

**ANÁLISE DAS CONCENTRAÇÕES DE  
 $\alpha$ -TOCOFEROL E  $\beta$ -CAROTENO NOS SANGUES  
MATERNO E DO CORDÃO UMBILICAL DE  
FUMANTES E NÃO FUMANTES**

**SILMARA SALETE DE BARROS SILVA**



São Paulo

2003

# **ANÁLISE DAS CONCENTRAÇÕES DE $\alpha$ -TOCOFEROL E $\beta$ -CAROTENO NOS SANGUES MATERNO E DO CORDÃO UMBILICAL DE FUMANTES E NÃO FUMANTES**

**SILMARA SALETE DE BARROS SILVA**

Dissertação apresentada ao  
Departamento de Nutrição da  
Faculdade de Saúde Pública da  
Universidade de São Paulo para  
obtenção do título de Mestre em  
Saúde Pública.

Área de concentração: Nutrição.

ORIENTADOR: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia  
Helen de Carvalho Rondó



São Paulo

2003

# **ANÁLISE DAS CONCENTRAÇÕES DE $\alpha$ -TOCOFEROL E $\beta$ -CAROTENO NOS SANGUES MATERNO E DO CORDÃO UMBILICAL DE FUMANTES E NÃO FUMANTES**

**SILMARA SALETE DE BARROS SILVA**

Dissertação apresentada ao Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Saúde Pública.

Área de concentração: Nutrição.

ORIENTADOR: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Helen de Carvalho Rondó



São Paulo

2003

43201/2003 cg

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores.

Assinatura:

Data:

*Dedico este trabalho a....*

*meus pais, Antônio e Ivete, pelo apoio e confiança que sempre  
depositaram em mim;*

*meu querido namorado, Marco, pela paciência e companheirismo,  
sempre com palavras de incentivo nas horas mais difíceis;*

*meus irmãos, Marcos e Maurício, pela força e preocupação  
que sempre demonstraram;*

*e a todas as parturientes e recém-nascidos, pois sem eles  
este trabalho nunca teria existido..*

## AGRADECIMENTOS

*A realização deste trabalho só foi possível graças a colaboração de várias pessoas e Instituições, às quais sou grata e registro aqui meus sinceros agradecimentos:*

*A Deus, por todas as oportunidades colocadas em meu caminho;*

*À Profa. Dra. Patrícia Helen de Carvalho Rondó, minha orientadora, pela confiança e orientação;*

*Ao Prof. Dr. Gilmar S. Ersinger pelo apoio e colaboração, disponibilizando o suporte laboratorial da Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE), e a todos os funcionários ligados ao laboratório que me ajudaram na realização desta pesquisa; em especial ao Prof. Theodoro Wagner e ao Técnico de Laboratório César Gastaldi pelas inúmeras horas de ajuda com a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;*

*À todos os médicos, residentes, enfermeiras e auxiliares de enfermagem do Centro Obstétrico da Maternidade "Darcy Vargas", pelo imprescindível auxílio na coleta de dados. E à aqueles que me ajudaram e acreditaram neste trabalho, principalmente nas horas mais difíceis, sempre com uma palavra de consolo no momento certo;*

*À Comissão de Ética da Maternidade "Darcy Vargas", em especial ao Dr. Carlos Alberto Santos, pela viabilização deste trabalho;*

*Às secretárias da direção da Maternidade "Darcy Vargas", em especial Tânia, pela amizade e incentivo;*

*Aos farmacêuticos Paulo Gimenes Hidalgo e Marineusa Gimenes H. Hoffmann pela disponibilização do suporte laboratorial e pessoal qualificado, além das análises dos exames bioquímicos, sem o qual teria sido impossível a realização deste trabalho;*

*Aos farmacêuticos Marlon Pavanello, Michel Pereira, Giscard Siervo Conte e Márcia Pontes pela seriedade nas análises bioquímicas do material destinado à esta pesquisa, além da amizade e apoio de todos os demais funcionários do laboratório; em especial à técnica de laboratório Rosely pela colaboração na coleta de dados;*

*À todas as pessoas maravilhosas que conheci na Faculdade de Saúde Pública, em especial a amiga Adriana de Azevedo Paiva pelo apoio e incentivo nas horas mais difíceis;*

*À todos os colegas da seção de Equipamentos do Instituto Adolfo Lutz, em especial Alice Sakuma e Franca Maia pela amizade e ajuda nos momentos de dúvida;*

*Ao colega Dr. Alceu Jordão pelas inúmeras vezes que me auxiliou, esclarecendo dúvidas sobre a dosagem das vitaminas estudadas;*

*Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio concedido através da bolsa de mestrado;*

*Aos funcionários da Comissão de Pós Graduação, pelo empenho ao curso;*

*Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Saúde Pública, em especial à Maria Lúcia de Faria Ferraz, pela revisão das referências bibliográficas;*

*À todos que cruzaram meu caminho no decorrer desta jornada, e pelas inesquecíveis amizades que a realização desta pesquisa me proporcionou.*



## RESUMO

SILVA SSB. **Análise das concentrações de  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno nos sangues materno e do cordão umbilical de fumantes e não fumantes.** São Paulo, 2003. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Saúde Pública da USP].

**Objetivo.** Sendo os nutrientes contidos no sangue materno a única fonte de nutrição do feto fornecida pela via placentária, realizou-se este estudo para determinar as concentrações de  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno, nos sangues materno e do cordão umbilical, de um grupo de parturientes fumantes e não fumantes. **Métodos.** Foram estudados 236 pares de parturientes e recém-nascidos, em um hospital maternidade do município de Joinville, SC. Amostras de sangue venoso das parturientes e do cordão umbilical foram utilizadas para determinação das concentrações dos antioxidantes  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno, além das frações lipídicas. A diferença estatística entre as médias de concentrações de  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno nos sangues materno e do cordão umbilical, entre o grupo de fumantes e não fumantes foi verificada através da Análise de Variância (ANOVA); e a relação entre o  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno nos sangues materno e do cordão umbilical, foi analisada através de "Coeficiente de Correlação de Spearman". **Resultados.** O percentual encontrado de parturientes fumantes foi de 33,5%. As concentrações plasmáticas de  $\beta$ -caroteno apresentaram diferença estatística entre o grupo de fumantes e não fumantes, tanto no sangue materno como no do cordão umbilical. Verificou-se forte correlação para a razão  $\beta$ -caroteno/total lipídico entre os sangues materno e do cordão umbilical. O consumo de alimentos ricos em vitamina E e  $\beta$ -caroteno, foi maior entre as parturientes não fumantes. **Conclusões.** As concentrações plasmáticas de  $\beta$ -caroteno nos sangues materno e do cordão umbilical foram influenciadas pelo uso do tabaco, no entanto, o mesmo comportamento não foi observado para o  $\alpha$ -tocoferol.

**Descritores:**  $\alpha$ -tocoferol.  $\beta$ -caroteno. Gestação.

## SUMMARY

SILVA SSB. **Analyses of the concentrations of  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene in maternal blood and umbilical cord, in smokers and non-smokers.** São Paulo, 2003. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Saúde Pública da USP].

**Objective.** The nutrients in the maternal blood are the only source of nutrition in the fetus provided via placenta. The aim of this study was to measure the plasma levels of  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene in maternal and cord blood in a group of smokers and non-smokers. **Methods.** Two hundred thirty six (236) pairs of pregnant women and respective newborn babies, from a hospital in Joinville City, SC, were studied. Venous blood samples were taken from women and umbilical cord to determine plasma concentrations of the antioxidants  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene, and plasma lipoproteins. Differences between the concentrations of  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene in smokers and non-smokers were tested by Analysis of Variance (ANOVA); and the relation between plasma values of antioxidants in maternal blood and the umbilical cord were tested using Spearman's Correlation. **Results.** From the 236 pregnant women investigated, 33,5% were smokers. Plasma concentrations of  $\beta$ -carotene showed significant differences between smokers and non-smokers in both maternal and cord blood. There was a strong correlation for the ratio  $\beta$ -carotene/lipid total in maternal and cord blood. The intake of foods rich in vitamins E and  $\beta$ -carotene was higher in non-smokers. **Conclusion.** The plasma levels of  $\beta$ -carotene in maternal and cord blood were influenced by use of tobacco. However, it did not have any influence on the levels of  $\alpha$ -tocopherol.

**Descriptors:**  $\alpha$ -tocoferol.  $\beta$ -caroteno. Gestation.

# ÍNDICE

	<b>Página</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1. Toxicidade do oxigênio .....	1
1.2. Definição de radicais livres .....	3
1.3. Espécies derivadas de oxigênio, espécies reativas de oxigênio ou oxidantes? .....	5
1.4. Formação de algumas espécies reativas de oxigênio <i>in vivo</i> ....	5
1.5. Defesa antioxidante .....	7
1.6. Proteção antioxidante por agentes de baixa massa molecular: componentes derivados da dieta .....	9
1.6.1. Vitamina E .....	9
1.7. Carotenóides .....	12
1.8. Hábito de fumar x Vitaminas antioxidantes .....	13
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	19
<b>3. MÉTODOS</b> .....	20
3.1. Delineamento .....	20
3.2. Local .....	20
3.3. População .....	20
3.3.1. Amostragem .....	21
3.4. Coleta de dados antropométricos e descritivos .....	21
3.4.1. Parturientes .....	22
3.4.1.1. Frequência alimentar .....	22
3.4.2. Recém-nascidos .....	23
3.5. Avaliação da idade gestacional .....	23
3.6. Colheita de amostras de sangue .....	24
3.7. Distribuição das amostras de sangue para os locais de análise	25
3.8. Dosagens bioquímicas .....	25
3.8.1. Frações lipídicas .....	25
3.8.2. Dosagens de $\alpha$ -tocoferol e $\beta$ -caroteno	26
3.9. Variáveis em estudo .....	29

3.9.1. Variáveis para caracterização das parturientes .....	28
3.9.2. Variáveis para caracterização dos recém-nascidos .....	29
3.9.3. Variável de exposição .....	29
3.9.4. Variáveis de interesse .....	29
3.10. Análises estatísticas .....	29
3.11. Aspectos éticos .....	30
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>31</b>
4.1. Características gerais da amostra .....	31
4.1.1. Características das parturientes .....	31
4.1.1.1. Características sócio-demográficas .....	31
4.1.1.2. Características obstétricas .....	32
4.1.1.3. Uso de medicamentos e suplementos vitaminícos .....	33
4.1.1.4. Características antropométricas .....	34
4.1.1.5. Hábito de fumar .....	35
4.1.2. Características dos recém-nascidos .....	39
4.2. Concentrações plasmáticas de $\alpha$ -tocoferol e $\beta$ -caroteno em parturientes e recém-nascidos (cordão umbilical) .....	40
4.3. Concentração das frações lipídicas em parturientes e recém- nascidos (cordão umbilical) .....	44
4.4. Frequência alimentar .....	45
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>52</b>
5.1. Características gerais da amostra .....	53
5.2. Concentrações sanguíneas de $\alpha$ -tocoferol e $\beta$ -caroteno .....	57
5.3. Frequência alimentar .....	64
<b>6. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>68</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>70</b>
<b>ANEXOS</b>	
Anexo 1 – Formulário de registro de dados .....	A1
Anexo 2 – Exemplos de cromatogramas .....	A4
Anexo 3 – Termo de consentimento livre e esclarecido .....	A8

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>Tabela 1.</b> Espécies reativas de oxigênio	5
<b>Tabela 2.</b> Número (N) e percentual (%) de parturientes, segundo características sócio-demográficas. Joinville, 2002.....	32
<b>Tabela 3.</b> Distribuição de parturientes segundo o número de gestações e espaçamento gestacional. Joinville, 2002.....	33
<b>Tabela 4.</b> Distribuição de parturientes, segundo o uso de suplementos vitamínicos durante a gestação. Joinville, 2002 .....	34
<b>Tabela 5.</b> Distribuição das parturientes segundo o ganho de peso gestacional. Joinville, 2002 .....	34
<b>Tabela 6.</b> Distribuição das parturientes segundo Índice de Massa Corporal (IMC). Joinville, 2002.....	35
<b>Tabela 7.</b> Distribuição dos recém-nascidos segundo sexo e idade gestacional. Joinville, 2002.....	39
<b>Tabela 8.</b> Distribuição dos recém-nascidos segundo sexo e peso ao nascer. Joinville, 2002.....	39
<b>Tabela 9.</b> Distribuição das parturientes de acordo com as concentrações sanguíneas encontradas de $\alpha$ -tocoferol e $\beta$ -caroteno. Joinville, 2002 .....	40
<b>Tabela 10.</b> Distribuição dos recém-nascidos de parturientes fumantes e não fumantes de acordo com as concentrações sanguíneas	

encontradas de  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno. Joinville, 2002 ..... 40

**Tabela 11.** Coeficientes de correlação de Spearman ( $r$ ) entre vitaminas estudadas e frações lipídicas nas mães e nos recém-nascidos. Joinville, 2002 ..... 43

**Tabela 12.** Coeficientes de correlação de Spearman ( $r$ ) entre a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no sangue das parturientes e os alimentos consumidos durante a gestação. Joinville, 2002 ..... 48

**Tabela 13.** Coeficientes de correlação de Spearman ( $r$ ) entre a concentração  $\beta$ -caroteno no sangue das parturientes e os alimentos consumidos durante a gestação. Joinville, 2002 ..... 50

## LISTA DE FIGURAS

### Página

<b>Figura 1.</b> Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o número de cigarros consumidos por dia durante a gestação. Joinville, 2002 .....	36
<b>Figura 2.</b> Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o trimestre de consumo de cigarros durante a gestação. Joinville, 2002 .....	36
<b>Figura 3.</b> Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o número de cigarros consumidos por dia durante o 1º trimestre. Joinville, 2002 .....	37
<b>Figura 4.</b> Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o número de cigarros consumidos por dia durante o 2º trimestre. Joinville, 2002.....	37
<b>Figura 5.</b> Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o número de cigarros consumidos por dia durante o 3º trimestre. Joinville, 2002 .....	38
<b>Figura 6.</b> Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o número de cigarros consumidos por dia antes da gestação. Joinville, 2002 .....	38
<b>Figura 7.</b> Correlação entre a razão beta-caroteno/total lipídico entre os sangues das mães e recém-nascidos (cordão umbilical).....	41
<b>Figura 8.</b> Correlação entre a razão da vitamina E/total lipídico entre os sangues das mães e recém-nascidos (cordão umbilical).....	42

<b>Figura 9.</b> Média e desvio padrão das frações lipídicas entre parturientes fumantes e não fumantes. Joinville, 2002 .....	44
<b>Figura 10.</b> Média e desvio padrão das frações lipídicas entre recém-nascidos de parturientes fumantes e não fumantes. Joinville, 2002 ....	44
<b>Figura 11.</b> Percentual (%) do consumo de alimentos considerados ricos em vitamina E, pelas parturientes fumantes e não fumantes. Joinville, 2002 .....	46
<b>Figura 12.</b> Percentual (%) do consumo de alimentos considerados ricos em $\beta$ -caroteno, pelas parturientes fumantes e não fumantes. Joinville, 2002 .....	46



## **1. Introdução**

Segundo CASTRO e col. (2001), durante os últimos 30 anos o campo da química e biologia dos radicais livres tem se desenvolvido, desde uma fase de relativa obscuridade, até se tornar o principal elemento da investigação biomédica e do desenvolvimento farmacêutico. Com isto, aumentou a evidencia de que o estresse oxidativo, definido como o desequilíbrio entre a formação e remoção dos radicais livres no organismo, leva a uma prejudicial reação bioquímica, contribuindo para o desenvolvimento de doenças crônicas, incluindo doenças vasculares e desordens imunológicas.

### **1.1. Toxicidade do oxigênio**

Quando os primeiros organismos surgiram na Terra, eles estavam sob o domínio de uma atmosfera contendo pouco oxigênio ( $O_2$ ), isto significa que eles eram essencialmente anaeróbios. Microrganismos anaeróbios ainda existem nos dias de hoje, mas seu crescimento é inibido e, freqüentemente, eles morrem se expostos a 21% de oxigênio, o atual nível atmosférico. Com o oxigênio existente na atmosfera, muitos organismos primitivos foram morrendo. Nos dias atuais, os microrganismos anaeróbios são presumivelmente os descendentes destes organismos primitivos que seguiram o caminho evolucionário, se adaptando ao aumento do nível atmosférico de oxigênio, restringindo-se a ambientes onde o oxigênio não penetra. Entretanto, outros organismos começaram o processo evolucionário desenvolvendo o sistema de defesa antioxidante para se protegerem contra

a toxicidade do oxigênio. Isto foi um “passo” importante, pois organismos que toleravam a presença de oxigênio puderam também estar envolvidos em transformações metabólicas, e na produção de energia usando a cadeia de transporte de elétrons com o oxigênio como receptor terminal de elétrons, como aqueles presentes na mitocôndria. A mitocôndria produz mais de 80% de ATP (trifosfato de adenosina) necessário para as células de mamíferos (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

Nós, seres humanos, temos desenvolvido uma defesa antioxidante para nos proteger contra 21% de oxigênio, mas não mais do que esta concentração. Esta limitação é evidenciada pelo sofrimento de organismos aeróbios, apresentando efeitos prejudiciais se expostos à concentração de oxigênio maior que 21%. Um exemplo é a forma de cegueira originalmente conhecida como fibroplasia retrolental, atualmente chamada de retinopatia da prematuridade, aumentada abruptamente, aproximadamente em 1940 entre crianças nascidas prematuras. Em 1954 observou-se que esta retinopatia da prematuridade estava associada com altas concentrações de oxigênio nas incubadoras para bebês prematuros. O monitoramento contínuo, com suplementação de oxigênio realizado somente quando necessário para manter o nível de oxigênio sanguíneo, juntamente com a administração de antioxidante ( $\alpha$ -tocoferol), tem diminuído esta incidência (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

A primeira evidência direta entre radicais livres e toxicidade do oxigênio apareceu em 1954 quando Rebeca Gerschman, Daniel Gilbert e colaboradores notaram que o dano causado pela radiação-x ao tecido dos

pulmões, era similar ao induzido por altas concentrações de oxigênio. Neste trabalho, a similaridade destes dois fenômenos patológicos foi estabelecida pela citação de observações prévias, e pela apresentação de novos dados mostrando os efeitos cumulativos da hiperóxia e da irradiação-x. Este mesmo grupo de pesquisadores relatou que muitos agentes químicos que proporcionam proteção contra o efeito tóxico da radiação, também protegem contra o envenenamento pelo oxigênio. A característica essencial desta teoria era que ambos, o envenenamento pelo oxigênio e os efeitos biológicos da irradiação-x, dividem um mecanismo comum de ação, especificamente o de reações dos radicais livres (CASTRO e FREEMAN 2001).

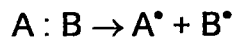
Em 1969, JOE MCCORD e IRWIN FRIDDOCH quiseram solidificar o conceito de radical livre mediado pela toxicidade do oxigênio, identificando uma função catalítica da enzima superóxido dismutase (SOD), evidenciando a geração *in vivo* do radical superóxido. Depois do esclarecimento sobre a defesa antioxidante nos tecidos, e a evolução rápida da percepção no mecanismo dos danos inflamatórios, a teoria de Gerschmann, Gilbert e colaboradores, ganhou força e ultrapassou um revolucionário entendimento de facetas múltiplas da biologia e da medicina (CASTRO e FREEMAN 2001).

## **1.2. Definição de radicais livres**

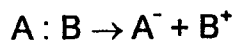
Na estrutura de átomos e moléculas, usualmente os elétrons são associados em pares, no qual cada par se move dentro de uma região

definida de espaço em volta do núcleo. Este espaço é definido como orbital atômico ou orbital molecular. Um elétron de cada par tem um número quântico de spin  $+\frac{1}{2}$ , e outro de  $-\frac{1}{2}$ . Um radical livre é qualquer espécie que contenha um ou mais elétrons não pareados capaz de existir independentemente (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

Os radicais livres podem ser formados pela perda ou adição de um único elétron para um composto não radical. Eles podem ser formados na fissão homolítica de uma ligação química co-valente, se cada um dos elétrons compartilhados na ligação permanecer em cada um dos átomos que participam da ligação (ABDALLA 1999). Se "A" e "B" são dois átomos covalentemente ligados (":" representação do elétron pareado), a fissão homolítica é representada da seguinte maneira:



formando assim, os radicais  $A^{\bullet}$  e  $B^{\bullet}$ . Por exemplo, a fissão homolítica de uma ligação co-valente O-H na molécula da água formará um radical hidrogênio ( $H^{\bullet}$ ) e um radical hidroxila ( $^{\bullet}OH$ ). Por outro lado, na fissão heterolítica um átomo (representado por "A") recebe ambos os elétrons quando a ligação co-valente é quebrada, não formando nenhum radical. Assim, "A" fica com uma carga negativa e "B" com uma carga positiva. A fissão heterolítica é formada da seguinte maneira:



A fissão heterolítica da água resulta em um íon hidrogênio ( $H^+$ ) e um ânion hidroxila ( $OH^-$ ) (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

### 1.3. Espécies derivadas de oxigênio, espécies reativas de oxigênio ou oxidantes?

“Espécies reativas de oxigênio” (ERO) é um termo coletivo usado freqüentemente por cientistas para incluir não só os radicais de oxigênio (superóxido,  $O_2^-$  e radical hidroxila,  $OH^\cdot$ ), mas também alguns não-radicais derivados de oxigênio. Fazem parte dos não-radicais: peróxido de hidrogênio,  $H_2O_2$ ; ácido hipocloroso, HOCL e ozônio,  $O_3$  (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

A Tabela 1 permite uma melhor visualização das espécies reativas de oxigênio.

**Tabela 1.** Espécies reativas de oxigênio

<i>Radicais</i>	<i>Não radicais</i>
Superóxido, $O_2^-$	Peróxido de hidrogênio, $H_2O_2$
Hidroxila, $OH^\cdot$	Ácido hipocloroso, HOCL
Peroxila, $RO_2$	Ozônio, $O_3$
Alcooxila, $RO^\cdot$	Oxigênio singlete, $^1O_g$
Hidroperoxila, $HO_2^\cdot$	Peroxinitrato, ONOO

Fonte: HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999.

### 1.4. Formação de algumas espécies reativas de oxigênio *in vivo*

Os seres humanos são expostos a radiação eletromagnética do ambiente tanto natural (por exemplo, a radiação cósmica), como a produzida

pelo homem. As radiações eletromagnéticas de baixo comprimento de onda (por exemplo, raios gama) podem quebrar a molécula da água no corpo humano e gerar o radical hidroxila ( $\text{OH}\cdot$ ) (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999). Além do processo da radiólise da água, o radical hidroxila em sistemas biológicos, pode ser formado através de interações entre metais de transição, radical superóxido e peróxido de hidrogênio (Reação de Haber-Weiss e Reação de Fenton) (ABDALLA 1999).

O corpo humano também produz o radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), que pode ser gerado por reações de autoxidação e reações enzimáticas em diversas organelas celulares. A hemoglobina, mioglobina, catecolaminas e alguns compostos encontrados na mitocôndria e na cadeia de transporte de elétrons no retículo endoplasmático, são exemplos de substâncias de interesse biológico que se autoxidam gerando o radical superóxido. Várias enzimas, tais como a xantina oxidase, NADPH (*nicotinamide adenine phospho-desidrogenase*) oxidase e diversas flavinas desidrogenases, também geram este radical. As células fagocíticas (neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos) que defendem o organismo contra as bactérias, vírus e fungos, geram grande quantidade de superóxido como parte do mecanismo de destruição de organismos estranhos (ABDALLA 1999; HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

Qualquer sistema biológico que gera superóxido poderá também gerar peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), através da reação de dismutação. Várias enzimas encontradas *in vivo* podem gerar peróxido de hidrogênio diretamente, incluindo xantina, urato e D-aminoácido oxidases. O peróxido

de hidrogênio não possui nenhum elétron não pareado, por isso é um não-radical (ABDALLA 1999)

Na década de 80, outra espécie de radical livre, o óxido nítrico ( $\text{NO}\cdot$ ), foi descrito, e atualmente é reconhecido como sendo o fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF). O óxido nítrico é formado em células de mamíferos por uma família de enzimas denominadas de óxido nítrico sintetases, que catalisam a oxidação enzimática do aminoácido L-arginina, para formar citrulina e óxido nítrico ( $\text{NO}\cdot$ ). O óxido nítrico é um importante mediador de diversos processos fisiológicos, incluindo neurotransmissão, regulação da pressão sangüínea, inibição da agregação plaquetária, também atuando na regulação da função imune. No entanto, o óxido nítrico pode ser lesivo quando produzido em excesso (ABDALLA 1999; CASTRO e FREEMAN 2001).

### **1.5. Defesa antioxidante**

Antioxidante é um termo amplamente usado, porém, raramente definido. Por exemplo, a tecnologia de alimentos utiliza os antioxidantes como inibidor da peroxidação lipídica. Já os cientistas de polímeros usam antioxidantes para o controle da polimerização na fabricação de borracha, plásticos e tintas, além de utilizá-los contra os raios ultravioletas, na proteção do plástico transparente (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

Nos seres vivos, quando as espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) são geradas, muitos antioxidantes começam a atuar. Esta atuação depende de alguns fatores como: quais

espécies ERO e ERN são geradas; e, como e onde são geradas. Por exemplo, a exposição do plasma sangüíneo à fumaça do cigarro causa peroxidação lipídica, sendo que este processo pode ser inibido pelo ascorbato. Entretanto, o ascorbato não protege as proteínas plasmáticas contra o prejuízo causado pela fumaça do cigarro. *In vivo*, as ERO e ERN são capazes de danificar os lipídios, proteínas e o DNA (HALLIWELL & GUTTERIDGE 1999).

Devido a esta complexidade, os autores HALLIWELL e GUTTERIDGE, propuseram uma definição abrangente de antioxidante. Segundo estes autores, antioxidante é "qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações comparada com as concentrações de um substrato oxidável, retarda significativamente ou previne a oxidação do substrato". O termo "substrato oxidável" inclui todo o tipo de molécula encontrada *in vivo*.

A defesa antioxidante abrange:

- agentes que, através da catálise, removem os radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio. São exemplos as enzimas superóxido dismutase, catalase e peroxidases;
- proteínas que minimizam a disponibilidade de substâncias pró-oxidantes como os íons ferro e cobre. São exemplos as transferrinas e haptoglobinas. Nesta categoria, inclui-se proteínas que oxidam íons ferro, como as ceruloplasminas;
- proteínas que protegem as biomoléculas contra os danos, inclusive danos oxidativos;



- agentes de baixa massa molecular que varrem espécies reativas de oxigênio e espécies reativas de nitrogênio. São exemplos, a glutatona, o  $\alpha$ -tocoferol, a bilirrubina e o ácido úrico (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

### **1.6. Proteção antioxidante por agentes de baixa massa molecular: componentes derivados da dieta.**

Apesar do ácido ascórbico (vitamina C) também fazer parte dos constituintes dietéticos, que exercem efeitos antioxidantes *in vivo*; de acordo com o interesse deste estudo, abrangeremos apenas o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E).

#### **1.6.1. Vitamina E**

O termo “vitamina E” não se refere à estrutura química, trata-se apenas de um termo nutricional. Foi introduzido em 1922 por EVANS e BISHOP, que descreveram um fator dietético na nutrição animal, considerado na época, importante para a reprodução normal. Esta vitamina é composta por oito isômeros, que estão divididos em:

- quatro tocoferóis ( $\alpha, \beta, \gamma, \sigma$ ) e;
- quatro tocotrienóis ( $\alpha, \beta, \gamma, \sigma$ ) (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

A vitamina E é considerada o principal antioxidante lipossolúvel prevenindo o ataque oxidativo da membrana lipídica e outros componentes associados à membrana dos ácidos graxos poliinsaturados, mostrando-se eficaz contra os radicais livres (BURTON e col. 1989; BURTON e col. 1990).

Esta mesma vitamina é transportada no plasma somente por lipoproteínas, e suas concentrações estão diretamente relacionadas com as concentrações lipídicas. Apesar da vitamina E estar presente em todas as frações lipídicas, são a LDL (*"low density lipoprotein"* - lipoproteína de baixa densidade) e a HDL (*"high density lipoprotein"* - lipoproteína de alta densidade), respectivamente, os principais veículos de seu transporte no plasma humano (BECHRENS e col. 1982; HAGA e col. 1982).

Durante a ação antioxidante de quebra de reação em cadeia, o  $\alpha$ -tocoferol é consumido e convertido em forma de radical, passando a ser um  $\alpha$ -tocoferil. Entretanto, existem mecanismos fisiológicos que podem reduzir este radical, novamente, à forma de  $\alpha$ -tocoferol (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

Certas condições fisiológicas, ou doenças, onde a redução da secreção de bile ou produção de lipases estão envolvidas, apresentam efeito direto na absorção de vitaminas lipossolúveis. A bile emulsifica o tocoferol incorporando-o nas micelas com outros componentes lipossolúveis, facilitando sua absorção através das lipases, necessárias para hidrólise de antioxidantes esterificados como as vitaminas E e A (PAPAS 1999).

Algumas doenças, especialmente aquelas que provocam inflamação intestinal ou mudanças significativas na flora intestinal, podem acarretar uma diminuição na absorção de nutrientes. Por exemplo, muitos pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida – SIDA desenvolvem esteatorréia, uma condição associada com sérios problemas na absorção de vitaminas

lipossolúveis. Inúmeras drogas, especialmente os antibióticos, têm efeito direto na absorção de nutrientes, incluindo os antioxidantes (PAPAS 1999).

Doenças metabólicas, como o Diabetes materno, podem provocar um aumento da morbi-mortalidade fetal, apesar dos fatores envolvidos não estarem totalmente elucidados. Um desses fatores pode ser o aumento na produção de radicais livres pelo feto destas mulheres. O estresse oxidativo em indivíduos diabéticos pode ser responsável pelo desenvolvimento das complicações desta doença (BATES e col. 1997). O estresse oxidativo ocorre quando há o desequilíbrio entre a formação e a remoção dos radicais livres no organismo, decorrente da diminuição dos antioxidantes endógenos, ou do aumento da geração de radicais livres, promovendo um estado pró-oxidante que favorece a ocorrência de lesões oxidativas em macromoléculas e estruturas celulares (ABDALLA 1999). Segundo LYONS (1991), há evidências de que tanto a produção de radicais livres como as defesas antioxidantes estão alteradas em indivíduos com diabetes.

Alguns autores observaram aumento da peroxidação lipídica e diminuição da atividade antioxidante em mulheres com pré-eclâmpsia (HUBEL e col. 1989; KHARB e col. 1998). KHARB (2000), encontrou níveis plasmáticos de vitamina E significativamente diminuídos em pacientes com pré-eclâmpsia, comparando-as com um grupo controle (normotensas) ( $p < 0,001$ ).

## 1.7. Carotenóides

Evidências epidemiológicas têm apontado que dietas ricas em frutas, grãos e vegetais protegem contra várias doenças do homem, especialmente doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer. As vitaminas E e C, contribuem para alguns desses efeitos protetores, mas são muitos outros constituintes que podem exercer efeito antioxidante adicional, ou proteger por mecanismos completamente diferentes. Apesar da atenção particular aos carotenóides e plantas fenólicas quanto a suas propriedades antioxidantes, as evidências *in vivo* ainda são limitadas (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

Os carotenóides são um grupo de pigmentos coloridos (usualmente amarelo, vermelho e laranja) que são encontrados em plantas, e não são sintetizados em animais. Aproximadamente 600 carotenóides já foram descritos, e menos de 10% destes componentes podem ser metabolizados em retinol e desempenhar função como precursor da vitamina A em mamíferos (ROCK e col. 1996; HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

Em plantas os carotenóides desempenham uma função importante, ajudando na prevenção da formação e na quebra das espécies reativas de oxigênio, especialmente o oxigênio *singlete*, formado durante a fotossíntese. Nos seres humanos, a luz solar depleta o  $\beta$ -caroteno na pele, o que consiste em uma função protetora. Em indivíduos com porfiria, a administração de  $\beta$ -caroteno é protetora contra os prejuízos causados pela luz na pele dos pacientes (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

Nos seres humanos, a maioria dos carotenóides é encontrada no tecido adiposo (80-85% do total) e fígado (8-12%), sendo que os níveis plasmáticos e teciduais são variáveis de acordo com a dieta (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

A absorção e o metabolismo de carotenóides variam entre espécies de animais. Nos seres humanos e alguns outros mamíferos, certa quantidade de carotenóides podem ser absorvidos pelas células da mucosa, onde são incorporados de forma inalterada pelos quilomícrons, sendo transportados na circulação sanguínea associados às lipoproteínas (ROCK e col. 1996).

Estudos *in vitro* têm mostrado que o  $\beta$ -caroteno inibe a peroxidação lipídica de sistemas lipídicos a baixas concentrações de oxigênio, mas não em altas. Entretanto, estudos *in vivo*, com LDL, mostraram que o  $\beta$ -caroteno não protege contra a peroxidação lipídica, qualquer que seja a concentração do oxigênio. Apesar dos carotenóides serem eficientes na quebra/varredura de oxigênio *singlete*, é incerta sua importância em animais saudáveis, apesar do oxigênio *singlete* poder ser formado durante a peroxidação lipídica (HALLIWELL e GUTTERIDGE 1999).

### **1.8. Hábito de fumar X Vitaminas antioxidantes**

As vitaminas antioxidantes podem ser importantes para neutralizar os efeitos da oxidação dos tecidos, causados pelo hábito de fumar. Vários estudos têm investigado os padrões dietéticos de diferentes grupos de fumantes comparados com os não fumantes, mostrando que a dieta dos

fumantes é rica em gorduras (saturadas) e pobre em frutas e vegetais (FEHILY e col. 1984; SUBAR e col. 1990; WICHELOW e col. 1991; MARGETTS e col. 1993; SUBAR e col. 1993; McPHILLIPS e col. 1994). Mesmo quando a dieta de fumantes e não fumantes é equivalente, as concentrações de nutrientes antioxidantes, incluindo as vitaminas A e E de fumantes, são menores (McARDLE e col. 1999).

O hábito de fumar aumenta a peroxidação lipídica e reduz os níveis sangüíneos de antioxidantes. Os indivíduos fumantes são mais expostos a oxidantes do que os não fumantes podendo necessitar de uma maior ingestão de antioxidantes para compensar este aumento de exposição (SCHECTMANN 1993).

Os fumantes apresentam alto estresse oxidativo e, normalmente, tanto uma baixa ingestão como baixos níveis plasmáticos de vitaminas antioxidantes podem tornar a lipoproteína de baixa densidade (LDL) mais susceptível a peroxidação lipídica (SCHEFFLER e col. 1992). No entanto, sabe-se que o  $\alpha$ -tocoferol e o  $\beta$ -caroteno são alguns dos antioxidantes que protegem a LDL contra esta oxidação (PÓVOA 1995).

Os lipídios provenientes dos alimentos e, particularmente aqueles contendo ácidos graxos poliinsaturados, são facilmente oxidados por uma reação em cadeia. O tocoferol natural,  $\alpha$ -tocoferol sintético e outros antioxidantes fenólicos são eficientes bloqueadores desta reação (PAPAS 1999). Apesar do  $\beta$ -caroteno também funcionar como antioxidante bloqueador, ele é menos eficiente do que a vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) (BURTON e INGOLD 1984).

Em um estudo onde o objetivo foi determinar a biocinética da vitamina E em indivíduos fumantes e não fumantes, através da suplementação oral com  $\alpha$ -tocoferol nos dois grupos, MUNRO e col. (1997) observaram que os fumantes apresentaram, aproximadamente, níveis plasmáticos de  $\alpha$ -tocoferol 50% mais baixos, comparado com o grupo de não fumantes ( $p < 0,05$ ). Segundo os autores, a possível explicação para estes achados é que os fumantes têm uma diminuição na absorção do  $\alpha$ -tocoferol, modificação na sua captação do fígado, aumento do depósito nos tecidos, ou uma combinação destes eventos. Além disso, devido ao aumento do estresse oxidativo, o consumo de vitamina E para os tecidos pode estar aumentado nestes indivíduos.

Em um estudo *in vitro*, onde o plasma humano foi exposto à fumaça do cigarro, houve diminuição de vários antioxidantes plasmáticos. O  $\alpha$ -tocoferol diminuiu 20% e 70% ( $p < 0,001$ ), depois de 3 e 9 horas de exposição, respectivamente. O mesmo aconteceu com o  $\beta$ -caroteno, apresentando uma perda de 50%, depois de 9 horas de exposição ( $p < 0,001$ ) (HANDELMAN e col. 1996).

JÄRVINEN (1993), refere uma relação positiva entre a ingestão dietética e níveis séricos de  $\beta$ -caroteno em mulheres ( $p < 0,001$ ). Os resultados deste mesmo estudo indicam que o hábito de fumar pode diminuir a associação entre a ingestão dietética e os níveis séricos de  $\beta$ -caroteno, reforçando a idéia de que indivíduos fumantes apresentam alto risco de estresse oxidativo. ROSS e col. (1995), encontraram concentrações

plasmáticas de  $\beta$ -caroteno significativamente menores em fumantes ( $p=0,020$ ).

No estudo realizado por ALBANES e col. (1992), o  $\beta$ -caroteno proveniente da dieta e os níveis de colesterol no soro estavam positivamente associados aos níveis sanguíneos de  $\beta$ -caroteno ( $p<0,001$  e  $p<0,030$ , respectivamente), havendo correlação positiva entre os níveis sanguíneos de  $\beta$ -caroteno e o  $\beta$ -caroteno proveniente da dieta ( $r=0,29$ ;  $p<0,001$ ).

STRYKER e col. (1988) estimaram que a concentração sanguínea de  $\beta$ -caroteno em mulheres fumantes é de apenas 79% em relação às concentrações das não fumantes. Por isso, o hábito de fumar durante a gestação pode proporcionar implicações quanto a transferência intra-uterina de carotenóides, conseqüentemente, refletindo nos níveis de carotenóides do recém-nascido (KIELY e col. 1999).

A vitamina E e os carotenóides são transferidos através da placenta para o feto durante o último trimestre da gestação. Durante este estágio crítico da vida, os nutrientes contidos no sangue materno são a única fonte da alimentação fetal (BURTON e col. 1982).

De acordo com alguns estudos (IBEZIAKO e ETTE 1982; YEUM e col. 1998; KIELY e col. 1999), as concentrações plasmáticas de  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol no cordão umbilical, são significativamente menores que os valores maternos ( $p<0,010$ ). Segundo HAGA e col. (1982), isto se deve principalmente a baixos níveis de substâncias lipídicas no cordão umbilical, limitando a capacidade de transporte de  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol (VOBECKY e col. 1982).



OOSTENBRUG e col. (1998), estudando a relação entre antioxidantes lipossolúveis nos sangues materno e no cordão umbilical, não encontraram correlação para níveis de  $\alpha$ -tocoferol, mas observaram relação significativa para níveis de  $\beta$ -caroteno ( $p < 0,05$ ). No entanto, SHAH e col. (1987) encontraram correlação significativa de  $\alpha$ -tocoferol entre níveis plasmáticos materno e do cordão umbilical em mulheres indianas, tanto de baixo como de alto nível sócio econômico ( $r = 0,96$   $p < 0,001$ ;  $r = 0,65$ ;  $p < 0,001$ ) respectivamente, sugerindo que os níveis de  $\alpha$ -tocoferol no cordão umbilical são influenciados somente por níveis maternos baixos (OOSTENBRUG e col. 1998). VOBECKY e col. (1982) e CHEN e col. (1996) também encontraram uma correlação significativa entre os níveis sangüíneos de vitamina E materno e do cordão umbilical ( $r = 0,26$   $p < 0,05$ ;  $r = 0,43$   $p < 0,03$ ), respectivamente. Quando os autores correlacionaram a razão vitamina E/ total lipídico do sangue materno, no parto, com a razão vitamina E/ total lipídico do cordão umbilical, os resultados foram positivos ( $r = 0,53$   $p < 0,004$ ) (CHEN e col. 1996).

Apesar do hábito de fumar ter sido identificado como um dos fatores de risco mais importantes para inúmeras doenças, principalmente as crônico-degenerativas, a prevalência do tabagismo no Brasil está em torno de 30% entre as mulheres em idade fértil (WHO 2003a).

Dada a importância dos dados apresentados, onde se observa a diminuição tanto da ingestão como dos níveis plasmáticos de  $\beta$ -caroteno e vitamina E em fumantes, e considerando-se que os recém-nascidos gerados por essas mulheres podem estar sendo prejudicados, uma vez que os

nutrientes contidos no sangue materno são a única fonte de alimentação do feto fornecida pela via placentária, e pelo fato das membranas dos eritrócitos e das plaquetas de recém-nascidos serem mais susceptíveis ao estresse oxidativo do que de adultos (MINO 1992), decidiu-se realizar esta pesquisa.

## 2. Objetivos

- Determinar as concentrações de antioxidantes,  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno, nos sangues materno e do cordão umbilical, de um grupo de parturientes fumantes e não fumantes, atendidas em um Hospital Maternidade do município de Joinville, SC;
- Avaliar a relação da razão vitamina E/total lipídico e  $\beta$ -caroteno/total lipídico entre os sangues materno e do cordão umbilical;
- Avaliar a relação das concentrações de  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol nos sangues materno e do cordão umbilical, com a ingestão, durante a gestação, de alimentos ricos nesses micronutrientes.

### **3. Métodos**

#### **3.1. Delineamento**

Estudo de corte transversal, envolvendo parturientes e seus respectivos recém-nascidos a termo.

#### **3.2. Local**

Este estudo foi realizado no Hospital Maternidade Darcy Vargas, localizado no município de Joinville, SC. Trata-se de um hospital público credenciado pela UNICEF como Hospital Amigo da Criança, onde cerca de 95% das pacientes são atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS). O Hospital Maternidade Darcy Vargas é o único da rede pública que atende os partos realizados na cidade de Joinville e região.

#### **3.3. População**

Participaram do estudo 244 parturientes que deram entrada no serviço para a realização do parto, durante o período de julho a novembro de 2002. Para o propósito deste estudo, foram excluídas todas as parturientes com história de diabetes, hipertensão arterial, doenças infecciosas agudas e crônicas, partos gemelares e recém-nascidos prematuros (<37 semanas de gestação). Desta forma, a amostra final constituiu-se de 236 pares, sendo excluídas oito parturientes (3,4%), devido aos seguintes motivos:

1. cinco (2,2%): prematuridade constatada através da avaliação da idade gestacional pelo método de Capurro;
2. uma (0,4%): portadora do vírus HIV, confirmado posteriormente;

3. uma (0,4%): fratura de clavícula do recém-nascido, impossibilitando a realização da avaliação da idade gestacional pelo método de Capurro, e;
4. uma (0,4%): má formação do recém-nascido.

### **3.3.1. Amostragem**

Para o cálculo do tamanho da amostra os parâmetros adotados foram 80% de poder; 0,05 de significância e 2,5 de “risco relativo”, considerando uma frequência de 57% de baixos níveis de vitamina E (<5mg/L)<sup>1</sup> no grupo não exposto. Foi considerada apenas a prevalência de baixos níveis de vitamina E, levando-se em conta que a prevalência encontrada por BERTOLI (2001) de baixos níveis de  $\beta$ -caroteno foi muito alta, o que reduziria o tamanho da amostra. Através desse cálculo, chegou-se a uma amostra mínima de 222 gestantes, sendo 74 expostas e 148 não expostas (LWANGA 1989). Supondo uma perda de 10% chegou-se a um valor final de 244 gestantes, sendo 81 expostas e 162 não expostas.

### **3.4. Coleta de dados antropométricos e descritivos**

Na sala de pré-parto as parturientes foram convidadas a participar do estudo onde foram esclarecidas a respeito da pesquisa e os procedimentos a serem realizados, assegurando-lhe o direito de recusa ou desistência em qualquer momento da pesquisa. Nenhuma parturiente se negou a participar do estudo.

---

<sup>1</sup> Em um trabalho realizado com gestantes no interior de São Paulo, 57% da população apresentou níveis plasmáticos de vitamina E abaixo do valor aceitável (>5mg/L) (BERTOLI 2001).

### **3.4.1. Parturientes**

Após seu consentimento, as parturientes foram pesadas utilizando-se balança eletrônica da marca Seca, modelo 7500, com capacidade para 150kg e precisão de 100g. Algumas parturientes que se encontravam em estágio avançado de trabalho de parto foram poupadas deste procedimento. Devido às condições físicas da sala de pré-parto, a correta tomada da medida da estatura foi inviável, portanto, este dado não foi coletado; optando-se por utilizar o valor da estatura referido pela parturiente.

As participantes responderam, antes ou depois do parto, a um questionário elaborado especificamente para este estudo, a fim de se obter informações relativas à idade, ocupação, estado civil, renda familiar e uso de suplementação medicamentosa (Anexo 1). Informações não referidas com certeza pelas entrevistadas foram confirmadas mediante consulta ao prontuário.

#### **3.4.1.1. Frequência Alimentar**

Também foram avaliados os hábitos alimentares através de questionário de frequência alimentar. Para este propósito, considerou-se:

- ✓ Alimentos ricos em vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol): queijo, requeijão, manteiga e margarina, leite, batata doce, ameixa preta seca, abacate, uva passa, peixe (fresco e enlatado), frango, fígado, carne processada (presunto, salame), carne vermelha (bovina, suína), ovo, maionese, amendoim,

amêndoa, avelã, castanha e óleos (girassol, soja, milho, canola, amendoim, azeite de oliva), e;

- ✓ Alimentos ricos em  $\beta$ -caroteno: beterraba, pitanga, caqui, mamão, melão, manga, maracujá, alface, acelga, almeirão, agrião, cenoura, couve manteiga, abóbora, tomate, pimentão, brócolis e espinafre (adaptado de SICHIERI 1998).

As parturientes foram questionadas sobre o consumo de cada tipo de alimento durante o período de um ano. A frequência do consumo pelo período de 365 dias foi categorizada em sete diferentes escores: 0, nunca; 0,03, um vez por mês ou menos; 0,08, duas a três vezes por mês; 0,22, uma a duas vezes por semana; 0,50, três a quatro vezes por semana; 0,79, cinco a seis vezes por semana; e 1, uma vez por dia (FORNÉS 1998).

### **3.4.2. Recém-nascidos**

Os dados antropométricos e demais dados relacionados às condições de nascimento dos recém-nascidos, foram coletados do livro de registros, localizado na triagem dos bebês<sup>2</sup>.

### **3.5. Avaliação da idade gestacional**

Para uma triagem inicial, considerou-se a idade gestacional baseada na data da última menstruação da parturiente (DUM). Posteriormente, entre 12 e 48 horas após o nascimento, todos os recém-nascidos tiveram a idade

---

<sup>2</sup> Local onde ocorre o primeiro banho dos bebês e a tomada das medidas antropométricas dos mesmos, com exceção da pesagem do recém-nascido que é realizada na sala de parto.

gestacional avaliada pelo método proposto por CAPURRO e col. (1978). Este método se baseia na avaliação de sete parâmetros (cinco somáticos e dois neurológicos), atribuindo pontos para cada item analisado. Somente foram incluídos neste estudo os recém-nascidos a termo, ou seja, com idade gestacional maior do que 37 semanas e menor do que 42 semanas (DUNN 1985).

### **3.6. Colheita de amostras de sangue**

No parto foram coletados 4mL de sangue do cordão umbilical, imediatamente após a clampagem (até 10 minutos após, para evitar a coagulação), antes da dequitação da placenta.

Na enfermaria/alojamento conjunto, o sangue materno (4mL) foi coletado na manhã seguinte, após 12 horas de jejum, requisito necessário para a dosagem das frações lipídicas, por uma auxiliar de enfermagem do próprio serviço. Tanto o sangue materno quanto o do cordão umbilical foram coletados em tubo de ensaio com capacidade para 10mL da Becton Dickinson®, siliconizado sem anticoagulante para a dosagem das concentrações lipídicas e dos antioxidantes estudados. Os tubos para a coleta do sangue do cordão umbilical foram previamente esterilizados e abertos no campo cirúrgico, juntamente com o material necessário para os procedimentos do parto.

Todo procedimento e material utilizado para coleta, manuseio e descarte do sangue, obedeceu às normas de biossegurança (BRASIL 2000).



Os tubos contendo as amostras de sangues materno e do cordão umbilical foram identificados com etiqueta contendo o número e nome da parturiente.

### **3.7. Distribuição das amostras de sangue para os locais de análise**

Ao chegarem no Laboratório da Maternidade Darcy Vargas (Laboratório GIMENES<sup>®</sup>), as amostras foram separadas, armazenando-se 1mL de amostra de sobrenadante para posterior análise das vitaminas, e 1mL de sobrenadante para a análise das frações lipídicas.

### **3.8. Dosagens bioquímicas**

#### **3.8.1 Frações lipídicas**

O colesterol total e os triglicerídeos foram dosados através do método enzimático espectrofotométrico pelo sistema AIRONE<sup>®</sup> 200. No entanto, a HDL foi dosada através do método enzimático colorimétrico pelo sistema ALCYN<sup>®</sup> 300. A partir dos valores de colesterol total, triglicerídeos e HDL dosados, foi determinado o valor da LDL, através da equação:  $LDL = CT - (HDL + VLDL)$ , conhecida como fórmula de Friedewald, quando os valores de triglicerídeos forem inferiores a 400mg/dL (FRIEDEWALD e col. 1972). Para o cálculo da VLDL (*“very low density lipoprotein”* - lipoproteína de muito baixa densidade), foi utilizada a equação  $VLDL = \text{triglicerídeos}/5$  (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA 1996).

### 3.8.2. Dosagens de $\beta$ -caroteno e $\alpha$ -tocoferol

As vitaminas estudadas foram analisadas através de HPLC ("High Performance Liquid Chromatography" - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), da marca Merck Hitachi modelo da interface D-7000, sendo a separação realizada através da coluna LiCrospher<sup>®</sup> RP18 (5 $\mu$ m) (Merck Darmstadt, Germany). A coluna foi condicionada em forno a 30°C Merck Hitachi modelo L-7300. A fase móvel foi composta de Metanol para UV/HPLC (Merck Darmstadt, Germany) e Clorofórmio para HPLC (Merck Darmstadt, Germany), a um fluxo de 1,5mL/min utilizando-se o método de gradiente automatizado através de Bomba Merck Hitachi modelo L-7100. A injeção de um volume de 50 $\mu$ L foi realizada automaticamente em um coletor de amostras Merck Hitachi modelo L- 7200. A corrida foi iniciada em 100% Metanol e 0% Clorofórmio, e aos 3 minutos o Clorofórmio começou a ser injetado chegando aos 3 minutos e 30 segundos (3,5 min) com a fase móvel composta de Metanol (90%) e Clorofórmio (10%), mantendo esta fase móvel até o final da corrida, que ocorreu aos 12 minutos. Aos 3 minutos o pico de  $\alpha$ -tocoferol foi identificado pelo detector ultravioleta (Merck Hitachi UV Detector modelo L-7400) a um comprimento de onda de 292nm, quando aos 6 minutos o comprimento de onda passou a ser de 450nm para a detecção dos carotenóides, que ocorreu aos 8 minutos e 54 segundos (8,9 min) para o  $\alpha$ -caroteno e aos 9 minutos e 24 segundos (9,4 min) para o  $\beta$ -caroteno (Anexo 2).

Para a preparação da amostra, 1mL de soro foi transferido para um tubo de ensaio com capacidade para 10mL, adicionando-se 2mL de etanol

P.A.S; posteriormente, esta preparação foi homogeneizada com o auxílio de um agitador Vortex Genie 2™ (Bender & Hobein AG, Zurich, Switzerland) por cerca de 10 segundos. Adicionou-se 2mL de n-hexano P.A. - A.C.S. e, novamente o preparado passou pelo processo de agitação por 1 minuto. Após a centrifugação durante 10 minutos a uma velocidade de 1.600g (3153 rpm) (Biofuge *primo*. Haeraues Instruments), a amostra apresentou três fases onde o n-hexano encontrava-se na parte superior. As vitaminas estudadas migraram para o n-hexano P.A. - A.C.S. devido a sua apolaridade. Desta forma, 1mL de n-hexano P.A. - A.C.S. foi extraído desta preparação e transferido para um novo tubo de ensaio com capacidade para 10mL onde passou por um processo de secagem com nitrogênio a temperatura ambiente, dentro da cabine de segurança química. Depois da secagem do n-hexano, adicionou-se ao tubo de ensaio 1mL de metanol P.A. e após nova agitação no Vortex Genie 2™, a amostra foi transferida para frascos específicos para HPLC. As amostras foram armazenadas à -20°C, nos próprios frascos para HPLC, por um período de cinco a quinze dias até a análise. Antes da injeção, os frascos de HPLC foram agitados em Vortex Genie 2™ garantindo assim, a completa homogeneização da amostra. Esta metodologia foi baseada no artigo de ARNAUD e col. 1991.

Antes de sua preparação, as amostras foram armazenadas em freezer à -20°C por um período de no máximo um mês, garantindo a integridade das vitaminas estudadas (JÄRVINEN e col. 1993).

A interpretação dos picos obtidos foi realizada mediante comparação com padrões de referência injetados previamente. Os padrões utilizados

foram os de  $\alpha$ -tocoferol (Sigma/USA, T3251 – 25g) e Caroteno, mistura de isômeros (Sigma/USA, C4646 – 5mg)  $\alpha$ - $\beta$ -caroteno ( $\beta$ : $\alpha$ :2:1), ou seja, o  $\beta$ -caroteno correspondeu a 3,33mg e  $\alpha$ -caroteno a 1,66mg do padrão utilizado.

O padrão de referência do  $\alpha$ -tocoferol foi diluído em seis diferentes concentrações e o padrão dos carotenos foi diluído em apenas cinco diferentes concentrações, devido a baixas concentrações encontradas na literatura. A partir destas diluições, foi possível a construção de uma curva de calibração para as vitaminas estudadas. Os dados obtidos da construção das curvas de calibração foram lançados em regressão linear, separadamente, encontrando-se para o  $\alpha$ -tocoferol um  $r=0,999$ , coeficiente angular de  $B=21933,41822$  e coeficiente linear=0; para o  $\beta$ -caroteno um  $r=0,9969$ , coeficiente angular de  $B=18356,10833$  e coeficiente linear=0. A cada injeção da amostra, o HPLC detectou picos nos fornecendo áreas que, posteriormente, foram convertidas em valores (mg/L). Esta conversão foi realizada, dividindo-se o valor da área encontrada do pico e o coeficiente angular, no caso do  $\alpha$ -tocoferol. No entanto, como o padrão de referência de carotenóides utilizado foi de 5mg ( $\beta$ : $\alpha$ :2:1), e sabendo-se que o  $\beta$ -caroteno correspondia a 3,33mg, a conversão da área em valor (mg/L) de concentração do  $\beta$ -caroteno se deu da seguinte maneira:

1. dividiu-se o valor da área do pico pelo coeficiente angular;
2. o valor encontrado foi multiplicado por 3,33 e, posteriormente dividido por 5.

Todas as conversões em valores (mg/L), foram realizadas com o auxílio do software Microsoft® Excell 2000.

### **3.9. Variáveis de estudo**

**3.9.1. Variáveis para caracterização das parturientes:** Faixa etária; condição sócio-econômica: ocupação, estado civil e renda familiar; história obstétrica: número de partos prévios, espaçamento intergestacional, tipo do parto atual; uso de suplementos vitamínicos durante a gestação; morbidade: presença de infecções; dados antropométricos: peso pré-gestacional e peso atual, índice de massa corporal (IMC); frações lipídicas e ingestão dietética de  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E).

**3.9.2 Variáveis para a caracterização dos recém-nascidos:** Idade gestacional e peso ao nascer.

**3.9.3 Variável de exposição:** hábito de fumar.

**3.9.4 Variáveis de interesse:** concentrações de  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol nos sangues materno e do cordão umbilical.

### **3.10. Análises estatísticas**

A construção do banco de dados e as análise estatísticas foram realizados com o auxílio do *software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*, Versão 10.0.

Para avaliar a diferença estatística entre as concentrações de  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno nos sangues materno e do cordão umbilical, do grupo de parturientes fumantes e não fumantes foi realizada uma análise de variância a um fator, sendo o “hábito de fumar” considerado o fator.

Para as análises de correlação entre os níveis de  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol entre os sangues materno e do cordão umbilical, e correlação entre as concentrações das vitaminas estudadas nos sangues materno e do cordão umbilical, com a ingestão de alimentos ricos nestes nutrientes, durante a gestação, foi calculado o *coeficiente de correlação de Spearman*.

Em todas as análises foi considerado o nível de significância  $\alpha = 5\%$ .

### **3.11. Aspectos éticos**

O desenvolvimento do estudo seguiu os requisitos da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde do Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE 1997), e as Normas internas da Faculdade de Saúde Pública – USP, que regulamentam pesquisas envolvendo seres humanos. Cada gestante envolvida no estudo recebeu informações a respeito do trabalho, como objetivos e metodologia, e foram informadas do direito de recusa à participação em qualquer momento da pesquisa, sem prejuízo ou penalidade de qualquer natureza, sendo resguardada a integridade das gestantes, e garantida a privacidade dos dados e informações obtidos no estudo.

Após os esclarecimentos, a pesquisadora e a gestante assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, elaborado em duas vias, uma para cada assinante (Anexo 3).

O presente estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública/USP e Comissão de Ética do Hospital Maternidade Darcy Vargas, Joinville, SC.

## **4. Resultados**

### **4.1. Características gerais da amostra**

São descritas a seguir as características gerais da amostra de 236 pares de parturientes/recém-nascidos estudados, de acordo com as variáveis investigadas.

#### **4.1.1. Características das parturientes**

##### **4.1.1.1. Características sócio-demográficas**

Dentre as parturientes envolvidas neste estudo, 98,7% tiveram parto financiado pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e 1,3% por convênios.

A Tabela 2 nos permite visualizar que 67,4% das parturientes tinham entre 20 e 33 anos de idade. A idade média das parturientes foi 25 anos, com um desvio padrão de 6,12 anos. Considerando-se as variáveis relacionadas à condição sócio-econômica, observou-se que a maior parte das parturientes eram solteiras morando com companheiro (48,5%), donas-de-casa (69,9%), com renda familiar entre dois e cinco salários mínimos (41,9%) e renda "per capita" menor ou igual a dois salários mínimos (73,8%).

**Tabela 2.** Número (N) e percentual (%) de parturientes segundo características sócio-demográficas. Joinville, 2002.

VARIÁVEIS	PARTURIENTES	
	N	%
<b>Faixa etária</b>		
16 a 19 anos	51	21,6
20 a 33 anos	159	67,4
≥34 anos	26	11,0
<b>Estado civil*</b>		
Solteira	32	13,6
Solteira com companheiro	114	48,5
Casada	86	36,6
Separada/divorciada	03	1,3
<b>Ocupação</b>		
Desempregada	01	0,4
Dona-de-casa	165	69,9
Trabalha fora de casa	70	29,7
<b>Renda familiar mensal</b>		
≤ 1 SM	15	6,4
1   2 SM	50	21,2
2   5 SM	99	41,9
5   10 SM	40	16,9
> 10 SM	04	1,7
Indeterminada	28	11,9
<b>Renda "per capita" mensal</b>		
≤ 1 SM	121	51,3
1   2 SM	53	22,5
2   5 SM	30	12,8
5   10 SM	02	0,8
Indeterminada	30	12,7
<b>Total</b>	<b>236</b>	<b>100,0</b>

\*excluída uma gestante

#### 4.1.1.2. Características obstétricas

Em relação ao tipo de parto, verificou-se que a maioria das parturientes teve parto normal (72,9%), 23,7% teve parto cesárea e 3,4% parto fórceps.

Quanto ao número de gestações e ao espaçamento gestacional, 60,4% das parturientes eram multigestas, e o espaçamento entre as duas



últimas gestações foi, em sua maioria, entre dois e quatro anos (48,9%) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Distribuição de parturientes segundo o número de gestações e espaçamento gestacional. Joinville, 2002.

VARIÁVEIS	PARTURIENTES	
	N	%
<b>Número de Gestações</b>		
Primigesta	93	39,6
Multigesta (2 a 4 gestações)	118	50,2
Multigesta (5 e + gestações)	24	10,2
<b>Total</b>	<b>235*</b>	<b>100,0</b>
<b>Espaçamento gestacional</b>		
< 2 anos	31	22,3
2 a 4 anos	68	48,9
5 a 7 anos	28	20,1
≥8 anos	12	8,6
<b>Total</b>	<b>139**</b>	<b>100</b>

\* Excluída uma gestante

\*\* Excluídas duas gestantes

#### 4.1.1.3. Uso de medicamentos e suplementos vitamínicos

A maior parte das parturientes (56,8%) referiu fazer uso, durante a gestação, de medicamentos destinados ao tratamento de infecções no trato urinário e para o alívio de dor de cabeça.

Quanto ao uso de suplementos vitamínicos, 70,9% das parturientes referiu o consumo desses medicamentos em algum período da gestação, sendo que a maioria (23,7%) utilizou durante o terceiro trimestre (Tabela 4).

**Tabela 4.** Distribuição das parturientes segundo o uso de suplementos vitamínicos durante a gestação. Joinville, 2002.

USO DE SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS	PARTURIENTES	
	N	%
Não	68	28,8
Somente no 1º trimestre	15	6,4
Somente no 2º trimestre	21	8,9
Somente no 3º trimestre	56	23,7
No 1º e 2º trimestres	5	2,1
No 1º e 3º trimestres	4	1,7
No 2º e 3º trimestres	28	11,9
Nos três trimestres	39	16,5
<b>Total</b>	<b>236</b>	<b>100,0</b>

O tipo de suplemento mineral mais utilizado pelas parturientes foi o sulfato ferroso.

#### 4.1.1.4. Características antropométricas

O ganho de peso das parturientes foi calculado com base no peso pré-gestacional e pré-parto. Notou-se que 35,6% das parturientes tiveram um ganho de peso gestacional maior do que 10kg e menor ou igual a 20kg (Tabela 5). Das entrevistadas, 35,6% não souberam referir o peso pré-gestacional.

**Tabela 5.** Distribuição das parturientes segundo o ganho de peso gestacional. Joinville, 2002.

GANHO DE PESO (kg)	PARTURIENTES	
	N	%
≤ 5	13	5,5
5 —   10	43	18,2
10 —   15	64	27,1
15 —   20	20	8,5
> 20	12	5,1
<b>Indeterminado</b>	<b>84</b>	<b>35,6</b>
<b>Total</b>	<b>236</b>	<b>100,0</b>

A Tabela 6 apresenta a distribuição das parturientes de acordo com o Índice de Massa Corporal (IMC), calculado através da fórmula:

$$\boxed{(kg/m^2)}$$

Nota-se que apenas 19,1% das parturientes estão dentro da faixa de normalidade, que vai de 18,5 a 24,9 kg/m<sup>2</sup> (WHO 1997). Das parturientes entrevistadas, 47,9% não souberam referir a estatura, dado necessário para o cálculo do IMC.

**Tabela 6.** Distribuição das parturientes segundo Índice de Massa Corporal (IMC). Joinville, 2002.

IMC (kg/m <sup>2</sup> )	PARTURIENTES	
	N	%
<18,5	1	0,4
18,5 a 24,9	45	19,1
25 a 29,9	50	21,2
30 a 39,9	25	10,6
≥40	2	0,8
Indeterminado	113	47,9
<b>Total</b>	<b>236</b>	<b>100,0</b>

#### 4.1.1.5. Hábito de fumar

Em relação ao hábito de fumar, 79 (33,5%) das parturientes informaram que consumiram cigarros durante o período gestacional. Entre as fumantes, 38% consumiram entre um e nove cigarros por dia (Figura 1), sendo que 53,2% mantiveram o hábito ao longo dos 3 trimestres de gestação (Figura 2). A média de cigarros fumados por dia foi de 13,3, apresentando mediana de 10 cigarros e valores mínimo e máximo de 1 e 40 cigarros, respectivamente.

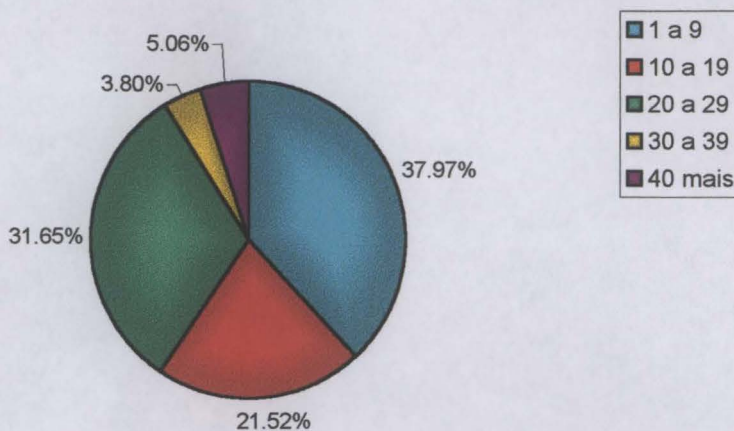


Figura 1 - Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o número de cigarros consumidos por dia durante a gestação. Joinville, 2002.

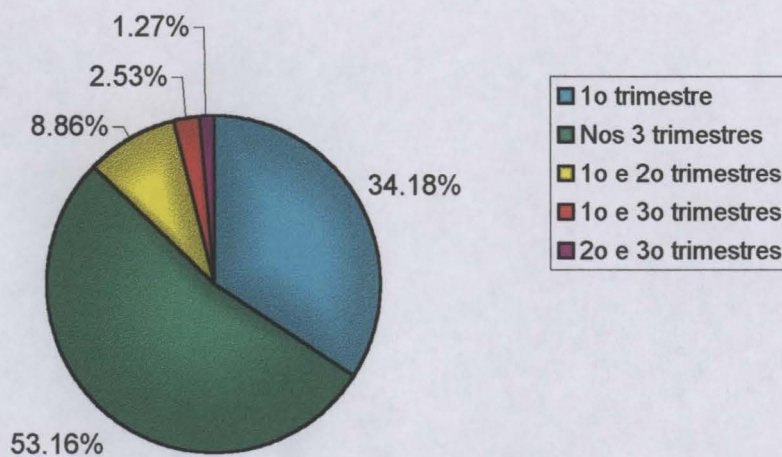


Figura 2 - Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o trimestre de consumo de cigarros durante a gestação. Joinville, 2002.

As Figuras 3, 4 e 5 permitem a visualização da distribuição do número de cigarros consumidos por dia e o trimestre de consumo.

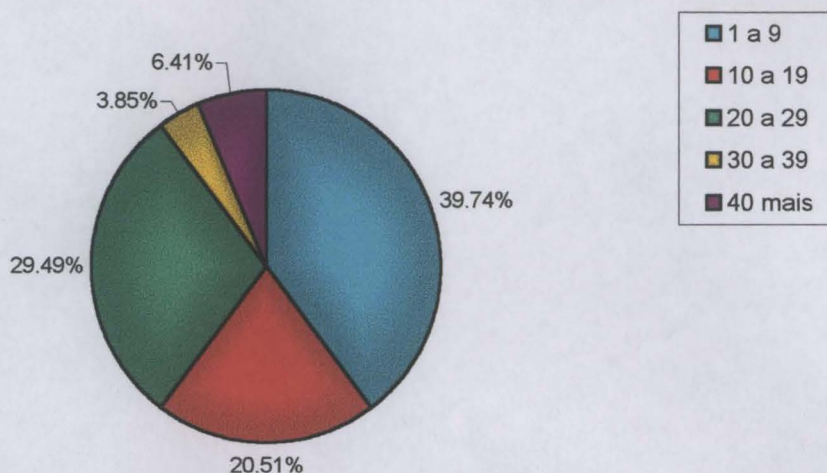


Figura 3 - Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o número de cigarros consumidos por dia durante o 1º trimestre. Joinville, 2002.

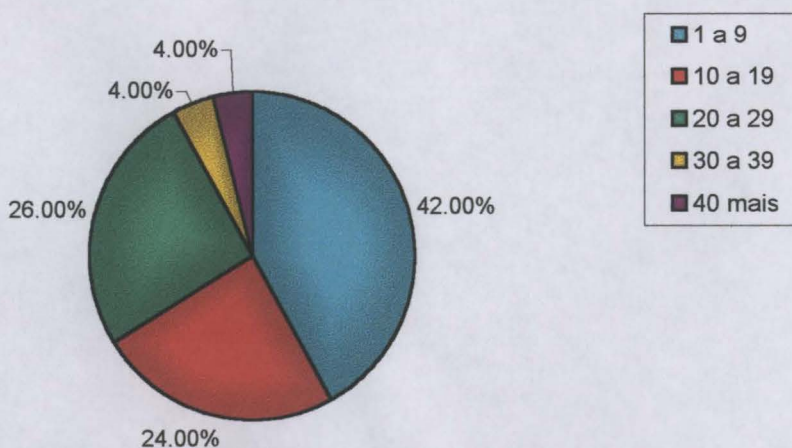


Figura 4 - Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o número de cigarros consumidos por dia durante o 2º trimestre. Joinville, 2002.



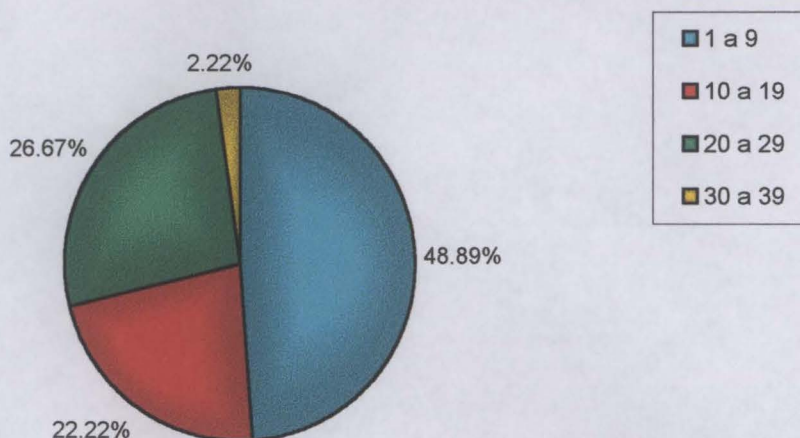


Figura 5 - Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o número de cigarros consumidos por dia durante o 3<sup>o</sup> trimestre. Joinville, 2002.

Quanto ao hábito de fumar antes da gestação, a maioria das parturientes fumantes (34,2%) referiram ter consumido entre 1 e 9 cigarros por dia (Figura 6), apresentando uma média de 13,6 cigarros consumidos diariamente. A maioria das gestantes (88,6%) adquiriu o hábito de fumar entre 8 e 19 anos de idade.

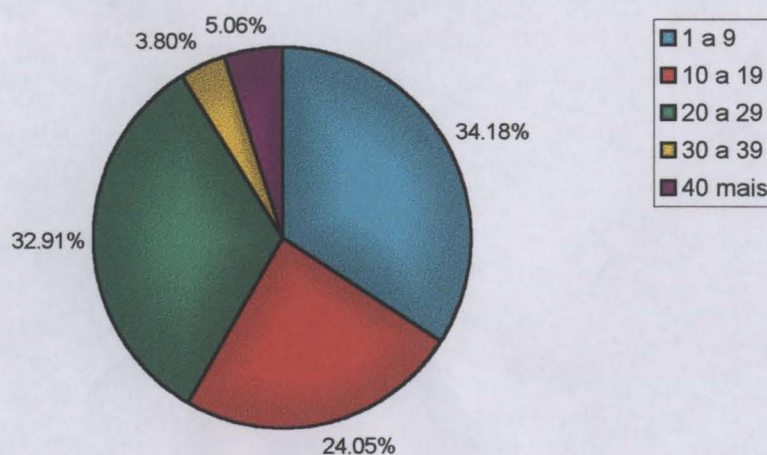


Figura 6 - Distribuição (%) das parturientes tabagistas segundo o número de cigarros consumidos por dia antes da gestação. Joinville, 2002.

#### 4.1.2. Características dos recém-nascidos

Entre os recém-nascidos, 113 (47,9%) eram do sexo masculino e 123 (52,1%) do sexo feminino. A maioria dos recém-nascidos apresentou idade gestacional entre 39 e 40 semanas (57,2%). A Tabela 7 apresenta a distribuição dos recém-nascidos segundo sexo e idade gestacional.

**Tabela 7.** Distribuição dos recém-nascidos segundo sexo e idade gestacional. Joinville, 2002.

IDADE GESTACIONAL (SEMANAS)	RECÉM-NASCIDOS				TOTAL	
	MASCULINO		FEMININO		N	%
	N	%	N	%		
<b>37 e 38 semanas</b>	15	6,3	21	8,9	36	15,2
<b>39 e 40 semanas</b>	65	27,5	70	29,6	135	57,2
<b>41 e 42 semanas</b>	33	14,0	32	13,5	65	27,6
<b>Total</b>	<b>113</b>	<b>100,0</b>	<b>123</b>	<b>100,0</b>	<b>236</b>	<b>100,0</b>

Neste estudo, 2,5% dos recém-nascidos a termo apresentaram baixo peso ao nascer (<2.500g), e 6,4% tiveram peso ao nascer igual ou maior do que 4.000g (Tabela 8).

**Tabela 8.** Distribuição dos recém-nascidos segundo sexo e peso ao nascer. Joinville, 2002.

PESO (g)	RECÉM-NASCIDOS				TOTAL	
	MASCULINO		FEMININO		N	%
	N	%	N	%		
<b>&lt; 2.500</b>	02	1,8	04	3,2	06	2,5
<b>2.500  — 4.000</b>	103	91,1	112	91,1	215	91,1
<b>≥ 4.000</b>	08	7,1	07	5,7	15	6,4
<b>Total</b>	<b>113</b>	<b>100,0</b>	<b>123</b>	<b>100,0</b>	<b>236</b>	<b>100,0</b>

#### 4.2. Concentrações plasmáticas de $\alpha$ -tocoferol e $\beta$ -caroteno em parturientes e recém-nascidos (cordão umbilical)

As Tabelas 9 e 10 apresentam as medidas de tendência central das vitaminas antioxidantes estudadas no sangue das parturientes e dos recém-nascidos (cordão umbilical), entre o grupo de fumantes e não fumantes.

**Tabela 9.** Distribuição das parturientes de acordo com as concentrações sanguíneas encontradas de  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno. Joinville, 2002.

VITAMINAS	FUMANTES (N=78)			NÃO FUMANTES (N=155)		
	Média (DP)	Mediana	Min Máx	Média (DP)	Mediana	Min Máx
$\alpha$ -tocoferol (mg/L)	5,416 (1,229)	5,685	3,203 8,043	5,624 (1,346)	5,315	2,338 10,076
$\beta$ -caroteno (mg/L)	0,186 <sup>A</sup> (0,168)	0,127	0,000 0,920	0,242 <sup>B</sup> (0,203)	0,184	0,004 1,002

A  $\neq$  B ANOVA (p < 0,05)

**Tabela 10.** Distribuição dos recém-nascidos de parturientes fumantes e não fumantes de acordo com as concentrações sanguíneas encontradas de  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno. Joinville, 2002.

VITAMINAS	FUMANTES (N=78)			NÃO FUMANTES (N=155)		
	Média (DP)	Mediana	Min Máx	Média (DP)	Mediana	Min Máx
$\alpha$ -tocoferol (mg/L)	1,164 (0,321)	1,162	0,179 1,924	1,163 (0,361)	1,126	0,124 2,438
$\beta$ -caroteno (mg/L)	0,019 <sup>A</sup> (0,015)	0,013	0,000 0,067	0,024 <sup>B</sup> (0,195)	0,020	0,000 0,067

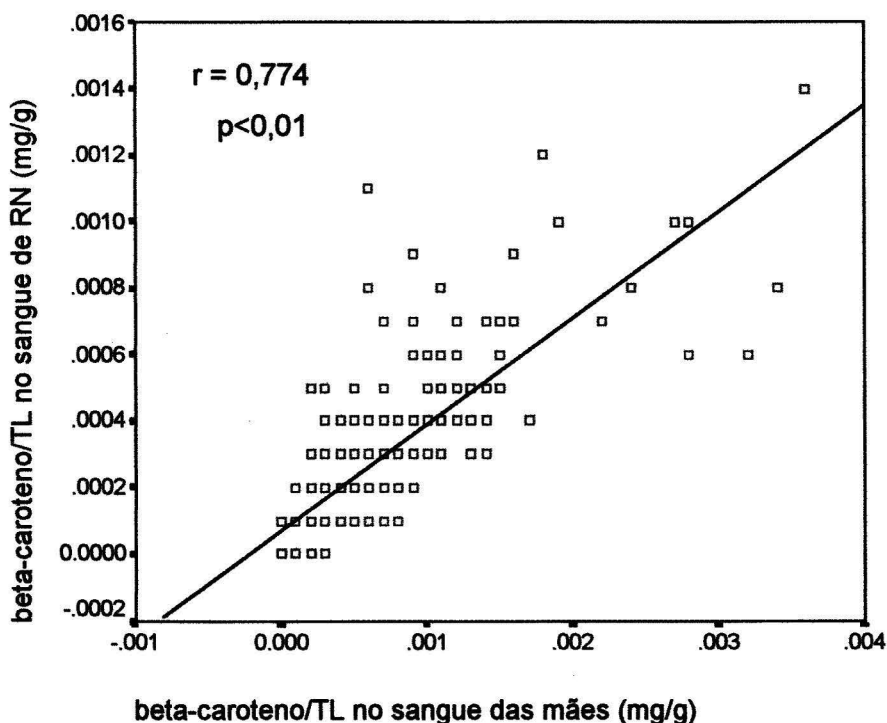
A  $\neq$  B ANOVA (p < 0,05)

Conforme podemos observar, a medida de  $\beta$ -caroteno avaliada tanto no sangue de parturientes fumantes quanto no sangue de recém-nascidos

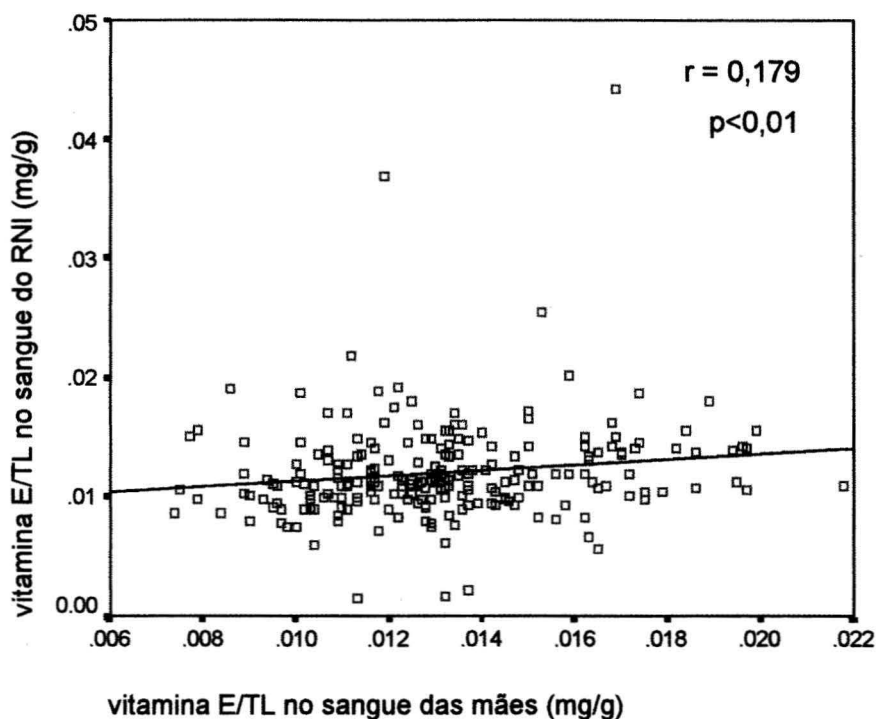


(cordão umbilical) de parturientes fumantes, apresentaram valores estatisticamente inferiores ( $p < 0,05$ ), comparados ao grupo de não fumantes. Entretanto, o mesmo comportamento não foi observado para o  $\alpha$ -tocoferol, tanto no sangue de parturientes quanto em recém-nascidos.

Ao investigarmos a correlação da razão  $\beta$ -caroteno/total lipídico (colesterol total + triglicerídeos) entre o sangue das parturientes e recém-nascidos (cordão umbilical), observou-se que tal parâmetro apresentou boa correlação (Figura 7). No entanto, ao investigarmos a razão  $\alpha$ -tocoferol/total lipídico (colesterol total + triglicerídeos), observou-se fraca correlação, estatisticamente significativa (Figura 8).



**Figura 7** – Correlação entre a razão beta-caroteno/total lipídico entre os sangues das mães e recém-nascidos (cordão umbilical).



**Figura 8** – Correlação entre a razão da vitamina E/total lipídico entre os sangues das mães e recém-nascidos (cordão umbilical).

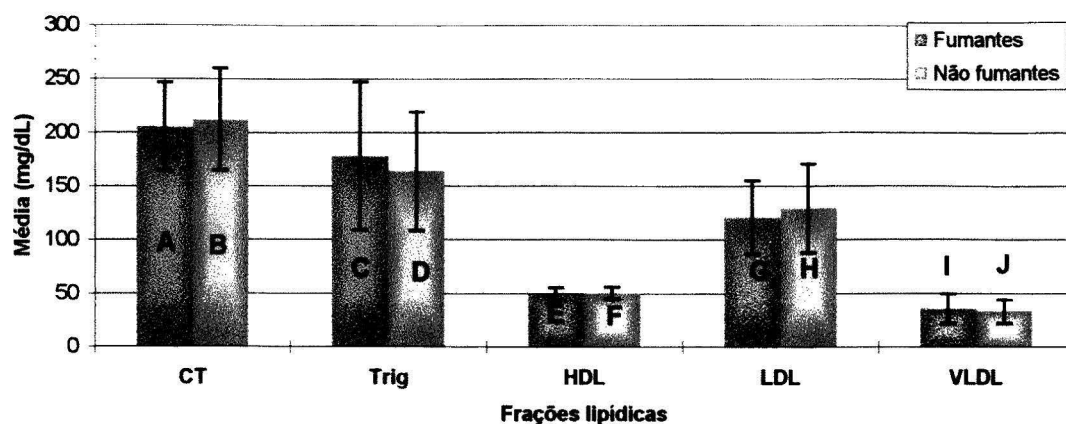
Já ao correlacionarmos o  $\alpha$ -tocoferol do sangue das mães e recém-nascidos e as frações lipídicas, observou-se forte correlação estatisticamente significativa. Os coeficientes de correlação observados são apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11.** Coeficientes de correlação de Spearman (r) entre vitaminas estudadas e frações lipídicas nas mães e nos recém-nascidos. Joinville, 2002.

Vitaminas antioxidantes	Frações Lipídicas									
	CT (Mãe)	Trigl (Mãe)	HDL (Mãe)	LDL (Mãe)	VLDL (Mãe)	CT (RN)	Trigl (RN)	HDL (RN)	LDL (RN)	VLDL (RN)
$\alpha$ -tocoferol (Mãe)	0,619**	0,481**	0,486**	0,505**	0,473**	0,118	0,044	0,062	0,097	0,043
$\beta$ -caroteno (Mãe)	-0,004	-0,113	0,019	0,032	-0,121	0,099	-,206**	0,058	0,153*	-0,207**
$\alpha$ -tocoferol (RN)	0,047	-0,033	0,000	0,080	-0,042	0,492**	0,328**	0,300**	0,364**	0,324**
$\beta$ -caroteno (RN)	-0,015	-0,154*	0,050	0,024	-0,162*	0,227**	-0,086	0,141*	0,234*	-0,089

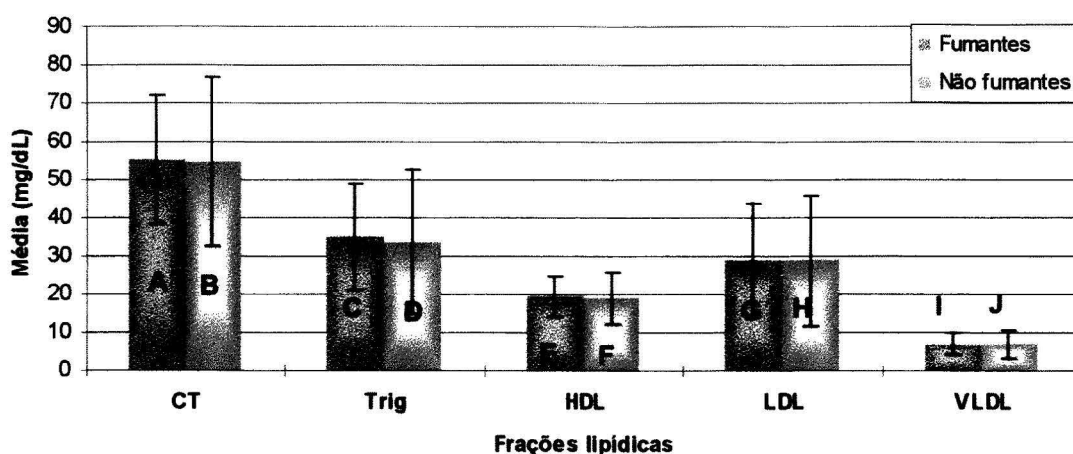
\*p<0,05; \*\*p<0,01

### 4.3. Concentração das frações lipídicas de parturientes e recém nascidos (cordão umbilical)



CT (Colesterol Total): A=B ( $p=0,276$ ); Trig (Triglicerídeos): C=D ( $p=0,097$ ); HDL: E=F ( $p=0,216$ ); LDL: G=H ( $p=0,122$ ); VLDL: I=J ( $p=0,118$ ).

**Figura 9** – Média e desvio padrão das frações lipídicas entre parturientes fumantes e não fumantes. Joinville, 2002.



CT (Colesterol Total): A=B ( $p=0,882$ ); Trig (Triglicerídeos): C=D ( $p=0,528$ ); HDL: E=F ( $p=0,651$ ); LDL: G=H ( $p=0,950$ ); VLDL: I=J ( $p=0,513$ ).

**Figura 10** – Média e desvio padrão das frações lipídicas entre recém-nascidos de parturientes fumantes e não fumantes. Joinville, 2002.

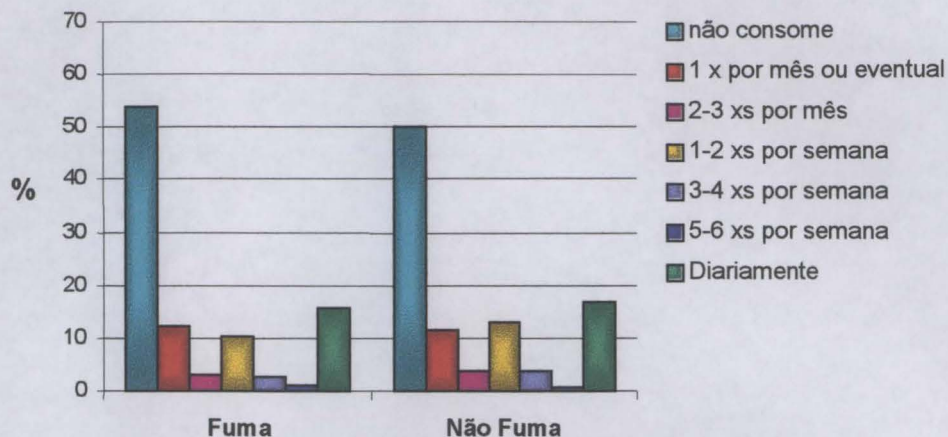
Tanto nas parturientes quanto nos recém-nascidos nenhum dos valores de frações lipídicas apresentaram diferença estatisticamente significativa entre o grupo de fumantes e não fumantes. Apenas os valores de triglicérides de parturientes foram os que mais se aproximaram da diferença estatística ( $p=0,097$ ).

#### **4.4. Freqüência alimentar**

Quando os hábitos alimentares entre o grupo de parturientes fumantes e não fumantes foram comparados, houve diferença estatística entre o consumo de queijo ( $p=0,005$ ), leite ( $p=0,020$ ), beterraba ( $p=0,008$ ), mamão ( $p=0,026$ ), maracujá ( $p=0,054$ ), fígado ( $p=0,025$ ) e amendoim ( $p=0,036$ ).

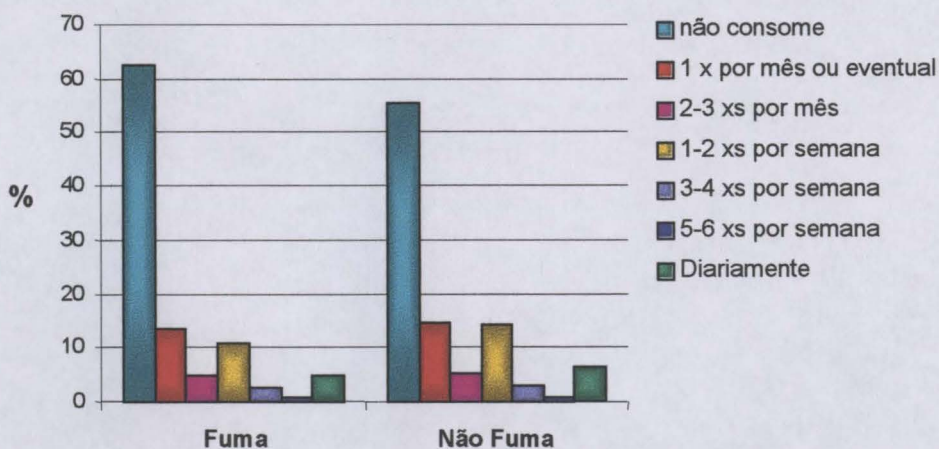
Para facilitar a apresentação do consumo dos alimentos, optou-se por agrupá-los de acordo como foi considerado neste estudo como sendo ricos nos antioxidantes analisados (vide página 22).

A Figura 11 proporciona a visualização do consumo de alimentos considerados ricos em vitamina E, pelas parturientes fumantes e não fumantes, separadamente.



**Figura 11** – Percentual (%) do consumo de alimentos considerados ricos em vitamina E, pelas parturientes fumantes e não fumantes. Joinville, 2002.

A Figura 12 proporciona a visualização do consumo de alimentos considerados ricos em  $\beta$ -caroteno, pelas parturientes fumantes e não fumantes.



**Figura 12** – Percentual (%) do consumo de alimentos considerados ricos em  $\beta$ -caroteno, pelas parturientes fumantes e não fumantes. Joinville, 2002.

Ao investigar a correlação entre  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno, analisados nos sangues da mãe e do recém-nascido, e os hábitos alimentares avaliados através de escores, observou-se que tais parâmetros apresentaram fraca correlação na maior parte das vezes não significativa. Entretanto, nota-se através da Tabela 12 que a ingestão de queijo foi significativamente correlacionada com os níveis no plasma de  $\alpha$ -tocoferol apenas no grupo de não fumantes ( $r=0,185$   $p<0,05$  e  $r=0,195$   $p<0,05$ ; mãe e recém-nascido, respectivamente). Outros alimentos que apresentaram comportamentos distintos ao se comparar o grupo de fumantes e não fumantes, foram o amendoim, apresentando uma correlação significativa ( $r=0,183$   $p<0,05$  no sangue das mães); e, o fígado que no grupo de fumantes apresentou uma correlação negativa, no sangue do recém-nascido ( $r=-0,222$   $p<0,05$ ).

**Tabela 12.** Coeficientes de correlação de Spearman ( $r$ ) entre a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no sangue das parturientes e os alimentos consumidos durante a gestação. Joinville, 2002.

ALIMENTOS INVESTIGADOS <sup>1</sup>	VITAMINAS ANTIOXIDANTES			
	Fumantes		Não Fumantes	
	$\alpha$ -tocoferol (mãe)	$\alpha$ -tocoferol (RN)	$\alpha$ -tocoferol (mãe)	$\alpha$ -tocoferol (RN)
Queijo	0,077	0,221	0,185*	0,195*
Requeijão	0,057	0,038	0,088	0,090
Manteiga/margarina	0,097	-0,029	-0,020	0,077
Leite	-0,043	0,098	0,082	0,027
Batata	0,003	0,088	0,059	0,066
Beterraba	0,035	-0,081	0,033	0,121
Feijão	-0,045	-0,063	-0,001	0,041
Abacate	0,132	-0,138	0,016	-0,037
Pitanga	-0,021	-0,042	-0,060	-0,117
Ameixa preta seca	0,158	0,288*	0,107	0,260**
Caqui	0,096	-0,058	0,114	0,119
Mamão	0,058	0,070	0,064	0,101
Melão	0,096	0,164	0,086	0,058
Manga	-0,070	0,093	-0,004	0,066
Maracujá	0,059	0,132	-0,017	0,092
Uva passa	0,097	0,107	0,073	0,104
Alface	-0,115	0,003	0,025	0,088
Acelga	0,057	0,127	0,143	0,101
Almeirão	0,055	-0,050	0,027	-0,030
Agrião	0,137	0,226*	0,122	0,235**
Cenoura	0,051	0,181	0,033	0,104
Couve	0,122	0,205	0,100	0,072
Abóbora	-0,019	0,081	0,021	0,072
Tomate	0,095	0,064	0,129	-0,017
Pimentão	0,089	-0,040	-0,001	0,103
Brócolis	0,049	0,100	0,069	0,091



ALIMENTOS INVESTIGADOS <sup>1</sup> (cont.)	VITAMINAS ANTIOXIDANTES			
	Fumantes		Não Fumantes	
	$\alpha$ -tocoferol (mãe)	$\alpha$ -tocoferol (RN)	$\alpha$ -tocoferol (mãe)	$\alpha$ -tocoferol (RN)
Espinafre	-0,124	0,095	0,056	-0,038
Peixe fresco	-0,149	-0,082	0,123	0,048
Peixe enlatado	-0,124	-0,032	-0,008	-0,022
Frango	-0,120	-0,057	-0,109	-0,052
Fígado	0,000	-0,222*	-0,065	0,130
Presunto	0,041	0,063	-0,009	-0,039
Carne	0,114	0,016	-0,055	0,056
Ovo	-0,063	0,108	0,076	0,067
Banha	0,084	-0,106	0,010	-0,027
Óleo de girassol	-	-	0,118	0,206**
Óleo de soja	0,094	-0,189	0,063	-0,045
Óleo de milho	-	-	0,006	0,086
Azeite de oliva	-0,046	0,132	0,003	0,017
Maionese	-0,187	-0,067	-0,028	-0,025
Amêndoa	0,078	0,168	0,107	0,035
Amendoim	0,095	-0,182	0,183*	0,049
Avelãs	0,078	0,168	0,107	0,026
Castanha	-0,046	0,198	0,109	0,079

<sup>1</sup> Os óleos de canola e amendoim não foram consumidos por nenhuma parturiente entrevistada.

\*p<0,05; \*\*p<0,01

Ao correlacionarmos os níveis no plasma de  $\beta$ -caroteno com a ingestão dos alimentos investigados, nota-se algumas diferenças entre o grupo de fumantes e não fumantes. Este último grupo, apresenta correlação significativa ( $p<0,05$ ) na ingestão de requeijão ( $r=0,200$  mãe), leite ( $r=0,216$  mãe), mamão ( $r=0,251$  e  $r=0,289$  para mães e recém-nascidos, respectivamente), melão ( $r=0,205$  e  $r=-0,232$  para mães e recém-nascidos, respectivamente), almeirão ( $r=0,256$  e  $r=0,213$  para mães e recém-nascidos,

respectivamente), acelga ( $r=0,186$  mãe), cenoura ( $r=0,218$  e  $r=0,235$  para mães e recém-nascidos, respectivamente), pimentão ( $r=0,206$  mãe), espinafre ( $r=0,187$  mãe), peixe enlatado ( $r=0,212$  mãe) e óleo de soja ( $r=-0,185$  recém-nascido). Entretanto, a ingestão de manga e alface apresentaram uma correlação significativa no grupo de parturientes fumantes e respectivos recém-nascidos ( $p<0,05$ ) (Tabela 13).

**Tabela 13.** Coeficientes de correlação de Spearman ( $r$ ) entre a concentração de  $\beta$ -caroteno no sangue de parturientes e os alimentos consumidos durante a gestação. Joinville, 2002.

ALIMENTOS INVESTIGADOS <sup>1</sup>	VITAMINAS ANTIOXIDANTES			
	Fumantes		Não Fumantes	
	$\beta$ -caroteno (mãe)	$\beta$ -caroteno (RN)	$\beta$ -caroteno (mãe)	$\beta$ -caroteno (RN)
Queijo	0,152	0,221	0,126	0,144
Requeijão	0,042	0,131	0,200*	0,074
Manteiga/margarina	-0,017	-0,088	-0,030	-0,022
Leite	0,149	0,158	0,216**	0,042
Batata	-0,156	-0,115	-0,053	0,038
Beterraba	0,190	0,174	0,132	0,117
Feijão	0,152	0,096	-0,046	0,034
Abacate	-0,017	-0,061	0,003	-0,031
Pitanga	0,034	-0,005	0,096	0,047
Ameixa preta seca	0,146	0,093	0,127	0,138
Caqui	-0,104	-0,120	0,123	0,144
Mamão	0,055	-0,057	0,251**	0,289**
Melão	0,096	0,190	0,205*	0,232**
Manga	0,237*	0,176	0,097	0,097
Maracujá	0,074	-0,027	0,086	0,100
Uva passa	0,032	0,138	0,065	0,080
Alface	0,335*	0,347**	0,141	0,172*

ALIMENTOS INVESTIGADOS <sup>1</sup> (cont.)	VITAMINAS ANTIOXIDANTES			
	Fumantes		Não Fumantes	
	$\beta$ -caroteno (mãe)	$\beta$ -caroteno (RN)	$\beta$ -caroteno (mãe)	$\beta$ -caroteno (RN)
Acelga	0,024	0,056	0,186*	0,150
Almeirão	0,069	0,045	0,256**	0,213**
Agrião	0,035	0,121	0,051	0,118
Cenoura	0,122	0,155	0,218**	0,235**
Couve	0,030	0,004	0,152	0,159
Abóbora	0,082	0,050	0,144	0,146
Tomate	0,113	0,098	-0,086	-0,030
Pimentão	0,205	0,108	0,206**	0,073
Brócolis	-0,036	0,037	0,148	0,132
Espinafre	0,145	0,271*	0,187*	0,205*
Peixe fresco	0,109	0,127	0,034	0,067
Peixe enlatado	-0,059	0,104	0,212**	0,120
Frango	-0,039	-0,148	-0,096	-0,095
Fígado	-0,138	-0,190	0,053	0,040
Presunto	0,124	0,077	-0,158	-0,131
Carne	-0,041	0,098	0,066	0,025
Ovo	0,018	-0,085	0,056	0,026
Banha	0,166	0,102	0,069	0,042
Óleo de girassol	-	-	0,040	0,058
Óleo de soja	-0,089	-0,067	-0,151	-0,185*
Óleo de milho	-	-	0,250**	0,207**
Azeite de oliva	0,072	0,109	-0,029	0,025
Maionese	-0,044	0,010	-0,029	-0,002
Amêndoa	-0,071	0,081	-0,019	0,041
Amendoim	0,130	-0,002	0,091	0,104
Avelãs	-0,071	0,081	-0,083	-0,036
Castanha	-0,059	0,081	-0,027	0,007

<sup>1</sup> Os óleos de canola e amendoim não foram consumidos por nenhuma parturiente entrevistada.

\* p<0,05; \*\*p<0,01

## 5. Discussão

A gravidez é um período de rápido crescimento e diferenciação celular tanto para a mãe como para seu feto; conseqüentemente, um período onde ambos são muito susceptíveis a alterações metabólicas. Sendo assim, o inapropriado suprimento de nutrientes não aumenta apenas o risco de morte intra-uterina mas também pode levar a alterações no peso ao nascer e mudanças funcionais nos órgãos do neonato.

As vitaminas são compostos orgânicos essenciais para reações metabólicas específicas que não podem ser sintetizadas pelas células dos tecidos humanos a partir de simples metabólitos (MAHAN & ARLIN 1995). A deficiência de vitaminas surge como conseqüência de fatores sócio econômicos, inapropriada ingestão alimentar, uma deficiente absorção e também pelo hábito de fumar. Os efeitos adversos de fumar durante a gestação, tem sido comprovadamente associado ao aborto espontâneo, nascimentos prematuros e recém-nascidos de baixo peso. A mortalidade destes bebês é maior, assim como a presença de problemas durante o desenvolvimento físico e psicológico, quando comparados aos filhos de mulheres não fumantes (CHARLTON 1996).

O cigarro é uma mistura complexa de aproximadamente 7.000 substâncias tóxicas, dentre as quais mais ou menos 700 são cancerígenas. Estas substâncias podem levar a formação de radicais livres, uma vez que contém muitas substâncias bioativas que sofrem complexa interação com constituintes extra e intracelulares, incluindo lipídios, proteínas e DNA, tanto antes e/ou depois do metabolismo junto ao citocromo P-450 e glutational

transferase, além de outros xenobióticos que fazem parte do metabolismo através do sistema enzimático (CROSS e col. 1999).

O tabagismo é um comportamento que foi socialmente tolerado e até exaltado durante muito tempo. Apesar de ser causa de múltiplas doenças, um terço da população mundial com 15 anos ou mais é fumante (1:5 habitantes de todas as idades), perfazendo hoje um montante estimado de 1,2 bilhão de pessoas, sendo que 200 milhões são mulheres (ACHUTTI 2001; VALDÉS e col. 2003).

### **5.1. Características gerais da amostra**

O grupo de parturientes considerado neste estudo apresentou características sócio-econômicas compatíveis com as de populações pertencentes a estratos menos favorecidos. Foram parturientes predominantemente atendidas pelo Sistema Único de Saúde - SUS (98,7%), que em sua maioria não trabalhavam fora de casa (69,9%), e tinham renda "per capita" mensal igual ou inferior a 2 salários mínimos (73,8%).

A maior parte de pesquisas desenvolvidas com gestantes no Brasil, se referem a populações com características semelhantes a deste estudo (RONDÓ 1993; PAIVA 2000). No entanto, os estudos que associam a diminuição das concentrações de vitaminas antioxidantes ao hábito de fumar durante o período gestacional, são de âmbito internacional.

As parturientes se distribuíram na faixa etária de 14 a 37 anos, com predominância entre 20 a 33 anos, o que caracteriza um grupo de menor

risco obstétrico. Aproximadamente 21,6% das parturientes eram adolescentes.

Esses resultados foram semelhantes aos observados por RONDÓ (1993) estudando um grupo de parturientes atendidas pelo SUS em Campinas, que também encontrou 21,6% de adolescentes grávidas em um grupo cuja idade variou entre 14 e 42 anos; e por PAIVA (2000), que investigando um grupo de gestantes no município Jundiaí, encontrou 24% de adolescentes grávidas.

A análise das características obstétricas demonstrou que a maioria das parturientes (60,4%) eram multigestas, com um espaçamento entre as duas últimas gestações de 2 a 4 anos (48,9%).

A investigação sobre a morbidade durante o período gestacional indicou que 56,8% das parturientes usaram de medicamentos para o tratamento de infecção urinária. A ocorrência da infecção urinária é esperada, uma vez que é o tipo de infecção mais comum durante o período gestacional, sendo decorrente de uma estagnação da urina no trato urinário, apesar da dilatação que ocorre neste segmento (LEDGER 1992).

O uso de suplementos vitamínicos foi referido por 70,9% das parturientes; embora esta informação tenha veracidade questionável, pois dependem tanto da memória da parturiente como da expectativa em respostas positivas face às propostas e recomendações do pré-natal. PAIVA (2000), em estudo realizado em Jundiaí, encontrou um percentual de 82,8% de gestantes que consumiram antianêmicos durante a gestação. No entanto,

RONDÓ (1993) verificou que apenas 35% das parturientes estudadas em Campinas tomavam multivitaminas ou compostos férricos.

O ganho de peso gestacional das parturientes foi em sua maioria (27,1%) entre 10,0Kg e 15,0Kg. PAIVA (2000) observou um percentual maior (35,2%) de parturientes com ganho de peso na mesma faixa observada neste estudo. Corroborando com os dados encontrados por ORTEGA e col. (1998a) em uma população de gestantes espanholas durante o último trimestre, a maioria das gestantes avaliadas neste estudo encontravam-se na faixa de Índice de Massa Corporal (IMC) correspondente a 25 - 29,9 kg/m<sup>2</sup>. As interpretações sobre os dados tanto de peso como os de IMC devem ser feitas com cautela, uma vez que se baseiam no peso pré parto e estatura, que foram obtidos por informação da própria parturiente. Como qualquer outra investigação que dependa da memorização de um indivíduo, tal informação está sujeita a viés.

Encontrou-se 33,5% de parturientes fumantes, sendo que 53,2% mantiveram o hábito de fumar ao longo dos três trimestres de gestação. PAIVA (2000) apesar de ter observado um percentual menor de parturientes fumantes (22,2%), constatou que 90,9% das que fumavam mantiveram o hábito ao longo da gestação. RONDÓ (1993) observou um percentual de 30,1%, sendo que 93,8% das parturientes tabagistas mantiveram o hábito durante os três trimestres. Acredita-se que a diminuição observada neste estudo em relação ao percentual de parturientes que mantiveram o hábito de fumar ao longo da gestação, deve-se a inúmeras campanhas de combate ao fumo promovidas pelo Ministério da Saúde, enfatizando inclusive os

prejuízos que o fumo causa na formação e desenvolvimento do feto durante a gestação. Apesar desta diminuição no número de cigarros fumados, com o decorrer da gestação, é preocupante observarmos que na população estudada, 88,6% adquiriram o hábito de fumar na fase da adolescência. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), dos 1,2 bilhão de fumantes em todo o mundo, 90% começam a fumar antes de completar 19 anos de idade (WHO 2003b). A média encontrada de 13,3 cigarros fumados por dia, foi maior do que a média observada em gestantes por outros autores (ORTEGA e col. 1998b; WISBORG e col. 2000; BOLISSETTY e col. 2002).

Este estudo envolveu apenas recém-nascidos a termo, verificado de acordo com o método proposto por CAPURRO e col. (1978). Atualmente são aceitas as definições padronizadas pela OMS em 1979, que recomenda que sejam considerados a termo os recém-nascidos que apresentarem idade gestacional maior ou igual a 37 semanas e menor de 42 semanas completas de gestação (DUNN 1985). Foi observado que a maioria dos recém-nascidos apresentaram idade gestacional de 39 a 40 semanas de gestação (57,2%).

Em relação ao peso ao nascimento, foi constatado que 91,1% dos recém-nascidos envolvidos neste estudo nasceram com peso adequado e 2,5% apresentaram baixo peso ao nascimento. De acordo com PITARD-III (1993), são considerados recém-nascidos de baixo peso ao nascimento todos aqueles que nascem com peso inferior a 2500g, independente da causa e da duração da gestação. Como este estudo envolveu apenas recém-nascidos a termo, pode-se dizer que os 2,5% que apresentaram baixo



peso ao nascimento, provavelmente tiveram retardo de crescimento intra-uterino (RCIU).

## **5.2. Concentrações sanguíneas de $\alpha$ -tocoferol e $\beta$ -caroteno**

Alguns estudos tem demonstrado que os níveis de vitamina E no plasma materno aumentam durante a gestação, assim como as concentrações lipídicas (HAGA e col 1982; OOSTENBRUG e col 1998; LACHILI e col. 1999). Segundo este último autor, esta variação pode ser explicada pelas mudanças no metabolismo lipídico durante a gestação, pela síntese da placenta ou ainda pela alta ingestão de lipídios durante este período. De acordo com HAGA e col. (1982), como o metabolismo está alterado e a hiperlipidemia é uma ocorrência normal durante a gestação, o aumento dos níveis plasmáticos de tocoferol é provavelmente um fenômeno secundário, e não necessariamente representa o aumento dos níveis plasmáticos de tocoferol no organismo.

O comportamento inverso tem sido observado quanto as concentrações de  $\beta$ -caroteno em gestantes. OOSTENBRUG e col (1998) observou uma queda de 20% nas concentrações de  $\beta$ -caroteno ao comparar, o terceiro com o primeiro trimestre de gestação em mulheres saudáveis. Já outros autores como VRIESE e col. (2001), não observaram tal mudança com o avanço do período gestacional.

No presente estudo, tanto as parturientes como os recém-nascidos apresentaram níveis condizentes a outros estudos em relação as frações lipídicas (GODEL 1989; VRIESE e col. 2001). Entretanto, VOBECKY e col.

(1982) e ORTEGA e col. (1998a) observaram concentrações bem mais elevadas tanto no sangue das parturientes como no dos recém-nascidos. Acredita-se que esta divergência observada nos valores encontrados de colesterol e triglicerídeos, entre os autores, está relacionada a diferenças na ingestão de alimentos. Com o aumento das frações lipídicas durante a gestação, é esperado que as concentrações de vitamina E aumentem com o progresso gestacional, como foi observado por VRIESE e col. (2001).

Em um estudo realizado com mulheres algerianas no período pós-parto, LACHILI e col. (1999) encontraram concentrações de  $\alpha$ -tocoferol de 8,514mg/L; e KIELY e col. (1999) estudando gestantes irlandesas encontraram concentrações de 8,879mg/L correspondendo, aproximadamente a valores 36% mais elevados aos encontrados neste estudo (5,553mg/L). Entretanto, BERTOLI (2001) ao estudar parturientes na cidade de Taubaté, São Paulo, observou concentrações plasmáticas de  $\alpha$ -tocoferol ainda mais baixas (4,545mg/L) aos nossos achados.

De acordo com os critérios descritos por MEYDANI (1995), o valor esperado de concentração plasmática de vitamina E é de 10mg/L com valores que vão de 5mg/L a 16mg/L. Segundo este mesmo autor, considera-se deficiência de vitamina E níveis plasmáticos abaixo de 5mg/L. Levando-se em consideração este critério de classificação, 37% da amostra total de parturientes encontram-se deficientes nesta vitamina. RODRIGUEZ e col. (2000), de acordo com o mesmo critério de classificação observaram 17% de adolescentes deficientes em vitamina E, na cidade da Havana, Cuba. Seguindo este mesmo critério, a prevalência de parturientes deficientes

desta vitamina encontrada por BERTOLI (2001) na cidade de Taubaté, São Paulo, foi de 57%. Utilizando-se dos critérios de classificação adotados pelo "Committee on Nutrition of the Mother and Preschool Child" (citado por VOBECKY e col. 1982, p. 634), que consideram valores  $<2\text{mg/L}$  como sendo deficientes, nenhuma das parturientes se enquadram nesta faixa; entretanto ao considerarmos valores marginais que vão de 2 a  $6\text{mg/L}$ , 63% apresentam-se com níveis marginais. Apesar do percentual encontrado ser elevado, deve-se levar em consideração que os níveis sangüíneos e teciduais de antioxidantes são afetados por fatores genéticos e estilo de vida, assim como ingestão de outros micronutrientes, sua biodisponibilidade, diferenças inter-individuais em relação a absorção e metabolismo, além de outros efeitos até então desconhecidos (RODRIGUEZ e col. 2000).

Ao tratar-se das concentrações de  $\alpha$ -tocoferol encontradas no sangue dos recém-nascidos, KIELY e col. (1999) também verificaram valores mais altos ( $3,182\text{mg/L}$ ), comparando-se aos encontrados no presente estudo ( $1,164\text{mg/L}$ ). Entretanto, BERTOLI (2001) observou concentrações de  $\alpha$ -tocoferol no sangue do cordão umbilical ainda mais baixas ( $0,812\text{mg/L}$ ) aos nossos achados. Apesar da discrepância nos valores encontrados de  $\alpha$ -tocoferol, ao verificarmos diferença estatística entre o grupo de fumantes e não fumantes, os achados neste estudo corroboram com os de KIELY e col. (1999) tanto para as concentrações sangüíneas das parturientes como dos recém-nascidos ( $p>0,05$ ). ORTEGA e col. (1998) e BOLISSETTY e col. (2002) também não verificaram diferença estatística entre as concentrações sangüíneas de vitamina E, entre o grupo de parturientes fumantes e não

fumantes. Entretanto, ao avaliar as concentrações sanguíneas dos recém nascidos, BOLISSETY e col. (2002) constataram diferença estatística comparando-se os dois grupos ( $p=0,041$ ). GHEBREMESKEL e col. (1994) também encontraram resultados semelhantes ao nosso estudo, não referindo diferença estatística entre recém-nascidos de mães fumantes e não fumantes. Segundo WEI WEI (2001), evidências de uma associação entre o ato de fumar e níveis plasmáticos de vitamina E são controversas. Alguns estudos tem demonstrado que indivíduos fumantes apresentam menores níveis de vitamina E (BOLTON-SMITH e col. 1991), ao passo que outros não relatam diferenças entre fumantes e não fumantes (STRYKER e col. 1988)

A média de  $\beta$ -caroteno encontrada nos sangues materno e de recém-nascidos foi de 0,223mg/L e 0,022mg/L, respectivamente. KIELY e col. (1999) apesar de encontrarem concentrações próximas no sangue de recém-nascidos (0,021mg/L), ao se tratar do sangue materno encontrou valores 52,5% mais baixos (0,118mg/L). Já em estudo realizado por BOLISSETY e col. (2002), os autores verificaram valores médios de  $\beta$ -caroteno no sangue materno, semelhantes a nossos achados (0,262mg/L).

Segundo GEY e col. (citado por CANFIELD e col. 1999, p. 535) para indivíduos adultos manterem uma vida saudável, é necessária uma concentração sanguínea  $>0,214$ mg/L de  $\beta$ -caroteno. Levando-se em conta este critério, 61% das parturientes encontram-se com valores inadequados de  $\beta$ -caroteno. Ambos os autores OOSTENBRUG e col. (1998); KIELY e col. (1999); LACHILI e col. (1999) e BERTOLI (2001), ao realizarem estudos com

população de gestantes saudáveis encontraram médias ainda mais baixas de  $\beta$ -caroteno (0,150mg/L; 0,118mg/L; 0,102mg/L e 0,175mg/L respectivamente). Em estudo realizado com mulheres afro-americanas saudáveis, com idades entre 30 e 69 anos, PAMUK e col. (1994) observaram que menos de 30% das mulheres apresentaram concentrações de  $\beta$ -caroteno no limite necessário para uma vida saudável ( $>0,214$ mg/L).

Como tem sido observado em outros estudos, foi verificada diferença estatística ( $p < 0,05$ ) ao compararmos a concentração média de  $\beta$ -caroteno entre o grupo de fumantes e não fumantes, porém nenhum destes estudos avaliou populações de gestantes (STRYKER e col. 1988; BOLTON-SMITH e col. 1991; ROSS e col. 1995; DRISKELL e col. 1996; CHOPRA e col. 2000). Os autores KIELY e col. (1999) e BOLISETTY e col. (2002), ao observarem um grupo de parturientes e recém-nascidos, não encontraram diferença estatística ( $p > 0,05$ ) ao analisar as concentrações sanguíneas de  $\beta$ -caroteno em relação ao hábito de fumar.

O grupo das parturientes fumantes incluídas neste estudo apresentaram concentrações plasmáticas de  $\beta$ -caroteno correspondentes a 77% das concentrações encontradas no grupo de não fumantes. Estes achados estão de acordo com outros estudos que observaram diferenças semelhantes, como os autores STRYKER e col. (1988) e PAMUK e col. (1994) que observaram 66% e 79%, respectivamente ao estudarem a diferença das concentrações de  $\beta$ -caroteno entre o grupo de mulheres fumantes e não fumantes.

Corroborando com estudos prévios (HAGA e col. 1982; IBEZIAKO & ETTE 1982; MANDACH e col. 1993; CHEN e col. 1996; GONZÁLEZ-CORBELLA e col. 1998; KIELY e col. 1999; BERTOLI (2001); BOLISSETTY e col. 2002) a concentração de vitamina E no sangue materno é significativamente maior que a observada no sangue dos recém-nascidos ( $p < 0,05$ ). Assim como em outros estudos, os valores encontrados de  $\alpha$ -tocoferol no sangue dos recém-nascidos correspondem a 20% dos valores maternos (HAGA e col. 1982; IBEZIAKO & ETTE 1982; MANDACH e col. 1993; BOLISSETTY e col. 2002). Este comportamento se deve a baixos níveis lipídicos no sangue de neonatos (HAGA e col. 1982; CHEN e col. 1996). HORWITT e col. (citado por CHEN e col. 1996, p. 558) propuseram que a razão vitamina E/total lipídico é o índice mais seguro na dosagem do nível de vitamina E. Da mesma maneira como os autores HAGA e col. (1982), IBEZIAKO & ETTE (1982) e YEUM e col. (1998) verificaram, quando a razão vitamina E/total lipídico entre os sangues materno e do cordão umbilical foi testada, uma fraca correlação em relação a vitamina E ( $r=0,179$ ) foi observada. Entretanto, ao considerarmos a razão  $\beta$ -caroteno/total lipídico, observamos forte correlação entre os sangues materno e do cordão umbilical ( $r=0,774$ ).

Apesar da proposta dos autores HORWITT e col. (citado por CHEN e col. 1996, p. 558) em dosar a vitamina E através do índice razão vitamina E/total lipídico, a mesma tendência foi verificada na correlação entre as concentrações de vitamina E nos sangues das parturientes e recém-nascidos. A relação das concentrações sanguíneas de vitamina E entre

parturientes e recém-nascidos, apresentou um  $r=0,172$  muito próximo ao  $r=0,179$  encontrado através do índice proposto pelos referidos autores citados anteriormente. No caso do  $\beta$ -caroteno, ao avaliar-se a relação entre as concentrações sanguíneas de  $\beta$ -caroteno entre parturientes e recém-nascidos, o coeficiente de correlação apresentou um  $r$  ligeiramente maior, passando de  $r=0,774$  para  $r=0,801$ . OOSTENBRUG e col. (1998) observaram o mesmo comportamento ao encontrar fraca correlação entre as concentrações de  $\alpha$ -tocoferol entre os sangues materno e do cordão umbilical ( $p>0,05$ ), e forte correlação entre as concentrações de  $\beta$ -caroteno de mães e recém-nascidos.

Neste estudo as concentrações plasmáticas de  $\alpha$ -tocoferol, tanto das parturientes como dos recém-nascidos, foram fortemente correlacionadas com o as frações lipídicas ( $p<0,01$ ), porém o mesmo não aconteceu em relação as concentrações de  $\beta$ -caroteno. KARDINAAL e col. (1995) encontraram o mesmo comportamento ao investigar correlação entre  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno e frações lipídicas, em uma população de homens e mulheres saudáveis com idade entre 50 a 70 anos.

Corroborando com os achados de ORTEGA e col. (1998a) em uma população de gestantes, não foi observada diferença estatística quanto as frações lipídicas entre o grupo de fumantes e não fumantes, tanto no sangue de parturientes como no dos recém-nascidos. Neste estudo pode-se observar que apenas os valores de triglicerídeos de parturientes foram os que mais se aproximaram da diferença estatística ( $p=0,097$ ). CHOPRA e col. (2000) estudando mulheres saudáveis, observaram diferença estatística

entre grupo de fumantes e não fumantes apenas para os valores de triglicerídeos ( $p=0,044$ ).

### **5.3. Frequência alimentar**

Entre os métodos de estimativa de consumo alimentar, o inquérito recordatório de 24 horas é provavelmente o mais utilizado na avaliação nutricional de populações no Brasil (CARDOSO e col. 2000). Para nutrientes com pequena variação intra e inter indivíduos, tais como carboidratos e gordura total, alguns dias de registro de consumo alimentar são suficientes para estimar sua ingestão média. No entanto, para outros nutrientes como as vitaminas antioxidantes em questão, principalmente para o caso do  $\beta$ -caroteno, a variação intra-individual é muito maior que a variabilidade inter-individual, exigindo vários dias de registros alimentares para se atingir estimativa mais acurada do consumo real desses nutrientes (NELSON e col. 1989; LIU 1994). Além disso, o  $\beta$ -caroteno é encontrado em número limitado de alimentos, o que torna a margem de erro do inquérito recordatório de 24 horas maior, já que se poderia estar perdendo dias em que estes alimentos são ingeridos (MARGETTS e col. 1989)

Em pesquisas epidemiológicas são necessários instrumentos de avaliação de consumo alimentar de fácil utilização e baixo custo (MARGETTS e col. 1989). Para atender a estas exigências, questionários quantitativos de frequência alimentar tem sido empregados em estudos prospectivos internacionais (WILLETT e col. 1985). Apesar de suas



vantagens, o questionário de frequência alimentar torna-se complicado pela falta de uma padronização ideal (JACQUES e col. 1993).

Embora se conheça a importância para este estudo em obter-se dados sobre as quantidades dos alimentos consumidos, pelo fato da população estudada tratar-se de gestantes em trabalho de parto, optou-se em investigar apenas o consumo de alimentos previamente selecionados. Esta opção proporcionou maior agilidade no término da entrevista, além de maior receptividade da entrevistada.

Face a quantidade de alimentos investigados, achou-se por bem agrupá-los de acordo com os alimentos ricos em vitamina E e ricos em  $\beta$ -caroteno (Figuras 9 e 10). No capítulo “metodologia” deste estudo (página 22), detalhamos os alimentos que foram considerados ricos nas vitaminas E e  $\beta$ -caroteno.

A fim de possibilitar a análise descritiva dos sete escores utilizados para investigar a frequência do consumo de cada alimento, estes escores foram somados chegando-se ao consumo habitual de cada alimento pelas parturientes fumantes e não fumantes. Através da visualização da Figura 9, nota-se que em relação a vitamina E, o consumo entre os dois grupos foi semelhante, sendo que o maior percentual de parturientes fumantes (53,8%) e não fumantes (50,5%) relataram “não consumir” alimentos considerados ricos em vitamina E. Em relação ao consumo destes alimentos de “1 a 2 vezes por semana”, observou-se um percentual de 10,5% para o grupo de fumantes e 12,8% para o grupo das parturientes não fumantes. Apesar de ambos os escores apresentarem percentuais próximos entre os dois grupos,

nota-se que as parturientes fumantes costumam consumir menos alimentos ricos nesta vitamina.

Ao tratar-se do  $\beta$ -caroteno, o mesmo comportamento foi observado (Figura 10). A grande maioria das parturientes também encontravam-se no escore "não consomem" alimentos ricos nesta vitamina. Entre as parturientes fumantes, 62,7% contra 55,6% das que não fumavam, apresentaram-se na faixa do escore "não consomem". Seguindo esta tendência, 14,2% das não fumantes relataram consumir este tipo de alimento de "1 a 2 vezes por semana", sendo que apenas 10,8% das fumantes consumiram nesta faixa de escore. Através destas observações, podemos constatar que as parturientes fumantes consumiram, no decorrer da gestação, menos alimentos considerados ricos nas vitaminas E e  $\beta$ -caroteno, comparando-as com as não fumantes.

De maneira geral, nota-se através das análises de correlação entre as concentrações plasmáticas de  $\beta$ -caroteno e o consumo de alimentos pelas parturientes, que o grupo de não fumantes apresentam melhores correlações, comparando-se às correlações encontradas para o grupo de fumantes. Já as comparações realizadas entre a correlação das concentrações plasmáticas de  $\alpha$ -tocoferol e o consumo de alimentos ricos em vitamina E, mostram-se mais homogêneas. Acredita-se, que este comportamento tenha relação com o fato de haver uma similaridade entre as concentrações plasmáticas de  $\alpha$ -tocoferol entre o grupo de parturientes e respectivos recém-nascidos, fumantes e não fumantes.

Os resultados observados quanto as concentrações plasmáticas das vitaminas antioxidantes estudadas em relação aos hábitos alimentares, torna-se de difícil comparação com outros trabalhos, uma vez que os estudos existentes na literatura que enfocam este assunto - ingestão alimentar x vitaminas x hábito de fumar – utilizam-se de instrumentos para a investigação do consumo de alimentos muito mais detalhados, como por exemplo através do inquérito recordatório de 24 horas e/ou questionário de frequência alimentar semi-quantitativo.

Como citado anteriormente, tratando-se de uma população de parturientes em trabalho de parto foi inviável a aplicação de um inquérito mais apurado, sabendo-se que a maioria das gestantes já não mantêm seus hábitos alimentares dias antes do parto, pois muitas vezes já vem sentindo dores. Apesar de mais fácil e ágil a aplicação de um questionário alimentar semi-quantitativo, além de melhor aproximação da dieta atual da população comparando-se com o inquérito recordatório de 24 horas, achou-se por bem utilizar nesta pesquisa apenas o questionário de frequência simples, nos proporcionando uma visão geral do consumo de vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) e  $\beta$ -caroteno pela população estudada.

## 6. Conclusões e considerações finais

A determinação das concentrações de antioxidantes,  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno, nos sangues materno e do cordão umbilical, de um grupo de parturientes fumantes e não fumantes, permitiu as seguintes conclusões:

- O percentual encontrado de parturientes fumantes (33,5%), foi maior que a prevalência de tabagismo no Brasil (29,3%) entre mulheres em idade fértil, segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO 2003);
- Apenas as concentrações plasmáticas de  $\beta$ -caroteno apresentaram diferença estatística quanto ao hábito de fumar, tanto no sangue materno como no do cordão umbilical;
- Observou-se neste estudo uma forte correlação entre as concentrações de  $\beta$ -caroteno no sangue materno e do recém-nascido (cordão umbilical) ( $r=0,774$   $p<0,05$ );
- As frações lipídicas foram fortemente correlacionadas com os níveis plasmáticos de  $\alpha$ -tocoferol, sendo que não foi encontrada diferença estatística em relação as frações lipídicas entre o grupo de fumantes e não fumantes;
- Os níveis plasmáticos de  $\beta$ -caroteno foram melhores correlacionados com a ingestão de alimentos, no grupo de não fumantes;
- O consumo de alimentos considerados neste estudo como sendo ricos em vitamina E e  $\beta$ -caroteno, foi maior entre as parturientes não fumantes.

Neste estudo as concentrações plasmáticas de  $\beta$ -caroteno nos sangues materno e do cordão umbilical foram influenciadas pelo uso do tabaco. Acredita-se que este comportamento foi devido ao provável aumento do estresse oxidativo ocasionado pelo hábito de fumar, e/ou ainda, pela baixa ingestão de alimentos ricos em  $\beta$ -caroteno pelas parturientes fumantes. Entretanto, tratando-se de um estudo de corte transversal, nossos achados são limitados. Desta forma, recomenda-se que mais pesquisas sejam realizadas nesta área, uma vez que os resultados entre os estudos mostram-se divergentes.

## 7. Referências

Abdalla DSP. Estresse oxidativo e alimentação. In: Tirapegui J. **Nutrição: Fundamentos e aspectos atuais**. São Paulo: Atheneu; 1999. p. 179-200.

Achutti A e Menezes AMB. Epidemiologia do tabagismo. In: Achutti A. **Guia Nacional de Prevenção e Tratamento do Tabagismo**. Rio de Janeiro: Vitro Comunicação & Editora; 2001. p. 9-24.

Albanes D, Virtamo J, Rautalahti M, Haukka J, Palmgren J, Gref CG, Heinonen OP. Serum beta-carotene before and after beta-carotene supplementation. **Eur J Clin Nutr** 1992; 46: 15-24.

Arnaud J, Fortis I, Blachier S, Kia D, Favier A. Simultaneous determination of retinol,  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. **J Chromatogr** 1991; 572: 103-116.

Bates JH, Young IS, Galway L, Traub AI, Hadden DR. Antioxidant status and lipid peroxidation in diabetic pregnancy. **Br J Nutr** 1997; 78: 523-532.

Bechrens WA, Thompson JN, Madere R. Distribution of  $\alpha$ -tocopherol in human plasma lipoproteins. **Am J Clin Nutr** 1982; 35: 691-96.

Bertoli CJ. **Avaliação de micronutrientes em mães e recém-nascidos normais**. São Paulo; 2001. [Tese de doutorado - Faculdade de Medicina da USP].

Bolisetty S, Naidoo D, Lui K, Koh THHG, Watson D, Montgomery R, Whitehall J. Postnatal changes in maternal and neonatal plasma antioxidant

vitamins and the influence of smoking. **Arch Dis Child Fetal Neonatal** 2002; 86:F36-F40.

Bolton-Smith C, Casey CE, Gey KF, Smith WCS, Tunstall-Pedoe H. Antioxidant vitamin intakes assessed using a food-frequency questionnaire: correlation with biochemical status in smokers and non-smokers. **Br J Nut** 1991; 65: 337-346.

Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia**. Santos AR, Millington MA, Althoff, MC (Orgs.). Brasília: MS-FUNASA, 2000.

Burton GW, Joyee A, Ingold K. First proof that vitamin E is the major lipid-soluble, chain breaking antioxidant in human plasma. **Lancet** 1982; 2: 327.

Burton GW, Ingold KU.  $\beta$ -carotene: An Unusual Type of Lipid Antioxidant. **Sci** 1984; 224: 569-73.

Burton GW, Ingold KU. Vitamin E as in vitro and in vivo antioxidant. **Ann N Y Acad Sci** 1989; 70: 7-22.

Burton GW, Traber MG. Vitamin E: Antioxidant Activity, Biokinetics and Bioavailability. **Ann Rev Nutr** 1990; 10:357-82.

Canfield LM, Taren DL, Kaminsky RG, Mahal Z. Short-term  $\beta$ -carotene supplementation of lactating mothers consuming diets low in vitamin A. **J Nutr Biochem** 1999; 10: 532-38.

Capurro H, Konichezky S, Fonseca D, Caldeiro-Barcia. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. **J Pediatr** 1978; 93: 120-2.

Cardoso MA, Stocco PR. Desenvolvimento de um questionário quantitativo de frequência alimentar em imigrantes japoneses e seus descendentes residentes em São Paulo, Brasil. **Cad Saúde Pública** 2000; 16(1): 107-114.

Castro L, Freeman B. Reactive Oxygen Species in Human Health and Disease. **Nutrition** 2001; 17: 161-165.

Charlton A. A children and smoking: the family circle. **Br Med Bull** 1996; 52:99-107.

Chen H-W, Lii C-K, Ou C-C, Wong Y-C, Kuo B-J, Liu C-H. Plasma vitamins A and E and red blood cell fatty acid profile in newborns and their mothers. **Eur J Clin Nutr** 1996; 50: 556-559.

Chopra M, O'Neill M, Keogh N, Wortley G, Southon S, Thurnham D. Influence of increased fruit and vegetable intake on plasma and lipoprotein carotenoids and LDL oxidation in smokers and nonsmokers. **Clin Chemistry** 2000; 46(11): 1818-29.

Driskell JA, Giraud DW, Sun J, Martin HD. Plasma concentration of carotenoids and tocopherols in male long-term tobacco chewers, smokers and nonusers. **Int J Vitam Nutr Res** 1996; 66: 203-9.



Dunn PM. The research for perinatal definitions and standards. **Acta Paediatr Scand** 1985; 319: 7-16.

Fehily AM, Phillips KM, Yarnell JWG. Diet, smoking, social class, and body mass index in the Caerphilly Heart Disease Study. **Am J Clin Nutr** 1984; 40: 827-33.

Fórnés NS. **Padrões alimentares e suas relações com os lipídios séricos em população da área metropolitana de São Paulo**. São Paulo; 1998. [Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Friedewald WT, Levy RI, Frederickson DS. Estimation of the concentration of LDL cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chem** 1972; 18: 499-504.

Gey KF, Brubacher GB, Stahelin HB. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. **Am J Clin Nutr** 1987; 45: 1368-77.

Ghebremeskel K, Burns L, Burden TJ, Hardige L, Costeloe K, Powell JJ, Crawford M. Vitamin A and related essential nutrients in cord blood: relationship with anthropometric measurements at birth. **Early Hum Development** 1994; 39:177-188.

Godel J. Vitamin E status of northern Canadian newborns: relation of vitamin E to blood lipids. **Am J Clin Nutr** 1989; 50: 375-80.

González-Corbella MJ, López-Sabater MC, Castellote-Bargalló AI, Campoy-Folgozo C, Rivero-Urgell M. Influence of caesarean delivery and maternal factors on fat-soluble vitamins in blood from cord and neonates. **Early Hum Dev** 1998; 53: S121-134.

Haga P, Johan EK, Kran S. Plasma tocopherol levels and vitamin E/ $\beta$ -lipoprotein relationships during pregnancy and in cord blood. **Am J Clin Nutr** 1982; 36: 1200-4.

Halliwel B, Gutteridge JMC. **Free radicals in biology and medicine**. 3<sup>th</sup> ed. Oxford: New York; 1999.

Handelman GJ, Packer L, Cross CE. Destruction of tocopherols, carotenoids, and retinol in human plasma by cigarette smoke. **Am J Clin Nutr** 1996; 63: 559-65.

Hubel CA, Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rogers GM, McLaughlin MK. Lipid peroxidation in pregnancy: New perspectives on preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol** 1989; 161: 1025-34.

Ibeziako PA, Ette SI. Vitamin E levels in pregnant Nigerian women and newborn. **J Trop Med Hyg** 1982; 82:265-8.

Jacques PF, Sulsky SI, Sadowski JÁ, Phillips JCC, Rush D, Willett WC. Comparison of micronutrient intake measured by a dietary questionnaire and biochemical indicators of micronutrient status. **Am J Clin Nutr** 1993; 57: 182-9.

Järvinen R, Knekt P, Seppänen R, Heinonen M, Aaran RK. Dietary determinants of serum  $\beta$ -carotene and serum retinol. **Eur J Clin Nutr** 1993; 47: 31-41.

Jelliffe DB, Jelliffe EFP. **Community nutritional assessment, with special reference to less technically developed countries**. 2<sup>nd</sup> ed. London: Oxford University Press, 1989.

Jewell VC, Northrop-Clewes CA, Tubman R, Thurnham DI. Nutritional factors and visual function in premature infants. **Proc Nutr Soc** 2001; 60: 171-8.

Kardinaal AFM, Veer P, Brants HAM, Berg H, Schoonhoven J, Hermus RJJ. Relations between antioxidant vitamins in adipose tissue, plasma, and diet. **Am J Epidemiol** 1995; 141(5): 440-50.

Kharb S, Gulati N, Singh V, Singh GP. Lipid peroxidation and vitamin E levels in preeclampsia. **Gynecol Obstet Invest** 1998; 46(4): 238-40.

Kharb S. Vitamin E and C in preeclampsia. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol** 2000; 93: 37-39.

Kiely M, Cogan P, Kearney PJ, Morrissey PA. Relationship between smoking, dietary intakes and plasma levels of vitamin E and  $\beta$ -Carotene in matched maternal-cord pairs. **Int J Vitam Nutr Res** 1999; 69(4): 262-267.

Lachili B, Faure H, Smail A, Zama N, Benlatreche C, Favier A, Roussel AM. Plasma vitamin A, E, and  $\beta$ -carotene levels in adult post-partum algerian women. **Int J vitam Nutr Res** 1999; 69(4): 239-242.

Ledger W. Maternal infections during pregnancy. In: Reece EA, Hobbins JC, Mahoney MJ, Petrie RH. **Medicine of the fetus & mother**. Philadelphia: JB Lippincott Company; 1992. p. 1183-92.

Liu K. Statistical issues related to semiquantitative food-frequency questionnaires. **Am J Clin Nutr** 1994; 59 (Suppl): 262S-5S.

Lwanga SK, Lemeshow S. **Sample size determination in health studies – A practical manual**. Geneva: WHO, 1991.

Lyons TJ. Oxidised low density lipoprotein: a role in the pathogenesis of atherosclerosis in diabetes? **Diabetic Med** 1991; 8: 411-419.

Mahan LK, Arlin MT. **Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 8º edição São Paulo: Roca; 1995, p. 72.

Mandach U, Huch R, Huch A. Maternal and cord serum vitamin E levels in normal and abnormal pregnancy. **Int J Vitam Nutr Res** 1993; 63: 26-32.

Margetts BM, Cade JE, Osmond C. Comparison of a food frequency questionnaire with a diet record. **Int J Epidemiol** 1989; 18: 868-73.

Margetts BM, Jackson AA. Interactions between people's diet and their smoking habits: the dietary and nutritional survey of British adults. **Br Med J** 1993; 307: 1381-84.

McArdle HJ, Ashworth CJ. Micronutrients in fetal growth and development. **Br Med Bull** 1999; 55(3): 499-510.

McPhillips JB, Eaton CB, Gans KM, Derby CA, Lasater TM, McKenney JL, Carleton RA. Dietary differences in smokers and nonsmokers from two southeastern New England communities. **J Am Diet Assoc** 1994; 94: 287-92.

Meydani M. Vitamin E. **Lancet** 1995; 345: 170-5.

Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Brasil. **Resolução 196, de 10 de outubro de 1996**; Diário Oficial 1997.

Mino M. Vitamin E status in children – health and diseases. **J Nutr Sci Vitaminol** 1992; 64-70.

Munro LH, Burton G, Kelly FJ. Plasma RRR-  $\alpha$ -tocopherol concentrations are lower in smokers than in non-smokers after ingestion of a similar oral load of this antioxidant vitamin. **Clin Sci** 1997; 92: 87-93.

Nelson M, Black AE, Morris JA, Cole TJ. Between- and within- subject variation in nutrient intake from infancy to old age: estimating the number of days required to rank dietary intakes with desired precision. **Am J Clin Nutr** 1989; 50: 155-67.

Oostenbrug GS, Mensink RP, Al MDM, van Houwelingen AC, Hornstra G. Maternal and neonatal plasma antioxidant levels in normal pregnancy, and the relationship with fatty acid unsaturation. **Br J Nutr** 1998; 80: 67-73.

Ortega RM, López-Sobaler AM, Martínez RM, Andrés P, Quintas ME. Influence of smoking on vitamin E status during the third trimester of

pregnancy and on breast-milk tocopherol concentrations in Spanish women. **Am J Clin Nutr** 1998a; 68: 662-7.

Ortega RM, Martínéz RM, López-Sobaler AM, Andrés P, Quintas ME. The consumption of food, energy and nutrients in pregnant women: differences with respect to smoking habits. **Nutr Res** 1998b; 18(10): 1691-1701.

Paiva AA. **Análise da relação entre os níveis de ferro de parturientes e recém-nascidos a termo**. São Paulo; 2000. [Dissertação de mestrado - Faculdade de Saúde Pública da USP].

Pamuk ER, Byers T, Coates RJ, Vann JW, Sowell A, Gunter EW, Glass D. Effect of smoking on serum nutrient concentrations in African-American women. **Am J Clin Nutr** 1994; 59:891-5.

Papas AM. Diet and antioxidant status. **Food Chem Toxicol** 1999; 37: 999-1007.

Papoz L, Eschwege E, Pequignot G, Barrat J, Schwartz D. Maternal smoking and birth weight in relation to dietary habits. **Am J Obstet Gynecol** 1982; 142: 870-76.

Pitard-III WB. Classification of the low-birth-weight infant. In: Klaus MH, Fanaroff AA. **Care of the high-risk neonate**. Philadelphia: WB Saunders; 1993. p. 88-113.

Póvoa F. **Radicais livres em patologia humana**. Rio de Janeiro: Imago, 1995.

Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: Vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. **J Am Diet Assoc** 1996; 96: 693-702.

Rodríguez GP, Hernández AC, Sintés GS, Matos CM, Lozano MAH. Vitaminas antioxidantes en un grupo de adolescentes como factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares. **Rev Cubana Aliment Nutr** [periódico on line] 2000; 14(2). Disponible <[http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol14\\_2\\_00/ali01200.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol14_2_00/ali01200.htm)> [2003 Jan 31].

Rondó PHC. **The influence of maternal nutritional factors on intrauterine growth retardation**. London; 1993. [PhD Thesis - Faculty of Medicine - University of London].

Ross MA, Crosley LK, Brown KM, Duthie SJ, Collins AC, Arthur JR, Duthie CG. Plasma concentration of carotenoids and antioxidants vitamins in Scottish males: influences of smoking. **Eur J Clin Nutr** 1995; 49: 861-865.

Schechtman G. Estimating ascorbic acid requirements for cigarette smokers. **Ann N Y Acad Sci** 1993; 686: 335-45.

Scheffler E, Woehrle J, Otto I, Schulz I, Huber L, Ziegler R, Dresel HA. Smoking influences the atherogenic potential of low-density lipoprotein. **Clin Invest** 1992; 70:263-8.

Shah RS, Rajalakshmi R, Bhatt RV, Nazra MN, Patel BC, Swamy NB, Patel TV. Vitamin E status of the newborn in relation to gestational age, birth weight and maternal vitamin E status. **Br J Nutr** 1987; 58: 191-198.

Sichieri R. **Epidemiologia da obesidade**. Rio de Janeiro: EdUERJ; 1998.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2º Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias: Avaliação, Detecção, Tratamento. **Arq Bras Cardiol** 1996; 67(2): 109-128.

Stryker WS, Kaplan LA, Stein EA, Stampfer MJ, Sober A, Willett WC. The relation of diet, cigarette smoking, and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. **Am J Epidemiol** 1988; 127(2): 283-296.

Subar AF, Harlan LC, Mattson ME. Food and nutrient intake differences between smokers and non-smokers in the US. **Am J Public Health** 1990; 80: 1323-29.

Subar AF, Harlan LC. Nutrient and food group intake by tobacco use status: the 1987 National Health Interview Survey. **Ann N Y Acad Sci** 1993; 686:310-21.

Valdés N, Sanchez S. **Tobacco and Adolescent Girls: The Current Trends** [on line] Washington (DC): Pan American Health Organization, 1999. (PAHO/HDP/HDW/99-001). Available at:



<<http://www.paho.org/English/HDP/HDW/TOBACCOENG.pdf>> [2003 Jan 31].

Vobecky JS, Vobecky J, Shapcott D, Demers P-P, Cloutier D, Blanchard, Fisch C. Biochemical indices of nutritional status in maternal, cord and early neonatal blood. **Am J Clin Nutr** 1982; 36: 630-642.

Vriese SD, Dhont M, Christophe AB. Oxidative stability of low density lipoproteins and vitamin E levels increase in maternal blood during normal pregnancy. **Lipids** 2001; 36(4): 361-6.

Wei Wei MFCS, Younghee K, Boudreau N. Association of smoking with serum and dietary levels of antioxidants in adults: NHANES III, 1988-1994. **Am J Public Health** 2001; 91(2): 258-64.

Wichelow MJ, Erzinclioglu SW, Cox BD. A comparison of the diets of non-smokers and smokers. **Br J Addict** 1991; 86: 71-81.

Willett WC, Sampson L, Stampfer MJ, Rosner B, Bain C, Witschi J, Hennekens CH, Speizer F. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. **Am J Epidemiol** 1985; 122:51-65.

Wisborg K, Kesmodel U, Henriksen TB, Olsen SF, Secher NJ. A prospective study of smoking during pregnancy and SIDS. **Arch Dis Child** 2000; 83:203-206.

[WHO] World Health Organization. Regions of Americas Smoking Prevalence Smoking-related Disease [on line]; available at: <<http://www5.who.int/tobacco/repository/tld103/Brazil.pdf>> [2003a Jan 31].

[WHO] World Health Organization. Tobacco: the twentieth century's epidemic [Online]. Available at: <<http://www.who.org/psa/toh/Alert/jan96/tajan4>> [2003b Jan 31].

World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic - report of a WHO consultation on obesity, Geneva: WHO; 3-5 June 1997.

Yeum K-J, Ferland G, Patry J, Russel RM. Relationship of plasma carotenoids, retinol and tocopherols in mothers and newborn infants. **J Am Coll Nutr** 1998; 17(5): 442-447.

***Anexos***

## ANEXO 1

## FORMULÁRIO DE REGISTRO DE DADOS

Gestante N° 

Data admissão: \_\_\_/\_\_\_/2002

Data entrevista: \_\_\_/\_\_\_/2002

N° Registro no Hospital: \_\_\_\_\_

A. Dados pessoais da gestante	
1. Nome:	
2. Endereço:	
Telefone:	
3. Idade (anos)	<input type="text"/>
4. Estado civil: (0) solteira (1) casada (2) viúva (3) separada/divorciada (4) outro	<input type="text"/>
5. Ocupação: (0) desempregada (1) dona-de-casa (2) outro	<input type="text"/>

B. Dados sócio-econômicos da família	
6. Renda familiar mensal: _____ reais Em Salários mínimo (SM): _____	<input type="text"/>
7. Número de pessoas que contribuem	<input type="text"/>
8. Números de pessoas da casa	<input type="text"/>
9. Renda per capita: _____ reais Em Salários mínimos (SM): _____	<input type="text"/>

C. Dados obstétricos	
10. Data da última menstruação	<input type="text"/>
11. Tipo de parto: (0) normal (1) cesárea (2) fórceps	<input type="text"/>
12. Número de gestações (incluindo atual)	<input type="text"/>
13. Intervalos entre gestações (meses)	<input type="text"/>
14. Paridade	<input type="text"/>

D. Dados do recém-nascido	
15. Hora do nascimento (horas/minutos)	<input type="text"/>
16. Peso (g)	<input type="text"/>
17. Sexo: (0) masculino (1) feminino	<input type="text"/>
17. Comprimento (cm)	<input type="text"/>
18. Ápgar (1 min)	<input type="text"/>
19. Ápgar (5 min)	<input type="text"/>
20. Idade gestacional [Capurro (semanas)]	<input type="text"/>
21. Idade gestacional (ultra-sonografia)	<input type="text"/>
E. Dados antropométricos	
22. Peso pré-gravídico (Kg)	<input type="text"/>
23. Peso atual (Kg)	<input type="text"/>
24. Ganho de peso gestacional (Kg)	<input type="text"/>
25. Estatura (cm)	<input type="text"/>
26. Índice de Massa Corporal (IMC)	<input type="text"/>

F. Medicamentos utilizados após o parto (PRONTUÁRIO)	
27. (0) não (1) sim	<input type="text"/>
G. Suplementação medicamentosa na gestação atual	
28. (0) não (1) sim	<input type="text"/>
29. (1) 1º trimestre (2) 2º trimestre (3) 3º trimestre (4) todos	<input type="text"/>

<b>H. Hábito de fumar</b>	
30. (0) não (1) sim	<input type="checkbox"/>
31. Quantos cigarros você fuma (em média) por dia?	<input type="text"/> <input type="text"/>
32. Com quantos anos você começou a fumar?	<input type="text"/> <input type="text"/>

<b>I. Hábito de fumar durante a gestação</b>	
33. Quantos cigarros você fumou (em média) por dia?	<input type="text"/> <input type="text"/>
34. Em qual (is) trimestre(s) de gestação? Especificar n° cigarros.	
(1) 1º trimestre <input type="text"/> <input type="text"/>	(5) 1º e 2º trimestres <input type="text"/> <input type="text"/>
(2) 2º trimestre <input type="text"/> <input type="text"/>	(6) 1º e 3º trimestres <input type="text"/> <input type="text"/>
(3) 3º trimestre <input type="text"/> <input type="text"/>	(7) 2º e 3º trimestres <input type="text"/> <input type="text"/>
(4) todos <input type="text"/> <input type="text"/>	
35. Quantos meses você fumou durante a gestação?	<input type="text"/>

<b>J. Uso de bebida alcoólica e outros tóxicos</b>	
36. Você ingeriu álcool durante a gestação? (0) não (1) sim, _____	<input type="checkbox"/>
37. Em qual (is) trimestre (s) de gestação?	
(1) 1º (2) 2º (3) 3º (4) todos (5) 1º e 2º (6) 1º e 3º (7) 2º e 3º	<input type="text"/>
38. Você usou algum tipo de droga durante a gestação? (0) não (1) sim, _____	<input type="checkbox"/>
39. Em qual (is) trimestre (s) de gestação?	
(1) 1º (2) 2º (3) 3º (4) todos (5) 1º e 2º (6) 1º e 3º (7) 2º e 3º	<input type="text"/>

<b>L. Dosagens bioquímicas (mãe)</b>	
40. Colesterol Total	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
41. Triglicerídeos	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
42. HDL-c	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
43. LDL-c	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
44. VLDL-c	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

<b>M. Antioxidantes no sangue materno</b>	
45. α-tocoferol	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
46. β-caroteno	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

<b>N. Antioxidantes no cordão umbilical</b>	
47. α-tocoferol	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
48. β-caroteno	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

<b>O. Dosagens bioquímicas (RN/ cordão umbilical)</b>	
49. Colesterol Total	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
50. Triglicerídeos	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
51. HDL-c	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
52. LDL-c	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
53. VLDL-c	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

P. Frequência do consumo de alimentos fonte de beta-caroteno e vitamina E				
		S = semanal	M = mensal	E = eventual
Alimento	Diária	Nº vezes e quantidade		
		S	M	E
Queijo				
Requeijão				
Manteiga ou Margarina				
Leite				
Batata-doce				
Beterraba				
Feijão				
Abacate				
Pitanga				
Ameixa preta seca				
Caqui				
Mamão				
Melão				
Manga				
Maracujá				
Uva passa				
Alface				
Acelga				
Almeirão				
Agrião				
Cenoura				
Couve manteiga				
Abóbora				
Tomate				
Pimentão				
Brócolis				
Espinafre				
Peixe fresco				
Peixe enlatado (sardinha, atum)				
Frango				
Fígado/ moela (víceras)				
Presunto/ salame (carnes processadas)				
Carne vermelha (bovina e suína)				
Ovo				
Óleo de girassol				
Óleo de soja				
Óleo de milho				
Óleo de amendoim				
Azeite de oliva				
Maionese				
Amêndoas				
Amendoim				
Avelãs				
Castanha				

### D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 28/11/02 16:58

Reported: 05/12/02 17:26

Processed: 05/12/02 17:25

Data Path: C:\Win32App\HSM\validate\DATA\3398\

Processing Method: Tocopherol

System(acquisition): UNIVILLE

Series:3398

Application: Validation

Vial Number: 1

Sample Name: Tocopherol

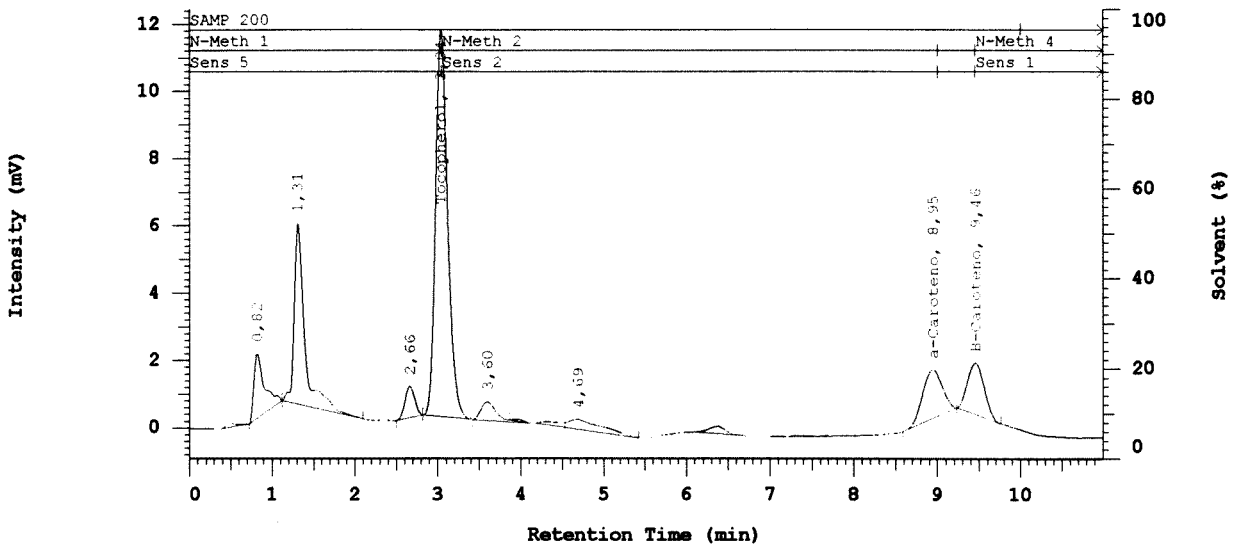
Vial Type: UNK

Injection from this vial: 1 of 1

Volume: 50,0 ul

Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Tocopherol

Column Type: RP18

Developed by: HITACHI

Pump A Type: L-7100

Solvent A: Clorof

Solvent B: Agua

Solvent C: Acetonitrila

Solvent D: Metanol

Method Description: Método de determinação tocoferol e caroteno.

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA

Calculation Method: EXT-STD

Scale Factor 1: 1,000

No.	RT	Group	Name	Area	Conc 1
1	0,82			17059	0,000000
2	1,31			47063	0,000000
3	2,66			7790	0,000000
4	3,04		Tocopherol	116002	0,000000
5	3,60			7309	0,000000
6	4,69			8571	0,000000
7	8,95		a-Caroteno	23949	0,000000
8	9,46		B-Caroteno	21443	0,000000
				249186	0,000000

Peak rejection level: 7000

MAE

### D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 28/11/02 17:11

Reported: 05/12/02 17:29

Processed: 05/12/02 17:29

Data Path: C:\Win32App\HSM\validate\DATA\3399\

Processing Method: Tocopherol

System(acquisition): UNIVILLE

Series:3399

Application: Validation

Vial Number: 1

Sample Name: Tocopherol

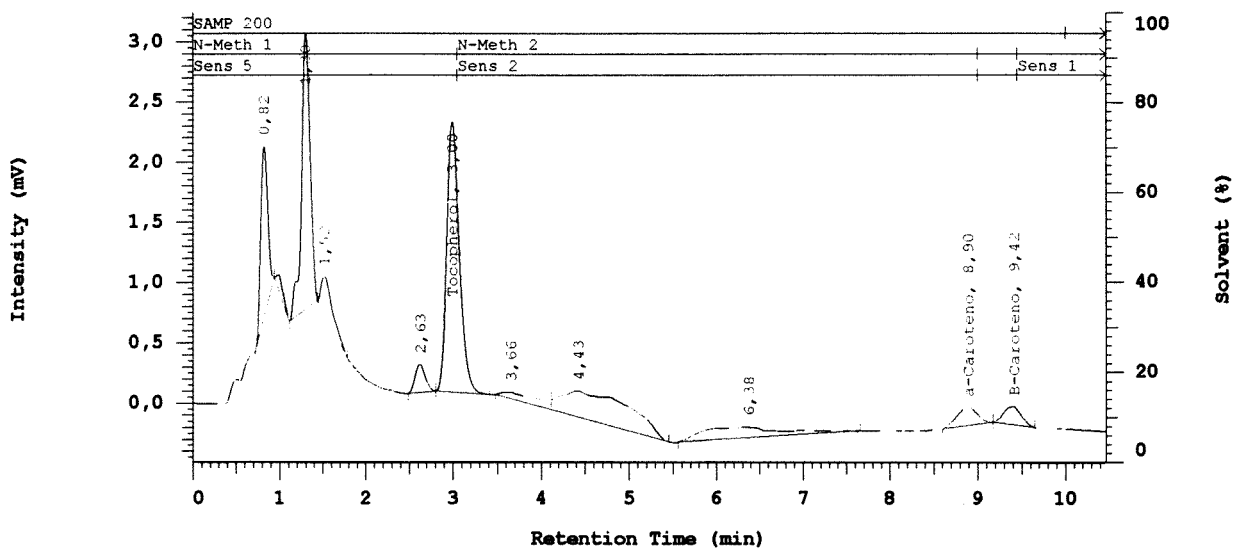
Vial Type: UNK

Injection from this vial: 1 of 1

Volume: 50,0 ul

Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Tocopherol

Developed by: HITACHI

Column Type: RP18

Pump A Type: L-7100

Solvent A: Clorof

Solvent B: Agua

Solvent C: Acetonitrila

Solvent D: Metanol

Method Description: Método de determinação tocoferol e caroteno.

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA

Calculation Method: EXT-STD

Scale Factor 1: 1,000

No.	RT	Group	Name	Area	Conc 1
1	0,82			7920	0,000000
2	1,30			15903	0,000000
3	1,52			2813	0,000000
4	2,63			1895	0,000000
5	3,00		Tocopherol	22360	0,000000
6	3,66			1987	0,000000
7	4,43			13221	0,000000
8	6,38			6112	0,000000
9	8,90		a-Caroteno	2462	0,000000
10	9,42		B-Caroteno	2133	0,000000
				76806	0,000000

Peak rejection level: 1000

RW



### D-7000 HPLC System Manager Report

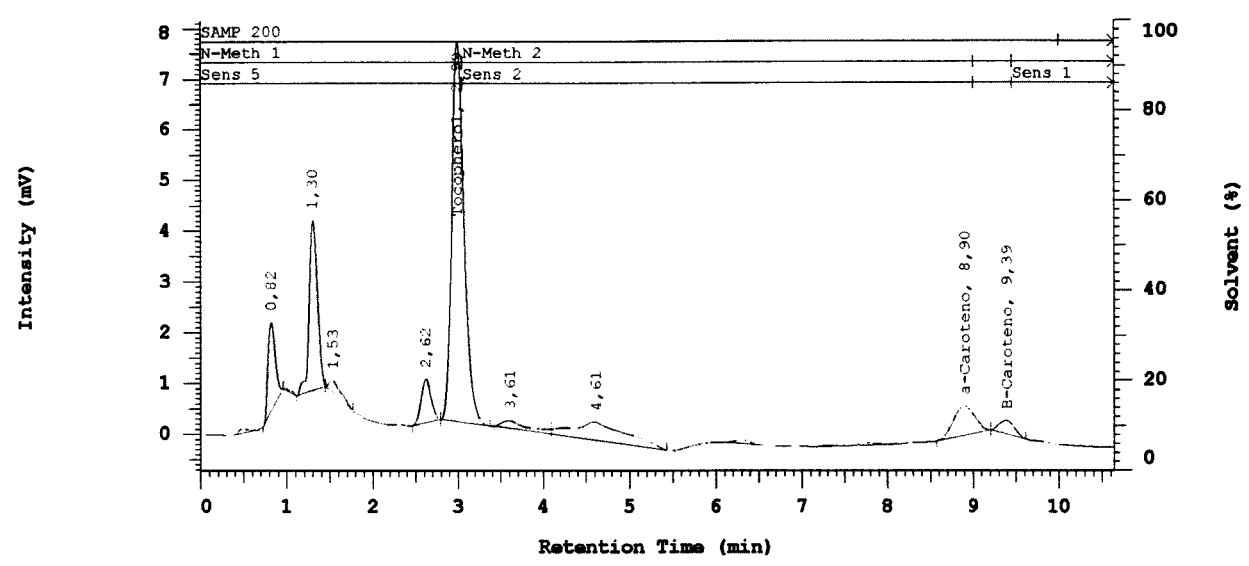
Analyzed: 28/11/02 17:24

Reported: 05/12/02 17:33  
Processed: 05/12/02 17:32

Data Path: C:\Win32App\HSM\validate\DATA\3400\  
Processing Method: Tocopherol

System(acquisition): UNIVILLE	Series:3400
Application: Validation	Vial Number: 1
Sample Name: Tocopherol	Vial Type: UNK
Injection from this vial: 1 of 1	Volume: 50,0 ul
Sample Description:	

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Tocopherol  
 Column Type: RP18  
 Pump A Type: L-7100  
 Solvent A: Clorof  
 Solvent B: Agua  
 Solvent C: Acetonitrila  
 Solvent D: Metanol  
 Method Description: Método de determinação tocoferol e caroteno.

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA  
Calculation Method: EXT-STD  
Scale Factor 1: 1,000

No.	RT	Group	Name	Area	Conc 1
1	0,82			10236	0,000000
2	1,30			22430	0,000000
3	1,53			2356	0,000000
4	2,62			7148	0,000000
5	2,99		Tocopherol	74941	0,000000
6	3,61			3435	0,000000
7	4,61			15722	0,000000
8	8,90		α-Caroteno	9896	0,000000
9	9,39		β-Caroteno	3348	0,000000
				149512	0,000000

Peak rejection level: 1000

*Mãe Fumante*

### D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 28/11/02 17:37

Reported: 05/12/02 17:36  
Processed: 05/12/02 17:36

Data Path: C:\Win32App\HSM\validate\DATA\3401\

Processing Method: Tocopherol

System(acquisition): UNIVILLE

Series:3401

Application: Validation

Vial Number: 1

Sample Name: Tocopherol

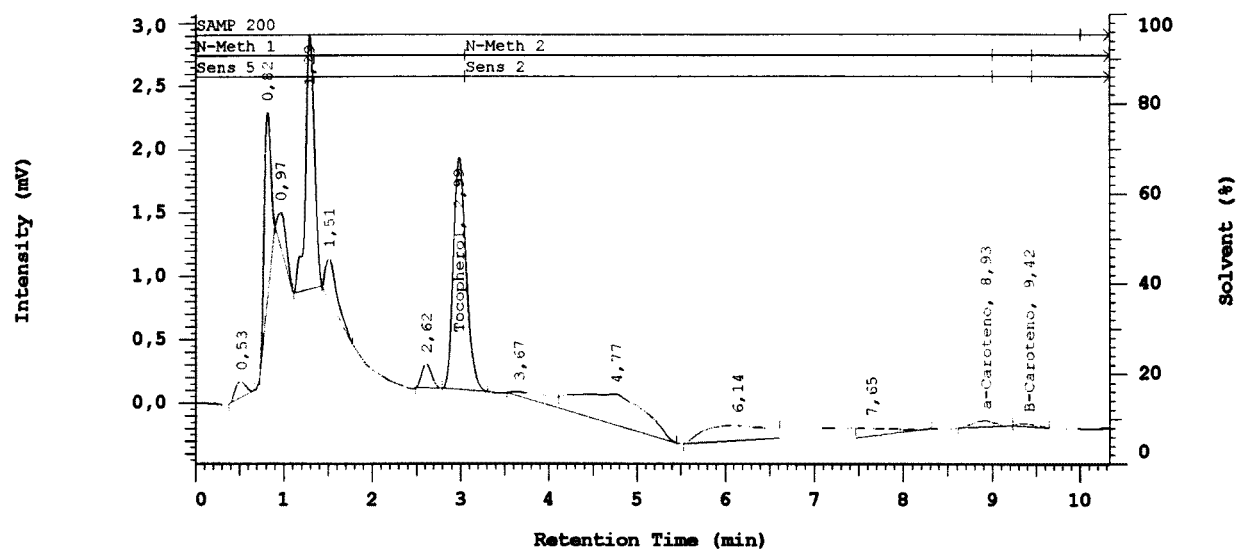
Vial Type: UNK

Injection from this vial: 1 of 1

Volume: 50,0 ul

Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Tocopherol

Column Type: RP18

Developed by: HITACHI

Pump A Type: L-7100

Solvent A: Clorof

Solvent B: Agua

Solvent C: Acetonitrila

Solvent D: Metanol

Method Description: Método de determinação tocoferol e caroteno.

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA

Calculation Method: EXT-STD

Scale Factor 1: 1,000

No.	RT	Group	Name	Area	Conc 1
1	0,53			1119	0,000000
2	0,82			7543	0,000000
3	0,97			1872	0,000000
4	1,29			13959	0,000000
5	1,51			2864	0,000000
6	2,62			1558	0,000000
7	2,99		Tocopherol	18181	0,000000
8	3,67			1786	0,000000
9	4,77			12919	0,000000
10	6,14			5994	0,000000
11	7,65			1842	0,000000
12	8,93		a-Caroteno	838	0,000000
13	9,42		B-Caroteno	388	0,000000
				70863	0,000000

RN DE FUMANTE

**Anexo 3****Faculdade de Saúde Pública /USP - UNIVILLE****Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Eu, \_\_\_\_\_  
declaro, para os devidos fins, que concordo em participar da pesquisa "Análise das concentrações de beta-caroteno e alfa-tocoferol nos sangues materno e do cordão umbilical de fumantes e não fumantes", que tem o objetivo de determinar as concentrações de beta-caroteno e alfa-tocoferol nos sangues de mães e do cordão umbilical. Fui esclarecida sobre os procedimentos a serem realizados, e me submeterei a uma entrevista para fornecer dados importantes para a pesquisa estando ciente que informações sobre meu filho recém-nascido, como por exemplo peso ao nascer serão adquiridos direto do prontuário hospitalar, ficando garantida a privacidade das informações. Permito a coleta de 4mL do meu sangue e 4mL de sangue da placenta (cordão umbilical), sendo que fui esclarecida de que as técnicas utilizadas para os procedimentos de coleta serão feitas tomando-se os cuidados cabíveis, garantindo a minha segurança e a da criança. Fui informada de que qualquer dúvida será esclarecida pela equipe responsável, sendo assegurado que em qualquer momento do estudo, eu posso retirar o consentimento de participação sem qualquer constrangimento ou prejuízo.

Joinville, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2002.

\_\_\_\_\_  
Gestante

\_\_\_\_\_  
Pesquisadora

**Dúvidas ou informações, procurar: Silmara Salete de Barros Silva. Tel: 425-8743**  
ou Patrícia Helen Carvalho Rondó. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - Av. Dr. Amaldo, 715. São Paulo/SP. Tel (011) 3066-7705 ou 3066-7701 (ramal 31).