e depressão do sistema imunológico (BLOEM e col.1990; SOMMER e WEST 1996).

Os resultados deste trabalho reforçam a estreita relação entre o ferro e a vitamina A, pois, 68% das mães que estavam com concentrações de vitamina A no leite abaixo do recomendado ($<1,05\mu\text{mol/L}$), apresentaram ferro no leite também abaixo do recomendado ($<0,27\text{mg/L}$).

No sangue, mais indicadores concorrem para esta conclusão. Tomando como ponto de corte para deficiência sérica de vitamina A, o valor de $0,7\mu\text{mol/L}$, 8%, 5,4%, 10,8% e 29,7% das mães também estavam com ferro, ferritina, transferrina e hemoglobina abaixo do normal respectivamente. Obviamente que se adotado o ponto de corte $1,05\mu\text{mol/L}$ para deficiência de vitamina A sérica, estas proporções seriam maiores. A hemoglobina já vem sendo utilizada para identificar populações em risco de deficiência de vitamina A (SUHARNO e col. 1993). Considerando que a baixa

concentração de ferritina acusa anemia por deficiência de ferro, e apenas 5,4% das lactantes foram assim classificadas, há que se considerar as anemias apontadas pelos outros indicadores (hemoglobina, por exemplo), como sendo em parte, em função da deficiência de vitamina A (SUHARNO e col. 1993; GARCIA-CASAL e col. 1998; KOLSTEREN e col.1999).

A vitamina A ingerida estava positivamente correlacionada com o zinco ingerido, ou seja, estes micronutrientes coincidem em muitos alimentos. A quantidade de vitamina A ingerida influenciou positivamente a concentração de zinco no leite. Interessante observar que a ingestão de vitamina A não influenciou sua própria concentração no leite e a ingestão de zinco também não influenciou sua própria concentração no leite, pelos testes estatísticos aqui realizados.

Das mães com vitamina A no leite abaixo do recomendado ($<1,05\mu\text{mol/L}$), 37,5% também estavam com valores deficientes de zinco no leite ($< 2 \text{ mg/L}$). Já no sangue esta proporção não foi tão expressiva, pois somente 5,4% das mães que estavam com vitamina A abaixo do recomendado também estavam com o zinco deficiente. CHRISTIAN e WEST, 1998, afirmam que a deficiência de vitamina A pode ser agravada pela deficiência de zinco. Bebês deficientes em vitamina A tiveram riscos aumentados de estarem deficientes em zinco (DIJKHUIZEN e col. 2001). O zinco, assim como a vitamina A, também tem papel central nos processos infecciosos, sendo que sua deficiência elevaria a incidência e gravidade de infecções, particularmente em crianças com baixo peso ao nascer e as geradas em gestações de risco (ALLEN 1994; SHANKAR e PRASAD 1998).

A vitamina A ingerida estava positivamente correlacionada com o cobre ingerido. Mas, a quantidade de cobre ingerido influenciou negativamente o nível de vitamina A sérica.

Outros autores alertaram para o potencial de interação negativa e efeitos adversos entre os micronutrientes quando de uma suplementação múltipla (LADIPO e col. 2000). É importante ressaltar que as influências exercidas por quantidade de micronutrientes e de macronutrientes ingeridos, estado nutricional de cada mãe,

estados patológicos, entre outros fatores, impõem muitas limitações para o entendimento da homeostase que o processo de amamentação parece buscar continuamente.

No leite, segundo modelo de regressão multivariada, a concentração de vitamina A foi influenciada pela quantidade de cobre ingerido positivamente.

Das mães com vitamina A no leite abaixo do recomendado ($<1,05\mu\text{mol/L}$), 22,2% estavam com valores deficientes de cobre no leite ($<0,2\text{mg/L}$).

Estes resultados confirmam existir uma interação importante entre a vitamina A e o cobre, adquiridos através da dieta, e seus indicadores no organismo, embora de difícil interpretação. Entre os indicadores do cobre e da vitamina A no sangue, não foram observadas associações. Se a ingestão do cobre interfere negativamente nos níveis séricos de vitamina A, mas positivamente nos níveis de vitamina A no leite, é possível que a vitamina A absorvida no epitélio intestinal fosse apenas desviada de seu transporte usual para o fígado, sendo captada diretamente pelas glândulas mamárias, suposição esta, feita à luz das inferências de outros autores que utilizaram modelos animais para suas investigações, conforme referido anteriormente (VAHLQUIST e NILSSON 1979; DAVILA e col. 1985). Mas estes experimentos foram evidentes naqueles animais que ingeriram uma quantidade de vitamina A muito acima da usual na dieta, e não de cobre.

5.2. Ferro

O estágio final da carência de ferro está associado com um decréscimo significativo de hemoglobina, que é o critério adotado pela Organização Mundial de Saúde para diagnosticar anemia, sendo, portanto o parâmetro universalmente utilizado. Segundo este critério, das 159 mães avaliadas para a concentração de hemoglobina, 12,5% estavam com concentrações abaixo do recomendado. Dessas, 15% estavam com a concentração de ferritina abaixo do recomendado e 30% com ferro sérico abaixo do recomendado. Mas pelo coeficiente de correlação de Pearson, apenas tiveram associação significativa os indicadores ferro sérico e hemoglobina.

Adotando hemoglobina e ferritina ou transferrina para este diagnóstico, teremos, apenas, 1,8% de mães com deficiência de ferro. Cerca de 3,7% das mães estão deficientes quando a hemoglobina e o ferro séricos são os indicadores.

A média das concentrações de ferro no leite encontrada foi 0,35 mg/L, muito abaixo da média relatada por GÓES e col, 2002, que também avaliaram amostras de leite maduro de bancos de leite humano, e de outros estudos realizados com lactantes saudáveis no Brasil (TRUGO e col. 1987; DONANGELO e col. 1989). Ainda que se considere o maior número de amostras avaliadas no presente estudo (150) em comparação com os outros citados, a diferença entre as médias é bastante significativa. Quarenta e quatro por cento (44%) das mães avaliadas (150), estavam com a concentração de ferro no leite abaixo do recomendado, menos que 0,27 mg/L (Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies 2002), ou seja, uma proporção expressiva considerando a proporção de mães classificadas como anêmicas, pois mães com concentrações tanto de hemoglobina no sangue, como de ferro no leite abaixo do recomendado, eram apenas 5,6%.

Estes resultados demonstram que a escolha de parâmetros para detectar, com precisão, o estado nutricional de ferro em uma determinada população não é uma etapa fácil e imprime dificuldades na interpretação dos dados. Segundo PAIVA e col., 2000, não existe um parâmetro ou combinação ideais para diagnosticar o estado nutricional de ferro. Mas, segundo BORCH-IOHNSSEN, 1995, a ferritina é tida como o melhor indicador para avaliar o estado nutricional de ferro, na impossibilidade de

utilizar a combinação com outros, pois está bem relacionada com os estoques de ferro em indivíduos saudáveis.

5.2.1. Influência de fatores nutricionais no ferro

Não foram encontradas correlações significativas entre o ferro no leite e qualquer dos indicadores séricos de ferro utilizados nesta investigação, à semelhança de outros trabalhos (DONANGELO e col. 1989; DOMELLÖF e col. 2004). Também não houve correlação significativa entre quantidade de ferro ingerida e o nível de ferro no leite, ou seus indicadores séricos.

A proporção de gordura corporal da mãe teve correlação positiva com a ferritina, como também relatado por ETTYANG e col., 2003.

Em modelo de regressão multivariada, a concentração de hemoglobina estava associada à proporção de gordura corporal da mãe e idade gestacional. A proporção de gordura corporal da mãe, que neste trabalho teve uma associação positiva e significativa com a concentração da hemoglobina, também estava associada à hemoglobina no trabalho realizado por ETTYANG e col., 2003, entre outros indicadores. Estes resultados sugerem uma explicação para o acúmulo de gordura corporal da mãe durante a gestação, prevenindo ou preparando seu organismo para a amamentação.

Ferro sérico é um indicador pouco adotado, pois sofre variações conforme o período do dia (BORCH-IOHNSSEN 1995), embora neste trabalho, todas as coletas de sangue tenham sido realizadas no período da manhã.

Considerando a RDI para ferro de 10 ou 9 mg por dia, conforme a idade das lactantes (Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies 2002), 30,8% (49 de 159) ingeriram ferro abaixo do recomendado. Dessas, 40,8% (20 de 49)

estavam com ferro no leite abaixo do recomendado, embora não tenha sido encontrada correlação significativa entre esses dois indicadores.

Suplementação ou ingestão de ferro não tiveram efeitos significativos diretos sobre a concentração de ferro no leite, o que já foi relatado por muitos autores, conforme artigo de revisão de DOREA, 2000. O mecanismo de captura de ferro pelas glândulas mamárias ainda não foi totalmente elucidado, pois alguns trabalhos demonstraram que o estado nutricional da mãe em ferro não influencia efetivamente a concentração de ferro no leite (ATINO e OMOLOLU 1982; TRUGO e col. 1988), de qualquer forma é dos estoques da mãe, certamente, que este ferro é mobilizado.

5.2.2. Influência de fatores obstétricos no ferro

A ingestão de suplementos durante a gestação influenciou positivamente a concentração de ferritina.

Neste estudo, a ingestão de suplementos não teve qualquer efeito sobre a concentração de micronutrientes no leite. DONANGELO e col., 1989, estudando mães brasileiras de classes sociais desfavorecidas, não relataram diferenças significativas entre as concentrações de ferro no leite entre mães suplementadas e não-suplementadas durante a gestação.

Tipo de parto, normal ou cesário, também teve significativa correlação com a hemoglobina, mostrando que mães que fizeram operação cesariana tinham a concentração de hemoglobina mais elevada. Neste caso, é provável que outros fatores que não foram controlados neste estudo devam ter influenciado neste resultado, impossibilitando uma inferência plausível.

A hemoglobina teve significativa correlação positiva com número de filhos, ou seja, mães com número maior de filhos apresentaram concentrações mais elevadas de hemoglobina. Era esperado que mães multíparas tivessem uma correlação negativa com alguns indicadores neste trabalho, pois sucessivas gestações e lactações

deveriam ter efeitos na depleção dos estoques dos micronutrientes (ETTYANG e col. 2003), mas esta premissa não pode ser confirmada através destes resultados.

A concentração de ferro no leite não teve associação com paridade, em concordância com o relatado no trabalho de AL-OTHMAN, 1995.

A idade gestacional teve associação com a concentração de hemoglobina pelo modelo de regressão multivariada. Esta associação foi positiva, ou seja, quanto maior a idade gestacional, mais elevada a concentração de hemoglobina. A explicação neste caso, poderia ser que mães em bom estado nutricional, neste caso tendo a hemoglobina como indicativo, teria maiores possibilidades de alcançarem o período completo de gestação.

MENDELSON e col., 1982, comparando leite de mães com bebês a termo com o de mães com bebês prematuros, relataram uma concentração aumentada de ferro, assim como de cobre e de zinco, no leite das mães com bebês prematuros, que provavelmente necessitam de uma quantidade aumentada destes micronutrientes já que seus estoques não puderam se completar intra-útero.

Conforme DOREA, 2000, em seu artigo de revisão sobre ferro e cobre no leite, não existe uma sistemática entre as necessidades dos prematuros e a constituição do leite nestes minerais, já que os artigos revisados mostram tanto concentrações significativamente mais elevadas de ferro no leite de bebês prematuros, como iguais ao de bebês a termo.

O artigo de revisão já citado de DOREA, 2000, relata sobre alterações no metabolismo do ferro no organismo em consequência do uso de contraceptivo oral, embora sua influência sobre o ferro no leite ainda não tenha sido comprovada. No presente estudo não foram observadas associações entre contraceptivos hormonais e concentrações de ferro no sangue ou no leite.

Consumo de suplementos durante a lactação não teve nenhuma influência sobre os indicadores de ferro neste trabalho, e mesmo considerando as limitações já relatadas concernentes a este aspecto da pesquisa, outros autores trabalhando efetivamente com suplementação de ferro na lactação, não encontraram alterações significativas no nível de ferro do leite, embora tenham observado aumento das reservas de ferro das mães estudadas, bem como de alguns indicadores indiretos do ferro no leite (ZAPATA e col. 1994).

5.2.3. Influência de fatores ligados à amamentação no ferro

Não foram observadas associações entre o tempo de amamentação e concentração de ferro no sangue, assim como no leite, em oposição a outros estudos (SIMES e col. 1979; ATINMO e col. 1982).

5.2.4. Influência de fatores de exposição a tóxicos no ferro

Mães fumantes tiveram menores concentrações de hemoglobina do que mães classificadas como não fumantes. Do mesmo modo, mães fumantes apresentaram menores concentrações de ferro no leite do que mães não-fumantes. Estas associações mostram uma clara influência negativa do cigarro nos indicadores de ferro, ou através de perdas maiores pelos processos metabólicos ou dificultando sua absorção.

5.2.5. Influência de fatores demográficos no ferro

A idade da mãe teve significativa associação positiva com a ferritina, ou seja, as mães mais velhas apresentaram uma concentração aumentada deste indicador, colocando o fator maior idade, novamente, como uma vantagem para as reservas de ferro. O nível de escolaridade também teve uma significativa associação positiva

com a concentração sérica de ferritina, indicando que as mães mais instruídas tinham suas reservas de ferro aumentadas. Considerando que a educação é um instrumento imprescindível para a transformação de hábitos, principalmente os alimentares, algum resultado neste sentido era esperado.

Entre mulheres vivendo com seus companheiros e as que eram sozinhas, a proporção de concentrações no sangue de transferrina, ferro, ferritina e hemoglobina foi maior nas mães que viviam com seus companheiros. Estes resultados, não sendo dados espúrios, poderiam ser explicados pelo maior gasto de antioxidantes, ocasionado por um maior grau de estresse emocional pelo afastamento do companheiro, pai do bebê.

No leite não foram encontradas associações significativas com idade materna em relação à concentração de ferro, em concordância com outro estudo (AL-OTHMAN e col. 1995).

5.2.6. Influência de fatores sócio-econômicos no ferro

O trabalho materno teve correlação positiva com a ferritina, indicando que as mães com trabalho fora de casa tiveram concentração de ferritina aumentada. Novamente a explicação plausível seria o acesso a refeições mais balanceadas, fornecidas por empresas com restaurantes coordenados por Nutricionistas.

No leite, não foram observadas associações de fatores considerados sócio-econômicos na concentração de ferro.

5.2.7. Interações entre ferro, zinco e cobre

A quantidade de zinco ingerida teve associação positiva com a quantidade de ferro ingerida, mas influenciou negativamente a concentração de ferritina e de hemoglobina, sugerindo existir uma competição entre esses metais nos mesmos sítios de absorção no epitélio intestinal, embora tendo como fonte os mesmos alimentos.

No sangue também foi encontrada uma associação negativa entre zinco sérico e ferritina.

A relação antagônica existente entre o zinco e o ferro já foi relatada por outros autores que observaram que doses mais elevadas de ferro reduzem a absorção de zinco (SANDSTROM e LONNERDAL 1989; WHITTAKER 1998). Mas, em outro estudo, a adição de zinco e vitamina A em terapia com ferro foi mais eficaz para a anemia do que com o ferro isoladamente (KOLSTEREN e col. 1999), mas neste caso, a condição patológica pode determinar uma interação entre os micronutrientes, diferente daquela ocorrida em condições normais.

Segundo ZAPATA e col., 1994, a ingestão de suplementos de ferro por lactantes, pode afetar a concentração de zinco no leite, especialmente naquelas mães com dieta deficiente em zinco.

A quantidade de cobre ingerido teve associação positiva com a quantidade de ferro ingerida. No sangue, a ceruloplasmina teve correlação negativa com o ferro sérico.

O cobre sérico teve significativas correlações negativas com a hemoglobina e o ferro sérico. Mas, a quantidade de ferro ingerido influenciou positivamente a concentração de ceruloplasmina sérica no modelo de regressão multivariada.

Estes resultados sugerem uma relação intrínseca colaborativa entre o cobre e o ferro, no processo de aleitamento. FEELEY e col., 1983, relataram uma significativa correlação positiva entre o ferro e o cobre no leite, o que não foi evidenciado no presente estudo.

Ainda que alguns resultados apontem para uma aparente competição entre esses micronutrientes no que diz respeito ao estado nutricional da mãe, na formulação do leite, parece ocorrer uma interação preservando sua qualidade.

5.3. Zinco

A média da concentração de zinco no leite foi de 2,65 mg/L, semelhante às relatadas por outros pesquisadores (VUORI e KUITUNEN 1979; PARR e col. 1991; BIEGO e col. 1998) e bem acima da média encontrada por GÓES e col, 2002, que avaliou amostras de leite maduro de um banco de leite humano no Brasil.

Das amostras de leite avaliadas, 33,3% (50 de 150) estavam com zinco abaixo do recomendado, conforme Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies 2002, ou seja, < 2mg/L. GROSS e col., 1998, também referem que 33% das mães de um estudo na Indonésia apresentaram concentração de zinco no leite abaixo do recomendado.

A ingestão de zinco em 73,7% (121 de 164) das mães estava abaixo do recomendado, ou seja, menor que 14 mg/L, (Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies, 2002).

Outros autores observaram uma super-estimação do recomendado para a ingestão de zinco em relação ao verdadeiramente consumido (FERGUSON e col. 1995; ORTEGA e col. 1996, 1997).

De 150 mães avaliadas tanto para ingestão de zinco como para concentração de zinco no leite, 23,3% (35 de 150) estavam com ambos indicadores abaixo do recomendado. Porém apenas 3,3% das mães apresentaram concentrações séricas de zinco abaixo do normal (5 de 152), ou seja 70,0 µg%. Novamente, deparamos com resultados que dificultam a avaliação do estado nutricional, neste caso, de zinco em populações. Zinco sérico é um dos indicadores mais utilizados para este tipo de estudo, mas, a proporção de mães com zinco sérico abaixo do recomendado foi insignificante, ao compararmos com a proporção de mães com ingestão deficiente deste mineral, ainda que o instrumento utilizado para esta avaliação tenha tido limitações (um único recordatório de 24 horas).

Neste trabalho, o indicador zinco no leite talvez seja mais adequado para classificar o estado nutricional das lactantes do que o zinco sérico, já que os dados referentes à ingestão de zinco, conforme já comentado, apontam para uma significativa ingestão

deficiente deste micronutriente. Muito embora uma associação direta entre ingestão de zinco e zinco no leite, assim como entre zinco ingerido e zinco sérico, não tenham sido observadas neste trabalho.

5.3.1. Influência de fatores nutricionais no zinco

Conforme já mencionado, não foram encontradas associações significativas entre a ingestão de zinco e zinco sérico, em conformidade com outros estudos (KREBS e col. 1985; TRUGO e col. 1988), embora outros autores relataram existir relação observável entre esses indicadores (GOLDEBERG e col. 1995; KREBS e col. 1995; ORTEGA e col. 1997). Também não foi observada correlação entre zinco sérico e zinco no leite, confirmando resultados de outros autores (DONANGELO e col. 1989; DIJKHUIZEN e col. 2001). DOMELLÖF e col., 2004, relataram concentração de zinco no leite de lactantes de Honduras 50% acima do de lactantes suíças, mesmo sendo a concentração plasmática de zinco das mães de Honduras significativamente mais baixa, sugerindo um mecanismo compensatório para manter níveis adequados de zinco no leite.

Zinco ingerido e no leite também não tiveram correlação significativa, à semelhança de outros trabalhos (VUORI e col. 1980; FEELEY e col. 1983).

5.3.2. Influência de fatores obstétricos no zinco

Significativa correlação negativa foi encontrada entre número de filhos e concentração de zinco no leite. Este resultado confirma os estudos de FRKOVIC e col., 1996. ORTEGA e col., 1997, relataram que mães multíparas tiveram concentrações de zinco sérico menores quando comparadas com mães primíparas, atribuindo este resultado a perdas de estoques de zinco nas sucessivas gestações. GIBSON e HUDDLE, 1998, também afirmam que repetidos ciclos reprodutivos podem reduzir os estoques de zinco da mãe, baseando-se em indicadores bioquímicos deste micronutriente. Nossos resultados apontam para semelhante

dedução, embora não tenha sido encontrada correlação significativa entre número de filhos e concentração sérica de zinco. AL-OTHMAN e col., 1995, não observaram correlação entre paridade e concentração de zinco no leite maduro de mães Sauditas.

Ingestão de suplementos durante a gestação e durante a amamentação não tiveram associações que concentrações de zinco no sangue ou no leite, em oposição a KREBS e col., 1985, que relataram o efeito positivo da suplementação com zinco, que ocasionou uma diminuição do declínio gradual da concentração de zinco no leite. Apesar deste ser um fator tido como obstétrico, a suplementação obviamente irá interferir no estado nutricional da mãe, neste caso, aumentando suas concentrações séricas de zinco.

5.3.3. Influência de fatores ligados à amamentação no zinco

O tempo de amamentação teve significativa correlação negativa com a concentração de zinco no leite, ou seja, com o avançar do tempo de amamentação, a concentração do zinco no leite diminuiu. Este resultado já foi relatado por outros autores (VUORI e KUITUNEN 1979; ATINMO e OMOLOLU 1982; DONANGELO e col. 1989; SIMMER e col. 1990; ARNAUD e FAVIER 1995; KREBS e col. 1995; GROSS e col. 1998).

A concentração de zinco sérica não teve correlação direta com o tempo de amamentação, conforme outros autores relataram (OHTAKE e TAMURA 1993; GROSS e col. 1998).

5.3.4. Influência de fatores de exposição a tóxicos no zinco

O zinco sérico teve significativa correlação negativa com hábito de fumar, indicando que as mães que fumavam tiveram concentrações médias de zinco sérico menores. Este resultado vem a confirmar os de outros autores (BERLAGA e col. 2002), que relataram que o cádmio contido no cigarro pode acumular-se no fígado e rins,

ocasionando um acúmulo de zinco também nestes órgãos, desta forma reduzindo sua disponibilidade no próprio organismo materno. Mas este tema ainda requer mais pesquisas, pois em oposição ao relatado acima, KOCYIGIT e col., 2001, não observaram alterações plasmáticas de zinco entre fumantes e não fumantes.

No leite, alguns autores observaram que mães que não fumavam tinham maior concentração de zinco (FRKOVIC e col. 1996; MANDIC e col. 1997), o que não foi observado neste estudo.

5.3.5. Influência de fatores demográficos no zinco

Não foram encontradas associações significativas entre idade materna e concentração de zinco no sangue ou no leite, em concordância com outro estudo (AL-OTHMAN e col. 1995), embora PICCIANO e GUTHRIE, 1976, apontem o fator idade materna como tendo uma correlação com concentração de zinco no leite. Do mesmo modo, FRKOVIC e col., 1996, também observaram maior concentração de zinco no leite de mães mais jovens (< 25 anos de idade).

A concentração de zinco no leite das mães que viviam com seus companheiros estava maior em relação com as que não viviam. A possível explicação para este resultado, seria a mesma dada em relação ao ferro e vitamina A para a mesma variável.

5.3.6. Influência de fatores sócio-econômicos no zinco.

Não foram observadas associações entre os indicadores de zinco e os fatores considerados sócio-econômicos.

5.3.7. Interações entre zinco e cobre

O zinco e cobre ingeridos tiveram significativa correlação positiva, novamente apontando para a mesma fonte alimentar. No modelo de regressão linear multivariada para a concentração de ceruloplasmina, a ingestão de zinco teve associação positiva, ou seja, aumentando esta concentração.

Mas a suplementação com altas doses de zinco pode interferir na absorção de cobre e de ferro (PORTER e col. 1977; FESTA e col. 1985; SOLOMONS e RUZ 1997). WIDDOWSON e col., 1974, afirmaram que doses elevadas de zinco na dieta poderiam resultar em absorção deficiente de cobre em bebês prematuros.

Apenas no sangue observou-se um efeito competitivo entre o cobre e o zinco uma vez que o zinco sérico e a ceruloplasmina tiveram uma significativa correlação negativa, indicando que quanto mais elevada a concentração de ceruloplasmina, mais baixa estaria a concentração sérica de zinco.

Mas no leite esta relação foi invertida neste estudo, já que quanto maior a concentração de ceruloplasmina sérica, maior era a concentração de zinco no leite, segundo coeficiente de correlação de Pearson.

Diante destes resultados podemos inferir que não ocorreu uma relação antagônica no tocante à absorção, e que o mais evidente foi a interação positiva entre os dois micronutrientes.

5.4. Cobre

Neste estudo os resultados quanto ao nível sérico de cobre e de ceruloplasmina, coloca o grupo estudado como em bom estado nutricional, pois nenhuma lactante apresentou concentração de cobre abaixo do normal e apenas 1,3% estavam com concentração de ceruloplasmina abaixo do recomendado.

Mas quando o indicador foi o nível de cobre no leite, das 150 amostras de leite avaliadas, 18% estavam com concentrações de cobre abaixo do recomendado, ou seja <0,2 mg/L (Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies 2002).

A concentração média de cobre no leite foi de 0,3 mg/L, novamente muito abaixo da média encontrada em trabalho semelhante realizado com amostras de leite maduro de banco de leite humano (GÓES e col. 2002).

Das mães avaliadas, 68,6% (de 150) haviam ingerido quantidades de cobre abaixo do recomendado, < 1,3 mg/L (Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies 2002), sendo que destas, 17,4% também estavam com o cobre no leite abaixo do recomendado.

5.4.1. Influência de fatores nutricionais no cobre

A quantidade de cobre ingerido teve significativa correlação positiva com a concentração de ceruloplasmina, sendo esta a única associação direta encontrada entre dieta e indicador sérico, dentre os micronutrientes em estudo. No modelo de regressão linear multivariada para a concentração de ceruloplasmina, ingestão de cobre, vitamina A, ferro e zinco tiveram associações positivas com esta concentração, confirmando portanto, a ceruloplasmina como um indicador confiável do estado nutricional da mãe com vistas à sua dieta.

No leite, um modelo para a concentração do cobre, teve a concentração de ceruloplasmina positivamente associada. Se a quantidade de cobre ingerido teve influência na concentração sérica de ceruloplasmina, e se esta influenciou positivamente a concentração de cobre no leite, conforme modelo de regressão, é possível inferir uma relação entre estado nutricional de cobre da mãe e concentração de cobre no leite, embora de maneira indireta. ARNAUD e FAVIER, 1995, observaram influência do estado nutricional materno, baseando-se no IMC e na concentração de cobre no leite. No entanto, muitos autores afirmam que a dieta rica em cobre não influencia a concentração de cobre no leite (KIRKSEY e col. 1979; CASEY e col. 1989).

5.4.2. Influência de fatores obstétricos no cobre

A idade gestacional influenciou a concentração da ceruloplasmina positivamente, mas foi pouco significativa, evidenciando uma tendência a uma concentração mais elevada de ceruloplasmina conforme maior a idade gestacional. Mas, neste trabalho a idade gestacional não influenciou a concentração de cobre no leite como outros autores afirmaram (VUORI e KUITUNEN 1979; ATINMO e OMOLOLU 1982). De qualquer forma, segundo DOREA, 2000, em revisão sobre o tema, este é um aspecto bastante controverso, tendo em vista que alguns autores afirmam ser o leite de bebês prematuros mais concentrado em cobre, e outros afirmam ser menos concentrado e outros autores afirmam, ainda, não haver diferenças significativas.

O uso de suplementos durante o período de amamentação teve uma associação positiva com a concentração sérica de ceruloplasmina, mas pouco significativa, uma vez que esta variável foi forçada no modelo de regressão para ceruloplasmina. Nenhum efeito de suplementação sobre a concentração de cobre no leite foi observado, porém a concentração de ceruloplasmina contribuiu positivamente para esta concentração, quando colocada no modelo de regressão linear multivariada. Este resultado, embora pouco específico, sugere uma relação mais estreita do cobre ingerido com o cobre no leite.

A paridade não teve influência sobre nenhum dos indicadores de cobre neste trabalho, mas este fator ainda é tema de controvérsias. AL-OTHMAN e col., 1995, também não encontraram correlação significativa entre este fator e cobre no leite maduro, porém PICCIANO e GUTHRIE, 1976, afirmam que a paridade associada a outras lactações teria efeito positivo na concentração do cobre no leite. ARNAUD e FAVIER, 1995, encontraram correlação significativa entre paridade e concentração de cobre no leite.

5.4.3. Influência de fatores ligados à amamentação no cobre

Tempo de amamentação teve uma significativa associação negativa com a concentração de cobre no leite, evidenciando uma redução no nível de cobre no leite com o avançar da amamentação, como em outros estudos (VUORI e KUITUNEN 1979; ATINMO e OMOLOLU 1982; ROSSIPAL e KRACHLER 1998).

5.4.4. Influência de fatores de exposição a tóxicos no cobre

A concentração sérica de ceruloplasmina teve significativa associação com o consumo de álcool, ou seja, as mães que bebiam, tiveram maior concentração de ceruloplasmina sérica. A interpretação deste resultado na falta de testes bioquímicos mais acurados é bastante difícil. Poderia se pensar em algum desequilíbrio nas células hepáticas ocasionado pelo álcool, ou algum mecanismo compensatório pelas perdas em absorção que o consumo de álcool pode acarretar, mas essas são apenas suposições.

Hábito de fumar não imprimiu nenhuma alteração significativa nos indicadores de cobre utilizados neste estudo, embora alguns autores tenham referido uma maior concentração de cobre no leite de lactantes não-fumantes em comparação com lactantes que fumavam (MANDIC e col. 1997).

5.4.5. Influência de fatores demográficos no cobre

A idade materna não influenciou nenhum dos indicadores de cobre neste trabalho, confirmando os resultados de outro estudo referente a micronutrientes no leite (AL-OTHMAN e col. 1995; ARNAUD e FAVIER 1995), embora outros autores relatem uma possível influência da idade materna na concentração de cobre no leite (PICCIANO e GUTHRIE 1976).

6. CONCLUSÕES

- A proporção de deficiência de vitamina A encontrada nas amostras de leite avaliadas foi de 49,6%; a proporção de deficiência de ferro encontrada nas amostras de leite avaliadas foi de 44%; a proporção de deficiência de zinco encontrada nas amostras de leite avaliadas foi de 33,3%; a proporção de deficiência de cobre encontrada nas amostras de leite avaliadas foi de 18%.
- A proporção de deficiência de vitamina A encontrada nas amostras de sangue das doadoras avaliadas foi de 25%; a proporção de deficiência de ferro encontrada nas amostras de sangue das doadoras avaliadas foi de 12,5%; a proporção de deficiência de zinco encontrada nas amostras de sangue das doadoras avaliadas foi de 3,3%; a proporção de deficiência de ceruloplasmina encontrada nas amostras de sangue das doadoras avaliadas foi de 1,3%.
- A concentração de vitamina A no leite teve associação positiva com hábito de fumar e trabalho materno, e associação negativa com tempo de amamentação e idade gestacional; a concentração de ferro no leite não teve associações com os fatores investigados; a concentração de zinco no leite teve associação positiva com concentração de ceruloplasmina no sangue, e teve associação negativa com número de filhos e tempo de amamentação; a concentração de cobre no leite teve associação positiva com concentração de ceruloplasmina e de hemoglobina no sangue, e teve associação negativa com tempo de amamentação.
- A concentração de vitamina A no sangue teve associação positiva com idade materna, consumo de álcool, ingestão de suplemento durante a gestação e concentração de ferritina sérica; A concentração de ferro no sangue, representada pela hemoglobina, ferritina e ferro sérico, teve associação

positiva com trabalho materno, grau formal de instrução materna, idade materna, idade gestacional, ingestão de suplemento durante a gestação, proporção corporal de gordura materna, número de filhos, concentração de vitamina A no sangue, e negativa com concentração de zinco no sangue e concentração de cobre no sangue; a concentração de zinco no sangue teve associação negativa com hábito de fumar, com concentração de ferritina e ceruloplasmina no sangue; A concentração de cobre no sangue, representada pelo cobre e ceruloplasmina séricos, teve associação positiva com idade gestacional, consumo de álcool, e associação negativa com concentração de zinco e ferro séricos, e ingestão de suplemento durante a amamentação.

- A quantidade de vitamina A ingerida teve associação positiva com concentração de zinco no leite; a quantidade de ferro ingerido não teve associação com nenhum dos micronutrientes no leite; a quantidade de zinco ingerido não teve associação com nenhum dos micronutrientes no leite; a quantidade de cobre ingerido teve associação positiva com a concentração de vitamina A no leite.
- A quantidade de vitamina A ingerida teve associação positiva com concentração de ceruloplasmina no sangue; a quantidade de ferro ingerido teve associação negativa com concentração de ceruloplasmina no sangue; a quantidade de zinco ingerido teve associação positiva com concentração de ceruloplasmina no sangue, e associação negativa com concentração de ferritina e hemoglobina no sangue; a quantidade de cobre ingerido teve associação positiva com concentração de ceruloplasmina no sangue, e associação negativa com concentração de vitamina A no sangue.

7. COMENTÁRIOS

Este trabalho investigou as influências de alguns fatores sobre a concentração da vitamina A, ferro, zinco e cobre no sangue e no leite humano maduro. Após as análises estatísticas das informações colhidas, pôde-se constatar que alguns fatores estudados promoveram alterações diretamente no leite ou em indicadores séricos daqueles micronutrientes. Importante destacar que, apesar de se tratar de um estudo transversal, os resultados deste trabalho, não diferiram daqueles com delineamento longitudinal, ou de intervenção.

Quanto às associações dos fatores estudados sobre a concentração dos micronutrientes no leite, a despeito de todo critério científico implementado nesta pesquisa, deparamos com resultados que, mesmo sendo estatisticamente significativos, em sua maior parte, são clinicamente inexpressivos, sugerindo que o poder de influência dos fatores aceitos como moduladores do processo de formação do leite, são pouco significativos diante do alto poder de conservação que, ao que tudo indica, a glândula mamária detém.

Em última análise, o objetivo dos muitos trabalhos que investigam a composição do leite humano, é obter uma “receita” para um alimento adequado ao pleno crescimento e desenvolvimento dos bebês. Mas, parece ainda existir uma lacuna entre necessidades nutricionais, cientificamente estabelecidas para o bebê, e o que o leite humano realmente atinge, pois, mesmo os estudos com lactantes consideradas saudáveis e bem nutridas, como neste caso, observamos deficiências na composição

do leite. Se estamos diante de resultados equivocados, obtidos de abordagens parciais apenas, ou se estes resultados refletem deficiências verdadeiras, certo é que características genéticas que se apuraram ao longo de milhares de anos e destinadas à perpetuação da espécie, incluindo o processo de produção de leite, não se deixariam manipular por oscilações ambientais tão tênues.

Os níveis de nutrientes do leite produzido pelas primeiras lactantes da espécie humana a surgirem na Terra, provavelmente supriam plenamente as necessidades de seus bebês, cuja esperança de vida era de duas décadas apenas e que, certamente não teriam déficits de crescimento ou aprendizagem detectáveis...ainda que aquelas lactantes não tivessem uma dieta alimentar exatamente balanceada, tivessem ciclos reprodutivos muito próximos e iniciando na adolescência, e que fossem expostas aos estresses de caçar, e fugir de predadores, a eficiência do leite humano era inquestionável.

8. BIBLIOGRAFIA

Albanes D, Virtamo J, Taylor PR, Rautalahti M, Pietinen P, Heinonen OP. Effects of supplemental β -carotene, cigarette smoking, and alcohol consumption on serum carotenoids in the alpha tocopherol, beta-carotene Cancer Prevention Study. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 366-372.

Al-Othman AA, Fawaz H, Hewedy, Al-Khalifa AS. Mineral and vitamin content of mature breast milk of Saudi lactating mothers. *Ecol Food Nutr* 1995; 34: 327-336.

Aggett PJ, Atherton DJ, More J, Devey J, Delves HT, Harries JT. Symptomatic zinc deficiency in a breast-fed preterm infant. *Arch Dis Child* 1980; 55: 547-550.

Aggett PJ. Aspects of neonatal metabolism of trace metals. *Acta Paediatr Scand* 1994; 402 Suppl: S75-S82.

Allen, LH. Nutritional influences on linear growth: a general review. *Eur J Clin Nutr* 1994; 489 Suppl: S75-89.

American Academy of Pediatrics. Breast-feeding, a commentary in celebration of the International Year of the Child 1979. *Pediatrics* , 1978; 62: 591-601.

American Academy of Pediatrics. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 1997; 100: 1035-1039.

Arnaud J, Favier A. Copper, iron, manganese and zinc contents in human colostrum and transitory milk of french women. *Sci Total Environ* 1995; 159: 9-15.

Atinmo T, Omololu, A. Trace element content of breast-milk from mothers of preterm infants in nigéria. *Early Hum Dev* 1982; 6: 309-313.

Ayres M, Ayres Jr. M., Ayres DL, Santos, AS. **BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas.** Manaus: Sociedade Civil de Mamirauá, 1998.

Bahl R, Bhandari N, Wahed MA, Kumar GT, Bhan MK, WHO/CHD Immunization-Linked Vitamin A Group. Vitamin A supplementation of women postpartum and of their infants at immunization alters breast milk retinal and infant vitamin A status. **J Nutr** 2002; 132 (11): 3243-3248.

Basu S, Sengupta B, Roy Paladhi PK. Single megadose vitamin A supplementation of Indian mothers and morbidity in breastfed Young infants. **Postgrad Med J** 2003; 79: 397-402.

Bates CJ. Vitamin A and infant immunity. **Lancet** 1993; 341 (8836): 28.

Bates CJ. Vitamin A. **Lancet** 1995; 345: 31-35.

Belarga MR, Salazar G, Garcia C, Hernández J. Maternal smoking on infant growth. **Food Nutr Bull** 2002; 23 (3): 142-145.

Benemariya H, Robberecht H, Deelstra H. Cooper, zinc and selenium concentration in milk from middle-class women in Burundi (Africa) throughout the first 10 months of lactation. **Sci Total Environ** 1995; 164: 161-174.

Biego GH, Joyeux M, Hartemann P, Debry G. Determination of mineral contents in different kinds of milk and estimation of dietary intake in infants. **Food Addit Contam** 1998; 15(7): 775-781.

Bloem MW, Wedel M, Egger RJ. Mild vitamin A deficiency and risk of respiratory tract disease and diarrhea in preschool and school children in northeastern Thailand. **Am J Epidemiol** 1990; 131: 332-339.

Blom I, Jameson S, Krook F, Larsson-Stymne B, Wranne L. Zinc deficiency with transitory acrodermatitis enteropathica in boy of low birth weight. **Br J Dermatol** 1981; 104: 459- 464.

Borch-Johnsen B. Determination of iron status: brief review of physiological effects on iron measures. **Analyst** 1995; 120: 891-893.

Bortolozo EA, Tiboni EB, Candido LM. Milk from human banks for low birthweight newborns: nutritional contents and supplementation. **Rev Panam Salud Publica** 2004; 16 (3): 199-205.

Canfield LM, Clandinin MT, Davies DP, Fernandez MC, Jackson J, Hawkes J, Goldman WJ, Pramuk, K, Reyes H, Sablan B, Sonobe T, Bo X. Multinational study of major breast milk carotenoids of healthy mothers. **Eur J Nutr** 2003; 42: 133-141.

Casey CE, Neville MC, Hambidge KM. Studies in human lactation: secretion of zinc, copper and manganese in human milk. **Am J Clin Nutr** 1989; 49: 773-

Cassetari ML, Dias LCGD, Giarola LC, Souza N. Determinação de vitamina A no leite materno por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), Botucatu, SP, Brasil. **J. Brazilian Soc Food Nutr** 2003; 25: 23-30.

Centers for Disease Control, World Health Organization. **Epi Info. Epidemiologia em microcomputadores: um sistema de processamento de texto, banco de dados e estatísticas.** [programa de computador]. Versão 6,04b Atlanta: OPAS/WHO, 1990.

Chappell JE, Francis T, Clandinin MT. Vitamina A and E content of human milk at early stages of lactation. **Early Hum Dev** 1985; 11: 157-167.

Christian P, West KP Jr. Interactions between zinc and vitamin A: an update. **Am J Clin Nutr** 1998; 68 suppl: 435S-441S.

Coni E, Stachini A, Caroli S. Analytical approach to obtaining reference values for minor and trace elements in human milk. *J A A S* 1990; 5: 581-586.

Cook JD, Skikne BS, Baynes RD. Iron deficiency: the global perspective. *Adv Exp Med Biol* 1994; 356: 219-228.

Davila M, Norris L, Cleary M, Ross A. Vitamin A during lactation: Relationship of maternal diet to milk vitamin A content and to the vitamin A status of lactating rats and their pups. *J Nutr.* 1985; 115: 1033-1041.

DeMaeyer DM, Adiels-Tegman M. The prevalence of anaemia in the world. *W H Stat* 1985; 38: 302-316.

DeMaeyer EM et al **Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care: a guide for health administrators and programme managers.** Geneva: WHO, 1989

De Pee S, West CE, Muhilal, Karyade D, Hautvast J. Lack of improvement in vitamin-A status with increased consumption of dark-green leafy vegetables. *Lancet* 1995; 346: 75-81.

Dewey KG, Heining MJ, Nommsen LA, Lönnerdal, B, 1990. Growth patterns of breast-fed infants during the first year of life: The DARLING study. In: Atkinson SA et al., editores. **Breast-feeding, nutrition, infection and infant growth in developed and emerging countries.** St. John's Newfoundland: ARTS Biomedical Publishers and Distributors; 1990. p. 269-282.

Dhur A, Galan P, Hercberg S. Iron status, immune capacity and resistance to infections. *Comp Biochem Physiol A Physiol* 1989; 94: 11-19.

Dijkhuizen MA, Wieringa FT, West CE, Muherdiyantiningsih, Muhilal. Concurrent micronutrient deficiencies in lactating mothers and their infants in Indonesia. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 786-791.

Diniz AS, Santos LMP. Hipovitaminose A e xeroftalmia. *J Pediatr* 2000; 76 (supl.3): S311-(S322).

Domellöf M, Lönnerdal B, Dewwey KG, Cohen RJ, Hernell O. Iron, zinc and copper concentrations in breast milk are independent of maternal mineral status. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 111-115.

Donangelo CM, Trugo MF, Koury JC, Barreto Silva MI, Freitas LA, Feldheim W et al. Iron, zinc, folate and vitamin B12 nutritional status and milk composition of low-income brazilian mothers. *Eur J Clin Nutr* 1989; 43: 253-266.

Donangelo CM, Trugo MF, Dorea JG. Hepatic reserves of iron, copper and vitamin B12 in Brazilian fetuses and infants of different socioeconomic status. *Nutrition* 1993; 9: 430-432.

Dorea JG. Iron and copper in human milk. *Nutrition* 2000; 16: 209-220.

Erhardt JG, Mack H, Sobeck U, Bieslski HK. B-Carotene and α -tocopherol concentration and antioxidant status in buccal mucosal cells and plasma after oral supplementation. *Br J Nutr* 2002; 87: 471-475.

Ettyang G A, Lichtenbelt WDM, Oloo A, Saris WHM. Serum retinal, iron status and body composition of lactating women in Nandi, Kenya. *Ann Nutr Metab* 2003; 47: 276-283.

FAO/WHO. Requirements of vitamin A, folate and vitamin B12. Report of a joint Expert Consultation. Rome, 1988.

Feeley RM, Eitenmiller RR, Jones JB, Barnhart H. Cooper, iron and zinc contents of human milk at early stages of lactation. **Am J Clin Nutr** 1983; 37: 443-448.

Ferguson EL, Gadovisky SL, Huddlel JM, Cullinan TR, Lehrfeld J, Gibson RS. An interactive 24-h recall technique for assessing the adequacy of trace mineral intakes of rural Malawian women; its advantages and limitations. **Eur J Clin Nutr** 1995; 49: 565-578.

Festa MD, Anderson HL, Dowdy RP, Ellersieck MR. Effect of zinc intake on copper excretion and retention in men. **Am J Clin Nutr** 1985; 41: 258-292.

Filer LJ. Iron needs during rapid growth and mental development. **J Pediatr**; 1990, 117: 143-146.

Frkovic A, Medugorac B, Alebic-Juretic A. Zinc levels in human milk and umbilical cord blood. **The Sci Total Envirom** 1996; 192: 207-212.

Frisancho, A. R. Methods and Materials. In: **Anthropometric Standards for the Assessment of Growth and Nutritional Status**. United States of America: University of Michigan, 1990. p. 9-30. 189p.

Garcia-Casal M, Layrisse M, Solano L, Baron M, Arguello F, Liovera D, Ramirez J, Leets I, Tropper E. Vitamin A and beta-carotene can improve nonheme iron absorption from rice, whwat and corn by humans. **J Nutr** 1998; 128: 646-650.

Gebre-Medhin M, Vahlquist A, Hovander Y, Uppsall L, Vahlquist B. Breast milk composition in Ethiopian and Swedish mothers. **Am J clin Nutr** 1976; 29: 441-451.

Giugliani ERJ, Victora CG. **Normas alimentares para crianças brasileiras menores de dois anos (bases científicas)**. Brasília: Organização Pan-Americana de Saúde/Organização Mundial da Saúde, 1997.

Gibson RS. **Principles of nutritional assessment**. Oxford: Oxford University Press, 1990.

Gibson RS, Huddle JM. Suboptimal zinc status in pregnant Malawian women: its association with low intakes of poorly available zinc, frequent reproductive cycling, and malaria. **Am J Clin Nutr** 1998; 67: 702-709.

Góes HCA, Torres AG, Donangelo CM, Trugo MNF. Nutrient composition of Banked human milk in Brasil and influence of processing on zinc distribution in milk fractions. **Nutrition** 2002; 18(7-8): 590-594.

Goldenberg RL, Tamura T, Nweggers Y, Copper RL, Johnston KE, DuBard MB, Hauth JC. The effect of zinc supplementation of pregnancy outcome **JAMA** 1995; 274: 463-484.

Gonçalves-Carvalho CMR, Amaya-Farfan J, Wilke BC. Uso de indicadores do estado nutricional em vitamina A. **Cad Nutr** 1997; 13: 01-10.

Good RA. A note on zinc and immunocompetence . In: Mills CF, editor. **Zinc in human biology**. Berlin: Springer-Verlag; 1989. p.221-222.

Granzoto JA, Bertoni AL, Vecchi AA, Rodrigues E. A importância do incentivo pré-natal na amamentação de primíparas. **J Pediatr** 1992; 68: 34-37.

Gross R, Hänsel H, Schultink W, Shirimpton R, Matulesi R, Gross G et al. Moderate zinc and vitamin A deficiency in breast milk of mothers from East-Jakarta. **Eur J Clin Nutr** 1998; 52: 884-890.

Hambidge KM. Trace element deficiencies in childhood. In: Suskind R M, ed. **Textbook of pediatric nutrition**. New York: Raven Press 1981: 163-177.

Haskell M, Brown K. Maternal vitamin A nutriture and the vitamin A content of human milk. **J Mamm Gland Bio Neo** 1999; 4:243-257.

Heyward VH; Stolarczyk L M. Método Antropométrico. In: _____. **Avaliação da Composição Corporal Aplicada**. São Paulo: Editora Manole, 2000. p. 73-98. 243p.

Hunt I, Murphy M, Martner P, Faraji B, Swendseid M, Reynolds R et al. Zinc, vitamin B6, and other nutrients in pregnant women attending prenatal clinics in Mexico. **Am J Clin Nutr** 1987; 46: 563-569.

Iyengar GV. Human health and trace element research. **Sci Total Environ** 1981; 19: 105-109.

Jackson MJ. Physiology of zinc: general aspects. In: CF Mills, editor. **Zinc in human biology**. Berlin: Springer-Verlag; 1989. p. 1-14.

Jirapinyo P, Pringsulaka P, Bpharm, Kritalugsana S, Chatranon W, Chavalittamrong B. Trace elements in thai breast milk and infant formulas. **J Trop Pediatr** 1985; 31: 157-159.

Karra MV, Kirksey A, Galal O, Bassily NS, Harrison GG, Jerome NW. Zinc, calcium and magnesium concentrations in milk from american and egyptian women throughout the first 6 months of lactation. **Am J Clin Nutr** 1988; 47: 642-648.

Karra MV, Kirksey A, Galal O, Bassily NS, Harrison GG, Jerome NW. Effect of short-term oral zinc supplementation on the concentration of zinc in milk from American and Egyptian women. **Nutr Res** 1989; 9: 471-478.

Keen CL, Hurley LS. Zinc and reproduction: effects of deficiency on foetal and postnatal development. In: Mills CF, editor. **Zinc in human biology**. Berlin: Springer-Verlag; 1989. p. 183-220.

Keizer ES, Gibson RS, O'Connor DL. Postpartum folic acid supplementation of adolescents: impact on maternal folate and zinc status and milk composition. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 377-84.

Kirksey A, Ernst JA, Roepke JL, Tsai TL. Influence of mineral intake and use of oral contraceptives before pregnancy on the mineral content of human colostrums and of more mature milk. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 30-.

Kramer MS, Kakuma R. The optimal duration of exclusive breastfeeding: a systematic review. *Adv Exp Med Biol* 2004; 554: 63-77.

Krebs NF, Hambidge KM, Jacobs MA, Rasbach JO. The effects of dietary zinc supplement during lactation on longitudinal changes in maternal zinc status and zinc milk concentration. *Am J Clin Nutr* 1985; 41: 560-570.

Krebs NF, Reidinger CJ, Harley S, Robertson AD, Hambidge KM. Zinc supplementation during lactation: effects on maternal status and milk concentration. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 1030-1036.

Kocyigit A, Erel O, Gur S. Effects of tobacco on plasma selenium, zinc, copper and iron concentrations and related antioxidative enzyme activities. *Biochem* 2001; 34: 629-633.

Kolsteren P, Rahman SR, Kilderbrand K, Diniz A. Treatment for iron deficiency anaemia with combined supplementation of iron, vitamin A and zinc in women of Dinajpur, Bangladesh. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 102-106.

Kuramoto Y, Igarashi Y, Kato S, Tagami H. Acquired zinc deficiency in two breast-fed mature infants. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1986; 66: 359-361.

Leek JC, Keen CL, Vogler JB, Golub MS, Hurley LS, Hendrickx AG. Long-term marginal zinc deprivation in rhesus monkeys, IV: effects on skeletal growth and mineralization. *Am J Nutr* 1988; 47: 889-895.

Lehti KK. Breast milk folic acid and zinc concentration of lactating, low socioeconomic, Amazonian women and the effect of age and parity on the same two nutrients. *Eur J Clin Nutr* 1990; 44: 675-680.

Levy JMD. Immunonutrition: the pediatric experience. *Nutrition* 1998; 14: 641-647.

Lohman TG, ROCHE AF, MARTORELL R. **Anthropometric standardization reference manual.** 1992. 90p.

Lonnerdal B. Dietary factors affecting trace element bioavailability from human milk, cow's milk and infant formulae. *Prog Food Nutr Sci* 1985; 9: 36-62.

Lozof B. Long term developmental outcome of infants with iron deficiency. *N Engl J Med* 1991; 325: 687-694.

Lucas A, Gibbs JAH, Lister RLJ, Baum JD. Crematocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. *Br Med J* 1978; 1: 1018-1020.

Mandic Z, andic ML, Grgic J, Grgic Z, Klapac T, Primorac L, Hasenay D. Copper and zinc content in human milk in Croatia. *Eur J Epidemiol* 1997;13: 185-188.

McClelland, DBL, McGrath J, Samson PR.. Antimicrobial factors in human milk. Studies of concentration and transfer to the infant during early stages of lactation. *Acta Paediatr Scand* 1978; 271 Suppl: S1-S20.

Mendelson RA, Anderson GH, Bryan MH. Zinc, copper and iron content of milk from mothers of preterm and full-term infants. *Early Hum Dev* 1982; 6: 145-151.

Miller M, Humphrey J, Johnson E, Marinda E, Brookmeyer R, Katz J. Why do children become vitamin A deficient? In Proceedings of the XX International Vitamin A Consultative Group Meeting. *J Nutr* 2002; 132: 2867S-2880S.

Monteiro C, Rea MF, Victora CG. Can infant mortality be reduced by promoting breast-feeding? Evidence from São Paulo city. *Hlth Policy Plann* 1990; 5: 23-29.

Murphy JF, Gray OP, Rendall JR, Hann S. Zinc deficiency: a problem with preterm breast milk. *Early Hum Dev* 1985; 10: 303-307.

National Research Council. **Recommended Dietary Allowance**, 10th ed. Washington DC: National Academy Press, 1989.

Ncube TN, Malaba L, Greiner T, Gebre-Medhin M. Evidence of grave vitamin A deficiency among lactating womwn in the semi-arid rural area of Makhaza in Zimbabwe. *Eur J Clin Nutr* 2001; 55: 229-234.

Neville MC, Keller RP, Seacat J, Casey CE, Allen JC, Archer P. Studies on human lactation. I. Within-feed and between-breast variation in selected components of human milk. *Am J Clin Nutr* 1984, 40: 635-646.

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

Nierenberg DW, Stukel TA, Baron JA, Dain BL, Greenberg ER. Determinants of increase in plasma concentration of beta-carotene after chronic oral supplementation. The Skin Cancer Prevention Study Group. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1443-1449.

Ohtake M, Tamura T. Changes in zinc and copper concentration on breast milk and blood of Japanese women during lactation. *J Nutr Sci Vitaminol* 1993; 39: 189-200.

Olson JA. Vitamin A. In E. Zilegler editor. **Present knowledge in nutrition**. Washington, DC ILSI Press.1996 p. 109-119.

Organización Mundial de la Salud. **Anemias nutricionales**. Ginebra; 1972. (Série de informes Técnicos, 456).

Ortega RM, Gaspar MJ, Cantero M. Influence of maternal serum lipids and maternal diet during the third trimester of pregnancy on umbilical cord blood lipids in two populations of Spanish newborns. **Int J Vit Nutr Res** 1996; 66: 250-257.

Ortega RM, Andrés P, Martínez RM, López-Sobaler AM, Quintas ME. Zinc levels in maternal milk: the influence of nutritional status with respect to zinc during the third trimester of pregnancy. **Eur J Clin Nutr** 1997; 51: 253-258.

Osaki S, Johnson DA, Frieden E. The possible significance of the ferrous oxidase activity of ceruloplasmin in normal human serum. **J Biol Chem** 1966; 241: 2746-.

Paiva AA, Rondó PHC, Guerra-Shinohara E M. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. **Rev Saúde Pública** 2000; 34(4): 421-426.

Parr RM, DeMaeyer EM, Iyengar VG, Byrne AR, Kirkbrigt GF, Schöch G, et al. Minor and trace elements in human milk from Guatemala, Hungary, Nigeria, Philippines, Sweden and Zaire. **Biol Trace Elem** 1991; 29: 51-75.

Picciano MF, Guthrie H. Cooper, iron and zinc contents of mature human milk. **Am J Clin Nutr** 1976; 29: 242-254.

Pleban PA, Numerof BS, Wirth FH. Trace element metabolism in the fetus and neonate. **Clin Endocrinol Metab** 1985; 14: 545-566.

Porter KG, McMaster D, Elmes ME, Love, A HG. Anaemia and low serum-copper during therapy. **Lancet** 1997; ii, 774.

Prasad AS. Zinc deficiency in women, infants and children. **J Am Coll Nutr** 1996; 15: 113-120.

Ramalho RA, Dos Anjos LA, Flores H. Nutricional status of vitamin A in mother/newborn pairs from 2 hospital nurseries in Rio de Janeiro, Brazil. **Arch Latinoam Nutr** 1999; 49 (4): 318-321.

Roekens E, Deelstra H, Robberecht H. Trace elements in human milk; selenium, a case study. **Sci Total Environ** 1985; 42: 91-108.

Ross AC, Stephelsen CB. Vitamin a and retinoids in antiviral responses. **FASEB J** 1996; 10: 979-985.

Rossipal E, Krachler M. Pattern of trace elements in human milk during the course of lactation. **Nutr Res** 1998; 18(1): 11-24.

Rumore MM. Vitamin A as a immunomodulating agent. **Clin Pharm** 1993; 12: 506-14.

Sandstrom B, Lonnerdal B. Promoters and antagonists of zinc absorption. In: Mills C F, ed. Zinc in human biology. London: Springer-Verlag, 1989: 57-78.

Shankar AH, Prasad AS. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. **Am J Clin Nutr** 1998; 68(suppl.): 447S-463S.

Simes MA, Vuori E, Kuitunen P. Breastmilk iron: a declining concentration during the course of lactation. **Acta Paediatr Scand** 1979; 68: 29-31.

Simmer K, Ahmed S, Carlsson L, Thompson R P H. Breast milk zinc and copper concentrations in Bangladesh. **Br J Nutr** 1990; 63: 91-96.

Solomons NW, Ruz M. Zinc and iron interaction: concepts and perspectives in the developing world. *Nutr Res* 1997; 17: 177-185.

Sommer A, West KJr. **Vitamin A deficiency, health, survival and vision.** Oxford Oxford University Press, 1996.

Souza SB, Szarfarc SC and Souza, JMP. Anemia no primeiro ano de vida em relação ao aleitamento materno. *Rev Saude Publica* 1997; 31 (1): 15-20.

Stata Corporation. **Stata Statistics Data Analysis.** [computer program]. Version 6.0. Texas, USA, 1999.

Stephensen CB. **Vitamin A.** *Anm Rev Nutr* 2001; 21: 167-192.

Stoltzfus RJ, Hakimi M, Miller K, Rasmussen KM, Dawiesah S, Habicht J, Dibley M. High dose vitamin A supplementation of breastfeeding Indonesian mothers: Effects on the vitamin A status of mother and infant. *J Nutr* 1993; 123: 666-675.

Stoltzfus RJ, Underwood BA, Breastmilk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. *Bull World health Org* 1995; 73: 703-711.

Stryker WS, Kaplan LA, Stein EA, Stampfr MJ, Sober A, Willet WC. The relation of diet, cigarette smoking and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. *Am J Epidemiol* 1988; 127: 283-296.

Suharno D, West CE, Muhilal, Karyadi D, HautvastJ G A J. Supplementation with vitamin a and iron for nutritional anaemia in pregnant women in west Java, Indonesia. *Lancet* 1993; 342: 1325-1328.

Szarfarc SC. **Prevalência de anemia nutricional entre gestantes atendidas em centros de saúde do Estado de São Paulo.** Tese de Livre Docência, São Paulo: Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, 1983.

Taboada H. Rol de hierro en la nutrición infantil; 2ª Parte. *Rev Chil Pediatr* 1983; 132-138.

Tanumihardjo, AS, Suharno D, Permaesih D, Muherdiyantiningsih, Dahro AM, Muhilal Karyadi D et al. Application of the modified relative dose response test to pregnant Indonesian women for assesseng vitamin A status. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49: 897-903.

The Royal Society of Chemistry and MAFF. **The composition of foods**. London: HMSO, 1991.

Thibault H, Galan P, Selz F, Prezios P, Olivier C, Badoval J et al. The immune response in iron-deficient young children: effect of iron supplementation cell-mediated immunity. *Eur J Pediatr* 1993; 152: 120-124.

Trugo MF, Donangelo CM, Koury JC, Barreto Silva MI, Fritas LA.. Concentration and distribution pattern of selected micronutrients in preterm and term milk from urban brazilian mothers during early lactation. *Eur J Clin Nutr* 1988; 42: 497-507.

Underwood BA. Hipovitaminosis A: epidemiología de un problema de salud pública y estrategias para su prevención y control

Vahlquist A, Nilsoon S. Mechanisms for vitamin A transfer from blood to milk in rhesus monkeys. *J Nutr* 1979; 109: 1456-1463.

Victora CG, Smith PG, Vaughan JP, Nobre LC, Teixeira AMB, Fuchs SMC et al. Evidence for protection by breast-feeding against infant deaths from infections diseases in Brazil. *Lancet* 1987; 2: 319-321

Victora CG. The association between wasting and stunding: an international perspective. *J Nutr* 1992; 122: 1105-1110.

Victora C. Infection and disease: the impact of early weaning. **Food Nutr Bull** 1996; 17: 390-396.

Villarde L, Bates CJ. Effect of vitamin A supplementation on plasma and breast milk vitamin A levels in poorly nourished Gambian women. **Hum Nutr: clin Nutr** 1987; 41C: 47-58.

Vinutha B, Mehta Mn, Shanbag P. Vitamin A status of pregnant women and effect of post partum vitamin A supplementation. **Indian Pediatr** 2000; 37 (11): 1188-1193.

Vuori E, Kuitunen P. The concentration of copper and zinc in human milk: a longitudinal study. **Acta Pediatr Scand** 1979; 68: 33-35.

Whittaker P. Iron and zinc interactions in humans. **Am J Clin Nutr** 1998; 68 (suppl): 442S-446S.

Widdowson EM, Dauncey J, Shaw JCL. Trace elements in fetal and early post-natal development. **Proc Nutr** 1974; 33: 275-284.

World Health Organization. **Measuring change in nutritional status**. Geneva: World Health Organ, 1983.

World Health Organization. Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. **Bull World Health Organ** 1986; 64: 929-941.

World Health Organization. **Physical Status: The use and interpretation of anthropometry**. WHO, Geneva; 1995. Technical Report Series 854.

World Health Organization. The world Health Organization's infant-feeding recommendation. **Bull World Health Organ** 1995; 73: 165-174.

Yoshinaga J, Li JZ, Suzuki T, Karita K, Abe M, Fuji H ET AL. Trace elements in human transitory milk. **Biol Trace Elem Res** 1991; 31: 159-170.

Zapata CV, Donangelo CM, Trugo NMF. Effect of iron supplementation during lactation on human milk composition. **J Nutr Biochem** 1994; 5: 331-337.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Eu, _____, declaro para os devidos fins, que aceito participar livremente, bem como autorizo a participação de meu (minha) filho (a) _____, do estudo "A influência dos fatores nutricionais, psicológicos, obstétricos, socio-econômicos e demográficos nas concentrações de ferro, vitamina A, zinco e cobre do leite de doadoras dos bancos de leite de Lins e Marília, SP, sob a responsabilidade da equipe coordenada pelos pesquisadores **Patrícia Helen de Carvalho Rondó e Júlio de Mello Neto**, com o objetivo de investigar quais fatores da mãe influenciam a composição em cobre, ferro, zinco e vitamina A no leite materno.

Declaro ainda que fui esclarecida sobre os seguintes procedimentos dos quais eu e meu (minha) filho (a) iremos participar:

Eu –

- responder questionário com informações demográficas, nutricionais (incluindo amamentação), obstétricas, psicológicas e sócio-econômicas e de saúde em geral.
- 1 colheita de sangue venoso
- 1 colheita de meu leite de peito

Meu (minha) filho (a) –

- tomada de medidas antropométricas

Estou ciente que a colheita de sangue será realizada seguindo todas as normas de segurança ditadas pelo Ministério de Saúde, sem qualquer risco para minha integridade física, mental ou moral, e que este material, assim como o leite, será utilizado para análise de cobre, ferro, zinco e vitamina A, gerando informações importantes para a comunidade científica bem como para a população.

Tenho liberdade para anular este termo de consentimento a qualquer momento, sem nenhum constrangimento ou prejuízo para mim ou meu (minha) filho (o), bem como posso solicitar esclarecimento sobre qualquer dúvida que surgir em relação a este estudo.

Local, data e assinatura.

Responsável

Pesquisador

Informações: Júlio de Mello Neto ou Patrícia Rondó, Faculdade de Saúde Pública – USP – Av. Dr. Arnaldo, 715. São Paulo/SP. Tel. (14) 3452-5944 ou (11) 3066-7771/7705.

QUESTIONÁRIO

Dados Pessoais

Data: ___ / ___ / ___

Nome: _____ Idade: _____

Endereço: _____

Cidade/Bairro: _____ CEP: _____

Contato: _____

Naturalidade: _____

Dados Sócio-econômico-demográficos e de Estilo de Vida

1. Data de nascimento: ___ / ___ / ___

2. Estado Civil: _____

3. Escolaridade:

Analfabeto

Ensino Fundamental Incompleto

Ensino Fundamental Completo / Ensino Médio Incompleto

Ensino Médio Completo / Superior Incompleto

Superior Completo

4. Ocupação:

Trabalhador Ativo

Aposentada

Desempregada

Não Referido

5. Renda

- Até 1 salário mínimo
- De 1 a 2 salários mínimos
- De 2 a 3 salários mínimos
- De 3 a 5 salários mínimos
- De 5 a 10 salários mínimos
- De 10 a 20 salários mínimos
- > 20 salários mínimos
- Sem rendimentos
- Sem declaração

Hábito de Fumar

6. Nos últimos 12 meses fumou alguma tipo de cigarro, charuto ou cachimbo:

- Sim
- Não

7. Que tipo de cigarro consome:

- Cigarro sem filtro
- Cigarro de palha
- Cigarro com filtro branco
- Cigarro com filtro amarelo

8. Com que idade começou a fumar: _____

9. Quantos cigarros fuma por dia: _____

Para não fumantes atualmente

10. Quantos cigarros fumava por dia: _____

11. Com que idade começou a fumar: _____

12. Com que idade parou de fumar: _____

13. Quando fuma ou fumava:

Traga ou tragava o fumo profundamente

Traga ou tragava todo o fumo

Traga ou tragava parte do fumo

Não inala ou inalava o fumo

Não sabe

Consumo de álcool

14. Nos últimos 12 meses tem tomado alguma bebida com álcool como: Cerveja, Vinho, Licores, etc, durante ou entre as refeições?

Sim

Não

15. Desde que idade consome bebida alcoólica: _____

16. Quando as toma?

Em ocasiões especiais

Uma ou duas vezes ao mês

Uma ou duas vezes por semana

Todos os dias

Duas ou mais vezes ao dia

17. Antropometria

Peso	Estatura	IMC (Kg/m ²)	Peso ideal	Peso desejado.	TMB:
PP	CB	PCT	CC	CQ	NET:
CB	PCSI	PCSE	PCCX	% GC	

18. Número de filhos: _____

19. Amamentou outros filhos

() Sim

() Não

Porque: _____

Até que mês: _____

20. Quantos filhos menor de 4 anos de idade? _____

21. Momento da colheita do leite? _____

22. Uso de contraceptivo oral antes e após o parto?

23. Último dia de menstruação _____

24. Recordatório 24 horas

HORÁRIO	QUANTIDADE	ALIMENTO
Café da Manhã _____: _____		
Colação _____: _____		
Almoço _____: _____		
Lanche _____: _____		
Jantar _____: _____		
Ceia _____: _____		

25. Está utilizando algum tipo de suplemento, ou tomou durante a gravidez?

() Sim

() Não

Quais: _____

Por qual motivo: _____

Desde quando: _____

26. No último ano seguiu alguma dieta

() Sim

() Não

Quem indicou: _____

Qual o objetivo da dieta: _____

Questionário referente ao lactente

1. Antropometria

Idade gestacional do recém nascido: _____

Peso ao nascer: _____

Comprimento ao nascer: _____

Circunferência craniana: _____

Comprimento: _____

Peso: _____

Idade atual: _____

Circunferência torácica: _____

Circunferência braquial: _____

2. Hábito alimentar

() Amamentação exclusiva

() Amamentação mista

Se mista, com quantos meses iniciou-se a amamentação mista: _____

3. Há o uso de algum tipo de suplementação pelo o lactente

() Sim

() Não

Qual: _____

Por qual motivo: _____

Quem indicou: _____

4. Intercorrências ao nascer: _____

5. Intercorrências atuais: _____

6. Pré – natal: _____

7. Teve algum aborto ou algum filhos falecido:

() Sim

() Não

Causa: _____

8. Condições gerais de saúde:

9. Parto:

() Cesária

() Normal

() Forcéps